

Mechanizmy modulacji epigenetycznej w procesie programowania wewnątrzmacicznego

Mechanisms of epigenetic modulation in intrauterine programming process

Agnieszka Seremak-Mrozikiewicz

Klinika Perinatologii i Chorób Kobięcych Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

Pracownia Biologii Molekularnej Kliniki Perinatologii i Chorób Kobięcych Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

Zakład Farmakologii i Fitochemii Instytutu Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu

Streszczenie

Epigenetyka zajmuje się analizą dziedzicznych zmian w ekspresji genów, które nie pozostają w bezpośredniej korelacji ze zmianami w samej sekwencji DNA. Regulacja epigenetyczna przebiega wielostopniowo i może być modulowana na każdym z etapów. Regulacja ta pozostaje pod silnym wpływem czynników środowiskowych.

Foliany mają istotne znaczenie dla zdrowia i rozwoju człowieka. Metabolizm folianów jest głównym procesem dostarczającym i regulującym podaż grup metylowych, stąd zaburzenia odżywiania wpływają na dysregulację mechanizmów epigenetycznych i epigenomicznych. Ponieważ modulacja epigenetyczna stanowi jeden z elementarnych szlaków procesu programowania wewnątrzmacicznego oczywistym jest, że nieprawidłowa podaż folianów pozostaje w korelacji z nieprawidłowościami programowania płodowego oraz zwiększoną skłonnością do powikłań zarówno w życiu płodowym, jak i chorób przewlekłych w dorosłym życiu człowieka. W tym kontekście metabolizm folianów odgrywa kluczową rolę w regulacji epigenetycznej oraz w procesie programowania wewnątrzmacicznego.

Słowa kluczowe: programowanie wewnątrzmaciczne, epigenetyka, foliany

Gin. Perinat. Prakt. 2016; 1, 2: 66–72

Wprowadzenie

Pojęcie „epigenetyka” zostało wprowadzone przez brytyjskiego biologa Conrada Waddingtona w 1942 roku i oznaczało badanie mechanizmów dziedziczenia pozagenowego. Obecnie tym terminem określa się analizę dziedzicznych zmian w ekspresji genów, które nie pozostają w bezpośredniej korelacji ze zmianami w samej sekwencji DNA. Epigenetyka zajmuje się więc dziedziczeniem pozagenowym pozostającym pod wpływem czynników środowiskowych. Procesy epigenetyczne nie są związane z obecnością mutacji.

Regulacja epigenetyczna przebiega wielostopniowo i może być modulowana na każdym z etapów. Mechanizmy epigenetyczne to między innymi metylacja DNA oraz potranslacyjna modyfikacja histonów. Metylacja DNA polega na kowalencyjnym wiązaniu reszt metylowych do cytozyny w obrębie wysp CpG w regionie 5' wybranego

geny. Reakcja katalizowana jest przez metylotransferazy DNA (DNMT, *deoxyribonucleic acid methyltransferase*). Zwiększenie metylacji wysp CpG powoduje ograniczenie dostępu czynników transkrypcyjnych do DNA, a w następstwie zmniejszenie ekspresji i wyciszenie funkcji genu [1]. Procesy modyfikacji histonów: metylacja, acetylacja, fosforylacja, ubikwinaacja i sprzężenie z cząsteczkami SUMO (*small ubiquitin-like modifier*) wpływają przede wszystkim na zmiany struktury i konformacji chromatyny. Metylacja i acetylacja histonów rozluźniają strukturę chromatyny i zwiększają dostępność czynników transkrypcyjnych. Procesy odwrotne, czyli deacetylacja i demetylacja prowadzą do zagęszczenia chromatyny i wyciszenia ekspresji genów. Taka regulacja poprzez mechanizmy epigenetyczne wpływa na zmiany ekspresji genów, na różnorodny poziom mRNA oraz białek [2, 3]. Następnie procesy te warunkują rozbieżności w zakresie dojrzewania i różnicowania komórek oraz tkanek.

Adres do korespondencji: Agnieszka Seremak-Mrozikiewicz, Klinika Perinatologii i Chorób Kobięcych, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, ul. Polna 33, 60–535 Poznań, e-mail: asm@data.pl

Ekspresja genów i aktywność ich produktów białkowych jest więc zróżnicowana, co wpływa na kształtowanie się indywidualnego fenotypu. W szerszym aspekcie regulacja epigenetyczna warunkuje różnice międzysobnicze w populacji. Z drugiej strony procesy epigenetyczne wydają się istotne w patomechanizmie chorób uwarunkowanych wieloczynnikowo (CHD, *complex human diseases*), gdzie rozważa się udział czynników genetycznych, środowiskowych oraz procesów epigenetycznych jako mechanizmów pośredniczących w etiologii tych zmian [4, 5].

Programowanie wewnątrzmaciczne

W ciągu ostatnich kilkunastu lat w licznych badaniach wykazano związek pomiędzy oddziaływaniem czynników środowiskowych w przebiegu ciąży a ryzykiem wystąpienia niektórych chorób u potomstwa [6, 7]. Wiele niekorzystnych czynników oddziałujących w życiu płodowym zostało już zidentyfikowanych: niedożywienie lub nadmierne odżywianie u matki, stres i ekspozycja na kortykosteroidy, płodowa hipoksja, wpływ substancji chemicznych, palenie tytoniu, picie alkoholu oraz stosowanie niektórych leków. Ekspozycja matki na niektóre czynniki środowiskowe indukuje zmiany epigenetyczne u potomstwa, często w asocjacji ze zmianą fenotypu. Mechanizmy adaptacyjne pozwalają na przystosowanie rozwijającego się płodu do warunków wewnątrzmacicznych, jednocześnie warunkując różnorodne, niekiedy bardzo niekorzystne, zmiany w epigenomie [8]. Nieprawidłowości te na drodze różnych mechanizmów zaburzają proces rozwoju płodu i manifestują się w życiu dorosłym wystąpieniem chorób przewlekłych [7, 9]. W procesie programowania wewnątrzmacicznego regulacje mogą dotyczyć zmiany funkcji i metabolizmu tkanek (trwałe zmiany w procesach hormonalnych i komórkowych). Innym aspektem programowania wewnątrzmacicznego są zmiany strukturalne narządów. Jednym z mechanizmów przystosowawczych u płodu jest redukcja liczby nefronów w odpowiedzi na niedożywienie u matki. Powoduje to ryzyko wystąpienia nadciśnienia tętniczego w życiu dorosłym [10]. Innymi przykładami są: redukcja masy wątroby, mięśni szkieletowych, elastyny w ścianie naczyń, kardiomiocytów w mięśniu sercowym [11–15]. Same mechanizmy wpływające na zmianę rozwoju embrionu i płodu pozostają nie do końca wyjaśnione. Wiele wskazuje na istotną rolę oddziaływania zmian epigenetycznych w krytycznych okienkach czasowych (*critical windows*), kiedy zarodek jest szczególnie wrażliwy na oddziaływanie niekorzystnych czynników środowiskowych. Wykazano również możliwość niekorzystnej modulacji epigenetycznej w ciągu całego życia człowieka. Co więcej, zmiany epigenetyczne mogą ulegać utrwaleniu i dziedziczeniu przez kilka następných pokoleń [16, 17].

Regulacja epigenetyczna a metabolizm folianów

Foliany mają istotne znaczenie dla całokształtu zdrowia i rozwoju człowieka. Metabolizm folianów to kompleksowy łańcuch reakcji utleniania i redukcji ważnych w syntezie puryn i pirymidyn, aminokwasów, metylacji wielu substancji i utrzymaniu prawidłowego stężenia homocysteiny. Jest to główny proces dostarczający grupy metylowe, istotne w modulacji epigenetycznej, stąd zaburzenia odżywiania wpływają na dysregulację mechanizmów zarówno epigenetycznych, jak i epigenomicznych [18, 19]. Ponieważ modulacja epigenetyczna stanowi jeden z elementarnych procesów programowania wewnątrzmacicznego oczywistym jest, że nieprawidłowa podaż folianów pozostaje w korelacji z nieprawidłowościami programowania płodowego oraz zwiększoną skłonnością do zaburzeń zarówno w życiu płodowym, jak i do rozwoju chorób w życiu dorosłym człowieka. W tym kontekście metabolizm folianów odgrywa kluczową rolę w programowaniu płodowym [20–22].

Właściwa podaż folianów jest istotna przede wszystkim dla prawidłowości przebiegu procesu metylacji w mechanizmie piętnowania genomowego (*genetics imprinting*), w którym po zapłodnieniu następuje demetylacja, a następnie remetylacja całego genomu na etapie blastocysty. W następstwie tego procesu występuje reprogramowanie genów i inaktywacja jednego chromosomu X. Okres poimplantacyjny jest okresem szybkiego wzrostu i rozwoju oraz koreluje z selektywną remetylacją kluczowych genów w obydwu liniach komórek – embrionalnych i pozaembrionalnych. Wszystkie te procesy w życiu płodowym stanowią swoiste przygotowanie do przeżycia zarówno w środowisku wewnątrzmacicznym, jak również w środowisku zewnętrznym. Jednocześnie reakcje te są szczególnie wrażliwe na zaburzenia metylacji [3, 4, 6, 7].

Zaburzenia proporcji składników odżywczych oraz niedobory witamin, związków kluczowych dla różnych cykli komórkowych, zajmują istotne miejsce w modulacji epigenetycznej. Specyficzne składniki żywnościowe właściwe dla szlaków metabolicznych metylacji mogą bezpośrednio oddziaływać na epigenom poprzez wpływ na proces metylacji DNA i modyfikacji histonów. Związkami tymi są przede wszystkim aminokwasy, jak lizyna potrzebna do modyfikacji histonów oraz metionina, która jest głównym prekursorem S-adenozylometoniny (SAM, *S-adenosylmethionine*), głównego donora grup metylowych w reakcjach transmetylacji. Nie mniej ważną rolę odgrywają witaminy B2, B6, B12, kwas foliowy, biotyna, cholina/betaina oraz specyficzne pierwiastki (Mg, Zn), które pośrednio wpływają na cały cykl jednowęglowych grup oraz na biosyntezę nukleotydów [23].

Jednym z najważniejszych punktów w metabolizmie folianów jest utrzymanie homeostazy stężenia metioniny i homocysteiny w komórce i utrzymanie prawidłowego stężenia SAM. Proces przemian folianów reguluje poziom SAM i bezpośrednio wpływa na procesy metylacji DNA oraz RNA. Z drugiej strony SAM dostarcza grupy metylowej, które są substratem do reakcji transmetylacji, jak metylacja DNA i modyfikacja histonów. Prawidłowość tych reakcji ma niebagatelne znaczenie dla utrzymania właściwego poziomu S-adenosylhomocysteiny (SAH, *S-adenosylhomocysteine*). Stężenie SAH wzrasta w komórkach proporcjonalnie do stężenia homocysteiny powodując zahamowanie remetylacji homocysteiny do metioniny. Z drugiej strony SAH wiążąc się bezpośrednio z centrami enzymów metylotransferaz hamuje ich aktywność włączając się w ten sposób w proces modulacji epigenetycznej [21].

Jednocześnie wielokrotnie dowiedziono, że metabolizm grup jednowęglowych jest bardzo wrażliwy na niedobór witamin z grupy B. Witamina B12 jest kofaktorem syntazy metioniny (MTR, *methionine synthase*), biorącej udział w reakcji remetylacji homocysteiny do metioniny. Ocenia się, że aż około 38% populacji dorosłych osób ma niedobór witaminy B12 średniego stopnia. Niedobór witaminy B12 w połączeniu z deficytem folianów powoduje zmniejszenie syntezy puryn i tymidyny, wzrost stężenia homocysteiny oraz SAH oraz zmniejszenie syntezy SAM. Te zaburzenia znacznie zmniejszają syntezę DNA oraz powodują utratę stabilności DNA [21, 24].

Wykładnikiem potencjału metylacji w komórce jest analiza wskaźnika SAM/SAH. Zmiana wskaźnika SAM/SAH wpływa na aktywność komórkową metylotransferaz DNA i histonów [25, 26]. Wskaźnik służy do oceny prawidłowości przebiegu procesów metabolizmu folianów w komórce. Obniżenie wskaźnika SAM/SAH sugeruje zaburzoną zdolność komórki do zapewnienia w pełni sprawnych reakcji transmetylacji pełniących kluczową rolę w modulacji mechanizmów epigenetycznych i epigenomowych [23].

Różne regiony DNA wykazują prawdopodobnie różną wrażliwość na komórkowy potencjał metylacji [23]. Zaburzenia metabolizmu folianów powodują niewydolność komórkowych reakcji metylacji wpływając zarówno na metylację globalną, jak i specyficzną dla poszczególnych alleli [25–27]. Niestety procesy te nie są w pełni wyjaśnione. W badaniach doświadczalnych przeprowadzonych na zwierzętach wykazano jednak, że podawanie kwasu foliowego lub aktywnej formy folianów 5-metylenotetrahydrofolianu (5-MTHF, *5-methylenetetrahydrofolate*) w dawce 15 mg dziennie doustnie przez 8 tygodni poprawia metylację DNA i ekspresję genów [28].

Związek pomiędzy niedoborem składników diety, w tym folianów a ryzykiem wystąpienia chorób przewlekłych został udowodniony zarówno w badaniach

przeprowadzonych na zwierzętach doświadczalnych, jak i wśród ludzi. Niedobór folianów w diecie wpływa również na ekspresję genów ulegających imprintingowi. Dieta z niedoborem choliny i metioniny zastosowana u myszy wiąże się z podwyższeniem ekspresji genów *Igf2* oraz *H19* oraz jednoczesnym zmniejszeniem poziomu modyfikacji histonów w komórkach prostaty. Zmiany te ulegają odwróceniu u myszy z dietą, która zapewnia właściwe stężenie brakujących składników pokarmowych [29]. Niedobór folianów i witaminy B12 u gryzoni po gastrektomii, redukującej zdolność do wchłaniania tej witaminy, powoduje hiperhomocysteinemię oraz hipometylację DNA u tych zwierząt [30]. W badaniach przeprowadzonych na zwierzętach zademonstrowano znaczenie statusu żywieniowego samic na wynik ciąży na przykładzie modelu myszy Agouti, gdzie u potomstwa w zależności od składników żywnościowych obserwowano zaburzenia fenotypu i wystąpienie otyłości oraz zmianę koloru futra [31, 32]. Prawdopodobnie kolor futra koreluje z metylacją specyficznych *loci* DNA. Bardzo istotnym jest, że zmiany w mechanizmach epigenetycznych indukowane poprzez dietę u ciężarnych samic przekazywane były na następnym generacjom [16, 17, 33]. Niedobory w zakresie matczynej diety w przebiegu ciąży czynnie wpływają na metabolizm folianów, szczególnie na proces metylacji DNA, którego wzór kształtuje się głównie w okresie płodowym [34]. Niedobór folianów *in utero* koreluje przede wszystkim z podwyższonym ryzykiem wad cewy nerwowej, zgonami wewnątrzmacicznymi, porodem przedwczesnym i hipotrofią płodu [35–38].

Zaburzenia procesów epigenetycznych na skutek niedoboru folianów i witamin z grupy B są szczególnie ważne dla rozwoju układu nerwowego i prawidłowości wszystkich jego funkcji. Zaburzenia regulacji epigenetycznej mogą mieć związek z etiologią schizofrenii, demencji, zaburzeniami funkcji poznawczych oraz procesów uczenia się, zaburzeniami pamięci, funkcji zachowania, jak również mogą mieć wpływ na rozwój intelektualny, schematy zachowań oraz przystosowanie komunikacyjne [39]. Wyniki dużych randomizowanych badań populacyjnych wykazały, że zaburzenia związane z niedoborem folianów, witaminy B12 i podwyższonym poziomem homocysteiny są związane z wieloma procesami epigenetycznymi powodującymi rozwój niektórych typów nowotworów [40, 41]. Jednocześnie wskazano na ryzyko hiperglikemii, nietolerancji glukozy, cukrzycy, otyłości [25, 42, 43]. Niedobór folianów kojarzony jest również z rozwojem nadciśnienia tętniczego, chorób sercowo-naczyniowych, chorób neurodegeneracyjnych, w tym choroby Alzheimera [44–51]. Ogólna hipometylacja DNA wiąże się ze wzrostem stężenia homocysteiny i związana jest z autyzmem [52, 53]. Z kolei mała masa urodzeniowa noworodka koreluje w życiu dorosłym z otyłością, cukrzycą i chorobami sercowo-naczyniowymi [54, 55].

Prawdopodobnie również fenotyp postnatalny jest u ludzi regulowany przez zmiany epigenetyczne związane z metabolizmem folianów podczas ciąży.

Jednocześnie wszystkie jednostki związane z niedoborem folianów są przykładem kompleksowych chorób związanych z niekorzystnymi interakcjami gen-środowisko. Obecnie uważa się, że kwas foliowy, aktywna forma folianów 5-MTHFR oraz naturalne foliany są jednymi z najważniejszych modulatorów procesów epigenetycznych, niezbędnymi dla prawidłowości różnorodnych reakcji metylacji, syntezy puryn i pirymidyn oraz utrzymania stabilności chromosomów. Prawidłowa suplementacja folianami zapobiega wystąpieniu powikłań nie tylko w przebiegu ciąży, ale również chorób przewlekłych w wieku życia dorosłego człowieka.

Polimorfizmy genów związanych z metabolizmem folianów

Na wynik przemian folianów, utrzymanie prawidłowego poziomu wskaźnika SAM/SAH, metylację ogólną genomu i poziom całkowitej metylacji w komórce wpływa również obecność zmian polimorficznych w genach enzymów cyklu folianowego. Niektóre warianty genetyczne tych polimorfizmów mają ścisły związek z jednostkami chorobowymi związanymi z zaburzeniami cyklu folianów.

Kluczowym enzymem metabolizmu folianów jest enzym reduktaza metylenotetrahydrofolianowa (MTHFR, *methylenetetrahydrofolate reductase*), katalizująca przemianę 5,10-MTHF do 5-MTHF i bezpośrednio wpływająca na remetylację homocysteiny do metioniny, stężenie SAM i procesy metylacji. Polimorfizmem o największym znaczeniu jest wariant 677C>A, powodujący zamianę cytozyny na tyminę w pozycji 677 w eksonie 4 genu *MTHFR*. Powoduje to zamianę sekwencji aminokwasowej w białku enzymatycznym w domenie katalitycznej (A222V), co bezpośrednio wpływa na aktywność enzymu [56]. Najmniejszą aktywność enzymu, wynosząca tylko 30%, odnotowuje się przy obecności genotypu zmutowanego 677TT. Polimorfizm ten jest przyczyną łagodnej hiperhomocysteinemii. Szczególną sytuacją jest niedobór folianów w organizmie. Przy niskim stężeniu folianów w surowicy i krwinkach czerwonych spostrzega się wyższe stężenie homocysteiny u nosicieli polimorfizmu 677C>T *MTHFR* [57]. Wskazano ponadto, że obecność genotypu homozygotycznego 677TT *MTHFR* koreluje z wyższym stężeniem 5,10-MTHF i prowadzi do preferencyjnego nasilenia cyklu folianów w kierunku syntezy DNA, zamiast remetylacji homocysteiny [23]. Innym często badanym wariantem jest polimorfizm 1298A>C *MTHFR*, polegający na zamianie adeniny na cytozynę w sekwencji DNA i jednocześnie zamianę w domenie regulatorowej enzymu (E429A). Sama zmiana nie wpływa na stężenie

homocysteiny w surowicy, natomiast wariant ten jest ściśle sprzężony z polimorfizmem 677T>C *MTHFR*.

Ważną rolę w przemianie folianów odgrywa enzym dehydrogenaza metylenotetrahydrofolianowa MTHFD1 trifunkcyjny enzym, który w odcinku C-końcowym przejawia aktywność syntetazy FTHF (FTHFS) oraz aktywność cyklohydrolazy MTHF (MTHFC), natomiast w końcu N-końcowym aktywność dehydrogenazy MTHF (MTHFD). Polimorfizm 1958G>A *MTHFD1* polega na zamianie guaniny na adeninę i skutkuje zamianą glutaminy na argininę w pozycji 653 (R653Q) w domenie 10-FTHFS enzymu MTHFD1. Wariant termolabilny enzymu uwarunkowany obecnością zmutowanego allelela 1958A ma obniżoną aktywność o 25%. U ludzi obecność allelela 1958A nie wpływa na stężenie homocysteiny, jak również na stężenie folianów w surowicy i erytrocytach. Liczne badania wskazują jednak, że nosicielstwo tego wariantu u kobiet podwyższa ryzyko urodzenia dziecka z wadami cewy nerwowej, wrodzonymi wadami serca, rozszczepem warg i podniebienia. W przebiegu ciąży może natomiast wystąpić hipotrofia płodu, przedwczesne oddzielenie łożyska czy poronienie w II trymestrze ciąży [58–61].

Innym ważnym enzymem metabolizmu folianów jest syntaza metioniny (MTR, *methionine synthase*) zależna od witaminy B12. Enzym bierze udział w reakcji remetylacji homocysteiny do metioniny zależnej od 5-MTHF. Aktywność tego enzymu jest istotna dla utrzymania właściwego stężenia SAM i reakcji transmetylacji oraz zapobiegania akumulacji homocysteiny. Polimorfizm 2756A>G *MTR*, który wpływa na domenę zaangażowaną w metylację i aktywację witaminy B12 jako kofaktora koreluje ze zmniejszeniem stężenia homocysteiny, zaburzeniami metylacji u pacjentek z rakiem piersi, okrężnicy i płuc. U dzieci kobiet-nosicierek zmutowanych wariantów tego polimorfizmu odnotowuje się zwiększone ryzyko rozszczepu kręgosłupa, rozszczepu podniebienia, zespołu Downa [62, 63].

Podsumowanie

Procesy dziedziczenia genomowego nie tłumaczą w pełni mechanizmów obserwowanych w procesie programowania wewnątrzmacicznego oraz ich wpływu na występowanie chorób przewlekłych w życiu dorosłym. Natomiast w wyjaśnienie tego zjawiska doskonale wpisują się procesy epigenetyczne, wykazany wpływ środowiska na zmiany ekspresji genów oraz dodatkowo znaczenie polimorfizmów genów związanych z niektórymi szlakami patofizjologicznymi. Niestety występuje stosunkowo dużo możliwości modyfikacji epigenetycznej, stąd ze względu na obecny stan wiedzy, procesy te trudno poddać szczegółowej analizie. Podkreślenia wymaga również fakt, że w porównaniu ze zmianami gene-

tycznymi na poziomie DNA zmiany epigenetyczne są bardziej heterogeniczne i dynamiczne. Jednocześnie modyfikujący wpływ na genom człowieka mają różnorodne czynniki środowiskowe. Mimo tych trudności coraz więcej badań dotyczy właśnie wpływu czynników epigenetycznych, w tym szczególnie niedoborów

dietetycznych, na procesy programowania płodowego. Dokładne poznanie tych procesów, jak również szczegółowe nakreślenie znaczenia niedoboru folianów w rozwoju wewnątrzmacicznym płodu, może być pożądanym etapem w obniżaniu ryzyka wystąpienia chorób przewlekłych w życiu dorosłym człowieka.

Abstract

Epigenetics focus on the hereditary changes in gene expression that are not in direct correlation with the changes in DNA sequence itself. The epigenetic regulation is running of stages and could be modulated at each stage. This regulation is strongly influenced by environmental factors.

Folate are essential for health and human development. Folate metabolism is a main process providing and regulating the supply of methyl groups, thus the disturbances of eating affects the dysregulation of epigenetic and epigenomic mechanisms. Since the epigenetic modulation is one of the elementary pathway of intrauterine programming it is clear that aberrant folate supply correlates with disturbances of fetal programming and increased susceptibility to complication in fetal life, as well as chronic diseases in adult life. In this context folate metabolism plays a key role in epigenetic regulation, as well as in the process of intrauterine programming.

Key words: intrauterine programming, epigenetics, folate

Gin. Perinat. Prakt. 2016; 1, 2: 66–72

Piśmiennictwo

1. Chitakar E., Sherzay N. Epigenetics: effect of environmental factors on human genome. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 2016; 8: 1–6.
2. Jansson T., Powell T.L. Role of the placenta in fetal programming: underlying mechanisms and potential interventional approaches. *Clin. Sci. (Lond.)*. 2007; 113: 1–13.
3. Tammen S.A., Friso S., Choi S.W. Epigenetics: the link between nature and nurture. *Mol. Aspects Med.* 2013; 34: 753–764.
4. Sferruzzi-Perri A.N., Camm E.J. The programming power of the placenta. *Front. Physiol.* 2016; 14: 33.
5. Marsit C.J. Placental Epigenetics in Children's Environmental Health. *Semin. Reprod. Med.* 2016; 34: 36–41.
6. Barker D.J. The developmental origins of well-being. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 2004; 359: 1359–1366.
7. Barker D.J. Developmental origins of adult health and disease. *J. Epidemiol. Community Health.* 2004; 58: 114–115.
8. Fowden A.L., Forhead A.J., Coan P.M., Burton G.J. The placenta and intrauterine programming. *J. Neuroendocrinol.* 2008; 20: 439–450.
9. Connor K.L., Vickers M.H., Beltrand J., Meaney M.J., Sloboda D.M. Nature, nurture or nutrition? Impact of maternal nutrition on maternal care, offspring development and reproductive function. *J. Physiol.* 2012; 590: 2167–2180.
10. Zandi-Nejad K., Luyckx V.A., Brenner B.M. Adult hypertension and kidney disease: the role of fetal programming. *Hypertension* 2006; 47: 502–508.
11. Gentili S., Morrison J.L., McMillen I.C. Intrauterine growth restriction and differential patterns of hepatic growth and expression of IGF1, PCK2, and HSDL1 mRNA in the sheep fetus in late gestation. *Biol. Reprod.* 2009; 80: 1121–1127.
12. Barker D.J., Thornburg K.L., Osmond C., Kajantie E., Eriksson J.G. The prenatal origins of lung cancer. II The placenta. *Am. J. Hum. Biol.* 2010; 22: 512–516.
13. Brown L.D., Hay W.W. Jr. Impact of placental insufficiency on fetal skeletal muscle growth. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2016; 16: S0303–7207(16)30065-X.
14. Martyn C.N., Greenwald S.E. Impaired synthesis of elastin in walls of aorta and large conduit arteries during early development as an initiating event in pathogenesis of systemic hypertension. *Lancet* 1997; 350: 953–955.
15. Jonker S.S., Giraud M.K., Giraud G.D. i wsp. Cardiomyocyte enlargement, proliferation and maturation during chronic fetal anaemia in sheep. *Exp. Physiol.* 2010; 95: 131–139.
16. Holemans K., Aerts L., Van Assche F.A. Fetal growth restriction and consequences for the offspring in animal models. *J. Soc. Gynecol. Investig.* 2003; 10: 392–399.
17. Martorell R., Zongrone A. Intergenerational influences on child growth and undernutrition. *Paediatr. Perinat. Epidemiol.* 2012; 26: 302–314.
18. Fowden A.L., Forhead A.J. Glucocorticoids as regulatory signals during intrauterine development. *Exp. Physiol.* 2015; 100: 1477–1487.
19. Sutton E.F., Gilmore L.A., Dunger D.B. i wsp. Developmental programming: State-of-the-science and future directions: Summary from a Pennington Biomedical symposium. *Obesity (Silver Spring)*. 2016; 24: 1018–1026.
20. Burdge G.C., Hoile S.P., Lillycrop K.A. Epigenetics: are there implications for personalised nutrition? *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 2012; 155: 442–447.
21. Guéant J.L., Namour F., Guéant-Rodriguez R.M., Daval J.L. Folate and fetal programming: a play in epigenomics? *Trends Endocrinol. Metab.* 2013; 24: 279–289.

22. Guéant J.L., Elakoum R., Ziegler O. i wsp. Nutritional models of foetal programming and nutrigenomic and epigenomic dysregulations of fatty acid metabolism in the liver and heart. *Pflugers Arch.* 2014; 466: 833–850.
23. Stover P.J. Polymorphisms in 1-carbon metabolism, epigenetics and folate-related pathologies. *J. Nutrigenet. Nutrigenomics.* 2011; 4: 293–305.
24. Hoey L., Strain J.J., McNulty H. Studies of biomarker responses to intervention with vitamin B-12: a systematic review of randomized controlled trials. *Am. J. Clin. Nutr.* 2009; 89: 1981–1996.
25. Franko K.L., Forhead A.J., Fowden A.L. Effects of maternal dietary manipulation during different periods of pregnancy on hepatic gluconeogenic capacity in fetal and pregnant rats near term. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2009; 19: 555–562.
26. Chen P.Y., Ganguly A., Rubbi L. i wsp. Intrauterine calorie restriction affects placental DNA methylation and gene expression. *Physiol. Genomics* 2013; 45: 565–576.
27. Jamaluddin MD, Chen I, Yang F i wsp. Homocysteine inhibits endothelial cell growth via DNA hypomethylation of the cyclin A gene. *Blood* 2007; 110: 3648–3655.
28. Lillycrop K.A., Phillips E.S., Jackson A.A., Hanson M.A., Burdge G.C. Dietary protein restriction of pregnant rats induces and folic acid supplementation prevents epigenetic modification of hepatic gene expression in the offspring. *J. Nutr.* 2005; 135: 1382–1386.
29. Dobosy J.R., Fu V.X., Desotelle J.A. i wsp. A methyl-deficient diet modifies histone methylation and alters Igf2 and H19 repression in the prostate. *Prostate* 2008; 68: 1187–1195.
30. Brunaud L., Alberto J.M., Ayav A. i wsp. Vitamin B12 is a strong determinant of low methionine synthase activity and DNA hypomethylation in gastrectomized rats. *Digestion* 2003; 68: 133–140.
31. Gluckman P.D., Hanson M.A., Cooper C., Thornburg K.L. Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease. *N. Engl. J. Med.* 2008; 359: 61–73.
32. Morgan H.D., Sutherland H.G., Martin D.J., Whitelaw E. Epigenetic inheritance at the agouti locus in the mouse. *Nat. Genet.* 1999; 23: 314–318.
33. Copley J.E., Suter C.M., Beckman K.B., Martin D.I. Germ-line epigenetic modification of the murine Avy allele by nutritional supplementation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2006; 103: 17308–17312.
34. Lillycrop K.A., Burdge G.C. Epigenetic mechanisms linking early nutrition to long term health. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 2012; 26: 667–676.
35. Scott J.M. Evidence of folic acid and folate in the prevention of neural tube defects. *Bibl. Nutr. Dieta.* 2001; 55: 192–195.
36. Farkas S.A., Böttiger A.K., Isaksson H.S., Finnell R.H., Ren A., Nilsson T.K. Epigenetic alterations in folate transport genes in placental tissue from fetuses with neural tube defects and in leukocytes from subjects with hyperhomocysteinemia. *Epigenetics.* 2013; 8: 303–316.
37. Price E.M., Peñaherrera M.S., Portales-Casamar E. i wsp. Profiling placental and fetal DNA methylation in human neural tube defects. *Epigenetics Chromatin.* 2016; 9: 6.
38. Desai M., Guang H., Ferelli M., Kallichanda N., Lane R.H. Programmed upregulation of adipogenic transcription factors in intrauterine growth-restricted offspring. *Reprod. Sci.* 2008; 15: 785–796.
39. De Rooij S.R., Wouters H., Yonker J.E., Painter R.C., Roseboom T.J. Prenatal undernutrition and cognitive function in late adulthood. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2010; 107: 16881–16886.
40. Mason J.B., Choi S.W., Liu Z. Other one-carbon micronutrients and age modulate the effects of folate on colorectal carcinogenesis. *Nutr. Rev.* 2008; 66: 15–17.
41. Kerr M.A., Livingstone B., Bates C.J. i wsp. Folate, related B vitamins, and homocysteine in childhood and adolescence: potential implications for disease risk in later life. *Pediatrics* 2009; 123: 627–635.
42. Fukami T., Sun X., Li T., Desai M., Ross M.G. Mechanism of programmed obesity in intrauterine fetal growth restricted offspring: paradoxically enhanced appetite stimulation in fed and fasting states. *Reprod. Sci.* 2012; 19: 423–430.
43. Lillycrop K.A., Burdge G.C. Epigenetic changes in early life and future risk of obesity. *Int. J. Obes. (Lond.)* 2011; 35: 72–83.
44. Brawley L., Itoh S., Torrens C. i wsp. Dietary protein restriction in pregnancy induces hypertension and vascular defects in rat male offspring. *Pediatr. Res.* 2003; 54: 83–90.
45. Barker D.J., Larsen G., Osmond C., Thornburg K.L., Kajantie E., Eriksson J.G. The placental origins of sudden cardiac death. *Int. J. Epidemiol.* 2012; 41: 1394–1399.
46. Camm E.J., Martin-Gronert M.S., Wright N.L., Hansell J.A., Ozanne S.E., Giussani D.A. Prenatal hypoxia independent of undernutrition promotes molecular markers of insulin resistance in adult offspring. *FASEB J.* 2011; 25: 420–427.
47. Schaffer A., Verdoia M., Cassetti E., Marino P., Suryapranata H., De Luca G. Novara Atherosclerosis Study Group (NAS). Relationship between homocysteine and coronary artery disease. Results from a large prospective cohort study. *Thromb. Res.* 2014; 134: 288–293.
48. Fournier P., Fourcade J., Roncalli J., Salvayre R., Galinier M., Caussé E. Homocysteine in Chronic Heart Failure. *Clin. Lab.* 2015; 61: 1137–1145.
49. Shi Z., Guan Y., Huo Y.R. i wsp. Elevated total homocysteine levels in acute ischemic stroke are associated with long-term mortality. *Stroke* 2015; 46: 2419–2425.
50. Tannorella P., Stoccoro A., Tognoni G. i wsp. Methylation analysis of multiple genes in blood DNA of Alzheimer's disease and healthy individuals. *Neurosci. Lett.* 2015; 23: 143–147.
51. Chen H., Liu S., Ji L. i wsp. Associations between Alzheimer's disease and blood homocysteine, vitamin B12, and folate: a case-control study. *Curr. Alzheimer. Res.* 2015; 12: 88–94.
52. James S.J., Melnyk S., Jernigan S., Hubanks A., Rose S., Gaylor D.W. Abnormal Transmethylation/transsulfuration Metabolism and DNA Hypomethylation Among Parents of Children with Autism. *J. Autism. Dev. Disord.* 2008; 38: 1976.
53. Behnia F., Parets S.E., Kechichian T. i wsp. Fetal DNA methylation of autism spectrum disorders candidate genes: association with spontaneous preterm birth. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2015; 212: 533.
54. Ismail-Beigi F., Catalano P.M., Hanson R.W. Metabolic programming: fetal origins of obesity and metabolic syndrome in the adult. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2006; 291: 439–440.
55. Portha B., Chavey A., Movassat J. Early-life origins of type 2 diabetes: fetal programming of the beta-cell mass. *Exp. Diabetes. Res.* 2011; 2011: 105076.
56. Kang S.S., Wong P.W., Zhou J.M. i wsp. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase in patients with coronary artery disease. *Metabolism.* 1988; 37: 611–613.
57. Parle-McDermott A, Mills JL, Molloy AM, Carroll N, Kirke PN, Cox C, Conley MR, Pangilinan FJ, Brody LC, Scott JM. The MTHFR 1298CC

- and 677TT genotypes have opposite associations with red cell folate levels. *Mol Genet Metab.* 2006; 88: 290-294.
58. Brody L.C., Conley M., Cox C. i wsp. A polymorphism, R653Q, in the trifunctional enzyme methylenetetrahydrofolate dehydrogenase/methylenetetrahydrofolate cyclohydrolase/formyltetrahydrofolate synthetase is a maternal genetic risk factor for neural tube defects: report of the Birth Defects Research Group. *Am. J. Hum. Genet.* 2002; 71: 1207-1215.
59. Mills J.L., Molloy A.M., Parle-McDermott A. i wsp. Folate-related gene polymorphisms as risk factors for cleft lip and cleft palate. *Birth Defects Res. A. Clin. Mol. Teratol.* 2008; 82: 636-643.
60. Parle-McDermott A., Pangilinan F., O'Brien K.K. i wsp. A common variant in MTHFD1L is associated with neural tube defects and mRNA splicing efficiency. *Hum. Mutat.* 2009; 30: 1650-1656.
61. Christensen K.E., Deng L., Bahous R.H., Jerome-Majewska L.A., Rozen R. MTHFD1 formyltetrahydrofolate synthetase deficiency, a model for the MTHFD1 R653Q variant, leads to congenital heart defects in mice. *Birth Defects Res. A. Clin. Mol. Teratol.* 2015; 103: 1031-1038.
62. Doolin M.T., Barbaux S., McDonnell M., Hoess K., Whitehead A.S., Mitchell L.E. Maternal genetic effects, exerted by genes involved in homocysteine remethylation, influence the risk of spina bifida. *Am. J. Hum. Genet.* 2002; 71: 1222-1226.
63. Mostowska A., Hozyasz K.K., Jagodzinski P.P. Maternal MTR genotype contributes to the risk of non-syndromic cleft lip and palate in the Polish population. *Clin. Genet.* 2006; 69: 512-517.