

# Utjecaj prehrane majke na epigenom djeteta

---

**Bagić, Ivan**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2015**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:077746>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-30**



*Repository / Repozitorij:*

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Ivan Bagić**

**Utjecaj prehrane majke na epigenom  
djeteta**

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2015.**

Ovaj diplomski rad izrađen je na Zavodu za biologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom prof. dr. sc. Maje Vlahović i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2014./2015.

## POPIS SKRAĆENICA

5mC	5-metilcitozin
CpG	citozin-gvanin dinukleotid
DAT	aktivni transporter dopamina (prema eng. <i>dopamine active transporter</i> )
DARPP-32	dopaminom i cAMP regulirani fosfoprotein 32 (prema eng. <i>dopamine- and cAMP-regulated phosphoprotein</i> )
DNMT	DNA metiltransferaza
GR	glukokortikoidni receptor
HDAC	histon deacetilaza
HF	folikul dlake (prema eng. <i>hair follicle</i> )
HMT	histon metil transferaza
IGF2	inzulinu nalik faktor rasta 2 (prema eng. <i>inzulin – like growth factor 2</i> )
MeCP2	metil CpG- vežući protein 2 (prema eng. <i>methyl CpG-binding protein2</i> )
miRNA	mikro RNA
NAc	<i>nucleus accumbens</i>
ncRNA	nekodirajuće RNA (prema eng. <i>non-coding RNA</i> )
PBL	limfociti periferne krvi (prema eng. <i>peripheral blood lymphocyte</i> )
PFC	prefrontalni korteks
Pck1	protein kinaza 1
piRNA	RNA u interakciji s piwi proteinima (prema eng. <i>PIWI-interacting RNA</i> )
PPAR $\alpha$	peroksisomskim proliferatorom aktivirani receptor- $\alpha$ (prema eng. <i>peroxisomal proliferator-activated receptor-<math>\alpha</math></i> )
SAM	S-adenozilmetionin
siRNA	kratke interferirajuće RNA (prema eng. <i>short interfering RNAs</i> )
TH	tirozin hidroksilaza
VTA	područje prednjeg tegmentuma (prema eng. <i>ventral tegmental area</i> )

## SADRŽAJ

1. Sažetak	
2. Summary	
3. Epigenetika .....	1
3.1. Epigenator, inicijatori i održivači epigenetskih procesa .....	2
4. Epigenetski mehanizmi .....	4
4.1. Metilacija DNA .....	4
4.2. Modifikacije histona.....	7
4.3. Sustav nekodirajućih RNA.....	8
5. Prehrana majke i epigenom djeteta .....	9
5.1. Pothranjenost .....	9
5.2. Preuhranjenost .....	17
6. Zaključak.....	20
7. Zahvale.....	21
8. Literatura.....	22
9. Životopis .....	27

## 1. SAŽETAK

### Utjecaj prehrane majke na epigenom djeteta

**Ivan Bagić**

Različita istraživanja pokazuju čvrstu povezanost između kroničnih nezaraznih bolesti u odrasloj dobi, kao što su kardiovaskularne bolesti i metabolički sindrom, i nepovoljnih uvjeta za vrijeme intrauterinog razvoja i ranog postnatalnog života. Uzrok tome može biti neuravnotežena majčina prehrana tijekom trudnoće i laktacije. Promjene fenotipa potomaka, koje traju kroz čitav život, sugeriraju da se radi o stabilnim promjenama transkripcije gena odgovornih za metaboličke procese i održavanje homeostaze. Epigenetička regulacija gena je mehanizam kojim se mijenja ekspresija gena, bez promjena u DNA sekvenci. Riječ „epigenetika“ doslovno znači iznad genetike. Epigenetičke modifikacije uključuju metilaciju DNA, modifikaciju histona i sustav nekodirajućih RNA molekula. Sve spomenute modifikacije zajednički djeluju kao jedinstveni sustav koji regulira ekspresiju gena. Kada jedan od ovih mehanizama zakaže, stvara se novi fenotip koji može biti temelj za razvoj patološkog stanja u organizmu.

Ovaj rad pruža pregled rezultata istraživanja vezanih za utjecaj majčine prehrane na epigenetičke promjene fetalnog fenotipa.

**Ključne riječi:** epigenetika, epigenetički mehanizmi, prehrana

## **2. SUMMARY**

### **Influence of mother's diet on child's epigenome**

**Ivan Bagić**

According to different studies, there is a strong connection between adult chronic non-contagious diseases, such as cardiovascular disease or metabolic syndrome, and unfavorable conditions during intrauterine development and early postnatal life. This can be caused by the unbalanced maternal diet during pregnancy and lactation as well. Phenotypical offspring changes that can last the whole lifetime, suggest stable changes in the transcription of genes responsible for metabolic processes and homeostasis control. Mechanism which alters gene expression without altering DNA sequence, are termed epigenetic. The word "epigenetics" literally means on the top of the genetics. Epigenetic modifications include DNA methylation, histone modifications and small noncoding RNA molecules. All of the mentioned modifications mutually influence gene expression like a single system. When one of these mechanisms fails, a new phenotype is formed, and this new phenotype can represent the basis of the development of a pathological state in the organism.

The following thesis summarizes the results of recent studies concerning the influence of maternal malnutrition upon epigenetic alternation of the foetal phenotype.

**Key words:** epigenetics, epigenetic mechanisms, diet

### 3. EPIGENETIKA

Iako se tradicionalno vjerovalo da je DNA sekvenca jedino što određuje fenotip, a da su varijacije u fenotipu rezultat jedino rekombinacije ili mutacije, relativno mlado područje biomedicine dokazuje da nije tako. Epigenetika nam otkriva da jedan genotip može stvoriti različite fenotipe bez promjena u sekvenci DNA.

Pojam epigenetika osmislio je, 1942. godine, britanski znanstvenik C.H. Waddington (Waddington 1942). Definirao ju je kao granu biologije koja proučava uzročne interakcije između gena i njihovih produkata koji dovode do nastanka fenotipa. Prema ovoj definiciji, epigenetika se odnosila na sve molekularne puteve koji moduliraju ekspresiju genotipa u određeni fenotip. Tijekom godina, razvoj znanosti doveo je i do velikog napretka u genetici i boljeg razumijevanja epigenetike kao i do saznanja da iako sve somatske stanice organizma imaju istu DNA, obrasci ekspresije gena uvelike se razlikuju između različitih tipova stanica, a ti obrasci se mogu klonalno nasljeđivati. To je dovelo do suvremenije definicije epigenetike kao studije o mitotički i/ili mejotički nasljednim promjenama u funkciji gena, koje se ne mogu objasniti promjenama u DNA sekvenci (Riggs et al. 1996).

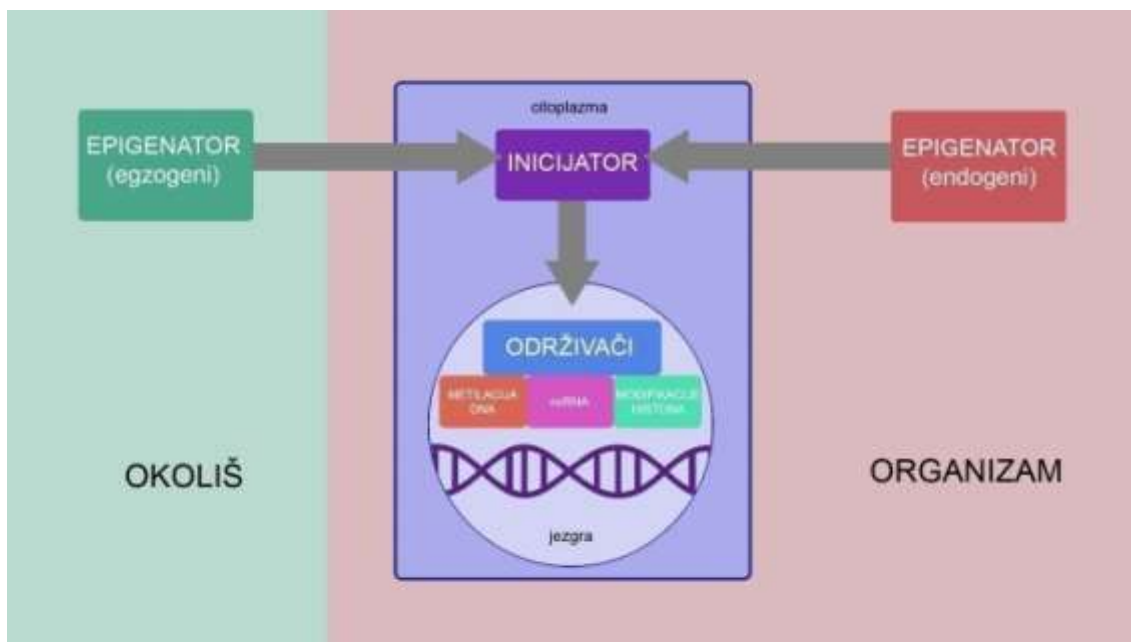
Iako su se definicije epigenetike s vremenom mijenjale da bi odgovarale novim znanstvenim otkrićima, važno je znati koji je bio izvorni problem na koji je ona pokušala dati odgovor. Kako se iz jedne oplođene jajne stanice može razviti kompleksan organizam sa stanicama različitog fenotipa? Oplođena jajna stanica nakon razvoja organizma daje 200-tinjak različitih tipova stanica. Sve one imaju isti genotip, ali ne i fenotip. Tijekom razvoja stanice se usmjeravaju pod utjecajem različitih faktora rasta, hormona i ostalih signalnih molekula, koje modificiraju kromatin i ekspresiju pojedinih gena. Diferencijacija stanica u stanice različitih tkiva i organa ovisi o tome koji će se geni prepisivati, a koji ne. Epigenetika proučava upravo te procese koji dovode do promjene ekspresije pojedinih gena koji uzrokuju promjenu fenotipa, bez promjene u DNA sekvenci, odnosno genotipa. Sam prefiks „epi“ u nazivu epigenetika (grčki: epi-na, preko, izvan) ističe ovo važno svojstvo, da se promjene ne događaju u DNA sekvenci. Genom predstavlja potpunu genetsku informaciju sadržanu u DNA, unutar stanica organizma. S druge strane, epigenom uključuje modifikacije povezane s genomskom DNA, koje igraju ulogu u uspostavljanju jedinstvenog staničnog i razvojnog identiteta. Genom nije taj koji stanici može osigurati adaptibilnost, jer kad bi se mijenjao ovisno o zahtjevima okoliša ili organizma, degradirala bi se nasljeđena svojstva kodirana u



DNA sekvenci. Suprotno genomu koji je konzistentan, epigenom dinamično i fleksibilno odgovara na unutarstanične i izvanstanične podražaje. Epigenetske modifikacije uvjetuju ekspresiju pojedinog dijela genoma i inaktivnost preostalog, te omogućuju rast, programiranu smrt, proliferaciju, mirovanje, diferencijaciju, te akomodaciju stanice na eventualne promjene (Barreo et al. 2010). Epigenom tako omogućuje organizmu da se prilagodi podražajima okoliša kroz ekspresiju određenih karakteristika ili fenotipa.

### 3.1. Epigenator, inicijatori i održavači epigenetskog procesa

Postoje tri elementa epigenetskog puta koje dovode do nastanka stabilno nasljednog epigenoma: epigenator, inicijator i održivač (Slika 1.).



**Slika1.** Epigenetski put

Epigenetski fenotip može biti uzrokovan promjenama u okolišu stanice. Epigenator proizlazi iz okoliša stanice i nosi informacije stanici o potrebama organizma i zahtjevima okoliša. On može biti iz okoliša organizma (egzogeni faktor), samog organizma (endogeni faktor), te iz citoplazme. Epigenator aktivira intracelularni put i ima sposobnost prijenosa informacija epigenetskim inicijatorima. Inicijatori prevode signal epigenatora i određuju dijelove genoma

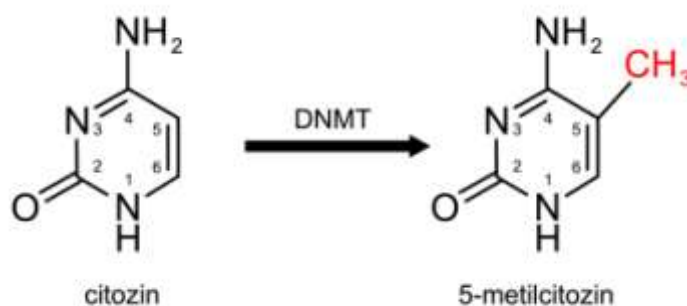
čijom se reorganizacijom ekspresije omogućuje najbolji stanični odgovor na dobivenu informaciju. Zadnji element epigenetskog puta su održivači. Oni aktivno provode reorganizaciju epigenoma, ali ju nisu sposobni samostalno započeti. Za to su mu potrebne informacije koje dobiva od inicijatora. Bez nove indukcije inicijatora, održivači održavaju uspostavljeni epigenom stabilnim tijekom života stanice i predstavljaju molekularni mehanizam staničnog pamćenja koji se prenosi na stanice kćeri staničnom diobom. Na taj način, stanicama kćerima osiguran je fenotip koji najbolje odgovara zahtjevima okoliša, iako one same nikada nisu primile informaciju epigenatora koji je potaknuo organizaciju njihovog epigenoma, odnosno fenotipa (Berger et al. 2009, Vlahović & Sinčić 2012).

## 4. EPIGENETSKI MEHANIZMI

Kao što je već objašnjeno, sve stanice organizma sadrže identičan genom. Ipak, usprkos tome što su upute sadržane u genomu stabilne, terminalni fenotip unutar organizma nije fiksiran. Odstupanja fenotipa uzrokovana su promjenama ekspresije gena kao odgovor na signale iz okoliša. Epigenetski mehanizmi su procesi koji moduliraju ekspresiju gena bez mijenjanja DNA sekvence, odnosno genoma. Glavni epigenetski mehanizmi su metilacija DNA, modifikacija histona i nekodirajuće RNA. Svi oni djeluju zajedno kao jedinstven sustav u regulaciji ekspresije gena.

### 4.1. Metilacija DNA

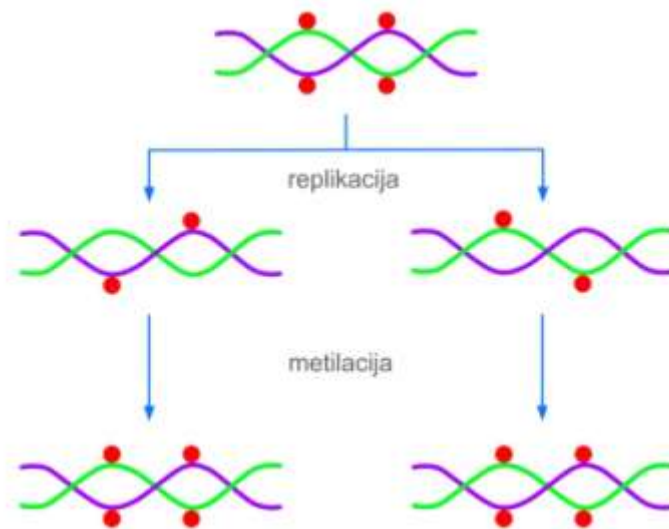
Od navedenih mehanizama najbolje je proučena metilacija DNA. To je uobičajena modifikacija u genomu sisavaca koja stvara stabilni epigenetski biljeg koji se prenosi na stanice kćeri nakon diobe stanica. Metilna skupina kovalentno se veže na 5' poziciju citozina unutar citozin-gvanin dinukleotidne sekvence (CpG). Reakciju katalizira enzim iz skupine DNMT (DNA metiltransferaza). Citozin se tako pretvara u 5mc (5-metilcitozin) (Lillycrop et al. 2009, Vlahović & Sinčić 2012) (Slika 2.).



**Slika 2.** Konverzija citozina u 5-metilcitozin

Epigenetska informacija sadržana u metiliranoj DNA svakom diobom prenosi se na stanice kćeri (Slika 3.). U sintezi novog lanca tijekom replikacije ugrađuje se citozin, a ne 5mc. Postreplikacijski, enzim DNMT1 (DNA metiltransferaza 1) kopira raspored 5mc sa starog na novi lanac. Metilacijom hemimetilirane DNA omogućuje se nasljeđivanje

metilacijskog obrasca kroz generacije. Takav prijenos epigenetičke informacije temelj je epigenetičkog nasljeđivanja.



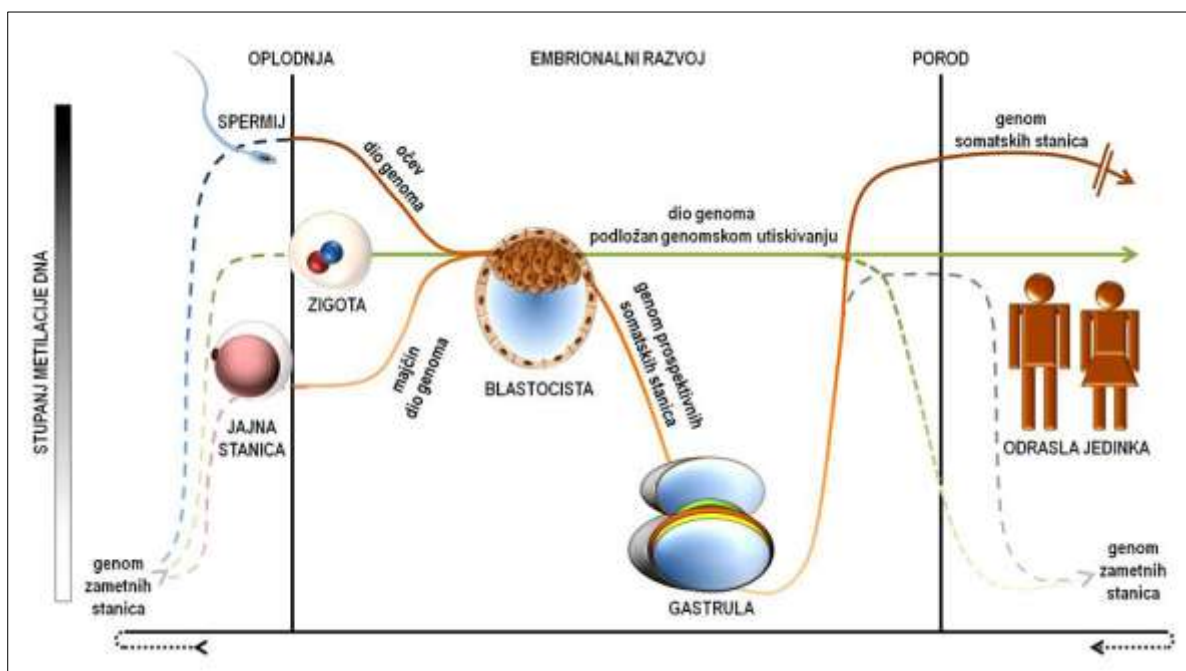
**Slika 3.** Prijenos metilacijskog obrasca na stanice kćeri

U slučaju kada su CpG dinukleotidi grupirani na 5' kraju gena u promotorskim regijama nazivamo ih CpG otocima. Hipermetilacija CpG otoka povezana je sa sprječavanjem transkripcije, a hipometilacija sa aktiviranjem transkripcije. Metilacija DNA sprječava transkripciju blokiranjem pristupa transkripcijskih faktora molekuli DNA zbog čega ne dolazi do formiranja inicijacijskog transkripcijskog kompleksa. To se postiže blokiranjem vezanja transkripcijskih faktora ili poticanjem vezanja MeCP2 (prema eng. *methyl CpG-binding protein*). On se veže za metilirani citozin i potiče vezanje histon-modificirajućeg kompleksa na DNA. Njega čine HDAC (histon deacetilaza) i HMT (histon metil transferaza) koje kovalentnim modifikacijama histona, deacetilacijom i metilacijom, mijenjaju strukturu kromatina pri čemu ona ostaje zatvorena, što onemogućuje pristup transkripcijskih faktora molekuli DNA (Fuks et al. 2003).

Metilacija DNA važna je za asimetrično utišavanje utisnutih gena, inaktivaciju X kromosoma i obranu stanice od štetnog utjecaja transpozona. Suzbijanjem ekspresije specifičnih gena tijekom razvoja i diferencijacije pojedinih tkiva, metilacija DNA igra ključnu ulogu u diferencijaciji stanice. Nakon oplodnje, majčin i očev genom podilježu opsežnoj demetilaciji i de novo metilaciji (Slika 4.). Svega 3-6 sati nakon oplodnje, očeva DNA prolazi kroz demetilacijski proces, dok majčina DNA započinje metilaciju. Genom

spermija izrazito je metiliran, za razliku od genoma jajne stanice koji je gotovo nemetiliran. Ipak, nakon nekoliko replikacijskih ciklusa, demetilacijski val s očevog genoma širi se i na majčin. U stanicama morule, očeva i majčina DNA postaju u jednakoj mjeri izrazito hipometilirane, što je povezano s pluripotentnosti embrionalnih stanica (Mayer et al. 2000). Utisnuti geni se ne demetiliraju. Nakon demetilacije slijedi period globalne *de novo* metilacije, taman prije implantacije blastociste. Pri tome se metilira 70% CpG dinukleotida, uglavnom u heterokromatinskim regijama i ponavljajućim sekvencama kao što su transpozoni. Hipermetilacijom promotora gena pluripotentnosti i demetilacijom promotorskih regija diferencijacijskih gena specifičnih za određenu staničnu liniju, postiže se stanična diferencijacija.

Metilacija CpG dinukleotida uspostavlja se tijekom embriogeneze i u ranom postnatalnom razdoblju. Kad se uspostave, ovi epigenetički biljezi se u većini slučajeva ne mijenjaju puno u životu, ali u fazi nastajanja, osjetiljivi su na utjecaje okoliša (Lillycrop et al. 2009).



**Slika 4.** Promjena razine metilacije DNA tijekom života čovjeka. Prema: Vlahović & Sinčić (2012).

## 4.2. Modifikacije histona

Histoni su bjelančevine oko kojih se namata DNA, čime nastaje kromatin. Nukleosom predstavlja prvu razinu organizacije kromatina i sastoji se od parova histona H2A, H2B, H3 i H4, organiziranih u oktamersku jezgru koju omata DNA. Histoni reguliraju pakiranje DNA i imaju veliku ulogu u kompakciji kromatina, što utječe na transkripcijsku aktivnost (Murray et al. 2009).

U stanicama koje se ne dijele, kromatin može biti u dva funkcionalna stanja: eukromatin i heterokromatin. Eukromatin ili otvoreni kromatin, predstavlja način pakiranja kromatina u kojem je DNA dostupna transkripciji. S druge strane, kod heterokromatina ili zatvorenog kromatina, DNA je gusto pakirana i nije dostupna transkripciji. Način na koji je kromatin organiziran tijekom različitih stadija staničnog ciklusa i u različitim stanicama, regulira se putem epigenetičkih mehanizama (Murray et al. 2009).

Repovi histona podložni su modifikacijama koje uključuju acetilaciju, metilaciju, fosforilaciju, ubikvinaciju i sumoilaciju. Njima podilježu svi histoni jezgre nukleosoma (H2A, H2B, H3 i H4) i H1 histon. Posttranslacijske modifikacije histona ključne su za regulaciju strukture i funkcije kromatina. One utječu na niz procesa vezanih uz DNA, kao što su transkripcija, rekombinacija, popravci DNA i replikacija. Modifikacije acetilacije i fosforilacije aktiviraju transkripciju, sumoilacije inhibiraju, a metilacije i ubikvitinacije mogu aktivirati i inhibirati ekspresiju gena (Vlahović & Sinčić 2012).

Poznata su tri principa kojima histonske modifikacije mijenjaju strukturu kromatina i reguliraju ekspresiju gena. To su: cis-efekt, trans-efekt i izmjena histona. Cis-efekt se postiže posredovanjem specifičnih enzima, pri čemu se promjenom fizikalnih svojstava histonskog repa (naboja ili trodimenzionalne strukture) uzrokuju manje promjene organizacije kromatina. On može potaknuti drastičnije promjene ukoliko ga slijedi trans-efekt. Trans-efekt predstavlja promjenu afiniteta histona prema širokoj paleti vezujućih proteina (eng. histone modification binding proteins, HMBP). Vezujući proteini vežu se na modificiranu aminokiselinu repa i služe da se na njih vežu veći proteinski kompleksi koji mijenjaju strukturu kromatina. Nakon cis-efekta i trans-efekta može uslijediti i izmjena histona. Ona predstavlja zamjenu kanonskih histona s alternativnim pri čemu se mijenja struktura kromatina i odnos stanice prema vlastitom genetičkom materijalu. Ova modifikacija uključena je u regulaciju staničnog ciklusa, apoptoze, popravka oštećenja DNA i mnoge druge procese (Vlahović & Sinčić 2012).

### 4.3. Sustav nekodirajućih RNA

Nekodirajuće RNA (ncRNA) su RNA molekule koje se prepisuju sa DNA, ali se ne prevode u proteine. Mnoge od njih su funkcionalne i utječu na regulaciju drugih RNA, kao što su mRNA, tRNA i rRNA. Možemo ih podijeliti u dvije skupine: kratke ncRNA (<30 nukleotida) i duge ncRNA (>200 nukleotida). Obje ove skupine uključene su u formiranje heterokromatina, modifikaciju histona, metilaciju DNA i utišavanje genoma. U kratke ncRNA ubrajaju se mikro RNA (miRNA), kratke interferirajuće RNA (siRNA) i RNA koje su u interakciji s piwi proteinima (piRNA) (Collins 2011).

Duge ncRNA se mogu uključivati u komplekse s proteinima koji modificiraju kromatin i usmjeravati njihovu katalitičku aktivnost na specifična mjesta u genomu, te na taj način utjecati na ekspresiju gena. One imaju ulogu u remodeliranju kromatina, regulaciji transkripcije, posttranskripcijskim procesima, te služe kao prekusori siRNA. Osobito važnu ulogu imaju u inaktivaciji X kromosoma (Collins 2011).

miRNA se vežu za mRNA sa komplementarnom sekvencom i uzrokuju njenu razgradnju, tj. blokadu translacije. miRNA imaju ulogu u supresiji tumora, apoptozi, proliferaciji i kretanju stanica, što upućuje na to da bi se njihovom manipulacijom mogle liječiti epigenetičke bolesti poput raka (Kala et al. 2013).

siRNA djeluju na sličan način kao i miRNA, degradacijom mRNA u posttranskripcijskom utišavanju gena. Uz to, siRNA potiče stvaranje heterokromatina, uključujući se u komplekse koji potiču metilaciju i kondenzaciju kromatina (Collins 2011).

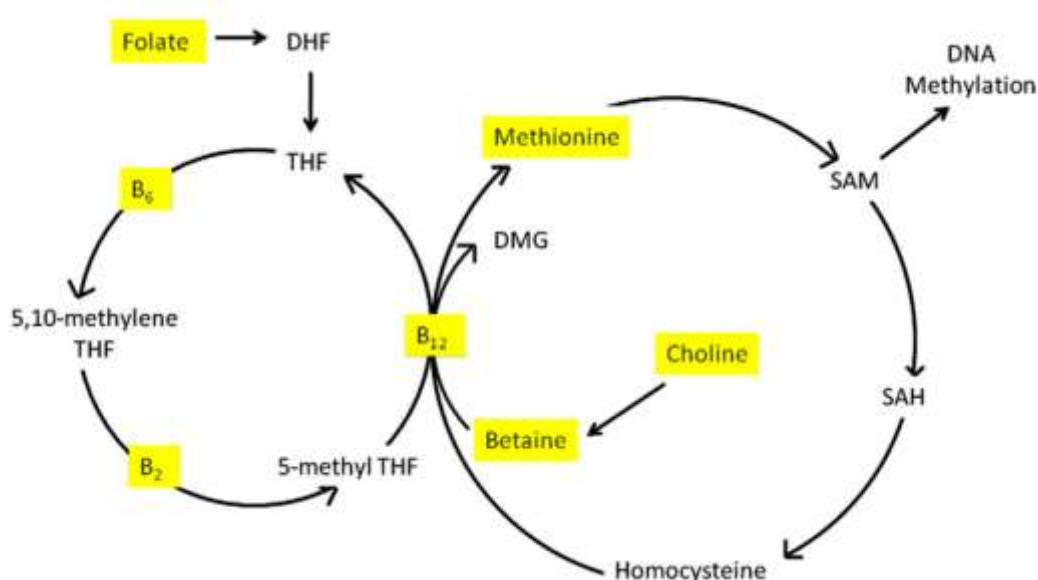
piRNA stupaju u interakciju s piwi proteinima i tako utječu na modifikaciju kromatina i utišavanje transpozona (Collins 2011).

## 5. PREHRANA MAJKE I EPIGENOM DJETETA

Različiti uvjeti okoliša mogu djelovati na epigenetičke mehanizme. U uvjete okoliša ubraja se i majčina prehrana za vrijeme trudnoće. Tijekom embriogeneze i u ranom postnatalnom razdoblju uspostavljaju se epigenetski biljezi. Kako su epigenetički mehanizmi osjetljivi na utjecaje okoliša, prevelika ili premala izloženost određenim tvarima, uzrokovana majčinom prehranom, može izazvati promjene u ekspresiji gena koje mijenjaju fenotip ploda i čine ga podložnijim različitim bolestima.

### 6.1. Pothranjenost

U metilaciji DNA važnu ulogu imaju donori metilnih skupina. S-adenozilmetionin (SAM) univerzalni je stanični donor metila. DNMT preuzima metilnu skupinu od SAM i kovalentno je veže za citozin, stvarajući 5mC. SAM u organizmu nastaje iz metionina uz potrošnju ATP-a. Njegova proizvodnja ovisna je o određenim tvarima koje sadrže metilnu skupinu i unose se putem hrane. To su: riboflavin (B2), piridoksin (B6), cijanokobalamin (B12) te folat, kolin, betain i metionin (Anderson et al. 2012) (Slika 5.).



**Slika 5.** Biokemijski put SAM. Žuto su označene tvari porijeklom iz hrane. (izvor: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3405985/figure/F1/>)



Tvari uključene u biokemijski put SAM dostupne su u različitim namirnicama koje koristimo u prehrani (Tablica 1.), a čijom nedovoljnom zastupljenosti nije moguća normalna metilacija DNA.

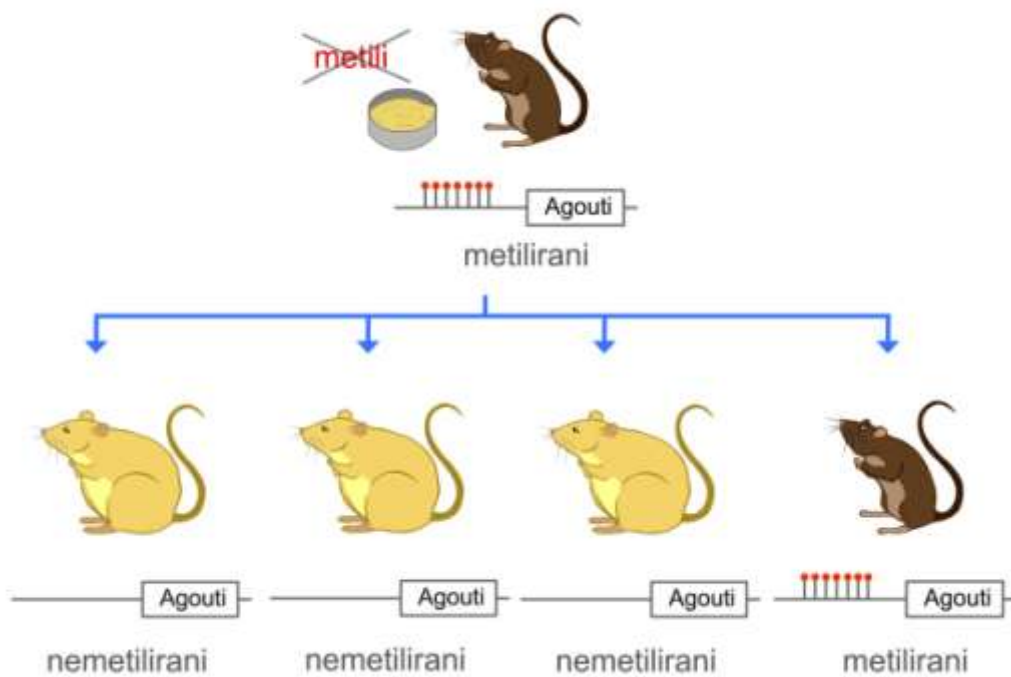
**Tablica 1.** Namirnice s visokim udjelom nutrijenata važnih za biokemijski put SAM

Nutrijent	Namirnice
Metionin	Brazilski oraščić, sezam, riba, špinat, meso
Folat	Grahorice, špinat, šparoge, salata
Vitamin B2	Sir, meso, bademi, jaja
Vitamin B6	Sjemenke suncokreta, pistacija, tuna
Vitamin B12	Jetra, riba, žitarice, crveno meso,
Kolin	Žumanjak, jetra, meso
Betain	Špinat, repa, pšenica

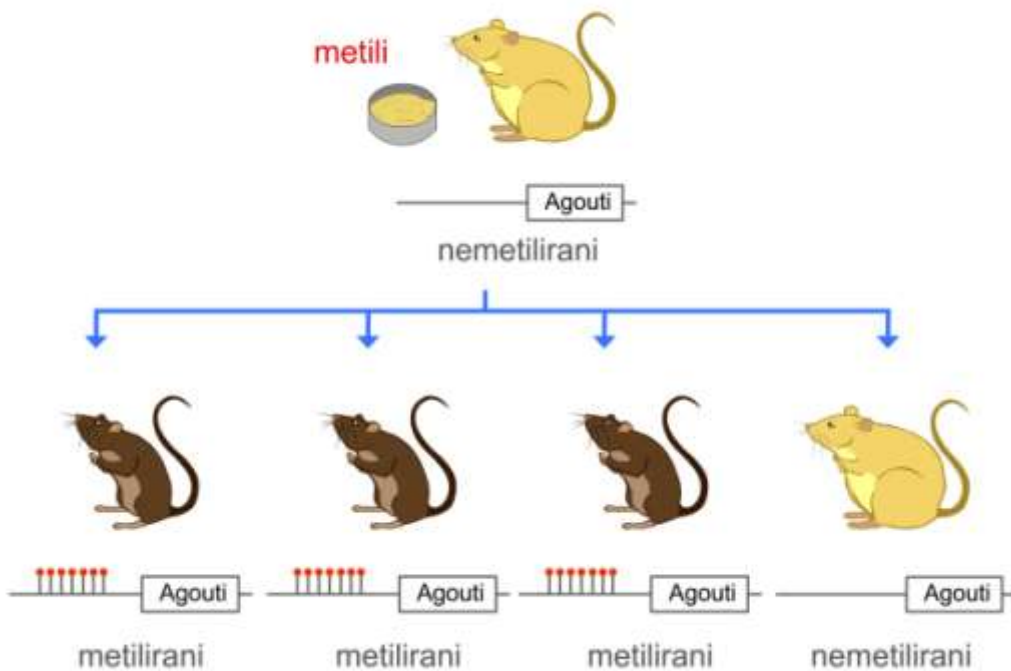
Kako hrana bogata metilima ima veliku ulogu u proizvodnji SAM, nedovoljan unos takve hrane utjecat će na metilaciju DNA. Tako majčina prehrana za vrijeme trudnoće može utjecati na epigenom potomstva.

Niz istraživanja na životinjama to potvrđuje. Miševi i drugi sisavci posjeduju gen *agouti*. U ljudi i miševa njegova ekspresija povezana je s pretilošću. Normalno je *agouti* gen metilirani i miševi s takvim genom imaju smeđe krzno, mršavi su i imaju manji rizik od bolesti u odnosu na miševe sa potpuno nemetiliranim *agouti* genom. Miševi s potpuno nemetiliranim *agouti* genom imaju žuto krzno, pretili su i skloni oboljevanju od dijabetesa i karcinoma. I smeđi i žuti miševi mogu biti genetički identični, a da se razlikuju samo na epigenetičkoj razini.

Ako se trudna normalna smeđa mišica tijekom trudnoće hrani hranom siromašnom metilima, ona će dati žuto i pretilo potomstvo (Slika 6.). S druge strane, ako žutu trudnu mišicu hranimo hranom bogatom metilima, ona će dati normalno smeđe potomstvo (Slika 7.) (Michaud et al. 1994).



**Slika 6.** Smeđa trudna mišica hranjena hranom siromašnom metilima i njezino potomstvo



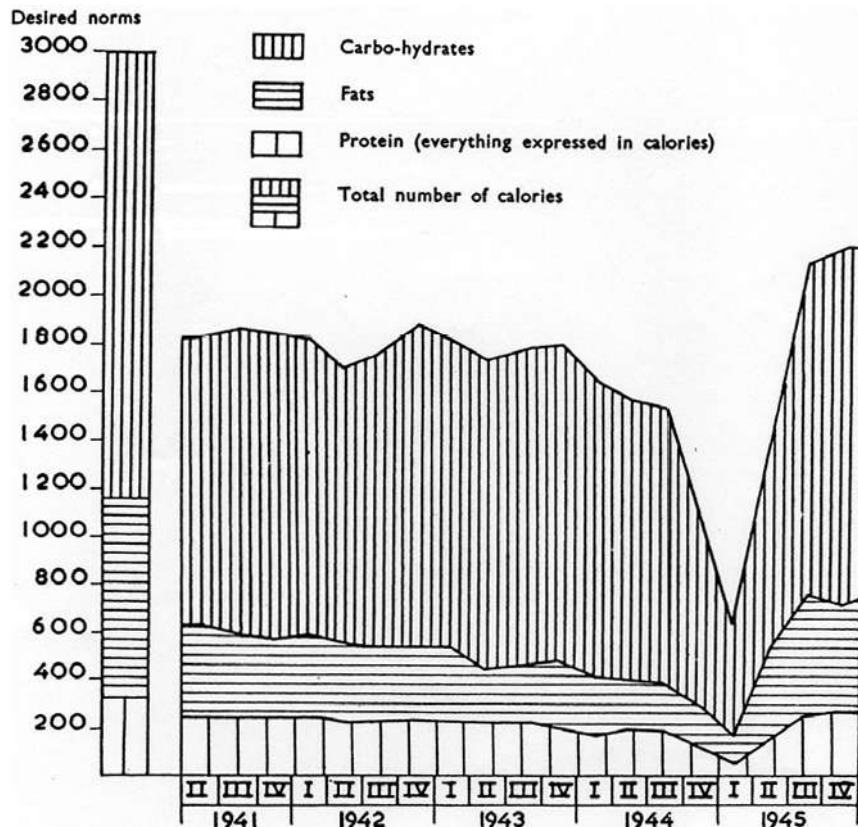
**Slika7.** Žuta trudna mišica hranjena hranom bogatom metilima i njezino potomstvo

Prehrana trudnih štakorica siromašna proteinima uzrokuje promjene u metilaciji gena jetre njihovih potomaka. Proteini su važan izvor esencijalnih aminokiselina, uključujući i metionin koji je uključenu biokemijski put SAM. Prehrana siromašna proteinima dovodi do hipometilacije gena *PPARα* (eng. *peroxisomal proliferator-activated receptor-α*) i *GR* (glukokortikoidni receptor). Promjene navedenih gena vežu se uz dislipidemiju i hipertenziju u odrasloj dobi. Hipometilacija *PPARα* i *GR* i indukcija promjenjenog fenotipa u potomaka može se sprječiti ako se u majčinu prehranu siromašnu proteinima uključi folna kiselina (Lillycrop et al. 2005). *De novo* metilaciju CpG dinukleotida kataliziraju DNMT3a i DNMT3b, dok DNMT1 metilira hemimetiliranu DNA nakon replikacije. Negativnom povratnom spregom, homocistein inhibira aktivnost DNMT1. Trudne štakorice hranjene s premalo proteina imale su povišenu koncentraciju homocisteina u krvi u ranoj fazi trudnoće. Kako homocistein djeluje negativno, a folna kiselina pozitivno na ekspresiju DNMT1, promjene u biokemijskom putu SAM mogu biti poveznica između majčine prehrane i epigenetičke regulacije ekspresije gena fetusa. Prehrana siromašna proteinima tijekom trudnoće uzrokuje smanjenu ekspresiju DNMT1, dok je ekspresija DNMT3a i DNMT3b nepromjenjena.

To navodi na zaključak da je hipometilacija *PPARα* i *GR* u jetri potomaka uzrokovana majčinim smanjenim unosom proteina, zbog čega je zakazala metilacija prije mitoze. U prilog tome ide činjenica da je smanjena ekspresija DNMT1 u majki s prehranom siromašnom proteinima spriječena uključivanjem folne kiseline u prehranu (Lillycrop 2007).

Izvoditi eksperimente na ljudima vezane uz pothranjivnje trudnica bilo bi u najmanju ruku neetično. Ipak, u povijesti postoje događaji iz kojih možemo dobiti saznanja o utjecaju pothranjenosti majki u vrijeme trudnoće na epigenom djeteta.

Jedna od rijetkih prilika je proučavanje osoba koje su *in utero* bile izložene gladi tijekom Nizozemske zime gladi (Lumey et al. 2007). Za vrijeme njemačke okupacije dijela Nizozemske pred kraj II. svjetskog rata, Njemci su blokirali opskrbu hranom okupiranih dijelova. Procjenjuje se da je 4.5 milijuna ljudi zahvatila glad, a oko 20 000 ih je umrlo. Za vrijeme tog razoblja registri i zdravstvena služba ostali su netaknuti, tako da se kasnije moglo ući u trag ljudima koji su prenatalno bili izloženi gladi. Uz to, jasno je definirano trajanje razdoblja gladi (studeni 1944.-svibanj1945.) i dokumentirane su službene raspodjele obroka (Slika 8.).

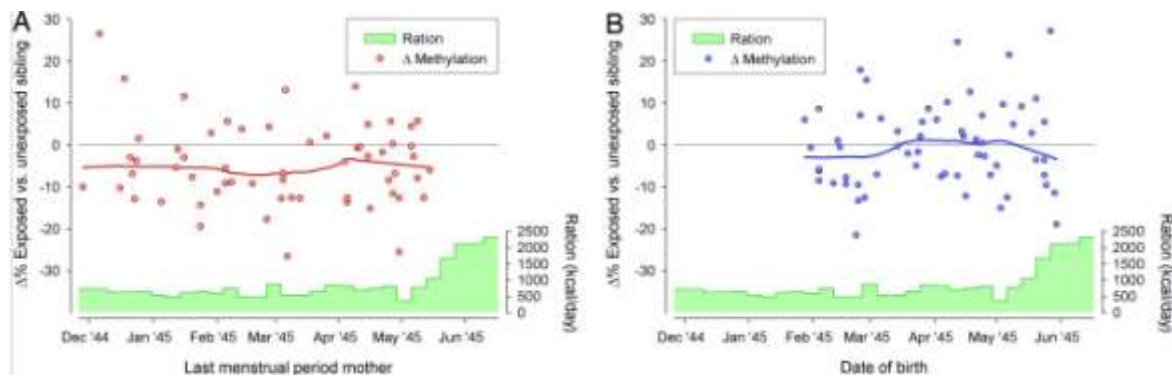


**Slika 8.** Raspodjela hrane u Zapadnoj Nizozemskoj 1941.-1945. Prema: Burger et al. (1948)

Prosječan dnevni unos hrane u tom razdoblju iznosio je 667 kcal po osobi. Prehrana se uglavnom sastojala od krumpira i kruha. Prosječno se unosilo 12% bjelančevina (od čega 4% životinjskog porijekla), 19% masti i 69% ugljikohidrata (Burger et al 1948). Pojam o tome koliki je bio manjak unosa kalorija je jasniji, ako se zna da bi žene trebale unositi 1500-2200 kcal na dan (ovisno o masi), a trudnice još dodatnih 150-350 kcal (ovisno o stadiju trudnoće).

U osoba koje su *in utero* bile izložene gladi, za vrijeme Nizozemske zime gladi, proučavana je metiliranost gena *IGF2* (prema eng. *insulin – like growth factor 2*). Dokazano je da pothranjenost majki za vrijeme trudnoće dovodi do promjena u metilaciji gena *IGF2* (Heijmans et al. 2008) potomaka. *IGF2* jedan je od najbolje opisanih epigenetski reguliranih lokusa i ključan je faktor za ljudski rast i razvoj. Uspoređivane su razlike u metilaciji *IGF2* između muškaraca i žena koji su *in utero* bili izloženi gladi u ranoj ili kasnoj fazi trudnoće i njihovih neizloženih srodnika istoga spola, koji su služili kao kontrole (Slika 9.). Metilacija *IGF2* je bila znatno slabija kod osoba izloženih gladi *in utero* u odnosu na njihove srodnike istog spola koji nisu bili izloženi gladi. Razlika u metilaciji *IGF2* između izloženih i

neizloženih nije nađena u osoba koje su gladi bile izložene u kasnijoj fazi trudnoće, najmanje 10 tjedana prije rođenja. Izloženost u ranoj fazi trudnoće povezana je sa 5 % nižom metilacijom u odnosu na neizložene srodnike.



**Slika 9.** Razlike u metilaciji *IGF2* gena između pojedinaca koji su bili *in utero* izloženi gladi i njihovih neizloženih srodnika istoga spola. (A) Perikoncepcijska izloženost (B) Izloženost u kasnoj trudnoći. (Izvor: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2579375/>)

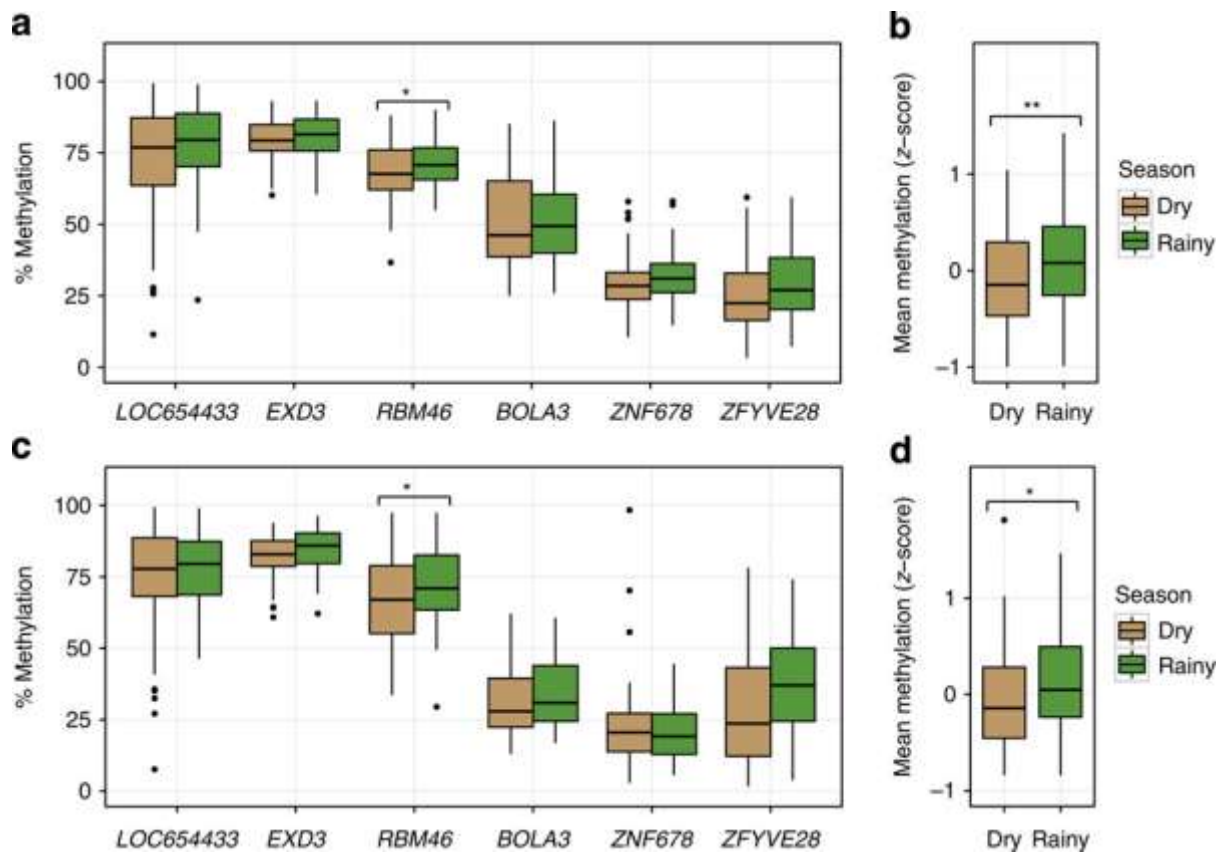
Hipometilacija, kao i u životinjskih modela, može biti povezana sa manjkom nutrijenata važnih za proizvodnju donora metila, kao što je amino kiselina metionin u čovjeka. Ovi rezultati pokazuju da prehrana vrlo rano u životu može urokovati trajne epigenetske promjene i u ljudi (Heijmans et al. 2008).

Daljnijim praćenjem osoba rođenih nakon Nizozemske zime gladi, u različitim istraživanjima ustanovljeno je da se u osoba koje su *in utero* bile izložene gladi češće javljaju određene bolesti u odrasloj dobi. Povećana tolerancija na glukozu češće se nalazi u osoba koje su bile izložene gladi u kasnoj fazi trudnoće (Ravelli et al. 1998). Veća je učestalost dijabetesa tipa 2, neovisno u kojoj fazi trudnoće je osoba bila izložena gladi (Lumey et al. 2009). Pretilost je učestalija u osoba koje su bile izložene u ranoj fazi trudnoće, osobito u žena. Te osobe imaju povećanu tjelesnu težinu, BMI i povećani opseg struka (Stein et al. 2007). Rizik oboljevanja od shizofrenije 2 puta je veći u osoba koje su *in utero* bile izložene gladi u ranoj fazi trudnoće u odnosu na neizložene (Susser et al. 1996).

Slični rezultati dobiveni su praćenjem osoba izloženih Kineskoj gladi. Glad je trajala od 1959.-1961. godine, kad je naglo pala proizvodnja žitarica. Živote su izgubili milijuni ljudi i ova glad se smatra najgorom u povijesti. Zbog načina raspodjele hrane, nisu sva područja bila u jednakoj mjeri zahvaćena. Težu glad iskusila su ruralna područja u odnosu na urbana (Lin & Yang 2000). Primjećeno je da je najveći učinak na zdravlje kasnije u životu bio kod osoba u najteže zahvaćenim područjima. Također, posljedice su bile znatno izraženije u osoba koje su bile izložene *in utero* u odnosu na one izložene u dojenačkoj dobi i djetinjstvu (Chen & Zhou 2007, Huang et al. 2010, Zheng et al. 2011, Gørgens et al. 2012, Woo et al. 2010). Istraživanja su pokazala da je *in utero* izloženost gladi povezana sa većim rizikom oboljevanja od shizofrenije (Huang et al. 2010), pretilosti (Luo et al. 2006, Yang et al. 2008), hipertenzije (Huang et al. 2010, Li et al. 2011), hiperglikemije (Li et al. 2010) i nastajanja metaboličkog sindroma (Zheng et al. 2011).

Iako je u većini slučajeva pri nestašici hrane smanjen unos energije i bitnih nutrijenata, čini se da veći utjecaj na epigenom potomstva ipak ima količina metila u hrani u odnosu na unesene kalorije.

U Gambiji se godišnje izmjenjuju kišno i suho razdoblje što uzrokuje velike razlike u prehrani. Za vrijeme kišne sezone hrana je manje dostupna. Moglo bi se očekivati da bi djeca žena koje su začele u suhom razdoblju mogle imati jače metiliranu DNA. No, usprkos tome što za vrijeme suhog razdoblja hrane ima više, za vrijeme kišnog razdoblja u prehranu je više uključena hrana bogatija metilima. Žene koje su začele u kišnom razdoblju imale su više plazmatske koncentracije tvari koje su ključne u biokemijski put SAM (metionin, kolin, folat, vitamini B2, B6, B12, SAM i drugi metaboliti) u odnosu na žene koje su začele u suhom razdoblju. Nakon rođenja, analizirana je DNA dojenčadi i ispitivana metilacija šest različitih gena. Dojenčad začeta u kišnom razdoblju imala su jaču metilaciju svih šest ispitanih gena (slika 10.) (Waterland et al. 2010, Domingues-Salas et al. 2014).



**Slika 10.** (a) Postotak metilacije šest gena PBL (limfociti periferne krvi) dojenčadi začete u vrijeme suhe ili kišne sezone. Medijan postotka metilacije je dosljedno viši u dojenčadi začete u kišnoj sezoni. (b) Srednji z-score svih šest gena je znatno viši u dojenčadi začetoj u kišnoj sezoni. (c) Postotak metilacije šest gena HF (folikul dlake) dojenčadi začete u vrijeme suhe ili kišne sezone. Cjelokupni obrazac metilacije sličan je kao i onaj uočen u PBL, što vrijedi i za srednji z-score (d) (Izvor: [http://www.nature.com/ncomms/2014/140429/ncomms4746/fig\\_tab/ncomms4746\\_F3.html](http://www.nature.com/ncomms/2014/140429/ncomms4746/fig_tab/ncomms4746_F3.html))

## 5.2. Preuhranjenost

Prema izvještajima WHO, prevalencija pretilosti danas je više nego dvostruko veća od 1980. godine. U 2014. godini, više od 1.9 milijardi starijih od 18 godina imaju povišenu tjelesnu težinu, a 13% su pretili. Posebno je zabrinjavajuće da je u 2013. godini 45 milijuna djece mlađe od 5 godina bilo pretilo. Nekada se pretilost smatrala problemom razvijenih zemalja, ali ona danas raste i u nerazvijenim zemljama i zemljama u razvoju. Pretilost dovodi do povećanog rizika oboljevanju od kardiovaskularnih bolesti, dijabetesa, koštano-mišićnih poremećaja i određenih vrsta karcinoma

(<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>). Zabrinjavajući je veliki porast prevalencije pretilosti u djece, koji se ne može pripisati samo genetici, lošoj prehrani i tjelesnoj aktivnosti. Iako genetičko ustrojstvo pojedinca može biti predispozicija za nastanak bolesti, može i epigenom, na koji mogu utjecati različiti čimbenici, pa tako i prehrana majke u vrijeme trudnoće.

Kod inzulinske rezistencije i dijabetesa tipa 2, povišena je jetrena glukoneogeneza, što dovodi do hiperglikemije. Istraživanja na štakorima pokazuju da prehrana s visokim udjelom masti ženki štakora tijekom trudnoće dovodi do promjene u ekspresiji gena glukoneogeneze fetusa. Mehanizam za nastanak promjena je utjecaj na histonske modifikacije *Pck1* (protein kinaza 1) gena u potomaka. Gen *Pck1* kodira enzim Pck1, koji ima važnu ulogu u glukoneogenezi. Iako su majke hranjene hranom s visokim udjelom masti, kod njih nije došlo do promjene u glukoneogenezi i povišenja koncentracije glukoze u krvi. No, njihovi potomci bili su znatno teži i imali su više koncentracije glukoze u krvi u usporedbi sa potomcima normalno hranjenih majki. Znatno je bila povišena količina mRNA gena glukoneogeneze. Osim pojačane transkripcije gena glukoneogeneze, prehrana s visokim udjelom masti utjecala je na modifikacije histona za gen *Pck1* u jetrama potomaka (Strakovsky et al. 2011). Može se zaključiti da intrauterina izloženost prehrani bogatoj mastima može dovesti do epigenetskih modifikacija koje utječu na glukoneogenezu, što može uzrokovati pretjeranu proizvodnju glukoze i promijenjenu osjetljivost na inzulin kasnije u životu.

U istraživanjima na modelima neljudskih primata također je dokazan utjecaj prehrane bogate mastima majke na epigenom potomstva. Ženkama Japanskih makakija tijekom trudnoće davana je hrana s visokim udjelom masti. To je u potomaka rezultiralo trostrukim povećanjem jetrenih triglicerida i promjenama jetre koje su histološki odgovarale nealkoholnoj masnoj bolesti jetre. Te promjene bile su popraćene epigenetskim

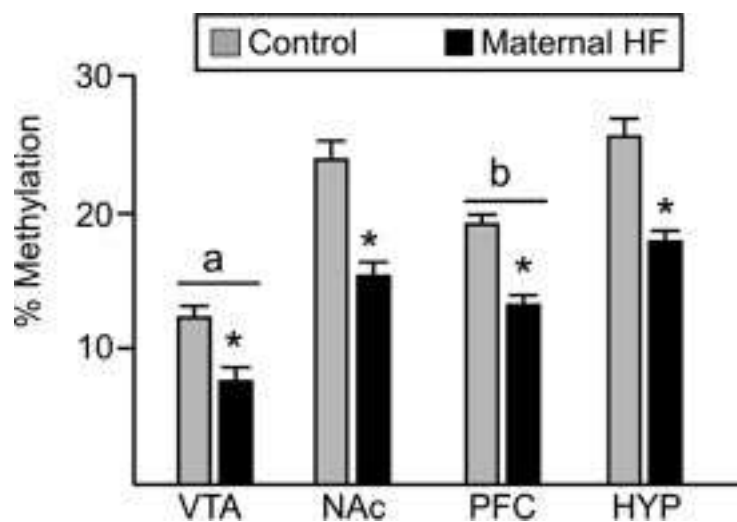


modifikacijama, u okviru izrazite acetilacije na H3 repu histona fetalnog tkiva jetre. Takva modifikacija histona je vjerojatno povezana sa reprogramiranom ekspresijom fetalnih gena koja postnatalno dovodi do razvitka pretilog fenotipa (Aagaard-Tillery et al 2008).

Moguće je da i vrsta hrane koju majka konzumira u vrijeme trudnoće, epigenetskim mehanizmima izazove slične sklonosti i u potomstva. Ako majka na taj način može prenijeti sklonost brzoj i nezdravoj hrani na dijete, takve sklonosti mogu dovesti do većeg rizika od pretilosti, dijabetesa i kardiovaskularnih bolesti. Istraživanja na životinjama pokazala su da majčina konzumacija hrane bogate šećerom, masti i soli, za vrijeme trudnoće, može utjecati na sklonost prehrani u potomstva (Teegarden et al 2008, Bayol et al 2007). Moguće je da isto vrijedi i za ljude. U istraživanju koje je uključivalo veliki broj ljudi i koje je pratilo majke, djecu i očeve te njihov način prehrane i tjelesnu građu, došlo se do zaključka da sklonosti proteinima, ugljikohidratima i mastima u prehrani mogu biti programirane majčinim unosom takve hrane za vrijeme trudnoće. Veći unos makronutrijenata (proteini, masti, šećer) u majki za vrijeme trudnoće povezan je sa većim unosom istih nutrijenata u djece kasnije u životu. Povezanost sklonosti hrani majki i djece izraženija je nego povezanost sklonosti hrani očeva i djece. Također, vezano za unos masti i proteina, povezanost je izraženija načinu prehrane kojom su se majke hranile za vrijeme trudnoće u odnosu na onu nakon trudnoće (Brion et al. 2010).

Jedan od mogućih mehanizama za nastanak sklonosti vrsti prehrane predložen je u istraživanju na miševima. Ženke miševa za vrijeme trudnoće i laktacije hranjene su hranom s visokim udjelom masti. To je u potomaka uzrokovalo epigenetske modifikacije u ekspresiji gena vezanih uz dopamin i endogene opioide unutar mezokortikolimbickog kruga i hipotalamusa (Slika 11.). Epigenetske promjene bile su hipometilacija u regiji promotora, što je potencijalni mehanizam za dugoročno povišenu ekspresiju dopaminskih gena i gena vezanih za opioide, koja je primjećena u potomaka. Mezokortikolimbicki krug smatra se odgovornim za obradu nagrađujućih svojstava hrane. Došlo je do pojačane ekspresije *DAT* (prema eng. *dopamine active transporter*) u VTA (prema eng. *ventral tegmental area*), NAc (*nucleus accumbens*) i PFC (prefrontalni korteks), kao i sniženja ekspresije *D1*, *D2* receptora i *DARPP-32* (prema eng. *dopamine- and cAMP-regulated phosphoprotein*) unutar NAc i PFC. Sveukupno, ove promjene dovele su do hipodopaminergičnog stanja sa pojačanom ponovnom pohranom dopamina (preko pojačane ekspresije *DAT* i signaliziranja putem receptora). Hipodopaminergično stanje veže se uz veće konzumiranje nagrađujućih stimulansa u nastojanju da se povrati homeostaza u ovom krugu. Genska ekspresija vezana uz

dopamin promijenila se i u hipotalamusu. Suprotno promjenama u mezokortikolimbickim strukturama, u hipotalamusu je došlo do pojačane ekspresije *TH* (tirozin hidroksilaza ) i smanjene ekspresije *DAT*. U skladu s tim nalazima, dopamin u hipotalamusu djeluje poticajno na unos hrane. Promjene gena vezane uz opioide uključuju pojačanu ekspresiju  $\mu$ -opioidnih receptora i preproenkefalina (opijatni ligand), koji su povezani s unosom hrane koji izaziva ugodu. Potomci su imali veću sklonost hrani bogatijom mastim i šećerom, u odnosu na kontrole . Ovakve sklonosti prehrani nose veći rizik za razvoj pretilosti (Vucetic et al. 2010).



**Slika 11.** Potomci majki hranjenih hranom s visokim udjelom masti imaju znatno manje metiliranu DNA u regijama mozga. (izvor: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2946145/figure/F4/>)

## 6. ZAKLJUČAK

Neuravnotežena prehrana majke za vrijeme trudnoće i laktacije koja uključuje i pothranjenost i preuhranjenost može dovesti do povećanog rizika oboljevanja od različitih bolesti i poremećaja metabolizma potomakakasnije u životu. Tako se izloženost neuravnoteženoj prehrani majke povezuje s povećanom tolerancijom glukoze, metaboličkim sindromom, dijabetesom tipa 2, pretilošću, shizofrenijom i kardiovaskularnim bolestima kasnije u životu potomaka. Epigenetski biljezi uspostavljaju se u vrijeme embriogeneze i u ranom postnatalnom razdoblju. Normalno odvijanje epigenetičkih procesa ovisi o dostupnosti određenih spojeva koji se unose prehranom. Kako prehrana ploda i dojenčeta ovise o prehrani majke, tako će njezina prehrana utjecati na njihove epigenetske obrasce. Dobar primjer su tvari uključene u biokemijski put SAM, koje su dostupne u različitim namirnicama, a čijom nedovoljnom zastupljenosti u prehrani nije moguća normalna metilacija DNA. S druge strane, i pretjetjerana zastupljenost određenih nutrijenata, kao što su npr. masti, također dovodi do nenormalnog odvijanja epigenetičkih procesa. To je posebno zabrinjavajuće zbog širenja zapadnjačkog načina prehrane i u druge, nerazvijenije zemlje i velikog porasta prevalencije pretilosti od 1980. godine do danas.

Boljim razumijevanjem epigenetičkih mehanizama i povezanosti između prehrane i epigenoma, otvara se sve više prilika za kliničku primjenu tih saznanja. Tako bi se teoretski smanjila incidencija različitih bolesti, kad bi žene tijekom trudnoće i laktacije uzimale hranu ili suplemente potrebne za balansirano odvijanje epigenetičkih procesa.

## **7. ZAHVALE**

Iskreno zahvaljujem mentorici prof. dr. sc. Maji Vlahović na predloženoj temi i uloženom trudu. Omogućila mi je pristup potrebnoj literaturi, te se pobrinula da odgovori na sva moja pitanja. Hvala joj, što je toliko konkretna i pristupačna, jer to mi je uvelike pojednostavilo pisanje diplomskog rada.

Zahvaljujem se i svima ostalima koji su mi bili podrška tijekom pisanja ovoga rada, a naročito svojoj obitelji.

## 8. LITERATURA

Aagaard-Tillery KM, Grove K, Bishop J, Ke X, Fu Q, McKnight R et al. (2008).

Developmental origins of disease and determinants of chromatin structure: maternal diet modifies the primate fetal epigenome. *J Mol Endocrinol* 41:91-102

Bayol SA, Farrington SJ, Stickland NC (2007). A maternal ‘junk food’ diet in pregnancy and lactation promotes an exacerbated taste for ‘junk food’ and a greater propensity for obesity in rat offspring. *Br J Nutr* 98:843–851

Barrero MJ, Boue S, Belmonte JCI(2010). Epigenetic mechanisms that regulate cell identity. *Cell Stem Cell* 7(5): 565-570.

Berger SL, Kouzarides T, Shiekhatar R, Shilatifard A (2009). An operational definition of epigenetics. *Genes Dev* 23:781-783

Brion MJ, Ness AR, Rogers I, Emmett P, Cribb V, Smith GD, Lawlor DA (2010). Maternal macronutrient and energy intakes in pregnancy and offspring intake at 10 y: exploring parental comparisons and prenatal effects. *Am J Clin Nutr* 91:748–756

Burger GCE, Drummond JC, Sandstead HR (1948). Malnutrition and Starvation in Western Netherlands, September 1944-July 1945, Part 1 and 2. General State Printing Office, The Hague

Chen Y, Zhou L.A (2007). The Long-term Health and Economic Consequences of the 1959–1961 Famine in China. *J Health Economics*, 26, 659-81.

Collins LJ, Schonfeld B, Chen XS (2011). The Epigenetics of Non-Coding RNA. *Handbook of epigenetics: the new molecular and medical genetics*. DOI: 10.1016/B978-0-12-375709-8.00004-6

Dominguez-Salas P, Moore SE, Baker MS, Bergen AW, Cox SE, Dyer RE, Fulford AJ, Guan Y, Laritsky E, Silver MJ, Swan GE, Zeisel SH, Innis SM, Waterland RA, Prentice AM,

Hennig BJ (2014). Maternal nutrition at conception modulates DNA methylation of human metastable epialleles. *Nature Communications*. doi:10.1038/ncomms4746

Fuks F, Hurd PJ, Wolf D, Nan X, Bird AP, Kouzarides T (2003). The methyl-CpG binding protein MeCP2 links DNA methylation to histone methylation. *J Biol Chem* 278:4035-4040

Gørgens T, Meng X, Vaithianathan R (2012). Stunting and selection effects of famine: A case study of the Great Chinese Famine. *J Development Economics*, 97, 99–111 C.

Heijmans BT, Tobi EW, Stein DA, Putter H, Blauw GJ, Slusser ES, Slagboom PE, Lumey LH (2008). Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 105(44): 17046–17049

Huang C, Li Z, Wang M, Martorell R (2010). Early life exposure to the 1959-1961 Chinese famine has long-term health consequences. *J Nutr*, 140, 1874-8.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2579375/>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3405985/figure/F1/>

<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>.

Kala R, Peek GW, Hardy TM, Tollefsbol TO (2013). MicroRNAs: an emerging science in cancer epigenetics. *J. Clin. Bioinforma.* 3:6. doi: 10.1186/2043-9113-3-6

Lillicrop KA, Phillips ES, Jackson AA, Hanson MA, Burdge GC (2005). Dietary protein restriction of pregnant rats induces and folic acid supplementation prevents epigenetic modification of hepatic gene expression in the offspring. *J. Nutr.* 135, 1382–1386

Lillicrop KA, Slater-Jeffers JL, Hanson MA, Godfrey KM, Jackson AA, Burdge GC (2007). Induction of altered epigenetic regulation of the hepatic glucocorticoid receptor in the offspring of rats fed a protein-restricted diet during pregnancy suggest that reduced DNA methyltransferase-1 expression is involved in impaired DNA methylation and changes in histone modifications. *Br J Nutr*;97:1064-1073.

Lilycrop KA, Hanson MA, Burdge GC (2009). Epigenetics and the Influence of Maternal Diet. Newnham JP, Ross MG (eds). *Early life of Human Health and Disease*. Basel, Karger

Li Y, He Y, Qi L, Jaddoe VW, Feskens EJ, Yang X, Ma G, Hu FB (2010). Exposure to the Chinese famine in early life and the risk of hyperglycemia and type 2 diabetes in adulthood. *Diabetes*, 59, 2400-6.

Li Y, Jaddoe VW, Qi L, He Y, Lai J, Wang J, Zhang J, Hu Y, Ding EL, Yang X, Hu FB, Ma G (2011) Exposure to the Chinese famine in early life and the risk of hypertension in adulthood. *J Hypertens* 29, 1085-92

Lin JY, Yang DT (2000). Food Availability, Entitlements and the Chinese Famine of 1959–61. *Econ J*, 111, 136–58.

Lumey LH, Stein AD, Kahn HS, van der Pal-de Bruin KM, Blauw GJ, Zybert PA, Susser ES (2007). Cohort profile: The Dutch Hunger Winter Families Study. *Int J Epidemiol* 36:1196-1204

Lumey LH, Stein AD, Kahn HS (2009). Food restriction during gestation and impaired fasting glucose or glucose tolerance and type 2 diabetes mellitus in adulthood: evidence from the Dutch Hunger Winter Families Study. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease* 1(S1):S164.

Luo Z, Mu R, Zhang X (2006). Famine and overweight in China. *Rev Agricultural Economics*, 28, 296-304

Mayer W, Niveleau A, Walter J, Fundele R, Haaf T (2000). Demethylation of the zygotic paternal genome. *Nature* 403(6769):501-592

Michaud EJ, van Vugt MJ, et al. (1994). Differential expression of a new dominant agouti allele (Ai<sub>ap</sub>) is correlated with methylation state and is influenced by parental lineage. *Genes Dev* 8(12): 1463-1472

Murray RK, Bender DA, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil PA (2009). Harper's Illustrated Biochemistry, Twenty-Eight Edition, USA, McGraw-Hill Medical

Ravelli AC, van der Meulen JH, Michels RP, Osmond C, Barker DJ, Hales CN, et al. (1998). Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. *Lancet* 351(9097):173-7

Riggs AD, Martienssen RA, Russo VEA (1996). Introduction. Russo VEA, et al. Epigenetic mechanisms of gene regulation. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.

Stein AD, Kahn HS, Rundle A, Zybert PA, van der Pal-de Bruin K, Lumey LH (2007). Anthropometric measures in middle age after exposure to famine during gestation: evidence from the Dutch famine. *Am. J. Clin. Nutr.* 85(3):869-76.

Strakovsky RS, Zhang X, Zhou D, Pan YX (2011). Gestational high fat diet programs modification in neonatal offspring rats. *J Physiol* 589:2707-2717

Susser E, Neugebauer R, Hoek HW, Brown AS, Lin S, Labovitz D, et al. (1996). Schizophrenia after prenatal famine. Further evidence. *Arch. Gen. Psychiatry* 53(1):25-31.

Teegarden SL, Scott AN, Bale TL (2009). Early life exposure to a high fat diet promotes long-term changes in dietary preferences and central reward signaling. *Neuroscience* 162:924–932

Vlahovic M, Sincic N (2012). Epigenetika: Mehanizmi genetske kontrle. Laboratorij za epigenetiku i molekularnu medicinu. Zavod za biologiju. Medicinski fakultet Zagreb

Vucetic Z, Kimmel J, Totoki K, Hollenbeck E, Reyes TM (2010). Maternal High-Fat Diet Alters Methylation and Gene Expression of Dopamine and Opioid-Related Genes. *Endocrinology* 151(10): 4756-4764

Waddington CH (1942). The epigenotype. *Endeavour* 1:18–20



Waterland RA, Kellermayer R, Laritsky E, Rayco-Solon P, Harris RA, et al. (2010). Season of Conception in Rural Gambia Affects DNA Methylation at Putative Human Metastable Epialleles. *PLoS Genet* 6(12): e1001252. doi:10.1371/journal.pgen.1001252

Woo J, Leung JC, Wong SY (2010). Impact of childhood experience of famine on late life health. *J Nutr Health Aging*, 14, 91-95.

Yang Z, Zhao W, Zhang X, Mu R, Zhai Y, Kong L, Chen C (2008). Impact of famine during pregnancy and infancy on health in adulthood. *Obes Rev*, 9(Suppl. 1), S95-99.

Zheng X, Wang Y, Ren W, Luo R, Zhang S, Zhang JH, Zeng Q (2011). Risk of metabolic syndrome in adults exposed to the great Chinese famine during the fetal life and early childhood. *Eur J Clin Nutr*, doi: 10.1038/ejcn.2011.161

## **9. ŽIVOTOPIS**

Rođen sam 29. kolovoza 1990. godine u Zagrebu. Nakon završene Osnovne škole Rapska u Zagrebu, pohađao sam i završio II. gimnaziju u Zagrebu. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisao sam 2009. godine.