

## UTJECAJ ČIMBENIKA OKOLIŠA NA PROMJENU GENSKE EKSPRESIJE

Silvija Pušeljić<sup>1,2</sup>, Višnja Tomac<sup>1</sup>, Krešimir Milas<sup>1</sup>, Ivo Pušeljić<sup>3</sup>, Luka Švitek<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Klinički bolnički centar Osijek, Klinika za pedijatriju, Josipa Huttlera 4, HR-31000 Osijek, Hrvatska

<sup>2</sup>Medicinski fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Cara Hadrijana 10E, HR-31000 Osijek, Hrvatska

<sup>3</sup>Klinički bolnički centar Osijek, Zavod za radiologiju, Josipa Huttlera 4, HR-31000 Osijek, Hrvatska

Autor za dopisivanje: doc. prim. dr. sc. Silvija Pušeljić, dr. med.

Klinički bolnički centar Osijek, Klinika za pedijatriju, Josipa Huttlera 4, HR-31000 Osijek, Hrvatska

Adresa e-pošte: puseljic.silvija@kbco.hr

Pregledni članak

Primljeno: 10. rujna 2015. Prihvaćeno: 19. studenoga 2015.

### Sažetak

Posljednjih 10 do 15 godina ubrzani razvoj novih spoznaja u genetici ukazao je na potpuno nove mehanizme nastanka pojedinih bolesti, a posebno razvoja pojedinih kliničkih fenotipova. Promjene u epigenetskom profilu stanice mogu biti pozitivne i pogodovati izražavanju povoljnih gena, kao što su geni koji sudjeluju u staničnoj signalizaciji i suzbijanju onkogeneze. Međutim, promjene također mogu biti štetne i mijenjati funkcije važnih gena, što dovodi do bolesti. Nedavno je dokazano da se neki epigenetski biljezi mogu zadržavati tijekom mejoze i tako prenositi transgeneracijski. Najveći broj publiciranih radova odnosi se na mehanizme autoimunosti i karcinogeneze, no u zadnjih pet godina pojavljuju se i radovi koji se bave fenomenom međureakcije čimbenika okoliša i ekspresije bolesti za brojna druga stanja. U radu su analizirane dosadašnje spoznaje te njihov klinički značaj.

**Ključne riječi:** Epigenomika; Nasljeđe – genetika; Zagađenje zraka – štetni učinci; Preosjetljivost – etiologija, genetika; Autoimuna oboljenja - etiologija, genetika; Poremećaji iz autističnog spektra – etiologija, genetika; Stanična transformacija, neoplastična – genetika

„Moramo spoznati da smo duhovna bića s dušom koja egzistira u duhovnom svijetu, kao i materijalna bića s tijelom i mozgom koji egzistiraju u materijalnom svijetu.”  
Sir John Eccles – dobitnik Nobelove nagrade

### Uvod

Središnja dogma molekularne biologije zasniva se na pretpostavci da je u primarnome slijedu nukleotida genomske deoksiribonukleinske kiseline (DNK, engl. *deoxyribonucleic acid* – DNA) pohranjena temeljna genetska informacija koja se izražava prepisivanjem i prevođenjem (1). Desetljećima je vladala spoznaja da geni određuju sve, od naših fizičkih karakteristika do našega ponašanja. Međutim, osim genskoga koda u genomu čovjeka postoji i epigenetski kod koji regulira gensku aktivnost u svakoj stanici (2). Tijekom proteklih 10-15 godina epigenetska istraživanja postaju izuzetno dina-

mično područje novih spoznaja. U toj riječi prefiks epiznači gore ili iznad pa pojam označava kontrolu iznad gena, a odnosi se na činjenicu da su signali iz okoline ključni čimbenici u regulaciji genske ekspresije (3). Epigenetske modifikacije nasljedne su i reverzibilne promjene genske ekspresije bez promjena u slijedu DNK-a. Osnovni su epigenetski mehanizmi metilacija DNK-a, posttranslacijske modifikacije histona i utišavanje gena ovisno o malim molekulama ribonukleinske kiseline (RNK; engl. *ribonucleic acid* – RNA). Te molekularne promjene utječu na transkripciju gena uključenih u odgovor domaćina na podražaje iz vanjske sredine, nastanak upalnih reakcija pa i učinkovitost farmakološke terapije, a mogu biti nasljedne kroz nekoliko generacija. Mogu nastati i postnatalno, dovodeći do produženih učinaka na transkripciju gena (4). Razvoj epigenetike otvorio je veliko područje znanosti i raspravu jesu li u nastanku mnogih kroničnih bolesti važniji nasljedni čimbenici ili čimbenici

okoline te koliko smo mi ujedno žrtve vlastitoga genskog kapitala. Uspostavu epigenetske mreže određuje struktura gena i njegova promotora, kao i stalno međudjelovanje različitih egzogenih i endogenih čimbenika. Prema aktualnim spoznajama u tom dinamičnom području utjecaj endogenih i egzogenih čimbenika okoliša, po svemu sudeći, presudan je za razvoj velikoga broja kroničnih bolesti čovjeka (2).

O utjecaju čimbenika okoline na nasljeđe među prvima je promišljao Jean Baptiste Lamarck (1744. – 1829.) koji je uklopio djelovanje mekanoga nasljeđivanja (heritabilnost stečenih karakteristika) u svoje evolucijske teorije, što je poznato kao lamarkizam, odnosno ideja da organizam karakteristike koje je stekao za života može prenijeti na svoje potomstvo. Kada je Charles Darwin objavio svoju teoriju evolucije prirodnim odabirom u djelu „O porijeklu vrsta”, zadržao je ideju nasljeđivanja uporabe i neuporabe, ali odbacio je ostale aspekte Lamarckovih teorija. Krajem 19. stoljeća Mendelova je genetika nadomjestila zamisao nasljeđivanja stečenih crta, što je naposljetku dovelo do razvoja moderne evolucijske sinteze i općega napuštanja lamarkističke teorije evolucije u biologiji (5,6). Ponovno promišljanje o interakciji gena i okolišnih čimbenika javlja se početkom 40-ih godina 20. stoljeća kada je Conrad Waddington uveo pojam epigenetika – „grana biologije koja proučava uzročne interakcije između gena i njihovih proizvoda u formiranju fenotipa” (7). Unatoč smanjenju zanimanja za lamarkizam gotovo dva stoljeća, u svjetlu novih spoznaja i razvoja genetike, doživljava procvat unatrag 20-ak godina kada su istraživanja na polju epigenetike rasvijetlila moguće nasljeđivanje bihevioralnih crta koje je stekla prethodna generacija (2). Upravo epigenetski procesi kao dinamični i reverzibilni stanični mehanizmi određuju izražaj nasljednih svojstava zapisanih u statičnom genomu. Epigenetski mehanizmi uspostavljaju i održavaju stabilnost cjelokupnoga genoma te uvjetuju ekspresiju jednoga i inaktivnost preostalog dijela genoma. Navedeno stanici omogućuje rast, ali i programiranu smrt, proliferaciju, ali i mirovanje, specijalizaciju i prilagodbu na eventualne promjene.

### Epigenetski utjecaji na nastanak alergijskih bolesti

Astma je kompleksna, nasljedna bolest koja je u porastu u prevalenciji, učestalosti i ozbiljnosti. Dramatičan porast prevalencije, učestalosti i težine astme tijekom proteklih 20 godina pruža jake dokaze o tome da izloženost okolišnim čimbenicima, uključujući prehranu, igra važnu ulogu u razvoju te bolesti. Te su se promjene dogodile prebrzo da bi se mogle odnositi na promjene u primarnome slijedu DNK-a. Brzo rastući broj radova potvrđuje važnost epigenetskih modifikacija u nastan-

ku astme i alergijskih bolesti, a posebno je važan negativan utjecaj duhanskoga dima i onečišćenja zraka u nastanku tih promjena. Astma se može pojaviti u bilo kojoj životnoj dobi čovjeka te je očigledno njezin varijabilan tijek određen složenim genetskim čimbenicima i čimbenicima okoline te vrlo vjerojatno u svojoj osnovi ima epigenetske mehanizme (8). Razdoblja u kojima bi vjerojatni epigenetski mehanizmi igrali važnu ulogu jesu prenatalno razdoblje, rano djetinjstvo i adolescencija. Barker postavlja hipotezu da su organi intrauterino preprogramirani za kasnije fiziološke i metaboličke adaptacije u životu te se kroz intrauterinu epigenetsku regulaciju stvaraju uvjeti za kasniji razvoj niza kroničnih bolesti (9). Iako nasljednost u nastanku astme pokazuje model obiteljske nasljednosti (36-79 %) s nemendelovskim uzorkom i polimorfizmima u više od 100 gena, taj način objašnjava tek mali dio etiologije bolesti (10-13). Epigenetski mehanizmi kod astme pokazuju i prijenos po roditeljskome podrijetlu: veća je vjerojatnost da će ju majka koja ima astmu prenijeti na potomstvo u odnosu na prijenos bolesti od pogođenoga oca (14). Taj roditeljski model nasljednosti najvjerojatnije proizlazi iz imunološkoga međudjelovanja fetusa i majke (15). Utjecaj ishrane majke na nastanak astme i alergijskih bolesti odavno je poznat. Istraživanje Hollingwortha i suradnika pokazalo je da visoka razina metil grupa u ishrani ženki miševa povećava rizik za nastajanje alergijske astme u potomstva (16). Na molekularnoj razini prekomjerna metilacija suprimira gen koji je odgovoran za aktivaciju CD4 T-limfocita. U tom svjetlu zanimljiva je uloga folne kiseline, čiji unos utječe na razinu metilacije DNK-a, pa bi njezino davanje moglo spriječiti metilaciju DNK-a izazvanu onečišćenjem zraka ili unosom soje. Visok unos metil grupa povećavao je i stupanj težine bolesti, a bio je prisutan i transgeneracijski. Whitrow i suradnici u svom su istraživanju utvrdili da žene koje su u kasnoj trudnoći uzimale suplementaciju folatima češće imaju djecu s dijagnosticiranom astmom (17). Haberg, međutim, nalazi sličan učinak i kod suplementacije u prvom tromjesečju, mada povećanje rizika nije bilo izraženo (18). Prenatalna izloženost majke i bake po majci duhanskomu dimu povećava rizik za nastajanje astme u kasnijem životu (19-21). Slično vrijedi za izlaganje ispušnim česticama dizela, koje olakšavaju sintezu specifičnih antitijela imunoglobulina E (IgE) na *Aspergillus* povećavajući metilaciju DNK-a u promotorskoj regiji gena za IL-4 u mišjem modelu, a razina metilacije proporcionalna je stvaranju IgE-a (22). Izlaganje česticama dizela povećava acetilaciju histona u regiji gdje se nalazi promotor gena za ciklooksigenazu (COX)-2, što vodi povećanoj produkciji toga enzima koji sudjeluje u upalnim procesima kod čovjeka (23). Pokazano je da metilacijski status promotora gena za ACSL3, iz porodice gena odgovornih za sintezu derivata

arahidonske kiseline, biva povećan u djece do pet godina pod utjecajem onečišćenja zraka. Ne znamo kakav je točno utjecaj tih procesa na upalne procese u bronhima, ali to je prva studija koja pokazuje epigenetski učinak na gen koji se smatra važnim u nastanku astme (24). U kohorti dobrovoljaca Baccarelli i suradnici pokazali su da je izlaganje česticama dizela i finim česticama prašine povećavalo metilaciju DNK-a (25). Metilacija ima velik značaj i za održavanje Th2 odgovora jer postoji demetilacija na genu za IL-4 (26). Ostaje nejasno kakav je mehanizam perzistencije Th2 odgovora u alergičnih osoba. Postoje dokazi da je za to odgovoran specifičan citokinski profil intrauterino. Hamada i suradnici opisali su da ako u miševa senzibiliziraju majke ovalbuminom i izazovu im bronhalnu hiperresponsivnost, taj će učinak biti prisutan u njihovu potomstvu, a neće ga biti u potomaka nesenzibiliziranih majki. Također, postnatalni bronhoprovokativni test u tih će miševa biti pozitivan i na druge, potpuno različite alergene, dok je tretiranje astmatičnih majki antitijelima na IL-4 potpuno uklanjalo tu pojavu. Tijekom Th2 polarizacije postoji visoka razina metilacije na promotoru gena za interferon- $\gamma$ , a tijekom polarizacije u Th1 fenotip dolazi do demetilacije u toj regiji. Sve to pokazuje da je transkripcija interferon- $\gamma$  određena aktivnošću histon acetilaza ili deacetilaza, a sličnih nalaza danas ima mnogo (27).

### Epigenetske promjene u autoimunih bolesti

Autoimune bolesti nastaju kao posljedica pretjerane reakcije imunološkoga sustava protiv tvari, organizama i tkiva normalno prisutnih u tijelu. Danas postoji preko 40 klasificiranih ljudskih bolesti koje sigurno ili vjerojatno imaju autoimuno podrijetlo i od njih ukupno boluje otprilike 5-7 % svjetske populacije. Gotovo sve autoimune bolesti pojavljuju se bez upozorenja i jasnih uzroka. Oni su još uvijek nejasni i mnogi stručnjaci smatraju da većina takvih bolesti predstavlja tzv. bolesti obilja, odnosno bolesti uzrokovane tehnološkim i kulturnim napretkom i odmicanjem čovjeka od njegova prirodnoga okoliša. Upalne autoimune bolesti odražavaju složene interakcije između genskih varijacija i okoliša (28). Imunopatološka osnova tih bolesti odnosi se na pojačanu aktivnost autoreaktivnih CD4 T-stanica koje izlučuju upalne citokine i gubitak regulatorne funkcije T-limfocita. Imunološki homeostaza ovisi o ravnoteži CD4 protuupalnih stanica (TH1, TH2, TH17) i FOXP3 regulatornih T-limfocita, od kojih svaki eksplicira različite citokine na površini molekule (29). Svaka vrsta stanica kontrolirana je jedinstvenim skupom transkripcijskih čimbenika (engl. *master transcription factors* – TFs) koji izravno oblikuju tipno-specifičnu ekspresiju gena uključenih u razvoj autoimunih bolesti (30). Istraživanja provedena kako u kliničkim uvjetima tako i u eksperimentalnim

modelima pokazuju da promjene u posttranslacijskim modifikacijama histona i metilaciji DNK-a dvaju glavnih epigenetskih mehanizama potencijalno mogu izazvati slom imunološke tolerancije i razvoj autoimunih bolesti kao što su sistemski eritemski lupus, reumatoidni artritis, multipla skleroza i druge bolesti (31,32). Svaka autoimuna bolest uključuje najmanje dva velika igrača, imunološki sustav, efektor autoimunoga oštećenja i ciljne organe, koji mogu imati različite stupnjeve rezistencije na autoimuna oštećenja. Epigenetske modifikacije imunološkoga sustava ili ciljnoga organa mogu imati ulogu u razvoju bolesti. Tijekom posljednje 2-3 godine veći broj istraživanja pokazuje da su epigenetske promjene u ciljanome organu važne u nekim autoimunim bolestima. Na primjer, u sinovijalnome tkivu pacijenata s reumatoidnim artritisom postoji hipometilacija DNK-a (33), smanjenje razine gena HDAC1 (engl. *Histone Deacetylase 1*) i HDAC2 (engl. *Histone Deacetylase 2*) i hiperacetiliranje histona H3 i H4 te hipometilacija histona H3 na lizin (34). Slično je i u bolesnika s multiplom sklerozom. U odnosu na zdrave pojedince, postoji hipometilacija DNK-a u bijeloj tvari mozga, ali ne i u tkivu timusa (35). Više studija tijekom niza godina pokazuju da su kod sistemskoga lupusa promjene i na DNK-u i na histonima ciljnih organa, što utječe dalje na antigeničnost (36-38). U većini slučajeva podrijetlo specifičnih podražaja koji dovode do epigenetskih promjena u bolesnika s autoimunim bolestima ostaje nedefinirano, ali može uključivati mnoge različite podražaje, vanjske (npr. prehrana, izlaganje suncu, kemikalije za zaštitu okoliša, lijekovi) i unutarnje (npr. starenje, stres, spolni hormoni). Neki epigenetski utjecaji manifestiraju se u generaciji bolesnika koji su izloženi modificirajućemu agensu, dok se u drugim slučajevima čini da se bolest javlja uglavnom jednu ili dvije generacije nakon izlaganja (39). Također je zanimljivo razmotriti kako različiti podražaji različito utječu na muškarce i žene, a u svjetlu spoznaje značajno veće učestalosti autoimunih bolesti u žena. Spolni dimorfizam u autoimunosti eventualno pretpostavlja da se epigenetski čimbenici češće susreću u žena ili da su pripadnici jednoga spola osjetljiviji od drugih. To je spekulativno, ali može se razmotriti kao hipoteza (40). Epigenetske veze između prehrane i autoimunih bolesti mogu pridonijeti razumijevanju njihove pojavnosti. Poznato je da hrana pruža donatore metilnih skupina (metionin, kolin) i kofaktore (folna kiselina, vitamin B12 i pirodoksal fosfat) koji su bitni za metilaciju DNK-a i histona (41). Isto tako, sada je dobro poznato da razvoj kroničnih bolesti u odraslih stoji u pozitivnoj korelaciji prenatalne i postnatalne prehrane (42,43). Nadalje, tu su i izvješća o prehrani nastala zbog epigenetskih promjena u odrasle osobe. Ultraljubičasto zračenje potiče više epigenetskih promjena, uključujući hipermetilaciju brojnih gena promotora, fosforilaciju histona

H3 i acetiliranje histona H3 i H4, od kojih neki imaju imunosupresivni učinak (44). Poznato je da lijekovi kao što su prokainamid hidralazin induciraju hipometilaciju DNK-a i mogu izazvati stanje nalik sistemskom lupusu (45). Nedavne studije pokazuju da žene koje uzimaju oralne kontracepcijske pilule imaju niže razine globalne metilacije DNK-a od žena koje ne uzimaju oralne kontraceptive (46), ali nije dokazana specifična povezanost između učestalosti autoimunih bolesti i uporabe oralnih kontraceptiva. Bilo je izvješća o pogoršanju autoimunih bolesti kod postupaka potpomognute oplodnje (47), ali do sada bez jasnoga dokaza da djeca začeta umjetnom oplodnjom imaju povećan rizik od razvoja autoimuniteta (iako, najstariji od te djece sada su tek u svojim ranim tridesetima). Pretpostavlja se da je razlog tomu uzimanje hormonske terapije za induciranje ovulacije ili kako bi se pomoglo implantaciju. Starenje je povezano s promjenama u ekspresiji gena, a događaju li se te promjene prije svega zbog epigenetskih ili genetskih promjena (tj. akumuliranih oštećenja DNK-a) nije jasno, ali je moguće da su epigenetske promjene odgovorne za dio bolesti. Novije studije blizanaca pokazale su da iako su monozigotni blizanci epigenetski minimalno različiti u ranoj životnoj dobi, u starosti pokazuju mnoge razlike u metilaciji DNK-a i acetilaciji histona (48,49). X-vezani geni tipično su nemetilirani (aktivni) u muškaraca, dok žene imaju jedan metilirani (Xi) i jedan nemetilirani (Xa) gen. Nađeno je da su neki geni Xi demetilirani u žena s autoimunim bolestima posebno kod sistemskoga lupusa (50). Nekoliko molekula kodiranih na X-kromosomu imaju značajnu ulogu u razvoju autoimunih bolesti: interleukin (IL) 2R $\gamma$  lanac (također poznat kao zajednički  $\gamma$ -lanac jer dijeli receptore za IL2, IL7, IL15 i IL21), (51), FOXP3 (52), tkivni inhibitori metaloproteinaza 1 do 4 koji imaju važnu ulogu u razvoju upale (53) te X-vezani inhibitor apoptoze koji regulira funkciju T-stanica (54). To je dinamično područje istraživanja koje će u sljedećih nekoliko godina sigurno povećati naše razumijevanje o tome kako je X-kromosom uključen u razvoj autoimunosti. Proces X-inaktivacije ima više slojeva epigenetske kontrole, a promjene dovode ili do ekspresije gena na X-kromosomu koji štiti od autoimunih bolesti ili pojačane ekspresije gena koji aktiviraju autoimune mehanizme (55). Povećanje našega znanja o epigenetskim mehanizmima povećava izgleda za kontroliranje, sprječavanje i liječenje autoimunih bolesti u budućnosti kroz uporabe lijekova koji ciljaju na epigenetske putove.

### Epigenetika i središnji živčani sustav

Desetljeće istraživanja pokazalo je da su epigenetski mehanizmi iznimno važni u regulaciji ekspresije gena neurona. Posttranslacijska modifikacija histona, posebno acetilacija, fosforilacija i metilacija imaju ključ-

nu ulogu. Modifikacija histona uočena je u više regija središnjega živčanog sustava, a povezana je s brojnim funkcijama uključujući asocijativno mišljenje, prostorno učenje, pamćenje i dugoročnu memoriju. Disregulacija histonske modifikacije povezana je s poremećajima u razvoju, kognitivnim propadanjem, bolestima ovisnosti, psihijatrijskim poremećajima kao i pojavom depresije. Počinjemo primjećivati nova provokativna istraživanja koja demonstriraju djelovanje naših misli i osjećaja na naše gene. Svaka misao i osjećaj pokreću poseban slijed biokemikalija u našim organima, a svako iskustvo pokreće genetske promjene u našim stanicama (56). Put kojim epigenetski signali utječu na izražavanje gena sastoji se od mnogo koraka. Moshe Szyf i suradnici proučavali su odnose između majki štakora i njihova potomstva. Neke majke štakora provode mnogo vremena njegujući svoju mladunčad, a druge ne. Mladunčad koja je bila njegovana u odrasloj dobi pokazivala je zamjetne promjene u ponašanju. Bili su manje strašljivi i bolje prilagođeni od potomstva čije su majke zanemarivale svoju mladunčad. Model ponašanja prenosio se transgeneracijski. Varijacije u majčinskoj skrbi u štakora utječu na transkripcijsku aktivnost gena za glukokortikoidni receptor u hipokampusu. Štakori koji su imali malo majčinske skrbi pokazivali su visoku razinu metilacije i niske razine acetilacije gena za glukokortikoidni receptor (57). Najveća provedena studija o utjecaju nepovoljnih iskustava u djetinjstvu i razvoja bolesti u odrasloj dobi provedena je u suradnji Kaiser Permanente bolnice u San Diegu i Centra za kontrolu i prevenciju bolesti (engl. *Centers for Disease Control and Prevention – CDC*), a poznata je pod imenom ACE (engl. *Adverse Childhood Experiences*). Istraživači su tijekom petogodišnjega razdoblja proveli detaljna socijalna, psihološka i medicinska ispitivanja nad 17 421 osobom. Studija je pokazala povezanost negativnih iskustava iz djetinjstva sa zdravstvenim i socijalnim problemima u odrasloj dobi. Iz te studije proizašlo je više od 50 znanstvenih članaka i više od 100 konferencija i radionica (58). Neuroznanstvenici su ispitali potencijalne mehanizme koji bi mogli objasniti negativne posljedice loših iskustava iz djetinjstva na zdravlje odrasle osobe (59). Stres u ranoj životnoj dobi može promijeniti strukturni razvoj neuronskih mreža i biokemijski odgovor neuroendokrinoga sustava (60-62), što može imati dugoročne učinke, uključujući ubrzanje procesa bolesti i starenja i pogrešnu aktivaciju imunološkoga sustava. Epigenetske promjene mogu se pojaviti zbog stresa tijekom trudnoće ili tijekom interakcije između majke i novorođenčeta i prenose se transgeneracijski (63,64). Molekularni mehanizmi koji se pokreću kao reakcija na stresne događaje uključuju promjene u ekspresiji gena u limbičkim područjima mozga, kao što su hipokampus i amigdala. Međutim, temeljni molekularni mehanizmi donedavno su bili slabo poznati. Više od



deset godina traju istraživanja o ulozi glukokortikoidnih hormona u signalizaciji i pokretanju epigenetskih mehanizama koji tijekom stresa utječu na transkripciju gena prije svega u neuronima hipokampusa (65). Nađeno je da u brzom negenomičkom mehanizmu porast razine glukokortikoida preko glukokortikoidnih receptora aktiviraju četiri osnovna unutarstanična signalna puta kojima se kontrolira ekspresija gena uključenih u upalni odgovor na transkripcijskoj i posttranskripcijskoj razini. To su signalni putevi proteinskih kinaza aktiviranih mitogenima (engl. *mitogen-activated protein kinase* – MAPK) i signalni put kinaze regulirane izvanstaničnim signalima (engl. *extracellular-signal-regulated kinase* – ERK) koji potom aktiviraju sljedeću kaskadu nuklearnih kinaza MSK1 (engl. *mitogen- and stress-activated protein kinase 1*) i proteina Elk-1 dominantno u području *gyrusa dentatusa* u zoni hipokampusa (66,67). Aktivacija toga signalnog puta dovodi do fosforilacije serina 10 i lizina 14 te aciliranje histona H3 na (H3S10p-K14ac), što dovodi do brze aktivacije ranoga gena *c-fos* i *Egr-1*. Isto tako, metilacija DNK-a gena promotora također dovodi do aktivacije gena (68). Također je izuzetno važna uloga gama aminomaslačne kiseline (engl. *gamma-amino butyric acid* – GABA) u kontroli epigenetskih i genskih transkripcijskih odgovora na psihološki stres, koja se aktivira istim signalnim putevima (69). Danas se provodi i velik broj istraživanja kako bi se poboljšalo naše razumijevanje neurobioloških mehanizama eventualno uključenih u autistični spektar poremećaja (engl. *autistic spectrum disorder* - ASD). Nekoliko autora podupire hipotezu da je etiologija najvjerojatnije poligenetska i potencijalno epistatična te da okolišni čimbenici u interakciji s genetskim čimbenicima povećavaju rizik (70,71). Dosadašnja istraživanja pokazuju da je pojavnost autizma u izravnoj svezi sa starijom roditeljskom dobi, posebice očinskom, a povezan je i s dvama polimorfizmima gena metilentetrahidrofolat reduktaze (MTHFR), koji je ključan za biosintezu DNK-a i epigenetske procese metilacije DNK-a (72). Neki su autori (73,74) našli nizak rizik od neuroloških bolesti kod djece začete *in vitro* oplodnjom (engl. *in vitro fertilization* – IVF). Prethodna istraživanja o mogućim vezama između potpomognute oplodnje i autizma pokazala su nedosljedne rezultate (75,76). Novije epidemiološke studije koje uključuju veće populacije pokazuju da IVF nije povezan s autizmom (77), nego s povećanim rizikom od intelektualnih teškoća. Prema Sandin i suradnicima, rizik za poremećaje autističnoga spektra (PAS) bio je značajno viši kod oplodnje intracitoplazmatskom injekcijom spermija u odnosu na IVF (78). Depresija majke (prenatalna, ali i postnatalna) postavlja zanimljiva pitanja u vezi s čimbenicima rizika za ASD. Studija provedena na 4429 slučajeva ASD-a pokazuje da je anamneza depresije tijekom trudnoće povezana s povećanjem rizika za ASD u potomaka otprilike 60 % (79). Studija Croena i suradnika nalazi povezanost između

upotrebe selektivnih inhibitora ponovne pohrane serotonina tijekom trudnoće i ASD-om u potomaka (80). Naime, prenatalna izloženost depresiji povećava u novorođenčadi razinu metilacije promotorske regije za glukokortikoidni receptor, što dovodi do pojačanoga odgovora na stres osovine hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda (engl. *hypothalamic-pituitary-adrenal axis* – HPA) i tri mjeseca nakon poroda (81). Isto tako, značajno se mijenjaju metilacijski uzorci na promotorskoj regiji serotonin transportera (engl. *serotonin-transporter-linked polymorphic region* – 5-HTTLPR), što vjerojatno dovodi do promjena u neurobiološkome sustavu djeteta (82). Stoga se možda u ovoj fazi novih istraživanja, ne samo autizma nego i drugih složenih neurobioloških promjena središnjega živčanog sustava, ne treba usredotočiti na gene autizma, gene depresije i slično, što podrazumijeva determinizam, već pronaći modele po kojima se mijenja genska ekspresija središnjega živčanog sustava u toj složenoj interakciji čovjeka i njegova egzogenoga i endogenoga okoliša.

### Epigenetske promjene u neoplastičnim procesima

Suvremena istraživanja jasno su nagovijestila da u patogenezi malignih bolesti ključnu ulogu imaju epigenetski procesi, a epigenetika danas predstavlja priznatu i iznimno dinamičnu znanstvenu disciplinu posebno u tome području istraživanja. Stanica kontinuirano komunicira s okolišem (sa stanicama istoga organizma kao i s okruženjem samoga organizma). U toj komunikaciji prima informacije o potrebama organizma i zahtjevima okoliša te određuje vlastite potrebe. Element epigenetskoga puta koji sadrži dotičnu informaciju naziva se epigenator, što je po definiciji čimbenik iz okoliša organizma (egzogeni čimbenik), samoga organizma (endogeni čimbenik), ali i iz citoplazme kada sadrži informaciju o promjeni u samoj stanici. Epigenator ima sposobnost prijensa informacije epigenetskim inicijatorima, elementima epigenetskoga puta koji selektivno određuju segmente genoma čijom se reorganizacijom ekspresije omogućuje najbolji stanični odgovor na dobivenu informaciju (83). Mnogobrojna su istraživanja pokazala izmijenjenu epigenetsku aktivnost u gotovo svim tumorima (84-86). Postoje i dokazi patološki izmijenjenoga epigenoma u iznimno ranoj fazi razvoja tumora što nameće hipotezu alteriranoga epigenoma kao vjerojatno prvoga događaja na putu stanične transformacije u razvoju tumora (87). Ta istraživanja pokazuju da epigenetski incidenti mogu imati ulogu inicijatora maligne transformacije stanica. Epigenetski koncept promovira dinamičnije poimanje kancerogeneze prema kojemu epigenetski mehanizmi kao primarni deregulatori induciraju patološku promjenu fiziološkoga staničnog fenotipa, odnosno patološki odgovor na podražaje iz okoliša. Izmijenjeni fenotip pokazuje stabilan transgeneracijski prijenos sukladno

principu epigenetskoga nasljeđivanja, ali zadržava dinamičnu interaktivnost sa staničnim okolišem (88). Metilacija DNK-a prva je opisana i trenutačno najistraženija epigenetska modifikacija. Promjene metilacije DNK-a pokreću reorganizaciju strukture kromatina posljedično mijenjajući gensku ekspresiju, ali i stabilnost kromatina (89). Stoga je metilacija DNK-a odavno prepoznata kao ključni stanični mehanizam tijekom embriogeneze i razvoja organizma kao i razvoja mnogih bolesti (90). U tumorskim stanicama hipometilirani DNK pronalazimo na promotorima gena matičnosti, protoonkogenima/onkogenima, genima staničnoga ciklusa i inhibitorima apoptoze. Hipermetilirani DNK u tumorskim stanicama tipičan je u promotorima gena supresora tumora, proapoptičkih gena, gena negativnih regulatora staničnoga ciklusa i diferencijacijskih gena. Organizacijom izvnutoga metiloma stanica zapravo oblikuje svoj neoplastični fenotip. Specifičnost je tumorskih stanica i globalna demetilacija postignuta demetilacijom uglavnom repetitivnih sekvenci, transpozona te ostalih nekodirajućih regija genoma. Gubitak metilacije DNK-a propagira organizaciju otvorene strukture kromatina što omogućuje aktivnost inače utišanih regija. Globalna demetilacija otvara ogromne fragmente kromatina koji postaje nestabilan i izložen stjecanju novih genomskih mutacija i kromosomskih aberacija (91). Metilacija DNK-a zasigurno je aktivan proces posredovan enzimatskom mašinerijom, suprotno demetilaciji DNK-a koja može, osim aktivnim procesom, biti ostvarena i pasivnim gubitkom metilne skupine. Gen GSTP1 kada je hipometiliran zaštitni je čimbenik utjecaja oksidacije na tkivo prostate, dok njegovom hipermetilacijom dolazi do njegova utišavanja, a taj je mehanizam nađen u 90 % slučajeva raka prostate (92). Takav epigenetski mehanizam uočen je i u nizu drugih promotorskih regija poznatih onkogeno/protoonkogeno te je postao temelj za buduću detekciju biomarkera kao i epigenetsko liječenje (93). Nekodirajući dio genoma čovjeka obuhvaća gotovo 98 % cjelokupnoga genoma te iako se do jučer nazivao pojmovima poput otpadni DNK (engl. *junk-DNA*), danas postaje jasno da je upravo taj dio genoma pogodovao razvoju složenijih organizama. Nekodirajući dio genoma prepisuje se u molekule RNK-a koje nazivamo nekodirajući RNK (engl. *non-protein-coding* – RNAs, ncRNAs) i razlikuju se od molekula mRNK-a prije svega jer ne podliježu translaciji u proteine. Prema dosadašnjim spoznajama, molekule ncRNK-a sudjeluju u svim najvažnijim staničnim procesima poput transkripcijske i posttranskripcijske regulacije ekspresije gena, inaktivacije X-kromosoma (94), reprogramiranja u zametnim stanicama (95) i paramutacija (96). Molekule ncRNK-a sudjeluju u mnogim staničnim procesima regulacije ekspresije gena te regulacije strukture kromatina bez zadiranja u sekvencu DNK-a. Upravo su stoga molekule ncRNK-a ubrojene u epigenetski

sustav nazvan interferencija RNK-a (engl. *RNA interference* - RNAi). Mehanizam interferencije RNK-a samo je jedan od opisanih mehanizama kojima se postiže specifična represija ili inhibicija ekspresije pojedinoga gena, poput primjerice onkogeno, gena supresora tumora, pozitivnih i negativnih regulatora staničnoga ciklusa i apoptoze, diferencijacije ili gena poznatih sekvenci, ali nepoznatih funkcija pomoću ncRNK-a (97). Vanjski / okolišni čimbenici rizika za razvoj maligne bolesti međusobno su snažno isprepleteni i ovisni jedni o drugima. Debljina je povezana s prehranbenim navikama i vrstama namirnica koje konzumiramo te s tjelesnom aktivnosti, dok su različiti socioekonomski pokazatelji povezani s gotovo svim rizičnim čimbenicima u razvoju malignih, ali i kardiovaskularnih bolesti te niza kroničnih bolesti (98). Dokazano je da ksenobiotici okoliša, posebno policiklički aromatski ugljikovodici, induciraju oštećenje DNK-a te da utječu na procese metilacije (99). Jasni su karcinogeni učinci izazvani tamoksifinom, triklortilenom, aflatoksinom B1, niklom i kromom koji ne slijede klasične modele karcinogeneze, nego uključuju spektar staničnih promjena s epigenetskim modifikacijama (100-102).

Iako su epigenetička dijagnostika i epigenetska terapija u začecima, suvremena bazična biomedicinska istraživanja i pokušaji njihove translacije u kliničku praksu predstavljaju snažnu platformu za razvoj medicine budućnosti. Terapijske težnje epigenetičkih istraživanja usmjerene su prema zaustavljanju daljnjega napretka epimutacija i ponovne uspostave fiziološkoga epigenetskog koda u neoplastično izmijenjenim stanicama upotrebom epigenetskih lijekova (88,103). Do sada je američka Agencija za hranu i lijekove (engl. *Food and Drug Administration* – FDA) odobrila ukupno pet epigenetskih lijekova koji se nalaze na tržištu, a svi se upotrebljavaju za liječenje malignih bolesti. Među prvima, tu je 5-azacitidin (5azaC), (Vidaza) koji je u kliničkoj uporabi kao demetilacijski lijek koji potiče reaktivaciju patološki utišanih gena supresora tumora, indukciju ekspresije diferencijacijskih gena s posljedičnom uspostavom diferenciranih staničnih fenotipova, inhibiciju proliferacije i malignoga rasta te gubitka tumorskoga klonaliteta (104,105). Rabi se za liječenje akutne mijeloidne leukemije (AML) i mijelodisplastičnoga sindroma (MDS). Isti mehanizam ima i decitabine (Dacogen), također za liječenje mijelodisplastičnoga sindroma. Vorinostat (Zolinaza), poznat kao suberanilohidroksiamična kiselina (*suberoyl + anilide + hydroxamic acid*), inhibitor je histonske deacetilaze (engl. *histone deacetylase inhibitors* – HDI). Rabi se za liječenje kutanoga oblika T-staničnoga limfoma (engl. *cutaneous T-cell lymphoma* – CTCL). Isti mehanizam i indikaciju ima i romidepsin (Istodax). Ruxolitinib (Jakafi) u trećoj je fazi kliničko-

ga testiranja za mijelofibrozu, a inhibitor je Janus kinaze (JAK), koja je aktivator transkripcije za citokine koji dovede do genske ekspresije. To dinamično područje istraživanja zasigurno otvara novo poglavlje u medicini, kako u razumijevanju etiologije mnogih bolesti tako i u istraživanju novih epigenetskih biomarkera za dijagnostiku te lijekova s učinkom na epigenetske mehanizme (105).

### Zaključak

Ovaj kratki pregled opisuje sadašnje znanje o potencijalnome utjecaju epigenetskih procesa aktiviranih okolišnim čimbenicima na gensku ekspresiju. Epigenetska obilježja iznimno su važna za ispravnu aktivaciju ili utišavanje aktivnosti genoma. Oni su dinamički regulirani tijekom rasta i razvoja, a tijekom cijeloga života mogu se remodelirati pod utjecajem endogenih ili egzogenih okolišnih čimbenika. Promjene u epigenetskome profilu stanice mogu biti pozitivne i tada pogoduju izražavanju povoljnih gena, kao što su oni povezani sa staničnom signalizacijom i supresijom tumorskoga rasta. Međutim, oni također mogu biti štetni i mijenjati funkcije važnih gena, a tako dovede do bolesti. Neke epigenetske promjene mogu se održavati tijekom mejoze te se tako prenose i transgeneracijski. Taj integrirani kliničko-biološki pristup uzima u obzir interakcije između genetskih čimbenika i postnatalnih ili prenatalnih čimbenika okoliša (intrauterinoga okruženja s aktivnom izmjenom na razini majka-dijete-posteljica, psihosocijalnoga okruženja, emocionalnih čimbenika te konkretno svih vanjskih čimbenika) na aktivaciju pojedinih gena. Stoga je važno da se u okviru novih spoznaja ne usredotočimo isključivo na gene za neku bolest, što podrazumijeva determinizam, već da pokušamo razmotriti, a u budućnosti i dokazivati učinkovitim biomarkerima razinu aktivacije pojedinih gena. Epigenetika otvara tako potpuno nove perspektive za bolje razumijevanje, prevenciju i rano liječenje niza kroničnih bolesti.

### LITERATURA

1. Crick F. Central dogma of molecular biology. *Nature*. 1970; 227(8):561-3.
2. Tollesbol T. Epigenetics: The new science of genetics. U: *Handbook of epigenetics: The new molecular and medical genetics*. London: Burlington: San Diego: Elsevier; 2011. str. 1-6.
3. Miner AL, Rosenberg AJ, Nijhout HF. Control of growth and differentiation of the wing imaginal disk of *Precis coenia* (Lepidoptera: Nymphalidae). *J Insect Physiol*. 2000;46(3):251-8.
4. Morgan HD, Santos F, Green K, Dean W, Reik W. Epigenetic reprogramming in mammals. *Hum Mol Genet*. 2005;14 Spec No1:R47-58.
5. Roth TL, Lubin FD, Funk AJ, Sweat JD. Lasting epigenetic influence of early-life adversity on the BDNF gene. *Biol Psychiatry*. 2009;65(9):760-9.
6. Arai JA, Li S, Hartley DM, Feig LA. Transgenerational rescue of a genetic defect in long-term potentiation and memory formation by juvenile enrichment. *J Neurosci*. 2009;29(5):1496-502.
7. Waddington CH. The epigenotype. 1942. *Int J Epidemiol*. 2012;41(1):10-3.
8. Asher MI, Stewart AW, Wong G, Strachan DP, García-Marcos L, Anderson HR, i sur. Changes over time in the relationship between symptoms of asthma, rhinoconjunctivitis and eczema: a global perspective from the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2012;40(5):267-74.
9. Sleiman PM, Flory J, Imielinski M, Bradfield JP, Annaiah K, Willis-Owen SA, i sur. Variants of DENND1B associated with asthma in children. *N Engl J Med*. 2010;362(1):36-44.
10. Vercelli D. Discovering susceptibility genes for asthma and allergy. *Nat Rev Immunol*. 2008;8(3):169-82.
11. March ME, Sleiman PM, Hakonarson H. The genetics of asthma and allergic disorders. *Discov Med*. 2011;11(56):35-45.
12. Mathias RA, Grant AV, Rafaels N, Hand T, Gao L, Vergara C, i sur. A genome-wide association study on African-ancestry populations for asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125(2):336-46.
13. Barker DJP. Maternal nutrition, fetal nutrition, and disease in later life. *Nutrition*. 1997;13(9):807-13.
14. Moffatt MF, Cookson WO. The genetics of asthma. Maternal effects in atopic disease. *Clin Exp Allergy*. 1998;28Suppl 1:56-61.
15. Holt PG, Macaubas C, Stumbles PA, Sly PD. The role of allergy in the development of asthma. *Nature*. 1999;402(6760 Suppl):B12-7.
16. Hollingsworth JW, Maruoka S, Boon K, Garantziotis S, Li Z, Tomfohr J, i sur. In utero supplementation with methyl donors enhances allergic airway disease in mice. *J Clin Invest*. 2009;118(10):3462-9.
17. Whitrow M, Moore V, Rumbold A, Davies M. Effect of supplemental folic acid in pregnancy on childhood asthma: a prospective birth cohort study. *Am J Epidemiol*. 2009;170(12):1486-93.
18. Haberg S, London S, Stigum H, Nafstad P, Nystad W. Folic acid supplements in pregnancy and early childhood respiratory health. *Arch Dis Child*. 2009;94(3):180-4.
19. Li YF, Langholz B, Salam MT, Gilliland FD. Maternal and grandmaternal smoking patterns are associated with early childhood asthma. *Chest*. 2005;127(4):1232-41.
20. Hylkema MN, Blacquièr MJ. Intrauterine effects of maternal smoking on sensitization, asthma, and chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc*. 2009;6(8):660-2.
21. Henderson AJ, Newson RB, Rose-Zerilli M, Ring SM, Holloway JW, Shaheen SO. Maternal Nrf2 and glutathione-S-transferase polymorphisms do not modify associations of prenatal tobacco smoke exposure with asthma and lung function in school-aged children. *Thorax*. 2010;65(10):897-902.
22. Liu J, Ballaney M, Al-alem U, Quan C, Jin X, Perera F. Combined inhaled diesel exhaust particles and allergen exposure alter methylation of T helper genes and IgE production in vivo. *Toxicol Sci*. 2008;102(1):76-81.
23. Cao D, Bromberg P, Samet J. COX-2 expression induced by diesel particles involves chromatin modification and degradation of HDAC1. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2007;37(2):232-9.
24. Perera F, Tang WY, Herbstman J, Tang D, Levin L, Miller R, i sur. Relation of DNA methylation of 50-CpG island of ACSL3 to transplacental exposure to airborne polycyclic aromatic hydrocarbons and childhood asthma. *PLoS One*. 2009;4(2):1-14.
25. Baccarelli A, Wright R, Bollati V, Tarantini L, Litonjua AA, Suh HH, i sur. Rapid DNA methylation changes after exposure to traffic particles. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009;179(7):572-8.
26. Lee D, Agarwal S, Rao A. Th2 lineage commitment and effici-



- ent IL-4 production involves extended demethylation of the IL-4 gene. *Immunity*. 2002;16(5):649-60.
27. Nestorović B, Milošević K. Epigenetski utjecaj na nastanak alergijskih bolesti. *Paediatr Croat*. 2012;56 Suppl 1:77-80.
  28. Farh KKH, Marson A, Zhu J, Kleinewietfeld M, Housley WJ, Beik S, i sur. Genetic and epigenetic fine mapping of causal autoimmune disease variants. *Nature*. 2015;518(7539):337-43.
  29. Buckner JH. Mechanisms of impaired regulation by CD4(+) CD25(+)FOXP3(+) regulatory T cells in human autoimmune diseases. *Nature Rev Immunol*. 2010;10(12):849-59.
  30. Ciofani M, Madar A, Galan C, Sellars M, Mace K, Pauli F, i sur. A validated regulatory network for TH17 cell specification. *Cell*. 2012;151(2):289-303.
  31. Ballestar E, Javierre BM, de la Rica L, Gómez-Cabrero D, Tegnér J, Gomez-Vaquero C, i sur. Epigenetics alterations in autoimmune diseases. *J Transl Med*. 2011;9 Suppl 2:13.
  32. Meda F, Folci M, Baccarelli A, Selmi C. The epigenetics of autoimmunity. *Cell Mol Immunol*. 2011;8(3):226-35.
  33. Karouzakis E, Gay RE, Michel BA, Gay S, Neidhart M. DNA hypomethylation in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Arthritis Rheum*. 2009;60(12):3613-22.
  34. Ptashne M. On the use of the word 'epigenetic'. *Curr Biol*. 2007;17(7):R233-6.
  35. Huber LC, Brock M, Hemmatazad H, Giger OT, Mortiz F, Trenkmann M, i sur. Histone deacetylase/acetylase activity in total synovial tissue derived from rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients. *Arthritis Rheum*. 2007;56(4):1087-93.
  36. Wen ZK, Xu W, Xu L, Cao QH, Wang Y, Chu YW, i sur. DNA hypomethylation is crucial for apoptotic DNA to induce systemic lupus erythematosus-like autoimmune disease in SLE-non-susceptible mice. *Rheumatology (Oxford)*. 2007;46(12):1796-803.
  37. Dieker J, Muller S. Epigenetic histone code and autoimmunity. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2010;39(1):78-84.
  38. Plaue S, Muller S, van Regenmortel MH. A branched, synthetic octapeptide of ubiquitinated histone H2A as target of autoantibodies. *J Exp Med*. 1989;169(5):1607-17.
  39. Klip H, Verloop J, van Gool JD, Koster ME, Burger CW, van Leeuwen FE, i sur. Hypospadias in sons of women exposed to diethylstilbestrol in utero: a cohort study. *Lancet*. 2002;359(9312):1102-7.
  40. Hirst M, Marra MA. Epigenetics and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2009;41(1):136-46.
  41. Poirier LA. The effects of diet, genetics and chemicals on toxicity and aberrant DNA methylation: an introduction. *J Nutr*. 2002;132 Suppl 8:2336S-9S.
  42. McGowan PO, Meaney MJ, Szyf M. Diet and the epigenetic (re) programming of phenotypic differences in behavior. *Brain Res*. 2008;1237:12-24.
  43. Heijmans BT, Tobi EW, Stein AD, Putter H, Blauw GJ, Susser ES, i sur. Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(44):17046-9.
  44. Dong Z, Bode AM. The role of histone H3 phosphorylation (Ser10 and Ser28) in cell growth and cell transformation. *Mol Carcinog*. 2006;45(6):416-21.
  45. Yung RL, Richardson BC. Drug-induced lupus. *Rheum Dis Clin North Am*. 1994;20(1):61-86.
  46. Campesi I, Sanna M, Zinellu A, Carru C, Rubattu L, Bulzomi P, i sur. Oral contraceptives modify DNA methylation and monocyte-derived macrophage function. *Biol Sex Differ*. 2012;3:4.
  47. Hellwig K, Schimrigk S, Beste C, Muller T, Gold R. Increase in relapse rate during assisted reproduction technique in patients with multiple sclerosis. *Eur Neurol*. 2009;61(2):65-8.
  48. Fraga MF, Ballestar E, Paz MF, Ropero S, Setien F, Ballestar ML, i sur. Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(30):10604-9.
  49. Bell JT, Tsai PC, Yang TP, Pidsley R, Nisbet J, Glass D, i sur. Epigenome-wide scans identify differentially methylated regions for age and age-related phenotypes in a healthy ageing population. *PLoS Genet*. 2012;8(4):e1002629.
  50. Ballestar E, Esteller M, Richardson BC. The epigenetic face of systemic lupus erythematosus. *J Immunol*. 2006;176(12):7143-7.
  51. Alves NL, Arosa FA, van Lier RA. Common gamma chain cytokines: dissidence in the details. *Immunol Lett*. 2007;108(2):113-20.
  52. Bennett CL, Christie J, Ramsdell F, Brunkow ME, Fegunson PJ, Whitesell L, i sur. The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3. *Nat Genet*. 2001;27(1):20-1.
  53. Spurr NK, Goodfellow PN, Docherty AJ. Chromosomal assignment of the gene encoding the human tissue inhibitor of metalloproteinases to Xp11.1-p11.4. *Ann Hum Genet*. 1987;51(Pt 3):189-94.
  54. Zehntner SP, Bourbonnière L, Moore CS, Moris SJ, Methot D, St Jean M, i sur. X-linked inhibitor of apoptosis regulates T cell effector function. *J Immunol*. 2007;179(11):7553-60.
  55. Greer JM, McCombe PA. The role of epigenetic mechanisms and processes in autoimmune disorders. *Biologics*. 2012;6:307-27.
  56. Bridi M, Abel T. Histone modifications in the nervous system and neuropsychiatric disorders. U: Sweatt JD, Meaney MJ, Nestler EJ, Akbarian S, urednici. Epigenetic regulation in the nervous system: basic mechanism and clinical impact. London: Waltham, MA: Academic Press; c2013. str. 35-67.
  57. Weaver IC, Hellstrom IC, Brown SE, Andrews SD, Dymov S, Diorio J, i sur. The methylated-DNA binding protein MBD2 enhances NGFI-A (egr-1)-mediated transcriptional activation of the glucocorticoid receptor. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2014;369(1652).
  58. A American Academy of Pediatrics. Adverse childhood experiences and the lifelong consequences of trauma. 2014. [citirano 05. lipnja 2015.]; 5 str. Dostupno na URL: [https://www.aap.org/en-us/Documents/ttb\\_aces\\_consequences.pdf](https://www.aap.org/en-us/Documents/ttb_aces_consequences.pdf)
  59. Weiss JS, Wagner SH. What explains the negative consequences of adverse childhood experiences on adult health? Insights from cognitive and neuroscience research (editorial). *Am J of Prev Med*. 1998;14(4):356-60.
  60. Anda RF, Felitti VJ, Bremner JD, Walker JD, Whitfield C, Perry BD, i sur. The enduring effects of abuse and related adverse experiences in childhood. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2006;256(3):174-86.
  61. Teicher MH. Windows of vulnerability: understanding how early stress alters trajectories of brain development and sets the stage for the emergence of mental disorder. 2014. [citirano 10. lipnja 2015.]; 80 str. Dostupno na URL: <http://www.mamh.org/portals/0/uploads/documents/public/teicher.pdf>
  62. Danese A, McEwen BS. Adverse childhood experiences, allostasis, allostatic load and age-related disease. *Physiol Behav*. 2012;106(1):29-39.
  63. Rogosch FA, Dackis MN, Cicchetti D. Child maltreatment and allostatic load: consequence for physical and mental health in children from low-income families. *Dev Psychopathol*. 2011;23(4):1107-24.
  64. Moffitt TE. Childhood exposure to violence and lifelong health: clinical intervention science and stress biology research join forces. *Dev Psychopathol*. 2013;25(4 Pt 2):1619-34.
  65. Cordero MI, Sandi C. A role for brain glucocorticoid receptors in contextual fear conditioning: dependence upon training intensity. *Brain Res*. 1998;786(1-2):11-7.



66. Sweatt JD. Mitogen-activated protein kinases in synaptic plasticity and memory. *Curr Opin Neurobiol.* 2004;14(3):311-7.
67. McHugh TJ, Jones MW, Quinn JJ, Balthasar N, Coppari R, Elmquist JK, i sur. Dentate gyrus NMDA receptors mediate rapid pattern separation in the hippocampal network. *Science.* 2007;317(5834):94-9.
68. Gutierrez-Mecinas M, Trollope AF, Collins A, Morfett H, Hesketh SA, Kersante F, i sur. Long-lasting behavioral responses to stress involve a direct interaction of glucocorticoid receptors with ERK1/2-MSK1-Elk-1 signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(33):13806-11.
69. Evans AK, Lowry CA. Pharmacology of the beta-carboline FG-7142, a partial inverse agonist at the benzodiazepine allosteric site of the GABA A receptor: neurochemical, neurophysiological, and behavioral effects. *CNS Drug Rev.* 2007;13(4):475-501.
70. Gardener H, Spiegelman D, Buka SL. Perinatal and neonatal risk factors for autism: a comprehensive meta-analysis. *Pediatrics.* 2011;128(2):344-55.
71. Hallmayer J, Cleveland S, Torres A, Phillips J, Cohen B, Torigoe T, i sur. Genetic heritability and shared environmental factors among twin pairs with autism. *Arch Gen Psychiatry.* 2011;68(11):1095-102.
72. Pu D, Shen Y, Wu J. Association between MTHFR gene polymorphisms and the risk of autism spectrum disorders: a meta-analysis. *Autism Res.* 2013;6(5):384-92.
73. Stromberg B, Dahlquist G, Ericson A, Finnstrom O, Koster M, Stjernqvist K. Neurological sequelae in children born after in-vitro fertilisation: a population-based study. *Lancet.* 2002;359(9305):461-510.
74. Odom LN, Segars J. Imprinting disorders and assisted reproductive technology. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2010;17(6):517-22.
75. Hvidtjorn D, Grove J, Schendel D, Schieve LA, Svaerke C, Ernst E, i sur. Risk of autism spectrum disorders in children born after assisted conception: a population-based follow-up study. *J Epidemiol Community Health.* 2011;65(6):497-502.
76. Zachor DA, Ben Itzhak E. Assisted reproductive technology and risk for autism spectrum disorder. *Res Dev Disabil.* 2011;32(6):2950-6.
77. Lehti V, Brown AS, Gissler M, Rihko M, Suominen A, Sourander A. Autism spectrum disorders in IVF children: a national case-control study in Finland. *Hum Reprod.* 2013;28(3):812-8.
78. Sandin S, Nygren KG, Iliadou A, Hultman CM, Reichenberg A. Autism and mental retardation among offspring born after in vitro fertilization. *JAMA.* 2013;310(1):75-84.
79. Rai D, Lee BK, Dalman C, Golding J, Lewis G, Magnusson C. Parental depression, maternal antidepressant use during pregnancy, and risk of autism spectrum disorders: population based case-control study. *BMJ.* 2013;346:f2059.
80. Croen LA, Grether JK, Yoshida CK, Odouli R, Hendrick V. Antidepressant use during pregnancy and childhood autism spectrum disorders. *Arch Gen Psychiatry.* 2011;68(11):1104-12.
81. Oberlander TF, Weinberg J, Papsdorf M, Grunau R, Misri S, Devlin AM. Prenatal exposure to maternal depression, neonatal methylation of human glucocorticoid receptor gene (NR3C1) and infant cortisol stress responses. *Epigenetics.* 2008;3(2):97-106.
82. Devlin AM, Brain U, Austin J, Oberlander TF. Prenatal exposure to maternal depressed mood and the MTHFR C677T variant affect SLC6A4 methylation in infants at birth. *PLoS one.* 2010;5(8):e12201.
83. Blomen VA, Boonstra J. Stable transmission of reversible modifications: maintenance of epigenetic information through the cell cycle. *Cell Mol Life Sci.* 2011;68(1):27-44.
84. Sinčić N, Herceg Z. DNA methylation and cancer: ghosts and angels above the genes. *Curr Opin Oncol.* 2011;23(1):69-76.
85. Herceg Z. Epigenetics and cancer: towards an evaluation of the impact of environmental and dietary factors. *Mutagenesis.* 2007;22(2):91-103.
86. Rodriguez-Paredes M, Esteller M. Cancer epigenetics reaches mainstream oncology. *Nat Med.* 2011;17(3):330-9.
87. Sharma S, Kelly TK, Jones PA. Epigenetics in cancer. *Carcinogenesis.* 2010;31(1):27-36.
88. Bumber Y, Issa JP. Epigenetics in cancer: what's the future? *Oncology (Williston Park).* 2011;25(3):220-6, 228.
89. Vaissiere T, Sawan C, Herceg Z. Epigenetic interplay between histone modifications and DNA methylation in gene silencing. *Mutat Res.* 2008;659(1-2):40-8.
90. Rodenhiser D, Mann M. Epigenetics and human disease: translating basic biology into clinical applications. *CMAJ.* 2006;174(3):341-8.
91. Eden A, Gaudet F, Waghmare A, Jaenisch R. Chromosomal instability and tumors promoted by DNA hypomethylation. *Science.* 2003;300(5618):455.
92. Gurel B, Iwata T, Koh CM, Yegnasubramanian S, Nelson WG, De Marzo AM. Molecular alterations in prostate cancer as diagnostic, prognostic, and therapeutic targets. *Adv in Anat Path.* 2008;15(6):319-31.
93. M. Kanduri, N. Cahill, H. Goransson i sur. Differential genome-wide array-based methylation profiles in prognostic subsets of chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2010;115(2):296-305.
94. Kanduri C, Whitehead J, Mohammad F. The long and the short of it: RNA-directed chromatin asymmetry in mammalian X-chromosome inactivation. *FEBS Lett* 2009;583(5):857-64.
95. Sasaki H, Matsui Y. Epigenetic events in mammalian germ-cell development: reprogramming and beyond. *Nat Rev Genet.* 2008;9(2):129-40.
96. Chandler VL. Paramutation: from maize to mice. *Cell.* 2007;128(4): 641-5.
97. Fuchs U, Borkhardt A. The application of siRNA technology to cancer biology discovery. *Adv Cancer Res.* 2007;96:75-102.
98. Vuguin PM, Hartil K, Kruse M, Kaur H, Lin CL, Fiallo A, i sur. Shared effects of genetic and intrauterine and perinatal environment on the development of metabolic syndrome. *PLoS One.* 2013;8(5):e63021.
99. Jeffy BD, Chirmomas RB, Romagnolo DF. Epigenetics of breast cancer: polycyclic aromatic hydrocarbons as risk factors. *Environ Mol Mutagen.* 2002;39(2-3):235-44.
100. Bagnyukova TV, Tryndyak VP, Montgomery B, Churchwell MI, Karpf AR, James SR, i sur. Genetic and epigenetic changes in rat preneoplastic liver tissue induced by 2-acetylaminofluorene. *Carcinogenesis.* 2008;29(3):638-46.
101. Salnikow K, Zhitkovich A. Genetic and epigenetic mechanisms in metal carcinogenesis and cocarcinogenesis: Nickel, Arsenic, and Chromium. *Chem Res in Toxicolo.* 2007;21(1):28-44.
102. Shiao Y-H. Genetic signature for human risk assessment: Lessons from trichloroethylene. *Env Mol Mutagen.* 2009;50(1):68-77.
103. Yang X, Lay F, Han H, Jones PA. Targeting DNA methylation for epigenetic therapy. *Trends Pharmacol Sci.* 2010;31(11):536-46.
104. Momparler RL. Epigenetic therapy of cancer with 5-aza-2'-deoxycytidine (decitabine). *Semin Oncol.* 2005;32(5):443-51.
105. Kihlslinger JE, Godley LA. The use of hypomethylating agents in the treatment of hematologic malignancies. *Leuk Lymphoma.* 2007;48(9):1676-95.

**ENVIRONMENTAL EFFECTS ON CHANGES IN GENE EXPRESSION****Silvija Pušeljić<sup>1,2</sup>, Višnja Tomac<sup>1</sup>, Krešimir Milas<sup>1</sup>, Ivo Pušeljić<sup>3</sup>, Luka Švitek<sup>2</sup>**<sup>1</sup>University Hospital Osijek, Department of Pediatrics, Josipa Huttlera 4, HR-31000 Osijek, Croatia<sup>2</sup>Faculty of Medicine, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Cara Hadrijana 10E, HR-31000 Osijek, Croatia<sup>3</sup>University Hospital Osijek, Department of Radiology, Josipa Huttlera 4, HR-31000 Osijek, Croatia

Review

**Abstract**

In the last 10-15 years the rapid development of new knowledge in genetics pointed out entirely new mechanisms of development of certain diseases, in particular the development of some clinical phenotypes. Changes in the epigenetic profile of a cell can be positive and favor the expression of advantageous genes such as those linked to cell signaling and tumor suppression. However, they can also be detrimental and alter the functions of important genes, thereby leading to disease. Recent evidence has further highlighted that some epigenetic marks can be maintained across meiosis and be transmitted to the subsequent generation to reprogram developmental and cellular features. The largest number of published works refers to the mechanisms of carcinogenesis and autoimmunity, but in the last five years, there are also works that deal with the phenomenon of interplay of environmental factors and the expression of the disease for many other conditions. The article analyzes recent findings and their clinical significance.

**Key words:** Epigenomics; Heredity – genetics; Air pollution - adverse effects; Hypersensitivity – etiology, genetics; Autoimmune diseases - etiology, genetics; Autism spectrum disorder - etiology, genetics; Cell transformation, neoplastic - genetics