
Efectes de la nutrició materna en l'epigenètica fetal.

- Modalitat REVISIÓ BIBLIOGRÀFICA -

Treball Final de Màster Nutrició i Salut

Autora: Laia Comas Fages - Directora: Maria José Rodríguez Lagunas

2n semestre

Febrer 2018 – Juliol 2018



Aquesta obra està subjecta a una llicència de Reconeixement-NoComercial-SenseObraDerivada (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/es/deed.ca>)

Resum

L'epigenètica reflecteix la capacitat d'un individu de modular l'expressió dels seus gens a partir del seu entorn, aquesta hauria de ser modulable en cada individu de manera independent a les generacions anteriors. Tot i així, hi ha casos en que els individus mostren marques epigenètiques que han aparegut per adaptacions a un ambient que no es correspon al seu.

Molts estudis marquen el període de l'embaràs i la nutrició de la mare com un dels factors crítics que modifiquen l'epigenètica, i que tenen més força que altres que es donen posteriorment. Els components de la dieta de la mare poden interferir en la metilació de l'ADN, les modificacions d'histones o els microARN. Per això el fet de que aquesta porti una dieta deficient en grups metils portarà a alteracions epigenètiques, així com també ho farà una dieta desequilibrada pel que fa als greixos i a les proteïnes. Els gens que més alterats es veuen són els implicats en modular l'expressió de l'ADN, així com els que intervenen en el metabolisme del folat i la gestió dels grup metil.

Són molts els estudis en animals, que han arribat a la conclusió que algunes d'aquestes modificacions són transgeneracionals, és a dir que no s'hereten dins de la informació codificada però que passen de generació en generació. Un dels punts més importants de les conclusions dels estudis, és el fet que les modificacions es puguin revertir regulant la dieta materna o suplementant-la. Deixant la porta oberta a utilitzar la nutrició materna com a teràpia per modular el futur estat de salut de l'individu, prevenir malalties o revertir un marcatge epigenètic previ deleteri si és el cas.

Paraules clau: Transgeneracional, expressió gènica, metilació de l'ADN, d'histones i nutrients.

Abstract

The epigenetics represents the capacity of an individual to modulate the expression of their genes based on the environment that surrounds them. Genetic expression should be able to be modulated by every individual independently from previous generations. However, some individuals show epigenetics marks that belong to a different environment.

Several studies sign pregnancy and mother's nutrition as one of the most important epigenetics modulator, with more strength compared to other upcoming factors. The components of the mother's diet have the ability to interfere with the DNA methylation, histone modifications and microRNAs. For that reason, if the mother has a methyl group deficient diet that will conclude with epigenetic alterations, in the same way as an unbalanced diet regarding fat and proteins. Genes that have their expression altered mostly have the function to change the DNA expression themselves, as the ones in the folate metabolism and the ones involved in the methyl groups pathway.

Numerous studies involving animals have agreed that some of this changes are transgenerational, meaning that eventhough they cannot be inherited by the information found in the genome, they are passed from one generation to another. It is of importance that many studies agree on the fact that some of the modifications can be reverted adjusting the mother's diet or adding supplements. Leaving the door open to using mother's nutrition during pregnancy as therapy to change the future health status of an individual, as prevention for diseases or for reverting the epigenetic programming if being deleterious.

Key words: Transgenerational, gene expression, DNA methylation, histones and nutrients.

Índex

1. Introducció	5
1.1. Mecanismes de modificació de l'epigenoma	6
1.1.1. La metilació de l'ADN	7
1.1.2. Les modificacions d'histones	8
1.1.3. ARN (Àcid Ribonucleics)	9
2. Objectius	10
3. Metodologia	11
4. Resultats	12
4.1. Grups donadors de metils de la dieta involucrats en mecanismes epigenètics	12
4.1.1. El metabolisme del folat i la metilació de l'ADN	12
4.1.2. Grups donadors de metils i les modificacions de les histones	11
4.1.3. Grups donadors de metils i els miARNs	13
4.1.4. Grups donadors de metils i la programació del fetus	13
4.2. Efectes epigenètics derivats de macronutrients, micronutrients i compostos bioactius de la dieta moderna	14
4.2.1. Efectes en funció de la dieta (<i>over and undernutrition</i>)	14
4.2.2. Nivells de proteïnes de la dieta	16
4.2.3. L'estil de vida com a modulador	16
4.2.4. Components fitoquímics de la dieta	17
4.3. Interaccions dels components	19
4.4. Conseqüències per al desenvolupament fetal	19
4.5. Consideracions de les etapes prèvies i posteriors	21
4.5.1. Període periconcepcional	21
4.5.2. Influències paternes	21
4.5.3. Influència del desenvolupament en l'úter	21
4.5.4. Efectes perinatals	22
4.6. <i>Transgenerational epigenetic programming</i>	22
5. Discussió	24
6. Aplicabilitat i noves línies de recerca	27
7. Conclusions	29
8. Bibliografia	30

1. Introducció

El significat del terme epigenètic, s'entén com a més a més de la genètica o per sobre de la genètica. És a dir malgrat tenir un genoma no modificable, la epigenètica sí que la podem modificar i sense ella el genoma inicial no podria funcionar de manera normal. És la epigenètica també la que confereix per exemple un desenvolupament i uns perfils gènics d'expressió diferents en bessons en funció de molts factors que intervenen i la modulen. A diferència del genoma, l'epigenoma està subjecte a canvis en funció dels inputs intracel·lulars, extracel·lulars, del contacte cèl·lula amb cèl·lula, de la fisiologia o completament en funció de l'ambient al qual està exposat l'organisme (1).

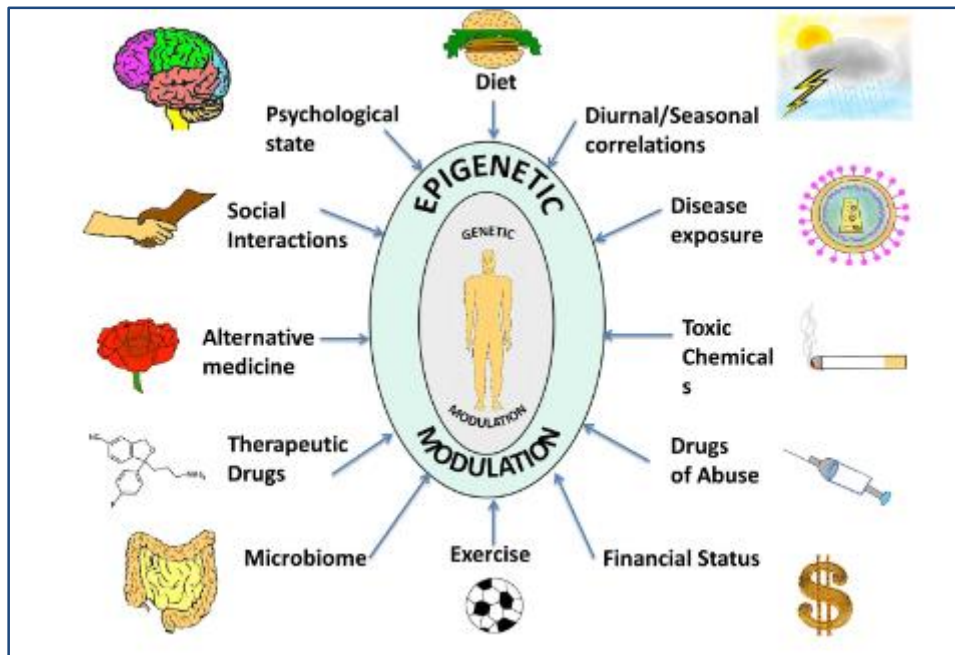


Figura 1: Factors que modulen l'epigenètica. Recull gràfic de les influències a la que es veu subjecte l'epigenètica en humans. Cal tenir en compte que alguns factors tenen un efecte positiu i els altres aporten desequilibri, afavorint a l'aparició de malalties (1).

En la nutrigenètica pot intervenir qualsevol factor amb el qual estiguem en contacte, com per exemple els que podem observar: l'exercici, l'estat financer, la drogoaddicció, els compostos químics tòxics, les malalties a les quals estem exposats, el cicle circadian, la dieta, l'estat psicològic, les interaccions socials, la medicina alternativa, els medicaments i el microbioma. Tots aquests elements poden fomentar un patró epigenètic favorable o desfavorable per l'individu en funció del seu estat, dosi, moment, situació, etc. La vida fetal es considera l'època de major plasticitat i és també, la qual se li atorga la capacitat de respondre a factors ambientals, incloent en aquest cas la nutrició materna (1).

En aquest cas tindrem en compte l'epigenètica, la qual definim com l'alteració de l'expressió gènica que no es deu a canvis la seqüència d'ADN (Àcid Desoxiribonucleic) per si mateixa, i els quals malgrat això poden ser heretats de generació en generació. És conegut que aquestes modificacions poden causar malalties, i que la seva correcta distribució al llarg del genoma és clau per a garantir individus sans. El recull passa per provar si els components de la dieta materna, tenen la capacitat d'influenciar al genoma de l'úter a través dels canvis epigenètics, que es troben en una fase més sensible. Cal remarcar també, com aquests canvis, poden

condicionar l'aparició o el risc de malalties en etapes posteriors del desenvolupament de l'individu (2).

1.1. Mecanismes de modificació de l'epigenoma

Els mecanismes bàsics a través dels quals es coneix que apareixen les modificacions epigenètiques són la metilació de l'ADN, les modificacions d'histones (proteïnes que uneixen i compacten la cadena de nucleòtids) i les modificacions que sorgeixen a partir dels *small* i els *long non-coding* RNAs (ncRNAs), incloent els miARNs (microARNs). Cal tenir en compte que els efectes fenotípics de les modificacions epigenètiques durant el desenvolupament primari, poden no veure's manifestades fins més endavant al llarg de la vida (2).

A part d'això, s'ha de valorar la finestra d'actuació o impacte d'aquests canvis epigenètics, tot i així el període de major plasticitat sembla que dura des del període periconcepcional fins a la vida postnatal. Malgrat que els estudis en humans pel que fa als canvis epigenètics davant del metabolisme són de caire limitat, les evidències que es poden recollir solen ser difícils de qualificar i quantificar. Diferències en l'exposició ambiental, ens porten a diferents patrons epigenètics de marcatge, en els teixits somàtics les evidències són més clares en bessons on hi ha una major divergència en parelles de bessons més avançats en l'edat adulta, i amb una història de vida amb més diferències (3).

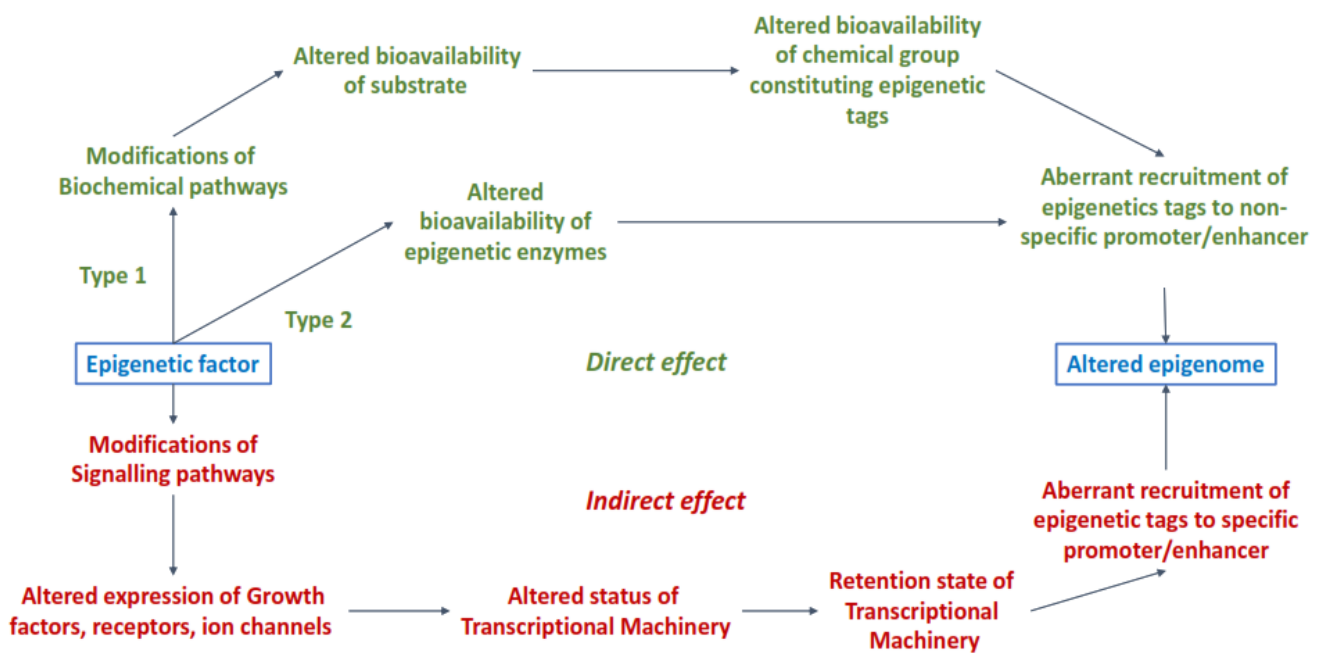


Figura 2: Efectes directes i indirectes que alteren l'epigenoma. Podem veure representat gràficament els efectes epigenètics directes i els indirectes. I com a partir d'una via o una altre, obtenint una patró d'expressió aberrant (1).

També s'ha de valorar que trobem rutes i mecanismes d'acció epigenètica directes i indirectes, és a dir els efectes epigenètics poden estar influenciats per factors externs o intrínsecs, però aquests després poden tenir un impacte diferent. Els mecanismes que considerem directes, poden operar de dues maneres, de manera directe és a dir trobem un efecte en un enzim que modifica les marques epigenètiques com serien DNMT (*DNA Methyltransferase*) i HDACs (*Histone Deacetylases*), per exemple. O un altre mecanisme directe seria quan un factor

epigenètic interfereix amb una ruta bioquímica, alterant la viabilitat del metabòlit que es requereix per constituir un marcador epigenètic efectiu. En tots dos casos estariem parlant d'un reclutament de marcatge epigenètic erroni. Pel que fa als mecanismes indirectes, son casos en que s'interfereixen en els mecanismes de senyalització cel·lulars. Per exemple alteracions en els factors de creixement, els seus receptors o en els canals iònics poden influenciar en la homeòstasi cel·lular. Repercutint amb una alteració de la maquinaria transcripcional i per tant provocant una no-expressió de promotors gènics. I per tant modificant el patró o marcatge pre-determinat d'expressió gènica (1).

Tot i així cal reconèixer que la major part de dades amb evidències, pel que fa la base epigenètica de la programació en el desenvolupament, ha estat extreta de models amb animals i hi ha poca informació disponible pel que fa els humans (3).

1.1.1. La metilació de l'ADN

Partim de la base que la metilació de l'ADN en mamífers, s'acostuma a donar en les citocines de les illes CpG. Aquesta metilació és clau pel funcionament de l'epigenètica i de molts altres mecanismes com per exemple la inactivació del cromosoma X en dones, la regulació de l'estructura, el silenciament d'elements repetitius i el control de l'expressió gènica. Un correcte equilibri i metilació del dinucleòtid CpG garanteix una vida cel·lular sana, però aquests patrons de metilació varien en funció dels següents factors: genètica, ambient i factors aleatoris dels patrons de metilació. Si combinem tots aquests factors acabem obtenint patrons de metilació que varien en funció de l'individu, de l'òrgan, del grup de cèl·lules, del moment de la vida, etc.. és a dir la variabilitat pot ser inestimable (2).

Dins d'aquests factors cal tenir en compte que la distribució d'aquestes dinucleòtids no es uniforme al llarg de tot el genoma, sinó que es troben agrupats en regions riques en guanina i citocina, que anomenem illes CpG. Aquests patrons de metilació que són claus pel desenvolupament en la gran part de la vida cel·lular, passen de cèl·lula a cèl·lula a partir de la replicació que manté el patró inicial (1).

Les illes CpG són metilades per tres enzims les anomenades ADN metiltransferases (DNMTs), trobem varies DNMTs en funció dels patrons de metilació durant el procés d'embriogènesis. Per exemple la DNMT1, és la responsable de mantenir els patrons de metilació de cèl·lula a cèl·lula durant la replicació. D'altra banda DNMT2 s'associa a les cèl·lules mare embrionàries i la metilació de l'ARN. Mentre que les que tenen un paper més important en aquest cas serien DNMT3a i DNMT3b, les quals estan involucrades en la metilació *de novo* de les illes CpG (1). Anomenem metilació *de novo* a la metilació que apareix després del procés de desmetilació pel qual passa l'embrió. Concretament cal tenir en compte que hi ha dos períodes de desmetilació, el que succeeix en l'ADN parental de manera ràpida i just després de la fase de post-fertilització, abans de l'inici de la divisió cel·lular. Fet que entra en contrast amb el que succeeix amb el genoma matern on la pèrdua de metilació és progressiva i gradual durant les primeres divisions de l'embrió. La importància d'aquestes dues etapes de desmetilació recau en les evidències de marcatge epigenètic transgeneracional, que d'alguna manera fins ara poc coneguda eviten la desmetilació apareixent en evidències fenotípiques en les següents generacions. Però cal integrar la idea de que els mateixos enzims que intervenen en aquest

procés de desmetilació també poden quedar afectats per l'ambient o pels mecanismes de modificació epigenètica (4).

1.1.2. Les modificacions d'histones

Seguint dins els mecanismes epigenètics que regulen l'estructura de la cromatina i la seva accessibilitat de les proteïnes transcripcions ens trobem amb les modificacions a les histones (proteïnes encarregades de gestionar el grau de compactació de l'ADN). Aquestes proteïnes també estan involucrades en la reparació del dany en la cadena nucleotídica, el cicle cel·lular i el control metabòlic (2). El funcionament d'aquestes modificacions funciona a partir del grau de compactació de la cromatina o pel reclutament o la unió d'altres complexes de proteïnes. Les histones (H2A, H2B, H3 i H4), son proteïnes conservades evolutivament que tenen un termini-carboxi globular amb un domini crític d'unió al nucleosoma així com un altre termini amb una cua amino-terminal. Aquests dos terminis permeten a la histona està en contacte amb el centre del nucleosoma així com també amb els nucleosomes adjacents, formant l'estructura compactada que coneixem (1).

Les cues amino-terminals de les histones estan subjectes a almenys a 8 tipus de modificacions post-transcripcionals, incloent: acetilació, metilació, fosforilació, ubiquitinització, sumoilació, biotinització i ribosilació de l'ADP (Adenosina Difosfat). Les que actualment estan més estudiades són la metilació de les lisines i les modificacions post-transcripcionals de les histones de manera global (1).

Normalment l'acetilació d'histones, catalitzada per la histona acetiltransferasa (HAT), s'associa amb la formació oberta de l'estructura de la cromatina i una activa transcripció gènica. Contràriament la desacetilació de les lisines, catalitzada per diferents tipus d'histones desacetilasses, s'associa amb la silenciació gènica. Per exemple, l'activació transcripcional s'associa amb l'acetilació dels residus K9, K14, K4, K36 (lisines) en la histona H3. Mentre que la repressió de l'expressió gènica s'ha demostrat està lligada a la metilació de H3K9, H3K27 i H4K20. El motiu d'aquests canvis de formació de la cromatina recau en que les lisines desacetilades estan carregades positivament i intreaccionen fortament amb l'ADN, el qual està carregat negativament. Obtenint així en conclusió ADN condensat en les regions promotores dels gens i provocant una repressió de la transcripció en aquella zona degut a la dificultat i impossibilitat d'accés de la maquinària de transcripció (2).

Actualment hi ha identificats un gran nombre d'enzims que modifiquen les histones, que inclouen metiltransferasses d'actuació en lisines i arginines, desmetilades de les lisines i les conegudes HAT i HDAC. Una actuació inadequada de l'expressió i/o activitat dels enzims modificadors de les histones està lligat a l'aparició de diferents malalties (2).

Cal visualitzar uns mecanismes de connexió i contacte permanent entre la metilació de l'ADN i les modificacions d'histones de manera que les DNMTs i els canvis d'accessibilitat de la cromatina es troben en contacte constant, així com també l'ADN no metilat es considera una signatura per reclutar modificacions d'histones específiques. Aconseguint així un major impacte durant el desenvolupament fetal (5).

1.1.3. ARNs (Àcid Ribonucleics)

Un altre mecanisme que ha aparegut posteriorment i que també afecta a les regulacions epigenètiques de la funció gènica, és el mecanisme en el que intervenen els miARNs i altres *small* i *long non-coding RNAs*. Coneixem els miARNs per ser reguladors d'alguns gens codificants de proteïnes, formen part dels *small non-coding RNAs* i estan formats per grups de 16 – 29 nucleòtids de llargada. La funció que tenen principalment és de reguladors negatius a nivell post-transcripcionals (2).

Seguint el procés de transcripció, principalment els miARNs, formen una estructura de *loop* que és reconegut per l'enzim ribonucleasa (ARNsa) tipus III, coneguda també com *Drosha-creating precursor miRNAs*. Aquest miARN precursor és transportat del nucli al citoplasma a través de l'exportina-5. Al citoplasma el pre-miARN és regulat pel complex Dicer generant híbrids de miARNs. El qual elimina una de les cadenes del dúplex i provoca que l'altre passi a miARN madur. Aquest tindrà la capacitat d'unió a mRNAs si hi ha complementarietat perfecte en les regions *3'untranslated region* (3'UTR), o de repressió de la traducció si la complementarietat és imperfecte (2).

Actualment es coneixen miARNs que estan potencialment lligats als gens que codifiquen per proteïnes implicades en el desenvolupament i diferenciació cel·lulars. Així com també es coneixen miARNs en humans que són específics de teixit. Posant de rellevància la quantitat de miARNs dels quals actualment encara es desconeix el seu potencial i la seva implicació en varies malalties (2).

Tots els components de l'epigenoma estan lligats i connectats de manera interdependent. Per exemple, la metilació de l'ADN depèn del patró de modificacions d'histones i la funció de les proteïnes modificadores. Molts miARN estan epigenèticament regulats ja sigui per la metilació de l'ADN o per les modificacions d'histones. D'altra banda varis miARNs tenen un efecte directe a les DNMTs i altres gens encarregats de les modificacions de la cromatina (6).

2. Objectius

L'objectiu principal d'aquest treball consisteix en comprendre la relació dels aliments que ingereix la mare durant l'embaràs amb l'epigenètica del fetus que s'està desenvolupant. És a dir, entendre com els nutrients que aporta la mare al fetus interaccionen amb l'ADN fetal, a través de quines vies metabòliques ho fan o quines cascades de senyalització activen.

En concret l'objectiu general es desglossa en els següents objectius:

- Investigar sobre quins aliments tenen un efecte majoritari o rellevant en l'epigenètica del fetus durant l'embaràs de la mare, i quin efecte tenen a nivell fetal global.
- Conèixer les relacions que existeixen entre la mare i el seu entorn, i a partir d'aquestes quin impacte tenen a nivell transgeneracional en el seus descendents, i les següents generacions.
- Posar de rellevància el paper de l'entorn que existeix en els progenitors abans de la concepció, durant l'embaràs i els primers mesos del naixement. I descobrir quins moments hi ha una major sensibilitat per part del nou individu a ser afectat per aquests components de la dieta materna.

La pregunta investigable és la següent:

Quins són els efectes de la nutrició materna en les etapes prèvies, durant i posteriors a l'embaràs a l'epigenètica del fetus, a partir de quins mecanismes actua i durant quantes generacions?

3. Metodologia

La metodologia emparada, ha passat per cercar a la base de dades del *National Center for Biotechnology Information*, també conegut per NCBI. Dins d'aquesta base de dades es va optar per utilitzar *PubMed* i *PubMedCentral* (PMC), com a bases de dades derivades que formen part de la *US National Library of Medicine* i els *National Institutes of Health*.

La cerca principalment es va dur a terme amb els paràmetres següents:

Fetal AND epigenetics AND nutrition AND mother.

Transgenerational AND epigenetics AND nutrition.

També es va utilitzar en menor mesura, la biblioteca de la UOC amb els següent criteri:

(Transgenerational) (nutrition) (epigenetics) (fetal).

En aquest recull bibliogràfic s'han utilitzat articles publicats des de l'any 1998.

A partir d'aquí es va donar més importància als articles en que es parlaven d'estudis realitzats en humans, o en casos en que es parlava de models animals però clarament centrats en l'epigenètica, l'alimentació materna, els grups donadors de metils, les modificacions a histones, els micro-ARNs i compostos fitoquímics entre els més rellevants.

Es van descartar articles enfocats amb l'alimentació materna, però que valoraven l'impacte en única malaltia, ja que el propòsit d'aquest treball és treure conclusions globals i que ens puguin servir a nivell de recomanacions per a tota la població.

4. Resultats

4.1. Grups donadors de metils de la dieta involucrats en mecanismes epigenètics

4.1.1. El metabolisme del folat i la metilació de l'ADN

Tenint en compte que la metilació de l'ADN és un dels principals reguladors de l'expressió gènica, els grups donadors de metils passen a ser de gran importància en l'alimentació humana. La molècula coneguda com a donador universal de metils és la S-adenosil-L-metionina, coneguda com AdoMet (7). Les fonts de grups metils més gran en els menjar en el cas dels humans, prové de la metionina, 5methylTHF i de la colina. Una deficiència a la dieta de qualsevol d'aquests factors, implica la pèrdua de metilació de l'ADN tan en humans com en els animals d'experimentació (2). A més a més cal tenir en compte, que els nutrients modificaran la utilització dels grups de metil degut als canvis en l'activitat de les metiltransferases, a partir de la remodelació de la cromatina i així com també els miARN també tindran un paper important, a partir de les proteïnes implicades en les rutes del metabolisme del folat (8).

De manera que la restricció de folat, metionina o vitamines B en períodes periconcepcionals porten a patrons alterats de la metilació, resistència a la insulina i una elevada pressió arterial. Per exemple en el cas deficiència materna de colina en l'embaràs, apareixen problemes en el desenvolupament del cervell fetal (4). I un dels efectes que han aparegut en ratolins d'una dieta deficient en colina ha estat uns nivells de metilació més baixos a nivell global de la histona H3, així com també un nivell de proliferació neuronal inferior al grup control (9). A més a més, també s'han trobat afectacions derivades de la interacció de les modificacions de les histones amb DNMT1 i DNMT3 (responsable de la metilació *de novo*) (10).

Són varis els estudis que han posat de manifest la importància de garantir un metabolisme del *folate-mediated one-carbon-metabolism* (FOMC) prèviament, durant i posteriorment a l'embaràs per evitar la desregulació o malformacions que poden derivar d'aquesta deficiència. Un dels estudis més rellevants, es centra en estudiar la importància de la metionina sintasa-reductasa (MSR), enzim implicat en la utilització de grups metil a través del cicle del folat. Causant restricció del creixement intra-uterí, retràs en el desenvolupament del tub neural, del cor i defectes placentaris a través d'una herència epigenètica trans-generacional en ratolins (11).

Per exemple estudis en ratolins *viable yellow (Avy/a)*, han mostrat associació entre la variació epigenètica involucrada en el color i el subministrament de grups metil. Concretament s'ha vist que alimentar femelles embarassades de ratolins *agouti*, amb dietes suplementades amb grups metil causa una alteració de les regulacions epigenètiques en la descendència. Conclusió que coincideix en varis estudis realitzats amb aquest mateix propòsit (12). El model d'aquests ratolins coneguts com "*viable yellow*" (*Avy/a*) és altament útil ja que són mosaics epigenètics amb opcions a desenvolupar diferents fenotips.

4.1.2. Grups donadors de metils i les modificacions de les histones

Varies revisions s'han centrat amb l'efecte directe dels grups metils i la seva interacció amb les modificacions d'histones. En aquest aspecte trobem estudis en que es mostra com alimentar a rates amb una dieta deficient en grups donadors de metil, resultant en la pèrdua de metilació de les histones H3K9 i H4K20, acompanyat del descens del nivell d'histones metiltransferases

(13). Fet que concorda amb un altre estudi amb una dieta desequilibrada o deficient en grups metil, on es mostra una desregulació en les proteïnes desmetiladores d'histones que pot estar relacionada amb una expressió anòmal d'oncogens (14). Posant en evidència la obligada relació que hi ha entre els grups donadors de metil i els modificadors de les histones (15).

4.1.3. Grups donadors de metils i els miARNs

Gràcies a l'aplicació dels mètodes de predicció computacional dels miARNs i els anàlisis estadístics centrats en el rol dels miARN en la regulació del *folate-mediated one-carbon metabolism*. S'han pogut descartar dins d'un ampli grup de miARN quins són de rellevància i tenen un impacte indirecte en l'expressió gènica. Gràcies a aquest anàlisi han aparegut miR22 i miR125 com a reguladors, i com a coreguladors miR-344-5p/484 i miR-488, els quals poden influenciar en l'expressió d'un nombre significatiu de gens involucrats en FOCM (16).

La gran majoria dels seus *targets* es troben conservats només en primats, posant de rellevància i indicant que el seu possible rol segurament serà evolutivament recent (17). Aquest miARN125, juntament amb el miARN22 incrementen significativament en casos de deficiència de folat, associant-los clarament al seu metabolisme (18).

4.1.4. Grups donadors de metils i la programació del fetus

Només en una sola cèl·lula en estadi embriogènic de blastocist, molts canvis apareixen en la metilació de l'ADN i en les modificacions d'histones. El nivell de metilació es va reduint progressivament al llarg de les diferents divisions i la majoria de patrons de metilació s'eliminen en aquest l'embrió preimplantacional, on molts tipus de seqüències perden la metilació en aquest estadi, donant pas a DNMT3 encarregada de la metilació *de novo* (2). En aquest moment una variació o modificació de l'activitat dels components implicats en les modificacions de la cromatina o la seva compactació en heterocromatina, pot ser un candidat a ser susceptible a l'ambient, i acabar modificant l'expressió d'algun gen (19).

En aquests moments és quan la dieta materna, pot tenir un impacte major en l'epigenètica del fetus. Per exemple, l'exposició a una dieta rica en grasses durant aquest període pot causar un fenomen similar a un síndrome metabòlic, a través de modificacions epigenètiques de l'expressió de *l'insulin-like growth factor 2 (IGF2)*, un candidat en la programació del desenvolupament i determinant del risc a diabetis en adults (20). El fet de que hi hagi tants estudis en aquest gen ha permès posar de rellevància que fins hi tot una deficiència de grups metil en l'etapa post-natal d'alletament pot concloure amb un marcatge de *IGF2* anòmal. I el més important aquest marcatge, no es modifica o no retorna a un patró correcte quan modifiquem la dieta del ratolí en una etapa posterior (21).

El paper de la placenta també és important de cara a modular el programatge del fetus, ja que és capaç de portar a situacions de creixement intrauterí restringit o preclàmptia. Per garantir un rol de la placenta correcte caldria valorar nivells adequats de folat, vitamina B12 i colina pel seu paper d'importància en la metilació de l'ADN i en les proteïnes històniques (22). Per tant cal relacionar també com l'ambient extern afectarà a la placenta, que indiscutiblement acabarà afectant també al fetus.

Hi ha estudis que relacionen els nivells de molècules associades al folat en el cordó umbilical en estadis tardans de l'embaràs, amb correlacions negatives del nivell de metilació dels elements repetitius. Això s'ha observat en la descendència de mares utilitzant suplementes de folat durant l'embaràs. Fet que dóna suport al fet de que el folat i altres metabòlits relacionats, poden determinar efectes clínics de la programació a través de la metilació de l'ADN (6).

És conegut per varis estudis, però concretament s'esmenta un en xais, en que la restricció de grups donadors de metils en el període periconcepcional implica fenotips adversos i canvis en la metilació de les illes CpG dels descendents (23). Cal tenir en compte que un percentatge de grups donadors de metil erroni en algun punt de l'embaràs pot influenciar en el fenotip que es desenvolupa en aquell moment, o en un punt futur del desenvolupament de l'individu. Però si es valora que aquell és el punt de formació dels òrgans, té sentit que l'impacte sigui més gran. Com per exemple en l'estudi en ratolins on una dieta deficient per grups de metil (deficient en folat, colina i metionina), implicava alteracions de comportament i alteracions irreversibles en el desenvolupament del cervell neonatal i en el marcatge de l'expressió gènica (24).

4.2. Efectes epigenètics derivats de macronutrients, micronutrients i compostos bioactius de la dieta moderna

Alguns dels components de la dieta actual s'ha vist que interfereixen en el procés epigenètic, es tindran en compte derivats de macronutrients (metionina, colina i betaïna), micronutrients (vitamines B, vitamina D i l'àcid retinoic), microminerals o traces d'elements (ferro, zinc i seleni), i compostos bioactius (fitoquímics com els polifenols). Alguns exemples més rellevants passen per dietes amb una contingut proteic inadequat, deficiències de metionina, altes en grasses o altes en glucosa com a casos descrits que han modulats el procés epigenètic. Els compostos fitoquímics com el licopé dels tomàquets, la genisteïna dels grans de soja, el resveratrol del raïm i les morenes, el sulfurafà del bròquil, el *epigallocatechin-3-gallate* (EGCG) del té verd, la curcumina o els compostos de sulfur d'alil present en espècies són alguns dels compostos utilitzats actualment per aconseguir modular l'epigenètica (6).

4.2.1. Efectes en funció de la dieta (*over and undernutrition*)

Una de les cohorts més estudiades i més citades pel que fa la nutrició en humans, es basa en estudis realitzats sobre l'etapa de fam a Holanda coneguda com a *Dutch Famine* (1944-1945) (25). Els individus que es van trobar afectats per la fam de manera prenatal, sis dècades més tard tenien menys metilació del gen *IGF2*, comparat amb els seus germans del mateix sexe que no es van trobar exposats a aquestes condicions. En aquesta cohort també s'ha observat com una situació de malnutrició amb la mare, al voltant del temps de la concepció, pot implicar modificacions en l'expressió dels miARNs de la descendència resultant amb una resistència a la insulina en etapes més tardanes de la vida (26). En una altra recerca, els percentatges obtinguts es poden comparar als dels estudis realitzats en ratolins (27).

Relacionat amb l'etapa de fam de Nigèria durant la guerra civil, es van observar un 30% de casos en què anys més tard apareixien fenotips amb alts nivells de colesterol i triglicèrids, incapacitat de respondre a la glucosa i un alt índex de massa corporal derivant a un risc de malaltia cardiovascular (28).

En casos on la situació de la mare és l'oposada, es troba una associació significativa en casos d'obesitat parental, en que els recent nascuts de pares obesos tenen patrons de metilació alterats en els gens imprintats, i s'ha vist també una associació amb l'hipometilació del gen *IGF2* (26). Altres afectacions passen també per trobar relació entre el tipus de nutrició que dura a terme la mare (rica en grassa), durant el primer trimestre, el patró de metilació en el cordó umbilical, i l'obesitat de la descendència en els pròxims anys (29). Seguint valorant dietes amb un alt contingut de grasses durant la gestació, en aquests casos s'ha observat un increment de l'expressió dels mRNA pels gens gluconeogenics, un contingut de glucosa en sang elevat i modificacions d'histones (en el gen *Pck1*). A més a més, l'estat de metilació de varis gens implicats en funcions metabòliques, vasculars i endocrines ha estat alterada degut a canvis en la dieta durant l'etapa prenatal. En conjunt, aportant un risc augmentat de patir síndromes o trastorns en la vida adulta (28).

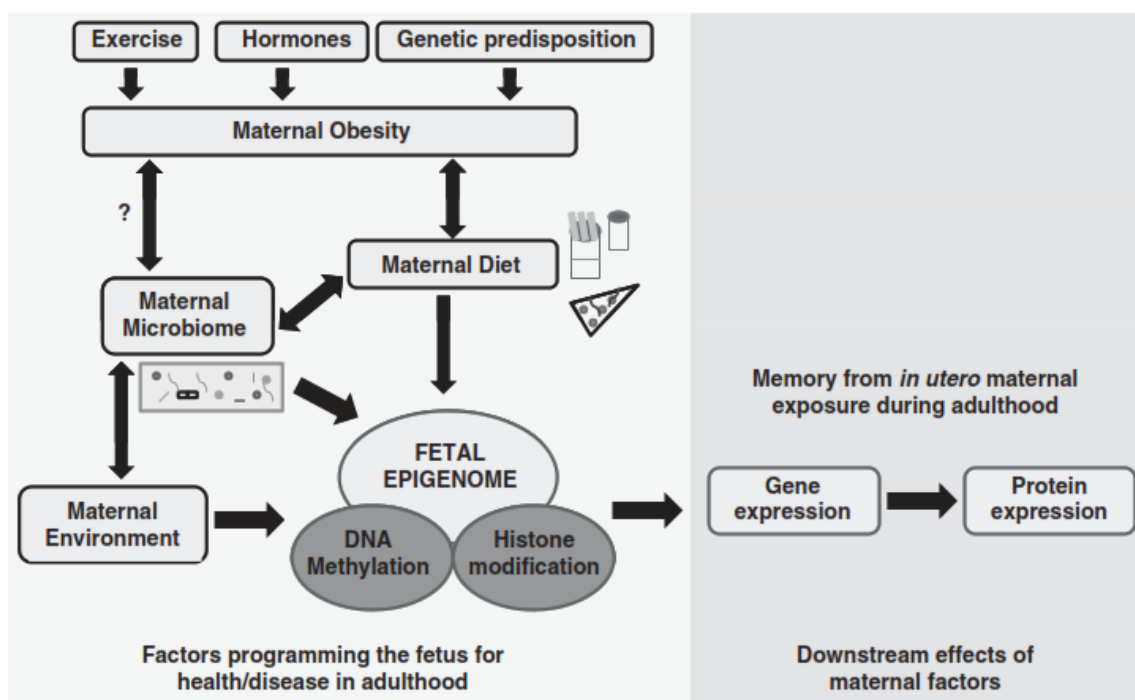


Figura 3: Representació dels modificadors de l'epigenoma fetal. Descripció gràfica dels factors maternals que donen forma a l'epigenoma del fetus i dels efectes ambientals als quals es troba exposat. Cal comprendre també que l'estat metabòlic de la mare és un conjunt de l'equilibri entre la dieta, l'exercici, la predisposició genètica i les hormones (28).

De manera similar un model amb macacos japonesos, ha demostrat l'impacte d'una dieta rica en grasses i/o alta en calories, pot alterar l'estructura de la cromatina hepàtica i derivar amb alteracions de l'expressió gènica durant l'etapa fetal (histona H3) i la postnatal. Aquests estudis donen suport a la idea que una dieta rica en grasses per part de la mare aporta risc d'obesitat (28). S'ha demostrat un grau de reversió en els fetus, amb un canvi de la dieta de la mare. Demostrant així que el motiu de les modificacions recau en el tipus d'ingesta que aquesta dura a terme durant l'embaràs. A part de valorar una dieta rica en grassa o no, cal tenir en compte també el que succeeix quan apareixen embarassos en dones que ja patien obesitat. I la metilació de l'ADN en *hypoxia inducible factor 3A* (*HIF3A*), s'associa a obesitat materna i de la descendència. Amb el punt important de que també influeix en el desenvolupament del teixit adipós durant l'embriogènesi (30). Posant de manifest, que a part de la dieta de la mare i

els factors externs a ella, l'índex de massa corporal que aquesta tingui actuarà com a modular ambiental en el fetus.

Malgrat els nivells adiposos vinguin donats per l'ambient obès de la mare, o per part d'una càrrega poligènica de risc es troben correlacions entre els patrons de metilació del nou vingut amb l'índex de massa corporal. Amb la consegüent conclusió de la importància de les illes CpG, els patrons d'expressió i els SNPs com a factors clau, que es veuen influenciats per la genètica i l'ambient prenatal (31).

4.2.2. Nivells de proteïnes de la dieta

Els nivells de proteïnes necessaris per una dona embarassada sobretot són importants pels aminoàcids essencials que el nostre cos no pot sintetitzar, incloent la metionina (28). Remarcant així l'important paper dels grups metil que s'obtenen des de la dieta per un correcte desenvolupament fetal i postnatal.

S'han pogut observar canvis epigenètics en el model en ratolins, en casos en que la dieta materna era baixa en proteïnes. Canvis en el receptor per l'angiotensina II tipus 1b, on el promotor del gen es trobava significativament hipometilat, provocant una apoptosi renal i per tant varis problemes derivats apareixien als ronyons. Tot i això, alguns dels problemes derivats es revertien a la setmana 12 de naixement, quan des de la setmana 1 es donava una dieta normal als individus (32). També es revertien els efectes d'una dieta baixa en proteïnes sobre DNMT1 d'un estudi realitzat en ovelles, quan es suplementava la dieta amb àcid fòlic (33).

A més amés, una dieta baixa en proteïnes està altament associada amb problemes al creixement fetal, desenvolupament d'obesitat, diabetis i hipertensió de la descendència. Per exemple a nivell d'expressió gènica, el descens de la metilació afecta l'expressió del gen *agtr1b* el qual està implicat en la hipertensió en models amb ratolins (34). On també apareixen afectacions en l'acetilació (H3K4 i H4K9) i en la metilació d'histones (H3K4), és en un estudi on els canvis en els patrons d'acetilació i metilació en els tres casos diferien amb el grup control en 174%, 302% i 925%. Concretament i entre altres aquestes modificacions, influeixen en l'expressió de les cèl·lules beta del gen de la insulina (35).

4.2.3. L'estil de vida com a modulador

A part dels efectes que pot tenir l'alcohol de manera global en el fetus, també cal tenir en compte la relació directe que apareix entre l'exposició a etanol i les aberracions en els patrons de metilació de l'ADN. A més a més, també es troben amb patrons aberrants si la ingesta elevada es va produir abans de la fertilització (36). Nivells d'alcohol elevats, impliquen una alteració en el funcionament normal del metabolisme del folat i en redueixen la seva funcionalitat i actuació (37). S'ha pogut demostrar en models de ratolins com, els individus als que s'havia subministrat alcohol reduïen l'activitat de la síntesi de metionina, podent observar també en aquests ratolins un descens global de la metilació del genoma. Trobant afectacions de metilació en els gens imprintats, i també per sorpresa en els patrons de metilació de la placenta (38).

Altres punts importants deixant de banda la part de la salut passarien pel fet de que la mare fumés durant l'embaràs, fet que pot causar alteracions en la metilació de l'ADN i en l'expressió de miARNs. En aquests casos les diferències entre fumadores i no fumadores no es basava tant

en diferències en els nivells globals de metilació, sinó en alguns gens específics on les diferències eren significatives (39).

L'estat de salut mental i l'ambient social en el que es troba la mare durant l'embaràs, també influeix al resultat epigenètic de la descendència. Estudis realitzats en ratolins han observat que hi ha una relació entre experiències adverses durant l'embaràs i una programació epigenètica a nivell de l'expressió d'alguns miARN al cervell de la descendència. Posant de manifest i podent observar les implicacions de l'estrès matern en aquest microARN (40). Per exemple, la violència domèstica activa una resposta d'estrès en dones embarassades conclou també amb canvis epigenètics en el receptor del cortisol, en la descendència durant les etapes adolescents. Posant de manifest com l'estrès extern, les agressions o un comportament humà aberrant poden tenir efectes epigenètics i per tant transgeneracionals (41). I modificacions i resultats similars s'han observat en el cas que algun dels progenitors ingerís drogues com per exemple la cocaïna (42).

Un altre factor a tenir en compte, ja que també interacciona amb els gens en els quals s'ha vist relació amb els factors de la dieta. Seria l'exercici físic, el qual modifica o té la capacitat d'interaccionar amb l'expressió de gens involucrats en processos inflamatoris, el metabolisme, i el sistema nerviós central. Tot i així, la hipòtesi ens diu que dur a terme exercici en el dia a dia (previ a la concepció) o durant l'embaràs, podria mediar condicions de marcatge epigenètic favorables. Aquesta hipòtesi apareix, a partir d'un estudi on les mares que duïen a terme exercici durant la segona part de l'embaràs, tenien descendents amb menys pes i menys percentatge de grassa, així com també es detectaven modificacions en l'expressió gènica (*IGF1*, *IGF2*, *leptina* i *PGC1-alfa*) (43).

4.2.4. Components fitoquímics de la dieta

Altres components de la dieta actuen com a moduladors epigenètics, i poden tenir efectes de químic-prevenició. Alguns han mostrat tenir potencial per revertir el silenciament induït a partir de la metilació, i per tant canviar l'expressió de varis gens com per exemple, inhibidors de DNMT (44).

Un exemple més específic seria l'EGCG (*Epigallocatechin-3-gallate*) provinent del té verd, és un agent que actua inhibint la catecol-O-metiltransferasa, l'enzim responsable per la inactivació de les molècules catecol. Aquest interacciona amb AdoMet, un potent inhibidor de les DNMT1. Per tant si les DNMT1 metiltransferasa està inhibida, impedim la metilació del ADN i en conseqüència la seva repressió (6). La controvèrsia apareix pel que fa la toxicitat del té verd en el fetus, i com en estudis amb ratolins, una dosi alta d'aquest component ha derivat amb una pèrdua de pes en el naixement, i també amb anormalitats a nivell fetal (45).

Dins dels carotenoides un de significatiu seria el *lycopene* un pigment carotenoid que es troba principalment en els tomàquets i altres fruites i vegetals vermells, el qual modula l'expressió de varis números de gens rellevants pel control del cicle cel·lular (6). Malgrat el mecanisme d'actuació es desconeix, s'ha observat que actua com a factor de prevenició del creixement inadequat del fetus (44).

Dins de les isoflavones, la diadzeïna juntament amb la genisteïna s'ha vist en models animals que poden creuar la placenta i s'han trobat també en la llet (44). En aquests casos s'ha

observat protecció en front el càncer, en estadis inicials al desenvolupament. La hipermetilació dels elements repetitius s'ha observat durant l'exposició a la genisteïna, que també s'ha vist que afecte a l'eritropoesis. Tots aquests resultats, suggereixen que la genisteïna i el diadzeïna poden produir efectes additius o fins hi tot sinèrgics, de protecció en front al càncer (46).

La genisteïna, que es troba en els grans de soja indueix una inhibició dosi – dependent de les DNMT. A més a més, la exposició prenatal a la genisteïna, té efectes fetals en a metilació de l'ADN de les cèl·lules hematopoètiques que duren al llarg de la vida (6).

El sulforafé, és un isotiocianat bioactiu que es troba en els vegetals crucífers (com per exemple el bròquil, les cols de bruseles, el *kale*, la col, el nabiu, i els créixens). Aquest compost regula de manera negativa a DNMT1, i s'ha detectat com a protector en front al càncer (47). Malgrat l'efecte de quimioprevenició està provat per varis càncers, es desconeix l'efecte exacte que pot tenir en el fetus, o en el nadó per via lactant (44). El resveratrol (3,5,4'-trihidroxyestilbene), un potent antioxidant que forma part de la pell del raïm, els cacauets, les mores i el vi i és un inhibidor feble de l'activitat de DNMT (48).

La quercetina, un flavonoide abundant en les cebes, té verd, pell de poma i mores, s'ha vist que té un paper de potencial activador de HAT i inhibir HDAC (49). Malgrat se li atribueix la capacitat de prevenció a la tumorigenesis, també és conegut com a possible component mutagènic. Ja que en algun estudi en ratolins que tenen problemes en els mecanismes de reparació dels trencaments de doble cadena (50). Per tant posant de manifest, que caldria descartar-lo o estudiar-lo més profundament pel que fa la dosi o moment d'actuació abans de valorar-lo com a possible candidat.

La curcumina (component de la *Curcuma longa*), és coneguda per evitar la hiperacetilació d'histones per part de els HDAC, que actua com un potent anti-cancerígen. Tot i que se sap que la curcumina funciona com a modificador d'histones, la seva activitat davant altres enzims modificadors es desconeix, però es valora com a futur component terapèutic (51). En els casos d'exposicions en etapes lactants implica una detoxificació hepàtica, entre altres factors beneficiosos (44, 52).

Els alcaloides es troben de forma natural en bacteries, fongs, plantes i animals (contenen un o més àtoms de nitrogen). Tenen propietats anti-tumorigèniques així com també antiaging i antivirals. Hi ha estudis que han demostrat la capacitat de l'àcid clorogènic i l'àcid cafeic que es troben en varies plantes (incloent els grans de cafè), d'alterar la metilació de l'ADN actuant indirectament com a inhibidors de la metilació a través de les DNMTs (53). Malgrat això cal tenir present l'efecte que pot tenir la cafeïna en l'embaràs, ja que a partir d'una certa dosi apareixen afectacions negatives al fetus tals com problemes de creixement i ossis, sobretot a partir de la finalització de l'embaràs i cap al final que és quan es dona la major part del creixement fetal (54).

Com ja es comentava la importància dels micronutrients és important, però també ho és el nivell en el qual es troben. Per exemple uns nivells de vitamina B12 incrementats durant l'embaràs, estan associats amb un descens global dels nivells de metilació (55).

Pel que fa als miARNs, s'entén que l'efecte dels components de la dieta que hi ha en ells és limitat. Tot i així hi ha estudis que demostren que hi ha elements bioactius que protegeixen contra el càncer a través de la modulació dels miARN (56). Alguns components com per exemple EGCG, la curcumina, la genisteïna, el sulforafanat i el resveratrol amb propietats anticancerígenes actuen a través de la regulació dels miARNs (50)(57). Models amb cèl·lules cancerígenes valoren el poder de la dieta i dels elements comentats anteriorment, per revertir les alteracions epigenètiques, sobretot en l'etapa periconcepcional i la perinatal (43).

4.3. Interacció i relacions entre els components implicats

Cal partir de la base, que la majoria de nutrients funcionen junts, i interaccionen de manera adient de cara als processos cel·lulars. Aquestes interaccions per exemple, poden modular el metabolismes dels àcids grassos, la ratio de folat i de vitamina B12, s'ha vist que és clau per un patró de metilació correcte per la placenta (58).

Cal tenir en compte que en el procés de diferenciació de les cèl·lules fetals, hi ha moltes senyals epigenètiques que van apareixen des de la inactivació del cromosoma X en els fetus femenins fins a senyals claus i específiques de cada línia cel·lular, i aquestes senyals poden interaccionar entre si (59). Malgrat la majoria dels gens implicats es troben en les rutes donadores de metils (implicant un risc de defectes en la metilació), degut a la interferència que hi pot haver en altres gens i a les cascades d'interacció es poden veure afectats molts altres gens (58)(7).

Estudis realitzats de manera inicial sobre la suplementació nutricional amb genisteïna, han demostrat tenir la capacitat en el gen *agoutti* de ratolins, de poder revertir els efectes del bisfenol A (BPA). Tot i així, s'ha observat que casos en que només intervé genisteïna, sense un dany previ causat per BPA, no s'han derivat canvis visibles en el fenotip (58).

A més a més, cal tenir en compte que l'estat de metilació d'un gen en un moment concret de l'embriogènesi, pot acabar causant una cascada de metilació en altres gens adjacents al genoma. Com succeeix en un estudi que estudiava els patrons de metilació fetal, on canvis en l'expressió en moments clau tenia conseqüències en processos tumorigènics (60). Així com també cal valorar, que molts dels gens que actuen per imprinting son sensibles a la seva dosi per a garantir la seva correcta actuació. Per tant una modificació per petita que sigui de la seva expressió, pot repercutir en l'actuació final i exitosa de la proteïna en qüestió (25).

4.4. Conseqüències per al desenvolupament fetal

Un estudi basat en la suplementació materna d'àcid fòlic en ratolins, ha mostrat que la descendència tenia un patró de metilació diferent al comparar amb els que van rebre una dosi baixa d'àcid fòlic. Concretament les diferències apareixien en gens anòmals en els hemisferis cerebrals, afectant gens dins del *autism spectrum disorder (ASD)*. Donant suport a la idea que nivells normals d'àcid fòlic poden actuar de manera preventiva a l'aparició d'autisme. Concretament en aquest estudi apareix hipermetilació de les illes CpG del gens candidats a estar afectats, derivant a poder observar canvis significants en el fenotip (61)(62).

També s'han dut a terme estudis on la dieta materna era la única variable, i han pogut millorar la salut i incrementar la longevitat de la descendència sense modificar la seqüència d'ADN. Per

exemple, en femelles de ratolins *agouti* embarassades, en una línia predisposada a la obesitat severa, quan s'han suplementat les dietes amb genisteïna, han donat a llum a cadells completament normals. Posant també de manifest com les modificacions nutricionals que es puguin aportar a partir de la soja com en aquest cas, poden revertir marcatge prèviament establert (63).

Un altre exemple a valorar és el cas de la diabetis gestacionals que a part de donar-se en humans, també es dona en altres mamífers. En aquests casos, el fetus està exposat a alts nivells de glucosa, que desencadenen canvis epigenètics en l'ADN del nou nadó. Estudis realitzats en ratolins amb el promotor del gen *Pdx1* (implicat en la homeòstasi normal de la glucosa i el manteniment de les cèl·lules beta). Un mal marcatge epigenètic en aquest cas apareix tan per la metilació de l'ADN com per les modificacions a les histones, amb les conseqüències severes per la descendència que això implica (64).

Un estudi que pot expressar molt bé un dels mecanismes implicats així com també l'impacte de la nutrició materna, en que parteixen de la hipòtesi de que perquè hi hagi uns patrons de metilació que variïn en funció de la dieta, hi haurà d'haver una diferència de l'expressió de DNMT1, DNMT3a i DNMT3b. La seva hipòtesi van ser certes, ja que van poder observar patrons d'expressió específics en funció del sexe i teixit-específics, per exemple en DNMT3b es van poder observar diferències d'expressió significatives en funció de l'alimentació de la mare i en funció del teixit (25).

Son varis els estudis que han demostrat diferències en l'epigenoma i el transcriptoma, teixit – específics relacionats amb una alimentació materna pobre o amb factors endocrins alterats. El punt important arriba quan aquestes diferències, es mantenen en les generacions següents i en absència d'aquests factors o aquesta alimentació deficient (65).

Un altre estudi a partir del qual podem extreure conclusions seria un estudi en ratolins en que es tenen en compte 3 grups. El grup control, el grup obès (dieta greixosa), i el grup en una dieta greixosa al qual se'l canvia a una dieta control 2 mesos abans de la concepció. En aquest estudi l'obesitat materna es veu lligada a una restricció del creixement fetal, la reducció de l'eficiència de la placenta i alteracions en l'expressió dels gens involucrat en l'epigenètica (fetge i placenta). El fet d'intervenir el grup semi-obès, 2 mesos abans de l'embaràs, aporta una normalització dels paràmetres metabòlics materns, oferint un creixement fetal pràcticament normal i on només alguns dels gens es van poder veure afectats en comparant tant amb el grup obès com el control. En aquests estudi les acetilacions d'histones, son les que es modifiquen de manera més representativa. L'alteració de l'epigenoma durant el principi del procés ontogènic, pot actuar com a mecanisme de memòria per a l'establiment del futur fenotip (66).

Posant de rellevància el poder de la nutrició, i la seva plasticitat i continuïtat. Com una modificació prèvia a l'embaràs pot tenir un impacte significatiu en el fetus. I com la nutrició es pot modificar (cap a bé o cap a mal), al llarg de tota la vida amb les seves conseqüències. Però com encara més de rellevància es posen aquestes conseqüències quan es modula la nutrició prèviament o durant la formació d'un nou individu. Un fet clau que posa de rellevància l'etapa perinatal per la consolidació del fenotip adult, passa per descobrir en ratolins que hi ha alguns promotors com per exemple el del gen *Pomc*, que es poden veure alterats degut a la dieta

materna o a la seva obesitat. Que no poden retornar al seu patró de metilació correcte quan es dóna als ratolins una dieta adient (67).

4.5. Consideracions en les etapes prèvies i posteriors

4.5.1. Període periconcepcional

Malgrat la majoria de gens començaran a ser re-programats just després de la concepció, per poder passar a la reprogramació dels genomes matern i patern (68). La nutrició materna abans de la concepció també afecta als estats epigenètics de l'òocit, que poden repercutir posteriorment en l'embrió. Per exemple, en ratolins s'ha observat que una deficiència de zinc materna en els 3 – 5 dies previs a l'ovulació afecta al potencial de fertilització i a la preimplantació de l'embrió provocant alteracions a la transcripció, als elements repetitius del genoma i a gens essencials (58). En aquest inici del desenvolupament la majoria de senyals provenen de cèl·lules veïnes o properes a l'embrió, i seran els moments de més sensibilitat i vulnerabilitat. L'engranatge de diferenciació cel·lular i marcatge gènic específic representa una de les finestres de sensibilització on possibles modificadors externs poden tenir un impacte major i prolongat (1).

4.5.2. Influències paternes

Les etapes prèvies a la concepció per part de l'esperma paterna també pateixen canvis i també poden estar influenciades pels compostos de la dieta (69). Per exemple, els patrons de metilació es veuen alterats per l'exposició paterna al consum d'alcohol elevat, o l'exposició a compostos químics tòxics tals com el *vinclozolin* i el *chromium chloride*. Fins hi tot la deficiència de folat en ratolins mascles s'ha vist que afecta la funció espermàtica, degut a diferències en la metilació i l'expressió amb el grup control. Tot i així, aquest estudi també mostra com en la tercera generació, tres dels cinc gens estudiats reverteixen aquesta programació (70). Concloent que malgrat es dóna aquesta herència transgeneracional, es pot retornar a l'original de mica en mica i gradualment.

S'obtenen evidències en humans estudiant la cohort sueca de Overkalix, que mostra que la dieta en l'etapa adolescents dels avis paternes, es correlaciona amb la longevitat, risc de malaltia cardiovascular i de diabetis dels seus nets. A més a més, en l'etapa de fam severa d'Holanda, la descendència de pares malnutrits (en casos en que l'alimentació materna era correcta), tenia un efecte rellevant (4). Altres estudis duts a terme amb bisfenol A, mostren com les perturbacions que apareixen en els testicles de ratolins que han estat exposats a aquesta substància, es repeteixen de manera transgeneracionals fins a 3 generacions següents (71).

4.5.3. Influència del desenvolupament en l'úter

Pel que fa a l'imprinting de gens que són estables trans-generacionalment parlant, s'han de valorar patrons de metilació o mecanismes que es desconeixen. Aquests gens imprintats passen dels pares a la descendència evadint el procés de desmetilació epigenètica que es dóna en les primeres fases de la unió de l'òvul i l'espermatozoide (15). Un exemple d'un d'aquests gens seria *UBE3* (relacionat amb el síndrome d'Angelman), en aquests casos els gens

impremtats posseeixen memòria molecular de la seva línia germinal, associat amb una varietat de patrons de metilació de l'ADN que afecten el genotip (72).

Durant el desenvolupament és el moment en que el fetus es desmarca dels patrons de metilació que pugui tenir la mare i obté els seus nous patrons de metilació, com es mostra en l'estudi en que es comparen a través d'uns arrays marcadors de metilació de l'ADN a nivell de tot el genoma (60). Dins de l'úter és quan el període de plasticitat és major, però cal comprendre que hi ha moments en que els impactes externs poden deixar petjada de manera més marcada. Com succeeix quan en els estudis s'analitzen les variacions del pes al llarg de l'embaràs en funció de l'alimentació materna (estudi realitzat en baboons), variant el pes en alguns estadis de la gestació mentre que en d'altres no es veia un impacte tan gran (73).

4.5.4. Efectes perinatals

Les influències epigenètiques continuen donant forma a l'individu després de néixer, en les primeres etapes de la vida experiències positives i negatives com el tracte de la mare, l'adaptació a l'estrès i diferents adversitats que poden anar apareixen modulen la memòria biològica i les modificacions epigenètiques. En un estudi en ratolins, l'absència de pentinament del pèl per part de la mare, implica modificacions epigenètiques en l'expressió del receptor de glucocorticoides. Això porta a un increment de la producció de cortisol per part de la glàndula adrenal incrementant la resposta a l'estrès de les cries, aquest patró es pot revertir a partir d'una injecció de metionina (74). Un altre estudi en ratolins ha obtingut resultats semblants, en valorar el tracte matern en vers les cries (com el de llepar, pentinar o acariciar) pot regular i tenir efectes epigenètics en els gens que regulen la resposta endocrina a l'estrès, així com també influeixen en el desenvolupament sinàptic. A més a més, el tracte de la mare també influenciarà a la descendència femenina quan sigui mare en el seu moment (75).

4.6. Transgenerational epigenetic programming

Experimentació i dades en humans suggereixen que la programació en el desenvolupament hauria de ser considerada com un fenomen transgeneracional, i per tan visualitzat com una forma d'herència epigenètica ja sigui per via materna o paterna. L'evidència existeix i suggereix que tant l'herència de la línia sexual, com per línia somàtica de les modificacions epigenètiques serà responsable dels canvis fenotípics que apareixeran en les futures generacions (58). Aquesta herència epigenètica transgeneracional, serà la que permetrà a futures generacions està màximament preparat i competitiu en front de l'ambient (6). Tot i així l'herència epigenètica no entén de canvis beneficiosos o deleteris, i també es passarà a la següent generació el programatge que aparegui degut a una mala nutrició en els moments inicials de la vida (3).

Un nombre ampli de reptes nutritius per a l'individu poden concloure amb un impacte transgeneracional no-genòmic, i que impliqui canvis fenotípics en mamífers. Per exemple, canvis de metilació en el promotor del gen *GR* en rosegador, es veuen reflectits en la segona generació, en absència de manipulació de la dieta de les femelles de la primera generació (76). Implicant així que els canvis que han aparegut en les primeres femelles, s'han mantingut en la F2 sense cap input extern que els pogués causar. Altres estudis mostren que poblacions amb tendència a la obesitat, aniran acumulant marques epigenètiques de generació en generació,

com si es tractés d'un sistema d'amplificació tant del marcatge com de la malaltia. Així ho mostra un estudi amb ratolins *agouti*, on aquest increment del marcatge es va poder revertir amb suplementos de grups metils (77). Aquests efectes transgeneracionals no només s'han detectat en la nutrició, sinó també en d'altres components de l'ambient al qual es troba exposat la mare, un d'aquests factors seria per exemple l'edat materna avançada (78, 79).

S'ha demostrat que una suplementació de grups donadors de metil en la mare, no només l'afecta a ella, sinó que també s'hereta a la segona generació. Tot i així, els canvis poden ser revertits gràcies a la suplementació de grups metil fins hi tot si la suplementació s'activa després de la primeres fases d'embriogènesis (etapa de les de major susceptibilitat) (80).

Hi ha estudis que mostren evidències de que algunes d'aquestes marques epigenètiques no són esborrades completament (estudi realitzat en *C. elegans*), on el patró del loci de H3K4 no queda completament eliminat. Posant de manifest que els loci que es creu que són els que evadeixen l'eliminació del marcatge epigenètic són els relacionats amb la seva edició (81). D'altres posen altament de manifest com aquest marcatge perdura al llarg de les generacions, com succeeix en estudi realitzat amb bisfenol A i l'expressió modificada d'alguns gens fins a nivell a tres generacions (70). O com ho fa el vinclozolin que aconseguix reduir el comptatge espermàtic fins a quatre generacions després de la seva exposició (71). Tot i que els compostos tòxics tenen un fort pes en la transgeneració epigenètica, la nutrició és l'altre punt clau ja que és el que ens permet revertir els efectes d'altres modificadors ambientals (82).

El fet de que els avis hagin dut a terme de manera constant una dieta rica en grasses, ha implicat canvis en el transcriptoma i el lipidoma del múscul esquelètic en la segona generació en ratolins independentment de la dieta que estiguessin portant aquesta segona generació (83).

El fet que millor dona suport al concepte de l'epigenètica transgeneracional, és que en puguem revertir els seus efectes en la tercera o la quarta generació, canviant la dieta en les finestres de susceptibilitat (les quals inclourien el període post-natal). Si el motiu del síndrome metabòlic aberrant fos genòmic, no es donaria aquesta reversió canviéssim o no la dieta dels ratolins estudiats (84). Un estudi amb resultats similars hipotetitza que siguin els RNAs que conté l'òocit un dels principals responsables d'aquest fet (85).

5. Discussió

La majoria d'estudis valorats concorden amb que la dieta materna efecte a l'epigenètica de l'individu ja sigui a nivell de metilació global, en el gens del metabolisme del folat, en els de la via d'actuació de la metionina o en altres gens específics. Tot i així, en aquests estudis els gens que es trobaven alterats estaven també involucrats en les pròpies modificacions epigenètiques com són el gens modificadors de la metilació de l'ADN, la condensació de la cromatina i les modificacions a les histones. A part de tota la maquinaria involucrada en aquestes modificacions els miARN també tindran un paper regulador en aquest procés.

Cal tenir en compte el grau de susceptibilitat del fetus en els moments en que es dona la desmetilació ja que la majoria d'estudis acorden, que és una de les finestres més importants per el procés de marcatge epigenètic. Identificant aquest moment com en el que algunes de les marques escapen de ser esborrades. Per aquest motiu d'una dieta pobra en grups metil, se'n derivaran aberracions a nivell genètic, que podran comprometre el desenvolupament de varis òrgans del nouat (24).

Malgrat els grups donadors de metils siguin d'importància, el factor que més s'ha valorat quan es parla de la dieta materna afectant el fetus seria l'accés o deficiència de diferents components bàsics com ara els lípids, les proteïnes o els hidrats de carboni. Dietes que puguin resultar extremes tindran un impacte major i per aquest motiu es podran detectar els canvis amb més facilitat. És a dir, un embaràs d'una dona obesa i amb una dieta rica en greix implicarà tota una cascada de modificacions epigenètiques fàcils d'observar i quantificar, ja que estarem lluny del que representaria una dieta equilibrada amb uns patrons de marcatge considerats "normals" o típics d'una persona sana (29). El mateix passaria en casos en que la falta d'aliments és pronunciada, i on el marcatge que apareix en els descendents és altament aberrant comparat amb el grup control (27).

En un segona fase s'han inclòs els components fitoquímics de la dieta materna, en aquest cas han aparegut discordances pel que fa les seves característiques positives i els seus mecanismes d'actuació. Hi ha estudis que poden recolzar-ne característiques de protecció pel que fa la seva actuació epigenètica, però no coneixent del cert si aquests seran tòxics o no pel fetus. En alguns casos però, si que s'ha pogut determinar si resultaven tòxics o no, i es pot arribar a valorar en un futur realitzar estudis amb els que han donat negatiu per aquesta qüestió. El que si que tenen en comú, és que la majoria de components fitoquímics interaccionen amb les ADN metiltransferases. A més a més, cal tenir en compte que dels resultats en animals no en podem extrapolar la dosi o moment adequat per a l'administració del component en forma de suplement, de manera que es garanteixi que no tindrà cap conseqüència negativa.

A l'hora de valorar els resultats dels diferents estudis cal incloure també altres factors externs que hagin pogut canviar l'expressió gènica interaccionant amb la dieta, com poden ser per exemple l'alcohol, el tabac, les drogues, l'estrès o l'exercici físic (43). De manera que en incloure'ls puguem destriar quin marcatge correspon a la nutrició materna, i quin altre ha aparegut per aquests altres factors ambientals que rodegen a la progenitora.

Afegir que el moment en que apareix un marcatge genètic aberrant poden donar-se afectacions en altres òrgans que es trobin en procés de desenvolupament. Això és el que

succeeix amb les dietes baixes en àcid fòlic, i els gens relacionats amb el risc de patir autisme. En aquest cas, la cascada de canvis epigenètics modificarà l'expressió d'alguns d'aquests gens que s'expressen en els hemisferis cerebrals (61). Un altre punt rellevant és el de les diabetis gestacionals, que també desencadenen un seguit de marques epigenètiques que podran concloure amb canvis en la salut del nou nadó, i marques que passaran a les següents generacions (64).

Han sigut de gran rellevància estudis que han aconseguit detectar reversió de les modificacions deletèries a partir de la suplementació de grups metil, o realitzant canvis en la dieta de ratolins obesos. En aquest cas els resultats obtinguts en els diferents estudis han estat molt similars, i en major o menor grau s'ha pogut observar reversió del marcatge deleteri (67, 66).

Pel que fa a les finestres d'actuació s'ha observat una major implicació en els moments en que l'embrió consta de poques cèl·lules, és a dir en els primers estadis de l'embriogènesi. Tot i això el període periconcepcional actua com un factor modulador clau tant en les dones com en els homes. Durant el període embrionari, no s'ha d'oblidar que l'entorn de l'úter en el que es troba el fetus també s'haurà d'incloure com a variable en els estudis. Fins al moment no han estat gaires els que l'han tingut en compte, en general per les dificultats que comporta (73). Després del naixement l'etapa de més plasticitat es centra en els primers mesos, s'hipotetitzava que la capacitat de modulació epigenètica que apareixerà més endavant serà menor i que factors com el tracte de la mare i l'alletament són els últims que actuaran en aquesta etapa de major susceptibilitat.

Actualment s'han recollit prou evidències d'epigenètica transgeneracional de manera que es pot parlar del tema de manera fonamentada. És a dir molts estudis són els que aconsegueixen que un marcatge epigenètic que apareix degut a una dieta específica s'hereti al llarg de les generacions, malgrat l'ambient o la dieta de la primera generació no estigui present en les següents (76). Encara més important és el tema, quan aquest marcatge epigenètic pot ser detectat fins a la tercera o quarta generació, i posteriorment revertit a partir d'ajustos de la dieta o suplementos de grups metil (85).

Les limitacions que existeixen en aquests estudis, passen per la dificultat d'aconseguir mostres de teixit humà, per aconseguir mostres de manera continuada, en diferents moments de l'embaràs o de malalties que es desenvoluparan en l'etapa adulta. Caldria per tant, dur a terme estudis creuats que tinguessin en compte la genètica, la epigenètica, la nutrició, la toxicologia i els hàbits, de manera que es puguin tenir en compte el màxim de variables possibles. Per dur-les a terme però, també cal comptar amb eines d'anàlisi estadística molt potents. Així com també bases de dades de gran capacitat, per poder fer realitat tots els anàlisis amb tots els arxius i variables implicades.

La informació que ens pot ser més fàcil d'obtenir seria treballant en models animals *in vivo*, ja que en humans ara per ara els estudis que es poden dur a terme acaben sent amb mostres de la placenta dels hospitals, a partir dels quals cal dur a terme l'anàlisi i extrapolar-ne els resultats.

Cal tenir en compte que l'epigenètic és un concepte modulable i que per tant, definir amb precisió que un component té un efecte o no, implicaria que en la seva retirada no apareixen

aquells efectes. Per garantir una explicació precisa del component s'haurien de realitzar dos estudis, un per demostrar-ne l'efectivitat i l'altre demostrant que sense ell cap altre factor de l'ambient hauria pogut ser responsable de la seva actuació.

A més a més, entrem també en complicacions quan parlem de la dosi que caldria utilitzar, en molts casos quan parlem de mares en estat d'obesitat o diabetis. Es plantejaria utilitzar per exemple algun component que s'hagi vist en models animals que pogués revertir els efectes deleteris en els fetus, però actualment es desconeix la dosi o el moment d'actuació adients per a què això passi sense que el component actuï comprometen el desenvolupament.

És a dir que, una de les característiques de l'epigenètica que la fa més atractiva com és el fet de que sigui modulable i pugui canviar amb l'ambient, és la que també la fa més complexa i difícil d'estudiar. Deixant de banda a més, que estem debatent en aquest cas l'epigenètica fetal, afegint encara més dificultat per apropar-nos a l'individu i obtenir-ne mostres.

Tot i així, cal també tenir incloure articles que no han trobat relació entre el que estaven buscant i l'epigenètica dels recent nascuts. En un estudi realitzat en humans recentment a través de EWAS (*epigenome – wide association study*) que buscava la relació entre l'estrès prenatal matern i un marcatge diferent en illes CpG en humans. No s'han trobat resultats significatius pel que fa la metilació dels gens que es tenien com a candidats (86). Un altre estudi en el que no han aparegut resultats significatius, és el que valora si el gens que tenen un imprinting diferent en funció de l'al·lel matern o el patern reben més o menys efecte dels canvis en la nutrició materna. El resultat en aquest cas ha estat que reben el mateix efecte que qualsevol altre gen, descartant que tinguin un paper rellevant o que el seu mecanisme de funcionament pugui aportar llum a l'epigenètica transgeneracional (87).

De la mateixa manera que també trobem estudis realitzats en els mateixos gens que han obtingut resultats diferents per models de nutrició similars (88). D'altres en que la segona generació no es trobava afectada per un fenotip alterat, mentre que la tercera si que el desenvolupava, creant certa controvèrsia pel que fa al marcatge transgeneracional i la seva herència (83).

De la mateixa manera, no ha estat possible trobar articles que concretessin una base molecular o una explicació pautada, de com alguns gens evadeixen l'eliminació dels patrons epigenètics que es dona en les primeres etapes de l'embaràs. Hi ha estudis que es basen en les histones, d'altres en el miARN o d'altres en la metilació de l'ADN que en el fons són els tres principals mecanismes que regulen l'epigenètica. Per tant la hipòtesis es basa en que un dels tres o tots tres, han trobat la manera d'escapar d'aquesta fase de desmetilació.

No coneixem ara per ara, si apareixerà un mecanisme o una explicació que ens ajudi a integrar aquestes tres opcions o si serà un quart mecanisme desconegut fins al moment, el que ens ajudarà a explicar aquest fet. Hi ha estudis rellevants on en funció de l'alimentació materna les DNMT3b de l'embrió s'expressen diferencialment en funció del teixit (25). D'altres parlen sobre la possibilitat de que siguin els ARNs o les histones que conté l'oòcit les que actuïn marquen algunes modificacions epigenètiques de manera estable.

6. Aplicabilitat i noves línies de recerca

Hi ha prou estudis que actualment identifiquen que la dieta materna pot tenir efectes a llarg termini en el genoma de les descendència, i per tant tenir un paper important en l'aparició de malalties durant l'etapa adulta de l'individu. I malgrat el camp de la nutrigenòmica, està augmentant cal posar de manifest la complexitat i les limitacions metodològiques per poder analitzar els moduladors epigenètica i els seus efectes combinatoris en el fetus.

També caldria valorar, si les modificacions que estem comentant cal que es donin en finestres de susceptibilitat específiques perquè siguin efectives al llarg de la vida adulta. Per tant estaríem parlant dels tipus de nutrients, de com afecten i de quan aquest efecte és major o quan tindrà un major impacte en la vida adulta.

A més a més, depenen de cada teixit trobem casos d'hipermetilació o d'hipometilació, o altres modificacions induïdes per la dieta poden ser beneficioses per alguns gens però deletèries per l'expressió normal d'altres. En aquest context, l'estratègia per la prevenció de malalties hauria de considerar interpretar i/o extrapolar als resultats dels estudis experimentals *in vivo* i *in vitro* dels moduladors epigenètics en humans.

També la interacció dels efectes de la dieta en la epigenètica però partint com a base del perfil gènic específic de cada individu, que inclouria i definiria quins polimorfismes d'un sol nucleòtid cal valorar en cada individu.

Malgrat el coneixement de la importància de que cal reprogramar l'epigenoma en les primeres etapes de l'embrió, encara queden fets desconeguts que caldria investigar amb profunditat. Per exemple ampliar la informació que es té actualment sobre les finestres de més sensibilitat ambiental (i nutricional), per part de l'epigenoma. Caldria intentar definir-les millor així com també els seus efectes (4). A la vegada cercar els mecanismes gràcies els quals es dona la transferència transgeneracional de patrons epigenètics, ja que malgrat les evidències en varis estudis tant en humans com en animals, el motiu, les vies i les proteïnes implicades es desconeixen enormement (6).

Una de les adversitats a superar de cara als estudis transgeneracionals, són els anys i la durada en els que ha de tenir lloc l'estudi en humans. Per aquest motiu i també per a la dificultat d'obtenció de les dades, la majoria d'informació fins al moment s'extreu de models animals. També és important tenir en compte, els casos en que es planteja la suplementació d'alguns compostos (com per exemple, els compostos fitoquímics). Caldria avaluar-ne la finestra d'actuació adient *in utero*, així com també la dosi i la viabilitat d'aquests suplementes (44).

La necessitat de realitzar nous estudis passa també per valorar, el que succeeix en el cas de les interaccions dels components que intervenen en l'epigenètica. Coneixent que el món de l'epigenètica és un món encara amb moltes preguntes sense respondre, la proposta de començar a avaluar les interaccions que es duen a terme dona peu a que es pugui explicar perquè alguns estudis més o menys similars han aportat resultats contradictoris o poc concordants.

En un futur, la recerca ajudarà a millorar i a comprendre els impactes de la programació nutricional, i els estats epigenètics en els primers estadis de la vida sobre les funcions

biològiques. Un possible resultat seria que aquests moduladors epigenètics, puguin ser identificats com a *nutraceuticals*, i que el següent pas i el més important hauria de ser determinar l'efectivitat i la dosi òptima per aconseguir efectes beneficiosos durant la interacció metabòlica que es dona entre la mare i el fetus.

Normalment la dieta dels humans consisteix sobre uns 50-60mmol de grups metil (1). Potser caldria reconsiderar aquest valor de cara el període perinatal i investigar quins fets poden influir en l'epigenoma, induint significativament efectes a llarg termini en l'etapa adulta. Caldria també afegir, la importància de cara a la medicina genòmica preventiva en que es valora el genoma de l'individu per determinar la seva predisposició a una malaltia. Incloent d'aquesta manera també l'epigenètica i el seu patró d'expressió per obtenir una informació més acurada, i completament significativa del gen en qüestió.

Un possible estudi seria valorar en la situació espanyola si els fills o néts dels individus que van patir situacions de manca d'aliments durant la guerra civil, tenen un marcatge epigenètic característic que els seus germans o germanes que van néixer en un moment en que no hi havia aquesta manca. En aquest cas el sistema de recollida de dades hauria d'iniciar-se des dels centres d'atenció primària, per aconseguir un gruix de població afectada durant la guerra civil, per posteriorment passar a contactar als seus descendents. En un estudi d'aquesta mena caldria també recollir informació del tipus de dieta que estaven duent a terme prèviament a l'embaràs, així com també l'estil de vida previ i durant els nou mesos de gestació.

7. Conclusions

La dieta té un fort impacte en l'epigenètica del fetus a partir dels mecanismes de modificació com són la metilació de l'ADN, les modificacions d'histones i els miARN. Les principals vies de modulació de l'epigenoma fetal passen per actuar en vers les ADN metiltransferases, també conegudes com DNMT i molts estudis rellevants han trobat impacte en les modificacions sobre la histona H3. Estudis en els miARN ha indicat que també són modulables a partir de la nutrició de la progenitora, concloent amb miARN125 i miARN22 com els que es troben amb una major associació, però se'n desconeix la via d'actuació. Molts dels anteriors interactuen amb la ruta del metabolisme del folat, la metionina i la vitamina B12 i els gens implicats en les mateixes modificacions.

El tipus de nutrició que un major impacte ha tingut a nivell de la descendència, han estat casos en que hi s'han donat situacions extremes. Com etapes de fam pronunciades, dietes riques en grasses o dietes pobres en proteïnes obtenint en diferents estudis el major nombre d'alteracions d'expressió gènica i alteracions fenotípiques de la salut en etapes fetals i en la vida adulta. També actua com a modificador epigenètic l'índex de massa corporal, i altres components de l'estil de vida tals com l'alcohol, el tabac, les drogues i el nivell d'exercici físic previ a la concepció i durant l'embaràs.

Pel que fa als components fitoquímics de la dieta, hi ha algunes controvèrsies degut als seus efectes no genètics d'interacció amb el desenvolupament fetal, tot i així la majoria interactuen com a modificadors de les DNMT. De rellevància remarcar la genisteïna i el ECGC com als que els estudis han donat més suport.

Les evidències transgeneracionals apareixen en ratolins quan efectes que han aparegut degut a una dieta materna específica, apareixen en les següents generacions. Encara més evidència apareix quan en ratolins *agouti* s'aconsegueix revertir aquest marcatge específic amb una suplementació de grups metil. A més a més, aquesta suplementació de metils es veu afectada també en els decents dels individus en els que s'ha donat la suplementació.

Pel que fa a les finestres de susceptibilitat, les etapes més sensibles a nivell epigenètic seran les inicials, degut al poc nombre de cèl·lules, un impacte en una d'elles tindria majors conseqüències a llarg termini. Així com també el procés de desmetilació tant del genoma patern com del matern, serà un moment clau d'alta sensibilitat, pel que fa a les modificacions de l'epigenoma de l'individu. Caldria remarcar també el paper de la placenta com a element modulador d'importància, i com també tenen el seu pes la nutrició i l'ambient matern i patern previ a la concepció.

8. Bibliografia

1. Kanherkar RR, Bhatia-Dey N, Csoka AB. Epigenetics across the human lifespan. *Front cell Dev Biol* . 2014 ;2:49. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25364756>
2. Chango A, Pogribny IP. Considering maternal dietary modulators for epigenetic regulation and programming of the fetal epigenome. *Nutrients* . 2015 Apr 14 ;7(4):2748–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25875118>
3. Vickers M, H. M. Early Life Nutrition, Epigenetics and Programming of Later Life Disease. *Nutrients* . 2014 Jun 2 ;6(6):2165–78. Available from: <http://www.mdpi.com/2072-6643/6/6/2165/>
4. Lee HS. Impact of maternal diet on the epigenome during in utero life and the developmental programming of diseases in childhood and adulthood. *Nutrients*. 2015;7(11):9492–507.
5. Rose NR, Klose RJ. Understanding the relationship between DNA methylation and histone lysine methylation. *Biochim Biophys Acta - Gene Regul Mech* . 2014 Dec;1839(12):1362–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24560929>
6. Chango A, Pogribny IP. Considering maternal dietary modulators for epigenetic regulation and programming of the fetal epigenome. *Nutrients* . 2015 Apr 14 ;7(4):2748–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25875118>
7. Wang J, Wu Z, Li D, Li N, Dindot S V., Satterfield MC, et al. Nutrition, Epigenetics, and Metabolic Syndrome. *Antioxid Redox Signal* . 2012;17(2):282–301. Available from: <http://online.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/ars.2011.4381>
8. Cheng T-YD, Makar KW, Neuhaus ML, Miller JW, Song X, Brown EC, et al. Folate-mediated one-carbon metabolism genes and interactions with nutritional factors on colorectal cancer risk: Women’s Health Initiative Observational Study. *Cancer* . 2015 Oct 15 ;121(20):3684–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26108676>
9. Mehedint MG, Niculescu MD, Craciunescu CN, Zeisel SH. Choline deficiency alters global histone methylation and epigenetic marking at the Re1 site of the calbindin 1 gene. *FASEB J* . 2010 Jan ;24(1):184–95. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19752176>
10. Kovacheva VP, Mellott TJ, Davison JM, Wagner N, Lopez-Coviella I, Schnitzler AC, et al. Gestational Choline Deficiency Causes Global and *Igf2* Gene DNA Hypermethylation by Up-regulation of *Dnmt1* Expression. *J Biol Chem* . 2007 Oct 26 ;282(43):31777–88. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17724018>
11. Padmanabhan N, Jia D, Geary-Joo C, Wu X, Ferguson-Smith AC, Fung E, et al. Mutation in folate metabolism causes epigenetic instability and transgenerational effects on development. *Cell* . 2013 Sep 26 ;155(1):81–93. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24074862>
12. Wolff GL, Kodell RL, Moore SR, Cooney CA. Maternal epigenetics and methyl supplements affect agouti gene expression in Avy/a mice. *FASEB J* . 1998 Aug ;12(11):949–57. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9707167>

13. Pogribny IP, Tryndyak VP, Muskhelishvili L, Rusyn I, Ross SA. Methyl Deficiency, Alterations in Global Histone Modifications, and Carcinogenesis. *J Nutr* . 2007 Jan 1 ;137(1):216S–222S. Available from: <https://academic.oup.com/jn/article/137/1/216S/4664374>
14. Zhou W, Alonso S, Takai D, Lu SC, Yamamoto F, Perucho M, et al. Requirement of RIZ1 for cancer prevention by methyl-balanced diet. *PLoS One* . 2008 ;3(10):e3390. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18852888>
15. Moody L, Chen H, Pan YX. Early-Life Nutritional Programming of Cognition. The Fundamental Role of Epigenetic Mechanisms in Mediating the Relation between Early-Life Environment and Learning and Memory Process. *Adv Nutr An Int Rev J* . 2017;8(2):337–50. Available from: <http://advances.nutrition.org/content/8/2/337.abstract>
16. Franchina T, Amodeo V, Bronte G, Savio G, Ricciardi GR, Picciotto M, et al. Circulating miR-22, miR-24 and miR-34a as novel predictive biomarkers to pemetrexed-based chemotherapy in advanced non small cell lung cancer. *J Cell Physiol* . 2013 Jun ;229(1):n/a-n/a. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/jcp.24422>
17. Stone N, Pangilinan F, Molloy AM, Shane B, Scott JM, Ueland PM, et al. Bioinformatic and genetic association analysis of microRNA target sites in one-carbon metabolism genes. *PLoS One* . 2011;6(7):e21851. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21765920>
18. Marsit CJ, Eddy K, Kelsey KT. MicroRNA responses to cellular stress. *Cancer Res* . 2006 Nov 15;66(22):10843–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17108120>
19. Probst A V., Dunleavy E, Almouzni G. Epigenetic inheritance during the cell cycle. *Nat Rev Mol Cell Biol* . 2009 Mar 1 ;10(3):192–206. Available from: <http://www.nature.com/articles/nrm2640>
20. Jirtle RL, Skinner MK. Environmental epigenomics and disease susceptibility. *Nat Rev Genet* . 2007 Apr ;8(4):253–62. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17363974>
21. Waterland RA, Lin J-R, Smith CA, Jirtle RL. Post-weaning diet affects genomic imprinting at the insulin-like growth factor 2 (Igf2) locus. *Hum Mol Genet* . 2006 Mar 1 ;15(5):705–16. Available from: <http://academic.oup.com/hmg/article/15/5/705/596694/Postweaning-diet-affects-genomic-imprinting-at-the>
22. Longtine MS, Nelson DM. Placental dysfunction and fetal programming: the importance of placental size, shape, histopathology, and molecular composition. *Semin Reprod Med* . 2011 May ;29(3):187–96. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21710395>
23. Sinclair KD, Lea RG, Rees WD, Young LE. The developmental origins of health and disease: current theories and epigenetic mechanisms. *Soc Reprod Fertil Suppl* . 2007 ;64:425–43. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17491163>
24. Konycheva G, Dziadek MA, Ferguson LR, Krägeloh CU, Coolen MW, Davison M, et al. Dietary methyl donor deficiency during pregnancy in rats shapes learning and anxiety in

- offspring. *Nutr Res* . 2011 Oct ;31(10):790–804. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22074804>
25. Lan X, Cretney EC, Kropp J, Khateeb K, Berg MA, Peñagaricano F, et al. Maternal Diet during Pregnancy Induces Gene Expression and DNA Methylation Changes in Fetal Tissues in Sheep. *Front Genet* . 2013;4(April):1–12. Available from:
<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fgene.2013.00049/abstract>
 26. Heijmans BT, Tobi EW, Stein AD, Putter H, Blauw GJ, Susser ES, et al. Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* . 2008 Nov 4 ;105(44):17046–9. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18955703>
 27. Tobi EW, Lumey LH, Talens RP, Kremer D, Putter H, Stein AD, et al. DNA methylation differences after exposure to prenatal famine are common and timing- and sex-specific. *Hum Mol Genet* . 2009 Nov 1 ;18(21):4046–53. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19656776>
 28. Ganu RS, Harris RA, Collins K, Aagaard KM. Maternal diet: a modulator for epigenomic regulation during development in nonhuman primates and humans. *Int J Obes Suppl* . 2012;2(S2):S14–8. Available from:
<http://www.nature.com/doifinder/10.1038/ijosup.2012.16>
 29. Godfrey KM, Sheppard A, Gluckman PD, Lillycrop KA, Burdge GC, McLean C, et al. Epigenetic gene promoter methylation at birth is associated with child’s later adiposity. *Diabetes*. 2011;60(5):1528–34.
 30. Pan H, Lin X, Wu Y, Chen L, Teh AL, Soh SE, et al. HIF3A association with adiposity: the story begins before birth. *Epigenomics* . 2015 ;7(6):937–50. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26011824>
 31. Lin X, Lim IY, Wu Y, Teh AL, Chen L, Aris IM, et al. Developmental pathways to adiposity begin before birth and are influenced by genotype, prenatal environment and epigenome. *BMC Med*. 2017;15(1):1–18.
 32. Bogdarina I, Welham S, King PJ, Burns SP, Clark AJL. Epigenetic modification of the renin-angiotensin system in the fetal programming of hypertension. *Circ Res* . 2007 Mar 2 ;100(4):520–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17255528>
 33. Lillycrop K a, Slater-jefferies JL, Hanson M a, Godfrey KM, Alan a. Europe PMC Funders Group Induction of altered epigenetic regulation of the hepatic glucocorticoid receptor in the offspring of rats fed a protein- restricted diet during pregnancy suggests that reduced DNA methyltransferase-1 expression is involved in imp. 2008;97(6):1064–73.
 34. Wu G, Bazer FW, Datta S, Johnson GA, Li P, Satterfield MC, et al. Proline metabolism in the conceptus: implications for fetal growth and development. *Amino Acids* . 2008 Nov 11 ;35(4):691–702. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00726-008-0052-7>
 35. Lillycrop KA, Slater-Jefferies JL, Hanson MA, Godfrey KM, Jackson AA, Burdge GC. Induction of altered epigenetic regulation of the hepatic glucocorticoid receptor in the offspring of rats fed a protein-restricted diet during pregnancy suggests that reduced DNA methyltransferase-1 expression is involved in impaired DNA methylation and changes in histone modifications. *Br J Nutr* . 2007 Jun;97(6):1064–73. Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17433129>

36. Kaminen-Ahola N, Ahola A, Maga M, Mallitt KA, Fahey P, Cox TC, et al. Maternal ethanol consumption alters the epigenotype and the phenotype of offspring in a mouse model. *PLoS Genet.* 2010;6(1).
37. Schalinske KL, Nieman KM. Disruption of methyl group metabolism by ethanol. *Nutr Rev* . 2005 Nov ;63(11):387–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16370223>
38. Ungerer M, Knezovich J, Ramsay M. In utero alcohol exposure, epigenetic changes, and their consequences. *Alcohol Res* . 2013 ;35(1):37–46. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24313163>
39. Lee H-S, Barraza-Villarreal A, Hernandez-Vargas H, Sly PD, Biessy C, Ramakrishnan U, et al. Modulation of DNA methylation states and infant immune system by dietary supplementation with ω -3 PUFA during pregnancy in an intervention study. *Am J Clin Nutr* . 2013 Aug ;98(2):480–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23761484>
40. Zucchi FCR, Yao Y, Ward ID, Illynskyy Y, Olson DM, Benzies K, et al. Maternal stress induces epigenetic signatures of psychiatric and neurological diseases in the offspring. *PLoS One* . 2013 ;8(2):e56967. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23451123>
41. Radtke KM, Ruf M, Gunter HM, Dohrmann K, Schauer M, Meyer A, et al. Transgenerational impact of intimate partner violence on methylation in the promoter of the glucocorticoid receptor. *Transl Psychiatry* . 2011 Jul 19 ;1(7):e21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22832523>
42. Vassoler FM, White SL, Schmidt HD, Sadri-Vakili G, Pierce RC. Epigenetic inheritance of a cocaine-resistance phenotype. *Nat Neurosci* . 2013 Jan ;16(1):42–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23242310>
43. Jiménez-Chillarón JC, Nijland MJ, Ascensão AA, Sardão VA, Magalhães J, Hitchler MJ, et al. Back to the future: Transgenerational transmission of xenobiotic-induced epigenetic remodeling. *Epigenetics.* 2015;10(4):259–73.
44. Kaur P, Shorey LE, Ho E, Dashwood RH, Williams DE. Dietary Phytochemicals : the Fetus as a Target. 2014;71(7):441–57.
45. Berletch JB, Liu C, Love WK, Andrews LG, Katiyar SK, Tollefsbol TO. Epigenetic and genetic mechanisms contribute to telomerase inhibition by EGCG. *J Cell Biochem* . 2008 Feb 1 ;103(2):509–19. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17570133>
46. Vanhees K, Coort S, Ruijters EJB, Godschalk RWL, van Schooten FJ, van Doorn-Khosrovani SB van W. Epigenetics: prenatal exposure to genistein leaves a permanent signature on the hematopoietic lineage. *FASEB J* . 2011 Feb 3 ;25(2):797–807. Available from: <http://www.fasebj.org/doi/10.1096/fj.10-172155>
47. Hsu A, Wong CP, Yu Z, Williams DE, Dashwood RH, Ho E. Promoter de-methylation of cyclin D2 by sulforaphane in prostate cancer cells. *Clin Epigenetics* . 2011 ;3(1):3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22303414>
48. Stefanska B, Rudnicka K, Bednarek A, Fabianowska-Majewska K. Hypomethylation and

- induction of retinoic acid receptor beta 2 by concurrent action of adenosine analogues and natural compounds in breast cancer cells. *Eur J Pharmacol* . 2010 Jul 25 ;638(1–3):47–53. Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014299910003638?via%3Dihub>
49. Tseng W-J, Chen Y-R, Tseng T-H. Quercetin induces FasL-related apoptosis, in part, through promotion of histone H3 acetylation in human leukemia HL-60 cells. *Oncol Rep* . 2011 Feb 1 ;25(2):583–91. Available from: <http://www.spandidos-publications.com/or/25/2/583>
 50. Vanhees K, de Bock L, Godschalk RWL, van Schooten FJ, van Waalwijk van Doorn-Khosrovani SB. Prenatal Exposure to Flavonoids: Implication for Cancer Risk. *Toxicol Sci* . 2011 Mar 1 ;120(1):59–67. Available from:
<https://academic.oup.com/toxsci/article/1666958/Prenatal>
 51. Lee SJ, Krauthauser C, Maduskuie V, Fawcett PT, Olson JM, Rajasekaran SA. Curcumin-induced HDAC inhibition and attenuation of medulloblastoma growth in vitro and in vivo. *BMC Cancer* . 2011 Apr 18 ;11:144. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21501498>
 52. Wang Y, Li Y, Liu X, Cho W. Genetic and Epigenetic Studies for Determining Molecular Targets of Natural Product Anticancer Agents. *Curr Cancer Drug Targets* . 2013 Jun 1 ;13(5):506–18. Available from:
<http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1568-0096&volume=13&issue=5&spage=506>
 53. Lee WJ, Zhu BT. Inhibition of DNA methylation by caffeic acid and chlorogenic acid, two common catechol-containing coffee polyphenols. *Carcinogenesis* . 2006 Feb 1 ;27(2):269–77. Available from:
<http://academic.oup.com/carcin/article/27/2/269/2476070/Inhibition-of-DNA-methylation-by-caffeic-acid-and>
 54. Bakker R, Steegers EA, Obradov A, Raat H, Hofman A, Jaddoe VW. Maternal caffeine intake from coffee and tea, fetal growth, and the risks of adverse birth outcomes: the Generation R Study. *Am J Clin Nutr* . 2010 Jun 1 ;91(6):1691–8. Available from:
<https://academic.oup.com/ajcn/article/91/6/1691/4597312>
 55. McKay JA, Groom A, Potter C, Coneyworth LJ, Ford D, Mathers JC, et al. Genetic and non-genetic influences during pregnancy on infant global and site specific DNA methylation: role for folate gene variants and vitamin B12. *PLoS One* . 2012];7(3):e33290. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22479380>
 56. Ross SA, Davis CD. The Emerging Role of microRNAs and Nutrition in Modulating Health and Disease. *Annu Rev Nutr* . 2014 Jul 17;34(1):305–36. Available from:
<http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-nutr-071813-105729>
 57. Szarc Vel Szic K, Ndlovu M, Haegeman G, Berghe W Vanden. Nature or nurture: Let food be your epigenetic medicine in chronic inflammatory disorders.; Available from:
<https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00637154/document>
 58. Oakes JL, Ideraabdullah FY. Maternal Nutrition and Epigenetic Perturbation: Modeling Trends to Translation. *Curr Pediatr Rep* . 2013 Dec 24;1(4):257–65. Available from:
<http://link.springer.com/10.1007/s40124-013-0025-5>

59. Reik W. Stability and flexibility of epigenetic gene regulation in mammalian development. *Nature* . 2007 May 24;447(7143):425–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17522676>
60. Wang HD, Hou QF, Guo QN, Li T, Wu D, Zhang XP, et al. DNA methylation study of fetus genome through a genome-wide analysis. *BMC Med Genomics*. 2014;7(1):1–8.
61. Zhubi A, Chen Y, Dong E, Cook EH, Guidotti A, Grayson DR. Increased binding of MeCP2 to the GAD1 and RELN promoters may be mediated by an enrichment of 5-hmC in autism spectrum disorder (ASD) cerebellum. *Transl Psychiatry* . 2014 Jan 21 ;4(1):e349. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24448211>
62. Barua S, Kuizon S, Chadman KK, Flory MJ, Brown WT, Junaid MA. Single-base resolution of mouse offspring brain methylome reveals epigenome modifications caused by gestational folic acid. *Epigenetics Chromatin* . 2014 Feb 3 ;7(1):3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24484737>
63. Dolinoy DC, Weidman JR, Waterland RA, Jirtle RL. Maternal genistein alters coat color and protects Avy mouse offspring from obesity by modifying the fetal epigenome. *Environ Health Perspect* . 2006 Apr ;114(4):567–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16581547>
64. Park JH, Stoffers DA, Nicholls RD, Simmons RA. Development of type 2 diabetes following intrauterine growth retardation in rats is associated with progressive epigenetic silencing of Pdx1. *J Clin Invest* . 2008 Jun ;118(6):2316–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18464933>
65. Desai M, Jellyman JK, Ross MG. Epigenomics, gestational programming and risk of metabolic syndrome. *Int J Obes* . 2015 Apr 2 ;39(4):633–41. Available from: <http://www.nature.com/articles/ijo201513>
66. Panchenko PE, Voisin S, Jouin M, Jouneau L, Prézélin A, Lecoutre S, et al. Expression of epigenetic machinery genes is sensitive to maternal obesity and weight loss in relation to fetal growth in mice. *Clin Epigenetics* . 2016;8(1):1–19. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13148-016-0188-3>
67. Marco A, Kislouk T, Tabachnik T, Meiri N, Weller A. Overweight and CpG methylation of the Pomc promoter in offspring of high-fat-diet-fed dams are not “reprogrammed” by regular chow diet in rats. *FASEB J* . 2014 Sep ;28(9):4148–57. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24928196>
68. Wang HD, Hou QF, Guo QN, Li T, Wu D, Zhang XP, et al. DNA methylation study of fetus genome through a genome-wide analysis. *BMC Med Genomics* . 2014;7(1):1–8. Available from: *BMC Medical Genomics*
69. Schagdarsurengin U, Steger K. Epigenetics in male reproduction: effect of paternal diet on sperm quality and offspring health. *Nat Rev Urol* . 2016 Oct 31 ;13(10):584–95. Available from: <http://www.nature.com/articles/nrurol.2016.157>
70. Stouder C, Paoloni-Giacobino A. Transgenerational effects of the endocrine disruptor vinclozolin on the methylation pattern of imprinted genes in the mouse sperm. *Reproduction* . 2010 Feb 1;;139(2):373–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19887539>
71. Salian S, Doshi T, Vanage G. Impairment in protein expression profile of testicular

- steroid receptor coregulators in male rat offspring perinatally exposed to Bisphenol A. *Life Sci* . 2009 Jul 1;85(1–2):11–8. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320509001623?via%3Dihub>
72. Rudenko A, Tsai L-H. Epigenetic regulation in memory and cognitive disorders. *Neuroscience* . 2014 Apr 4 ;264:51–63. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0306452212012225>
 73. Unterberger A, Szyf M, Nathanielsz PW, Cox LA. Organ and gestational age effects of maternal nutrient restriction on global methylation in fetal baboons. *J Med Primatol* . 2009 Aug ;38(4):219–27. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1600-0684.2008.00320.x>
 74. Weaver ICG, Cervoni N, Champagne FA, D’Alessio AC, Sharma S, Seckl JR, et al. Epigenetic programming by maternal behavior. *Nat Neurosci* . 2004 Aug 27 ;7(8):847–54. Available from: <http://www.nature.com/articles/nn1276>
 75. Meaney MJ. Maternal Care, Gene Expression, and the Transmission of Individual Differences in Stress Reactivity Across Generations. *Annu Rev Neurosci* . 2001 Mar 28 ;24(1):1161–92. Available from: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.neuro.24.1.1161>
 76. Benyshek DC, Johnston CS, Martin JF. Glucose metabolism is altered in the adequately-nourished grand-offspring (F3 generation) of rats malnourished during gestation and perinatal life. *Diabetologia* . 2006 May 24 ;49(5):1117–9. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00125-006-0196-5>
 77. Waterland RA, Travisano M, Tahiliani KG, Rached MT, Mirza S. Methyl donor supplementation prevents transgenerational amplification of obesity. *Int J Obes (Lond)* . 2008 Sep ;32(9):1373–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18626486>
 78. Aiken CE, Ozanne SE. Transgenerational developmental programming. *Hum Reprod Update* . 2014 Jan 1;20(1):63–75. Available from: <http://academic.oup.com/humupd/article/20/1/63/888101/Transgenerational-developmental-programming>
 79. Arnheim N, Calabrese P. Understanding what determines the frequency and pattern of human germline mutations. *Nat Rev Genet* . 2009 Jul;10(7):478–88. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19488047>
 80. Croy JE, Suter CM, Beckman KB, Martin DIK. Germ-line epigenetic modification of the murine A^{vy} allele by nutritional supplementation. *Proc Natl Acad Sci U S A* . 2006 Nov 14 ;103(46):17308–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17101998>
 81. Greer EL, Maures TJ, Ucar D, Hauswirth AG, Mancini E, Lim JP, et al. Transgenerational epigenetic inheritance of longevity in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* . 2011 Oct 19 ;479(7373):365–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22012258>
 82. Lahiri DK, Maloney B, Bayon BL, Chopra N, White FA, Greig NH, et al. Transgenerational latent early-life associated regulation unites environment and genetics across generations. *Epigenomics* . 2016 Mar ;8(3):373–87. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26950428>

83. Alm PS, de Castro Barbosa T, Barrès R, Krook A, Zierath JR. Grandpaternal-induced transgenerational dietary reprogramming of the unfolded protein response in skeletal muscle. *Mol Metab* . 2017 Jul;6(7):621–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28702319>
84. Pentinat T, Ramon-Krauel M, Cebria J, Diaz R, Jimenez-Chillaron JC. Transgenerational Inheritance of Glucose Intolerance in a Mouse Model of Neonatal Overnutrition. *Endocrinology* . 2010 Dec 1;151(12):5617–23. Available from: <https://academic.oup.com/endo/article-lookup/doi/10.1210/en.2010-0684>
85. Daxinger L, Whitelaw E. Understanding transgenerational epigenetic inheritance via the gametes in mammals. *Nat Rev Genet* . 2012 Mar 31 ;13(3):153–62. Available from: <http://www.nature.com/articles/nrg3188>
86. Rijlaarsdam J, Pappa I, Walton E, Bakermans-Kranenburg MJ, Mileva-Seitz VR, Rippe RCA, et al. An epigenome-wide association meta-analysis of prenatal maternal stress in neonates: A model approach for replication. *Epigenetics* . 2016;11(2):140–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/15592294.2016.1145329>
87. Radford EJ, Isganaitis E, Jimenez-Chillaron J, Schroeder J, Molla M, Andrews S, et al. An unbiased assessment of the role of imprinted genes in an intergenerational model of developmental programming. *PLoS Genet* . 2012;8(4):e1002605. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22511876>
88. Padmanabhan N, Jia D, Geary-Joo C, Wu X, Ferguson-Smith AC, Fung E, et al. Mutation in Folate Metabolism Causes Epigenetic Instability and Transgenerational Effects On Development. *Cell* . 2013 Sep 26 ;155(1):81–93. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24074862>