

Clubes de Ciencia
México

GDL 7

A tu edad no tenía tu edad: relojes epigenéticos y envejecimiento

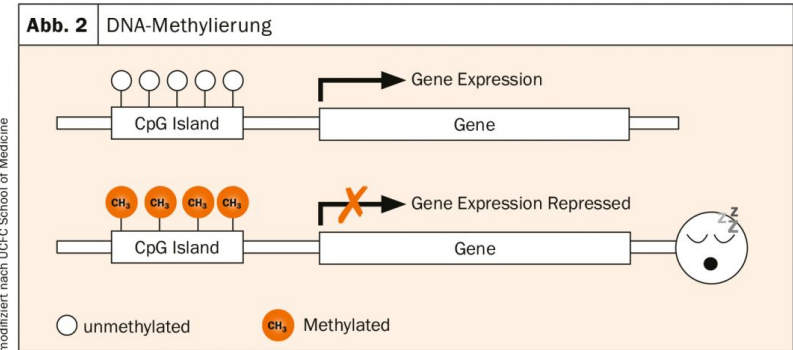
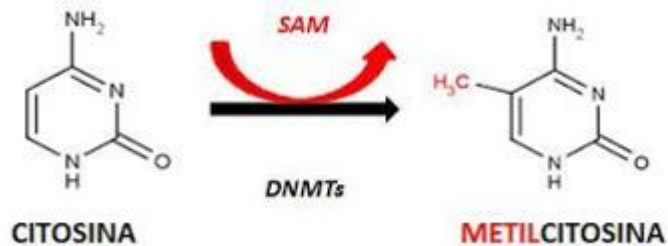
At your age I wasn't your age: epigenetic clocks and aging

Instructores: Erick Navarro & Guadalupe Ayala

6-12 de Julio 2025
Guadalajara, México

Metilación DNA

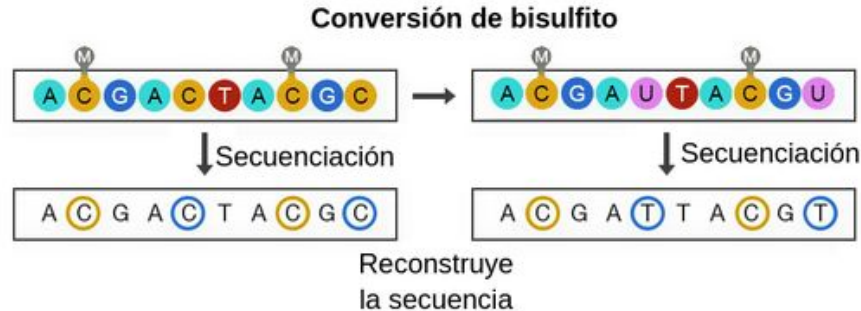
La metilación es la adición de un grupo metilo ($-\text{CH}_3$). Una reacción de metilación la cataliza una enzima llamada ADN metiltransferasa. La metilación puede ocurrir tanto en las histonas como en el ADN, y tiene lugar en organismos eucariotas. En los mamíferos, la metilación del ADN ocurre principalmente en el carbono 5' de las bases de citosina (C) contiguas a las bases de guanina (G), lo que resulta en 5-metilcitosina (5mC). Estas regiones ricas en C y G se llaman islas CpG, y abundan en las regiones promotoras.



Métodos para estudiar la metilación

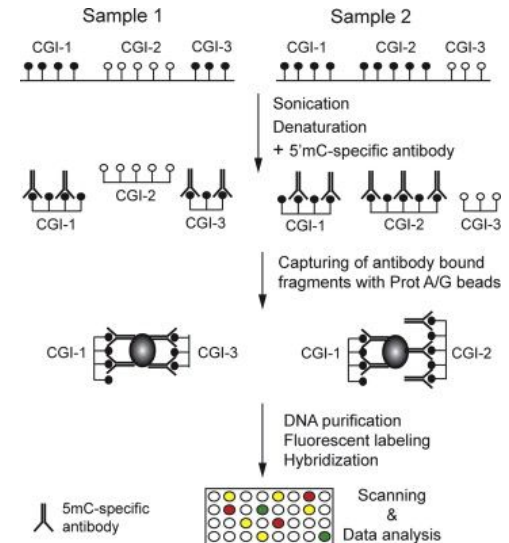
La **Secuenciación de Bisulfito de Genoma Completo** es una técnica de secuenciación de ADN que permite mapear patrones de metilación del ADN a escala del genoma completo con resolución de base única.

Tratamiento químico del ADN con bisulfito de sodio, que convierte las citosinas no metiladas en uracilos (que se leen como timinas durante la secuenciación), mientras que las citosinas metiladas permanecen inalteradas. Esta conversión diferencial permite identificar qué citocinas estaban metiladas en el ADN original.



MeDIP-seq (Methylated DNA Immunoprecipitation sequencing)

Se utilizan anticuerpos que reconocen específicamente residuos de 5-metilcitosina en el ADN. El ADN genómico fragmentado se incuba con estos anticuerpos, permitiendo la captura selectiva de fragmentos que contienen citosinas metiladas.



Microarreglos de Metilación de DNA (Infinium de Illumina)

La tecnología Infinium utiliza una aproximación de discriminación alélica basada en la conversión con bisulfito de sodio, donde cada sitio CpG se analiza mediante dos sondas específicas: una para la citosina metilada y otra para la citosina no metilada (convertida a uracilo/timina).

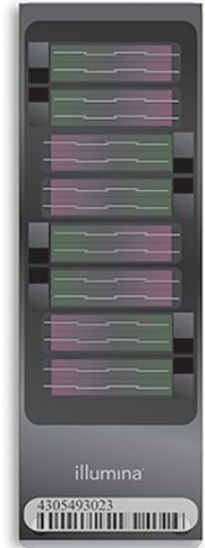
HumanMethylation27 (27K): La primera generación cubrió aproximadamente 27,000 sitios CpG, enfocándose principalmente en regiones promotoras y islas CpG.

HumanMethylation450 (450K): Expansión significativa con ~485,000 sitios CpG, incluyendo regiones promotoras, cuerpos génicos, regiones intergénicas y elementos reguladores.

MethylationEPIC (850K): La plataforma más reciente incorpora ~850,000 sitios CpG, con cobertura mejorada de regiones reguladoras distal, sitios de unión de factores de transcripción y regiones identificadas por estudios de asociación del genoma completo (GWAS).

Microarreglos de Metilación de DNA (Infinium de Illumina)

- >900 000 CpG sites
- Beta value = the unit of methylation;
the proportion of cells methylated at a particular position
- Pros:
 - Consistency across studies
 - Consistency within studies (reproducibility)
 - Cost-effective, high-throughput
 - Straightforward normalisation and pre-preprocessing pipeline
- Cons:
 - Not representative of whole genome DNA methylation landscape
 - 28 million CpG sites in the human genome
 - Normalisation and pre-processing pipelines may differ across studies
 - (side-pro: if a site pops up multiple times across different studies/normalisation methods à robust signal!)



Illumina Infinium
MethylationEPIC v2
BeadChip

Característica	WGBS (Secuenciación de Bisulfito de Genoma Completo)	MeDIP-seq (Methylated DNA Immunoprecipitation Sequencing)	Microarreglos Infinium (450K/EPIC)
Principio	Tratamiento con bisulfito + secuenciación del genoma completo	Enriquecimiento de DNA metilado con anticuerpos anti-5mC + secuenciación	Hibridación de DNA tratado con bisulfito en sondas específicas del array
Cobertura genómica	Genoma completo	Parcial, depende de enriquecimiento	Limitada a las sondas del array (~450K-850K CpGs)
Resolución	Nucleótido único	~100-300 bp	Sitios CpG específicos del array
Costo	Muy alto	Bajo-moderado	Bajo
Cantidad de DNA requerido	Alta ($\geq 1 \mu\text{g}$)	Moderada	Baja (~500 ng)
Sensibilidad	Alta	Moderada	Alta en sitios específicos
Detecta	Todas las CpGs (contexto CpG y no-CpG)	Regiones densamente metiladas	Sitios CpG prediseñados



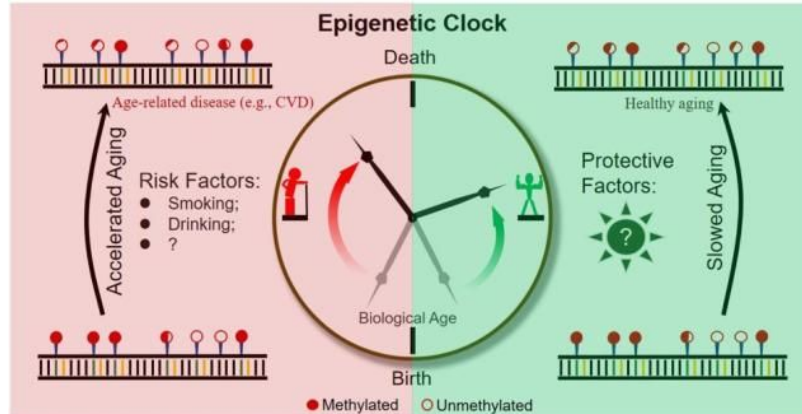
Relojes Epigenéticos

Los **relojes epigenéticos** utilizan patrones de **metilación de sitios CpG** en el genoma para estimar la **edad biológica de tejidos, células o individuos** y permiten:

Comparar **edad cronológica vs. biológica**

Evaluar **impactos ambientales, de estilo de vida, enfermedades y envejecimiento**

Predecir **riesgo de mortalidad y morbilidad**



Reloj	Año	Tejido	CpGs usados	Aplicación principal
Horvath (2013)	2013	Multitejido	353 CpGs	Edad cronológica en múltiples tejidos
Hannum (2013)	2013	Sangre	71 CpGs	Edad cronológica en sangre
PhenoAge (Levine, 2018)	2018	Sangre	513 CpGs	Edad biológica relacionada con salud
GrimAge (Lu, 2019)	2019	Sangre	~1030 CpGs	Predicción de mortalidad y morbilidad
DNAmTL (Lu, 2019)	2019	Sangre	~140 CpGs	Longitud de telómeros estimada por metilación
Knight (2016)	2016	Placenta	Variable	Edad gestacional estimada
Bohlin (2016)	2016	Placenta	Variable	Edad gestacional estimada

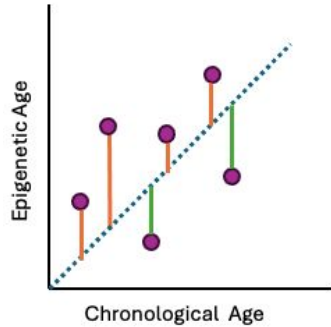
Considerations for Calculating Epigenetic Age

- 1. Use your pre-processed, normalised data.
 - The tools/packages used don't have access to the metrics we use to consider when the data is "clean"
 - If you are using epigenetic age and other DNAm approaches in one project, it doesn't make sense to normalise data for one half of the analyses but not the other
 - Funnorm works best with clocks generally
- 2. If you are using one cohort, you can use Epigenetic Age Acceleration (residuals), but if you are comparing across cohorts that cannot have their epigenetic age calculated together, you should use AgeDev/AgeDiff (chronological age – epigenetic age).
- 3. In adults (~20 years+), Epigenetic Age Acceleration is always higher in males
- 4. Epigenetic Age prediction is not consistent across ethnicities/genetic ancestries (often higher in African or Black people compared to white people)
- 5. Consider which clocks you want to use in advance – you should preselect several clocks (with rationale) for analysis, and stick to those. You don't have to choose only one (as no one clock is "correct" – unless it is the only one for your tissue!). There may not be consistent findings across clocks, so **not** cherry-picking those with significant results after seeing the p-values is always a better option! (and it's difficult to ignore the allure of the $p < 0.05$!)

Epigenetic Clocks

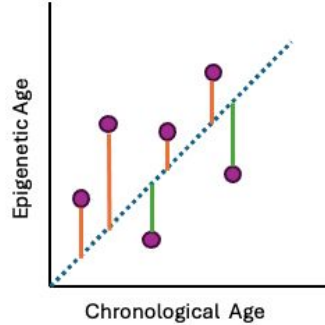
- Negative residuals (EAA) (Healthier)
- Positive residuals (EAA) (Unhealthier)
- Regression line of Epigenetic Age against Chronological Age

EAA = Epigenetic Age Acceleration



First Generation Clocks:

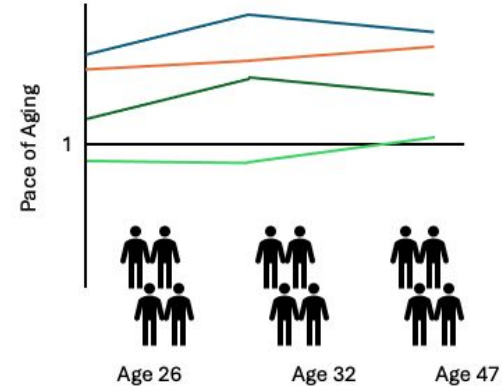
Trained to predict chronological age.
Regress Epigenetic Age on
Chronological Age to find EAA.



Second Generation Clocks:

Trained on age-related phenotypes
(e.g. inflammatory markers, smoking
status) and age.

Regress Epigenetic Age on
Chronological Age to find EAA.



Third Generation Clocks:

Trained on age-related phenotypes (e.g.
blood proteins that change with age, BMI),
but with longitudinal cohorts.

A rate of decline per annum – no need to
calculate EAA.

(>1 is acceleration, <1 is deceleration)