

Epigenetika u reprodukciji i razvoju

Floriana Bulić-Jakuš*

U preglednom radu predstavljen je suvremeni pogled na epigenetiku u reprodukciji i razvoju sisavaca. Osnovni epigenetički mehanizmi kao DNA metilacija, posttranslacijske promjene histona i nekodirajućeg RNA-a, bez zadiranja u nukleotidni redoslijed DNA molekule, reguliraju gensku ekspresiju a time i proliferaciju, diferencijaciju, dediferencijaciju stanica i tumorigenezu. Epigenetički lijekovi i nezrele embrionalne stanice počinju se primjenjivati u novim terapijskim strategijama humane medicine. Budući da su epigenetički mehanizmi uključeni u razvoj gameta i zametka sisavaca, od velike su važnosti opisani životinjski eksperimentalni modeli na kojima se mogu pratiti epigenetičke promjene, posebno u metilaciji DNA-a, i njihov utjecaj na potomstvo. Štetni utjecaji iz okoliša (npr. neishranjenost skotne ženke) mogu izazvati promjene fenotipa također u slijedećih generacija, što se prenosi transgeneracijskim (ili intergeneracijskim) epigenetičkim učincima, a čini se da se neki od njih nepoznatim mehanizmima prenose preko gameta i na F3 generaciju koja nije nikad bila izložena štetnom agensu (npr. vinclozolin). Novi koncept razvojnog podrijetla zdravlja i bolesti upućuje na poremećaj epigenetike u razvoju pretilosti i dijabetesa tipa 2 u čovjeka (npr. zbog neishranjenosti majke za vrijeme gestacije), pa se danas govori o „štedljivom epigenotipu“. Štetni čimbenici iz okoliša čini se da mijenjaju epigenom čovjeka, pa bi specifične epigenetičke promjene mogle poslužiti kao biljezi izloženosti. Pitanje nasljednosti epigenotipa i njegovog stvarnog značenja za razvoj bolesti u slijedećih generacija zanimljivo je i važno pitanje koje se intenzivno istražuje na multidisciplinarnan način.

Ključne riječi: epigenetika; reprodukcija; rast i razvoj; sisavci; čovjek

Biologija (genetika) definira epigenetiku kao proučavanje mitotički ili mejotički nasljedne promjene genske ekspresije ili staničnog fenotipa. Promjene su prouzrokovane mehanizmima koji ne mijenjaju nukleotidni redoslijed molekule DNA-a kao što to radi mutacija. Epigenetika se bavi nasljednim, ali i reverzibilnim oznakama (engl. *marks*) koje se postavljaju na nepromijenjeni genom, pa se stoga i naziv mutacija u okviru epigenetike mijenja u „epimutacija“, a sukladno genetičkom nazivlju govori se i o „epigenomu“ i „epigenotipu“. Tri kategorije signala potrebne su za postizanje nasljednog epigenetičkog statusa. Izvanstanični signal tzv. „epigenator“ potječe iz okoliša i započinje epigenetički put (npr. promjene temperature, diferencijacijski signali). „Epigenetički inicijator“ dobiva signal od epigenatora i određuje mjesto u kromatinu za djelovanje epigenetičkog puta. Epigenetički održivač održava kromatinski okoliš u početnoj i slijedećim generacijama. Za zadržavanje kromatinskog miljea može biti potrebna suradnja inicijatora i održivača (1).

Budući da epigenetičke promjene omogućavaju regulaciju genske ekspresije, danas je jasno da epigenetika ima pre-

sudnu ulogu u regulaciji proliferacije, diferencijacije, dediferencijacije i tumorigeneze. Zagrebačka embriološka škola s Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu ima dugu tradiciju istraživanja ovakvih razvojnih procesa u sisavaca, koju je započeo pionir razvojne biologije sisavaca u nas, pok. akademik Nikola Škreb. On je svojim teratološkim pokusima sredinom prošlog stoljeća otkrio da se nakon pojave mezoderma u štakora gubi tzv. efekt „sve ili ništa“, pa se javljaju kongenitalne malformacije. Drugo veliko otkriće Škreba i njegovih suradnika Davora Soltera i Ivana Damjanova bilo je da se zametak miša transplantiran na ektopično mjesto razvija u teratokarcinom (2, 3). U novim strategijama regenerativne medicine u kojima se primjenjuje transplantacija embrionalnih matičnih stanica, govori se baš o opasnosti

* Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet, Katedra za medicinsku biologiju, Zagreb, Hrvatska

Adresa za dopisivanje:

Prof. dr. sc. Floriana Bulić-Jakuš, Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet, Katedra za medicinsku biologiju, Šalata 3, 10000 Zagreb, Hrvatska, E-mail: floriana@mef.hr

Primljeno/Received: 19. 9. 2013., Prihvaćeno/Accepted: 10. 10. 2013

od maligne transformacije embrionalnih stanica, a nedavno je jedan takav neoprezan pokušaj terapije u čovjeka rezultirao pojavom malignog tumora (4).

Tri su osnovna epigenetička mehanizma uključena u regulaciju genske ekspresije. Metilacija DNA-a, tj. ugradnja metilne skupine u citozin (većinom u CpG dinukleotidnim sekvencama), pomoću DNA metiltransferaza najčešće negativno regulira gensku ekspresiju u genskim promotorima. Posttranslacijska acetilacija histona, relaksirajući kromatin, olakšava gensku ekspresiju, a nekodirajuće molekule RNA-a utišavaju gensku ekspresiju na razini RNA-a (npr. mikro RNA-i, mali interferirajući RNA-i) ili u kromatinu (npr. dugački nekodirajući RNA-i). Ovi su mehanizmi osnova za nove terapijske pristupe, pa se DNA demetilacijska sredstva, inhibitori histonskih deacetilaza ili RNA interferencija primjenjuju u liječenju malignih bolesti (5). Treba istaknuti da takvo zadiranje u regulaciju genske ekspresije može rezultirati nuspojavama kao što su kongenitalne malformacije u potomstvu. DNA demetilacijski agens 5-azacitidin, koji se primjenjuje u liječenju mijelodisplastičnog sindroma, u eksperimentalnih životinja izaziva značajno smanjenje rasta i malformacije udova, ali i promjene u placenti (6, 7). Ekspantacijom pupoljaka udova i njihovom kultivacijom *ex vivo* u *in vitro* modelu otkriven je izravni negativni učinak 5-azacitidina na rast čitavog organa i proliferaciju stanica (8). Kondenzacija kromatina u heterokromatin putem metilacije histona na lizinskim ostatcima i zaustavljanje ekspresije *Bdnf* u hipokampusu javlja se u socijalnom porazu, a metilacija citozina u promotoru i privlačenje transkripcijskih represora (*SIN3A*, *MeCP2*, tj. *methyl-CpG binding protein 2* i histonskih deacetilaza (*HDACs*) zamijećena je u genu za glukokortikoidni receptor u štakorica s urođenim smanjenjem majčinskog ponašanja. Inhibitori histonskih deacetilaza (*HDI*) imaju antidepresivni učinak (9), a u skupinu *HDI* pripada i antiepileptik valproat koji se danas primjenjuje i u pokusnim terapijama malignih bolesti.

Metilacija DNA molekule u ranom razvoju zametka sisavca i spolnih stanica dinamičan je proces. Spermij posjeduje viši stupanj metilacije od oocite, ali nakon oplodnje, za vrijeme brazdanja, stupanj metilacije se snižava, pa je najniži u blastocisti. Nakon toga dolazi do *de novo* metilacije, visokog stupnja u epiblastu, nižeg u ekstraembrionalnim tkivima i tipičnog obrasca metilacije za pojedina tkiva koja se diferenciraju. U spolnim prastanicama metilacija se smanjuje, a procesi demetilacije su tek nedavno opisani (10). U spolnim prastanicama zametka odvija se također i proces genomskog utiskivanja (engl. *genomic imprinting*). Pokus transplatacije pronukleusa mišeje zigote koji je 1984. proveo *Davor Solter*, pokazao je da „ginogenetički“ (dva ženska pronukleusa u zigoti) i „androgenetički“ (dva muška pronukleusa u zigoti) zametci ne mogu preživjeti, a to je uputilo na razliku u

„utiskivanju“ muškog i ženskog genoma (11). Naime, neki geni se izražavaju samo s jednog alela, onog naslijeđenog od majke ili onog naslijeđenog od oca. Diferencijalno metilirane regije (*DMR*), tj. *ICR* (engl. *imprint control region*), one su koje određuju s kojeg alela će se gen izražavati. Takav se genski utisak ne mijenja tijekom života jedinke (od zigote do odraslog organizma) nego se nasljeđuje u svim stanicama jedinke, osim u spolnim stanicama. U spolnim prastanicama jedinke (još za vrijeme fetalnog razvoja) dolazi do brisanja pojedinog genskog utiska, a kasnije (prenatalno u prospermatogonijama i postnatalno u oociti prije metafaze II.) uspostavlja se novi utisak ovisno o spolu jedinke. Danas se zna da je i na muškim i na ženskim *DMR*-ima nemetilirani alel povezan s *H3/H4* acetilacijom i dimetilacijom lizina 4 histona *H3* (*H3K4me2*), koji su obilježja permisivnog kromatina. Nasuprot tome, metilirani alel je uvijek povezan s histonskim oznakama karakterističnim za represivni kromatin: trimetilacija lizina 9 histona *H3* (*H3K9me3*), trimetilacija lizina 20 histona *H4* (*H4K20me3*) i simetrična dimetilacija arginina 3 histona *H4/H2A* (*H4/H2AR3me2s*). Osim toga, važni su i nehistonski proteini kao *KRAB* protein sa cinkovim prstima *ZFP57* (12). Utisnuti geni se obično javljaju u nakupinama, dijeleći regulatorne elemente, a njihova prisutnost i doziranost potrebna je za važne životne procese, kao što je primjerice prelazak na samostalni život u miša koji je onemogućen promjenom utiskivanja gena važnih za razvoj smeđeg masnog tkiva (13). Modulacija doze utisnutih gena (oko 100) vjerojatno igra glavnu ulogu u plastičnosti razvoja fetusa, koja se javlja pod utjecajem okoliša kao i u plastičnosti razvoja pojedinih stanica ili populacija matičnih stanica. Doziranje utisnutih gena modulira se putem kanonskih mehanizama (transkripcijskim faktorima) ili opuštanjem utiska reaktivacijom utišanog alela (14). Specifične promjene doziranja genskih utisaka tijekom razvoja mogle bi se upotrijebiti kao biosenzor za izloženost čimbenicima okoliša u čovjeka (15). Naime, u posljednje vrijeme se istražuje utjecaj faktora iz okoliša na abnormalan *in utero* razvoj organskih sustava i/ili procesa adaptacije koji vodi bolestima odraslog: metaboličke bolesti, kardiovaskularna bolest, poremećaji funkcije *SŽS-a*/ponašanja. Smatra se da u tome sudjeluju nasljedne promjene epigenetičkog statusa.

U životinjskim modelima kao što su aguti miševi (engl. *agouti viable yellow*) i miševi zavinuta repa (engl. *kinky tail*) istražuju se posebni mehanizmi nasljeđivanja fenotipa povezani s tzv. „metastabilnim epialelima“. *IAP* *LTR*-retrotranspozoni koji se nalaze u cis-položaju s obzirom na gene aguti *vy* i *axin* (*fu*) mogu se metilirati, pri čemu se gubi njihova aktivnost i tipični fenotipovi kao žuta boja tijela i pretilost (boja prelazi u tamnu, a miševi su mršavi) ili zavinuti rep (postaje ravan). Aguti *vy* epigenetičko nasljeđivanje odvija se putem majke, a *Axin* (*fu*) putem majčinskog i očinskog prije-

nosa (16). Ako se metilacija IAP dogodi kasnije u razvoju, aguti miševi dobivaju tamne mrlje na žutom krznu.

Kad su se aguti ženke prije trudnoće, za vrijeme trudnoće i laktacije hranile donorima metilne skupine (folnom kiselinom, kolinom, vitaminom B₁₂, betainom) ili fitoestrogenom genisteinom, potomstvo im je u većem postotku bilo tamnijeg krzna zbog veće metilacije i inaktivacije IAP retrotranspozona. *Dolinoy* je hranila miševe bisfenolom A (BPA), što je pomaknulo boju krzna potomstva prema žutoj, a donori metilne skupine u hrani su je vratili na tamniju (17). Bisfenol A se nalazi posvuda u okolišu, jer služi u proizvodnji plastike i epoksi smola, a veže se na estrogene i njima slične receptore te ostale receptore steroida iz gonada. BPA prekida perinatalni kloridni pomak, koji je važan korak u normalnom funkcioniranju zrelog SZS-a, a osjetljiviji je mozak u ženskog potomstva. U ovom procesu povećana je ekspresija gena *KCC2/Kcc2* koja se odvija u štakora između stadija E17 i P20 u štakorskih neurona (prije okota), a u ljudi od drugog trimestra trudnoće s vrhuncem pri rođenju (18). U ljudi se intenzivno istražuje izloženosti BPA-a u čovjeka (od 91 studije 54 je objavljeno prošle godine). Epidemiološki podatci povezuju koncentraciju BPA-a s metaboličkim poremećajima, promjenama ponašanja i reproduktivnim učincima (19). Veće koncentracije BPA-a u prepubertetskih djevojaka povezane su s hipometilacijom gena za imunost, aktivnost transporta, metabolizma i kaspaze, a posebno CpG ciljnih sekvenci na kromosomu X, što upućuje na potencijalnu vrijednost epigenetičke epidemiologije u otkrivanju biomarkera ekspozicije i razvoju dijagnostičkih strategija baziranih na epigenetici (20).

U majci za vrijeme gestacije (F₀) razvija se F₁ generacija, a u njoj spolne stanice koje su osnova za razvoj F₂ generacije. Nakon tretiranja F₀ generacije vinklozolinom, *Skinner* je opisao promjene koje se prenose preko oca i u F₃ generaciju. Dakle, F₃ odrasli miševi nisu nikad bili izloženi ovom faktoru iz okoliša, a iskazuju promjene fenotipa te razvijaju bolesti testisa, prostate, bubrega, imunosti, ponašanja i rak. Mužjaci i ženke F₃ imaju različite somatske transkriptome i hipotetske "epigenetičke kontrolne regije" (engl. *Epigenetic control regions* – ECR) koje bi regulirale veće skupine gena na kromosomu, a koje bi tek trebalo dokazati (21). Nakon različitih tretmana (plastika, dioksin, avionsko gorivo) F₃ ženke su ulazile u rani pubertet, a smanjivao se značajno broj primordijalnih folikula kroz generacije. Diferencijalno metilirane regije (DMR) spermija su bile identificirane u svim linijama ekspozicije i ponašale su se konzistentno u skladu s vrstom ekspozicije, ali su bile međusobno različite. Zapravo nije poznato kako transgeneracijske epimutacije "preživljavaju" gore opisanu dinamiku demetilacijskih i metilacijskih promjena prilikom prijenosa na potomstvo (22).

U neishranjenih miševa, što se tiče nasljednih fenotipova odraslih, redukcija porođajne mase očituje se do F2 potomstva, prenoseći se preko očinske linije, pretilost se prenosi preko majčinske linije, a intolerancija na glukozu preko muške i ženske linije (23). Iako se mislilo da utisnuti geni (funkcionalno monoalelni) zbog svoje važnosti za rani razvoj i razvoj metaboličke osovine mogu biti posebno osjetljivi na okoliš, a njihove kontrolne regije (ICR) na epigenetičke promjene kao odgovor na inzulte u ranom razvoju, *Ferguson-Smith* je pokazala da oni općenito nisu ni podložniji niti otporniji od ostalih gena na promjene ekspresivnosti u F1 i F2 generaciji neishranjenih majki, a ni kontrolne regije za utiskivanje (ICR) u zametnoj liniji nisu osjetljive na restrikciju prehrane. Opisane iznimke od tog pravila mogu biti važne u stjecanju fenotipskih razlika tretiranog potomstva i njihovom daljnjem prijenosu (24).

U čovjeka je poznato da je teška kalorijska restrikcija *in utero* povezana s povećanim rizikom za metaboličku i kardiovaskularnu bolest u potomaka. Također je povećan neonatalni adipozitet u unuka žena koje su gladovale. Potomstvo prenatalno eksponiranih očeva, ali ne i majki, bilo je teže i deblje nego normalno, što može dovesti do njihove veće podložnosti kroničnim bolestima (25). U doba velike epidemije pretilosti i fenotipova dijabetesa tipa 2 potrebno je razumijevanje intergeneracijskog programiranja metaboličkih bolesti odraslih. Znanstvenici koji se bave istraživanjem prijenosa fenotipa na potomstvo danas govore o transgeneracijskim (ili intergeneracijskim) epigenetičkim učincima. To su učinci na fenotipu (ili uzorcima genske ekspresije) koji se pronađu u više generacija, a ne mogu se objasniti Mendelovim pravilima nasljeđivanja (ili promjenama primarne strukture DNA-a). Ovdje su uključeni učinci izlaganja okolišu odraslih, što mijenja fenotip zametka koji se razvija, i to putem placente ili novorođene jedinke putem mlijeka. Od toga treba razlikovati transgeneracijsko epigenetičko nasljeđivanje putem gameta. Ovaj pojam odnosi se na učinke na fenotipu (ili uzorcima genske ekspresije) koji se prenose s jedne generacije na drugu putem molekula prisutnih u spolnim stanicama, a ne mogu se objasniti Mendelovim pravilima nasljeđivanja (ili promjenama primarne strukture DNA-a). Ovdje se ne misli samo na molekule koje se obično smatraju „epigenetičkim oznakama” nego i na molekule RNA-a i proteine. „Putem gameta” naglašava razliku između ovog fenomena i učinaka izlaganja okolišu koji mijenjaju fenotip putem placente itd. Potencijalni medijatori intergeneracijskog prijenosa fenotipa su u majke i oca: zajednička genetika (DNA sekvence), zajednički okoliš (prehrana, stres, socioekonomski faktori), epigenetički efekti spolnih stanica (jezgra, citosol), struktura i funkcija placente. Za prijenos preko majke još bi bile od važnosti: mitohondrijski DNA, intrauterini i rani postnatalni okoliš (deregulacija majčine prehrane ili metabolizma, promijenjena struktura/funkcija

uterusa, ponašanje majke, promjene u ponašanju što se tiče njege ili sastav mlijeka). Za prijenos preko oca važni bi mogli biti proteini sjemena, citokini, hormoni (26).

David Barker, dr. med. prvi je postavio hipotezu „razvojnog podrijetla zdravlja i bolesti“ (engl. *developmental origins of health and disease* - DOHaD), proučavajući vezu između uvjeta fetalnog razvoja i metaboličkog fenotipa odraslog (27). Za razvoj pretilosti i dijabetesa tipa 2 važna je interakcija gena i okoliša, pa se u početku govorilo o „štedljivom genotipu“, koji u doba obilja i sedentarnog načina života daje podlogu za razvoj bolesti, zatim Barker govori o „štedljivom fenotipu“ koji se javlja kao posljedica slabog fetalnog i ranog rasta, a danas je predložena hipoteza „štedljivog epigenotipa“. Prema toj hipotezi metabolička štedljivost je prastaro, kompleksno svojstvo, a mreža gena koja kodira ovo svojstvo postala je otporna na mutacije. Polimorfizmi DNA molekule, čini se, igraju malu ulogu u etiologiji, a epigenetičke varijacije su dominantne u stvaranju podložnosti. Odgovarajući epigenotipovi imaju potencijal za nasljeđivanje kroz generacije. Leptin se predlaže kao gen kandidat za stjecanje štedljivog epigenotipa (28, 29).

Danas se općenito smatra da je organizam od začeca, preko embrionalnog, fetalnog razvoja, novorođenačke, dojenačke dobi i ranog djetinjstva podložan promjenama pod utjecajem okoliša, što može dugotrajno utjecati na zdravlje i rizik za obolijevanje. Svoj prilog u istraživanju DOHaD koncepta daju suvremena biološka znanost i zdravstvo, a posebno translacijska (bazična-klinička) istraživanja. Životni stil roditelja, pušenje, pretilost, kemikalije i toksini modulatori su rizika obolijevanja. Efekti su suptilni i stupnjeviti, ne prekidaju razvoj, ne izazivaju odmah bolest, ali utječu na brzinu razvoja bolesti u pojedinca. Neke od promjena u razvoju nastaju zbog promjene aktivnosti gena putem epigenetičkih procesa. Epigenetički utjecaj koji se javlja iz okoliša može djelovati na intrauterini okoliš i mijenjati uzorke genske ekspresije. Na kraju plastične faze razvoja (reverzibilna ili ireverzibilna adaptacija) javlja se određeni fenotip koji nakon porođaja određuje fenotip odraslog (podložnost bolesti, odgovor na terapiju), a fenotip odraslog se opet može mijenjati pod utjecajem epigenetičkog utjecaja (npr. stres, toksične supstancije) (18). Što se tiče transgeneracijskog epigenetičkog nasljeđivanja i njegove važnosti, danas među znanstvenicima vlada veliko uzbuđenje, ali i oprez u interpretaciji dosadašnjih istraživanja na različitim vrstama (30, 31).

NOVČANA POTPORA/FUNDING

Sveučilište u Zagrebu Epigenetska osnova razvojnih procesa u sisavaca (in vitro i in vivo)

ETIČKO ODOBRENJE/ETHICAL APPROVAL

Nije potrebno/None

DOPRINOSI AUTORA/DECLARATION OF AUTHORSHIP

Bulić-Jakuš F. – u potpunosti sama izradila rad/*completely alone produced work*

SUKOB INTERESA/CONFLICT OF INTEREST

Autori su popunili *the Unified Competing Interest form* na www.icmje.org/coi_disclosure.pdf (dostupno na zahtjev) obrazac i izjavljuju: nemaju potporu niti jedne organizacije za objavljeni rad; nemaju financijsku potporu niti jedne organizacije koja bi mogla imati interes za objavu ovog rada u posljednje 3 godine; nemaju drugih veza ili aktivnosti koje bi mogle utjecati na objavljeni rad./*All authors have completed the Unified Competing Interest form at www.icmje.org/coi_disclosure.pdf (available on request from the corresponding author) and declare: no support from any organization for the submitted work; no financial relationships with any organizations that might have an interest in the submitted work in the previous 3 years; no other relationships or activities that could appear to have influenced the submitted work.*

LITERATURA

- Berger SL, Kouzarides T, Shiekhattar R, Shilatifard A. An operational definition of epigenetics. *Genes Dev.* 2009;23:781-3. <http://dx.doi.org/10.1101/gad.1787609> PMID:19339683
- Švajger A. Tradition and the present state of developmental biology in Yugoslavia. *Int J Dev Biol.* 1991;35:155-9.
- Šerman D. Why the mammalian embryo? An interview with Professor Nikola Škreb. *Int J Dev Biol.* 1991;35:149-54.
- Amariglio N, Hirshberg A, Scheithauer BW, et al. Donor-derived brain tumor following neural stem cell transplantation in an ataxia telangiectasia patient. *PLoS Med.* 2009;6:e1000029 <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pmed.1000029> PMID:19226183 PMCID:PMC2642879
- Sinčić N, Herceg Z. DNA methylation and cancer: ghosts and angels above the genes. *Curr Opin Oncol.* 2011;23:69-76. <http://dx.doi.org/10.1097/CCO.0b013e3283412eb4> PMID:21119515
- Vlahović M, Bulić-Jakuš F, Jurić-Lekić G, Fučić A, Marić S, Šerman D. Changes in placenta and developing rat embryo caused by a demethylating agent 5-azacytidine. *Int J Dev Biol.* 1999;43:843-6.
- Šerman LJ, Vlahović M, Šijan M, et al. The impact of 5-azacytidine on placental weight, glycoprotein pattern and proliferating cell nuclear antigen expression in rat placenta. *Placenta.* 2007;28:803-11. <http://dx.doi.org/10.1016/j.placenta.2007.04.001> PMID:17509679
- Mužić V, Katušić Bojanac A, Jurić-Lekić G, et al. Epigenetic drug 5-azacytidine impairs proliferation of rat limb buds in an organotypic model-system in vitro. *CMJ.* 2013;54:489-95.
- Krishnan V, Nestler EJ. The molecular neurobiology of depression. *Nature.* 2008;455:894-902. <http://dx.doi.org/10.1038/nature07455> PMID:18923511 PMCID:PMC2721780
- Kohli RM, Zhang Y. TET enzymes, TDG and the dynamics of DNA demethylation. *Nature.* 2013;502:472-9. <http://dx.doi.org/10.1038/nature12750> PMID:24153300
- McGrath J, Solter D. Completion of mouse embryogenesis requires both the maternal and paternal genomes. *Cell.* 1984;37:179-83. [http://dx.doi.org/10.1016/0092-8674\(84\)90313-1](http://dx.doi.org/10.1016/0092-8674(84)90313-1)
- Arnaud P. Genomic imprinting in germ cells: imprints are under control. *Reproduction.* 2010;140:411-23. <http://dx.doi.org/10.1530/REP-10-0173> PMID:20501788
- Charalambous M, Ferron SR, da Rocha ST, et al. Imprinted gene dosage is critical for the transition to independent life. *Cell Metab.* 2012;15:209-21.

- <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmet.2012.01.006>
PMid:22326222 PMCID:PMC3314949
14. Radford EJ, Ferrón SR, Ferguson-Smith AC. Genomic imprinting as an adaptative model of developmental plasticity. *FEBS Lett.* 2011;585:2059-66.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.febslet.2011.05.063>
PMid:21672541
 15. Murphy SK, Huang Z, Hoyo C. Differentially methylated regions of imprinted genes in prenatal, perinatal and postnatal human tissues. *PLoS ONE.* 2012;7:e40924.
 16. Rakyan VK, Chong S, Champ ME, et al. Transgenerational inheritance of epigenetic states at the murine Axin(Fu) allele occurs after maternal and paternal transmission. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003;100:2538-43.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0436776100>
PMid:12601169 PMCID:PMC151376
 17. Dolinoy DC, Huang D, Jirtle RL. Maternal nutrient supplementation counteracts bisphenol A-induced DNA hypomethylation in early development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007;104:13056-61.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0703739104>
PMid:17670942 PMCID:PMC1941790
 18. Yeo M, Patisaul H, Liedtke W. Decoding the language of epigenetics during neural development is key for understanding development as well as developmental neurotoxicity. *Epigenetics.* 2013;8:1128-32.
<http://dx.doi.org/10.4161/epi.26406>
 19. Rochester JR. Bisphenol A and human health: A review of the literature. *Reprod Toxicol.* 2013;42:132-55.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.reprotox.2013.08.008>
PMid:23994667
 20. Kim JH, Rozek LS, Soliman AS, et al. Bisphenol A-associated epigenomic changes in prepubescent girls: a cross-sectional study in Gharbiah, Egypt. *Transgenerational actions of environmental compounds on reproductive disease and identification of epigenetic biomarkers of ancestral exposures. Environ Health.* 2013;16:12-33.
 21. Skinner MK, Mohan M, Haque MM, Zhang B, Savenkova MI. Epigenetic transgenerational inheritance of somatic transcriptomes and epigenetic control regions. *Genome Biology.* 2012;13:R91.
<http://dx.doi.org/10.1186/gb-2012-13-10-r91>
PMid:23034163 PMCID:PMC3491419
 22. Manikkam M, Guerrero-Bosagna C, Tracey R, Haque MM, Skinner MK. Transgenerational actions of environmental compounds on reproductive disease and identification of epigenetic biomarkers of ancestral exposures. *PLoS One.* 2012;7:e31901.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0031901>
PMid:22389676 PMCID:PMC3289630
 23. Jimenez-Chillaron JC, Isganaitis E, Charalambous M, et al. Intergenerational transmission of glucose intolerance and obesity by in utero undernutrition in mice. *Diabetes.* 2009;58:460-8.
<http://dx.doi.org/10.2337/db08-0490>
PMid:19017762 PMCID:PMC2628621
 24. Radford EJ, Isganaitis E, Jimenez-Chillaron J, et al. An unbiased assessment of the role of imprinted genes in an intergenerational model of developmental programming. *PLoS Genet.* 2012;8:e1002605.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.1002605>
PMid:22511876 PMCID:PMC3325178
 25. Veenendaal MV, Painter RC, de Rooij SR, et al. Transgenerational effects of prenatal exposure to the 1944-45 Dutch famine. *BJOG.* 2013;120:548-53.
<http://dx.doi.org/10.1111/1471-0528.12136>
PMid:23346894
 26. Daxinger L, Whitelaw E. Understanding transgenerational epigenetic inheritance via the gametes in mammals. *Nat Rev Gen.* 2012;13:153-62.
 27. Paneth N, Susser M. Early origin of coronary heart disease (the "Barker hypothesis"). *BMJ.* 1995;310:411-2.
<http://dx.doi.org/10.1136/bmj.310.6977.411>
 28. Reinhard Stöger R. The thrifty epigenotype: An acquired and heritable predisposition for obesity and diabetes? *BioEssays.* 2008;30:156-66.
<http://dx.doi.org/10.1002/bies.20700>
PMid:18197594
 29. Gluckman PD, Hanson MA, Buklijas T. A conceptual framework for the developmental origins of health and disease. *JDOHaD.* 2010;1:6-18.
 30. Aiken CE, Ozanne SE. Transgenerational developmental programming. *Hum Reprod Update.* 2013; doi: 10.1093/humupd/dmt043.
 31. Grossniklaus U, Kelly WG, Ferguson-Smith AC, Pembrey M, Lindquist S. Transgenerational epigenetic inheritance: how important is it? *Nat Rev Genet.* 2013;14:228-35.
<http://dx.doi.org/10.1038/nrg3435>
PMid:23416892

SUMMARY

Epigenetics in reproduction and development

Floriana Bulić-Jakuš

This review article brings a contemporary view on epigenetics in mammalian reproduction and development. The basic epigenetic mechanisms such as DNA methylation, posttranslational histone modifications and noncoding RNA, without involving the nucleotide sequence of DNA molecule, regulate gene expression and thus cell proliferation, differentiation, dedifferentiation and tumorigenesis. Epigenetic drugs and immature embryonic cells have just been introduced in novel therapeutic strategies of human medicine. As epigenetic mechanisms are involved in the mammalian gamete and embryonic development, the experimental animal models described are of highly relevant for monitoring epigenetic changes, in DNA methylation in particular, and their impact on the offspring. Unfavorable environmental effects (e.g., maternal malnutrition) may cause phenotype changes in the next few generations, which are transmitted via transgenerational (or intergenerational) epigenetic effects, and some of them by yet unknown mechanisms; they seem to be transmitted via gamete to F3 generation that has never been exposed to the noxious agent (e.g., vinclozolin). The new concept of the developmental origin of health and disease points to epigenetic disorder in the development of obesity and type 2 diabetes in man (e.g., due to maternal malnutrition during gestation), currently referred to as a "thrifty epigenotype". The harmful environmental factors appear to modify human epigenome, thus specific epigenetic modifications may serve as exposure markers. The issue of epigenotype heredity and its real role in disease development in the next generations is quite intriguing and important, thus being in the focus of interdisciplinary research.

Keywords: epigenomics; reproduction; growth and development; mammals; humans