



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

„Modulation der Expression des Agouti - Gens unter Einfluss von Methyldonatoren“

Verfasserin

Natalia Illetschko

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag. rer. nat.)

Wien, 2012

Studienkennzahl lt. Studienblatt:

A 474

Studienrichtung lt. Studienblatt:

Diplomstudium Ernährungswissenschaften

Betreuerin / Betreuer:

Univ.- Prof. Dr. Jürgen König

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei Herrn Univ. - Prof. König bedanken, der mir dieses interessante Thema zur Verfügung gestellt hat, und mich in allen meinen Fragen tatkräftig unterstützt hat.

Weiteres gilt mein besonderer Dank meiner Mutter und Oma, die mich ihrerseits, immer in auch noch so schwierigen Situationen, während dem Verfassen der Diplomarbeit und während des Studiums bedingungslos unterstütz haben.

Mein weiterer Dank gilt meinem Vater, Brigitte, Thomas, Sabrina, Isabella, Claudia, Sabina und Isa, die mich immer wieder motiviert haben.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Epigenetik	5
2.1	Geschichte der Epigenetik.....	6
2.2	Definition der Epigenetik.....	6
2.3	Epigenetische Begriffsdefinitionen.....	7
2.3.1	Epigenetische Programmierung.....	8
2.3.2	Transgenerationale Vererbung.....	8
2.3.3	Epigenotyp.....	9
2.3.4	Phänotypische Diversität.....	9
2.3.5	Phänotypische Plastizität.....	10
2.3.6	Epigenom.....	10
2.3.7	Metastabile Epiallele.....	10
2.3.8	Epimutation.....	11
2.3.9	Epigenetische Modifikationen.....	12
3	Epigenetische Mechanismen	12
3.1	Chromatinmodifikationen.....	13
3.2	Histonmodifikationen.....	17
3.3	Der Histoncode.....	18
3.3.1	Acetylierung.....	19
3.3.2	Phosphorylierung.....	22
3.3.3	Sumoylierung.....	22
3.3.4	Ubiquitinylierung.....	23

4	DNA - Methylierung	24
4.1	CpG Inseln.....	27
4.2	Gen - Silencing.....	28
4.3	Imprinting.....	28
4.3.1	Die „Parental Conflict Hypothesis“	29
4.3.2	Imprintingdefekte	30
4.3.3	X - Inaktivierung	30
5	Methylendonatoren.....	32
5.1	Folsäure	32
5.2	Vitamin B ₁₂ (Cobalamin)	34
5.3	Cholin.....	35
5.4	Betain.....	36
5.5	Der 1 - Kohlenstoffstoffwechsel.....	37
6	Das Agouti Protein	41
6.1	Die Struktur des Agouti Proteins.....	42
6.1.1	Die A ^{vy} - Maus.....	43
6.1.2	Die ektopische Expression des A ^{vy} - Allels.....	44
6.2	Fellpigmentierung	46
6.2.1	Eumelanin- und Phäomelaninsynthese	46
6.3	Das „yellow obese“ Maus - Syndrom	48
6.3.1	Hypothesen für die Entstehung des „yellow obese“ Maus - Syndroms... 49	
6.3.2	Insulin und Leptin.....	51
6.4	Transgenerationale Vererbung	52
6.5	Agouti - related - Peptid	60
6.6	Agouti - Signaling - Peptid	64

6.7	Agouti und die Fettsäuresynthese	66
6.8	Die Ca ²⁺ - Hypothese.....	67
7	Krankheiten	68
7.1	Krebs.....	68
7.2	Adipositas	71
7.3	Diabetes mellitus Typ 2	72
7.3.1	Die „Developmental Origins of Health and Disease“ Hypothese	73
7.4	Der „thrifty Genotyp“	74
7.5	Die „thrifty Phänotyp“ Hypothese	75
8	Weitere Nahrungseinflüsse, die epigenetischen Mechanismen regulieren können.....	77
8.1	Biotin	78
8.2	Kurkumin	80
8.3	Genistein.....	82
9	Zusammenfassung.....	84
10	Summary.....	89
11	Literatur.....	90
12	Anhang.....	107

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Der epigenetische Status der metastabilen Epiallele	11
Abbildung 2 Schematischer Aufbau der Chromatin- und Histonstruktur.....	14
Abbildung 3 Schema der epigenetischen Modifikationen	15
Abbildung 4 Übersicht der verschiedenen Histonmodifikationen	18
Abbildung 5 Der unterschiedliche Methylierungsstatus der Aminosäure Lysin mit SAM als Methylendonator	21
Abbildung 6 Die genomweite Programmierung	25
Abbildung 7 Vereinfachtes Schema des Folatstoffwechsels	38
Abbildung 8 Der Avy locus der Maus	45
Abbildung 9 Biosynthetischer Weg der Eumelanin- und Phäomelaninproduktion.....	47
Abbildung 10 Zeitstrahl der Methylierungsveränderungen am agouti locus und deren phänotypische Konsequenzen	54
Abbildung 11 Der A ^{vy} Phänotyp.....	56
Abbildung 12 Das Avy Allel als Stellvertreter der Fellfarbe.....	56
Abbildung 13 Zusammensetzung der MS und 3 SZM maternalen Nahrungssupplemente	58
Abbildung 14 Histon modulierenden Nahrungsinhaltsstoffe	80
Abbildung 15 Beeinflussung der Genexpression durch Kurkumin	82

Abkürzungsverzeichnis

ADP: Adenosindiphosphat	mRNA: messenger/Boten RNA
ATP: Adenosintriphosphat	POMC: Proopiomelanocortin
Axin ^{Fu} : Axin Fused	PPAR- γ : Peroxisom Proliferator aktivierter Rezeptor
cAMP: zyklisches Adenosinmonophosphat	präRNA: Präkursor (Vorläufer) RNA
CoA: Coenzym - A	RNA: Ribonukleinsäure
DNA: Desoxyribonukleinsäure	siRNA: small interfering RNA
FAS: Fettsäuresynthese	Sirt 1: silent moding type information regulation 2 homolog 1
hnRNP: heterogenes nukleares Ribonukleoprotein	STAT: Signal Transducers and Activators of Transcription
IgA: Immunglobulin A	α -MSH: Melanozyten stimulierendes Hormon
Igf2: Insulin like growth factor 2	
Igf2r: Insulin like growth factor 2 Rezeptor	
MBD2: Methyl- CpG - Bindungs Domän Protein 2	
MC1-R: Melanocortinrezeptor 1	
MC2-R: Melanocortinrezeptor 2	
MC3-R: Melanocortin Rezeptor 3	
MC4-R: Melanocortinrezeptor 4	
MeCP1: Methyl-CpG-Bindungsdomain Protein 1	
MeCP2: Methyl-CpG-Bidungsdomain Protein 2	

1 Einleitung

Durch den Erfolg des Human Genom Projekts (1990 – 2000), die komplette Identifizierung des Genoms, ist das Interesse das menschliche Epigenom zu sequenzieren und zu identifizieren gestiegen. Obwohl jede humane Zelle dasselbe Genom besitzt, enthalten diese unterschiedliche Epigenome, die vom Zelltyp, Alter, Geschlecht und anderen Parametern abhängig sind [Murrell et al., 2005].

In weiterer Folge beschäftigten sich die Wissenschaftler mit der Sequenzierung des Epigenoms (Epigenomprojekt). Es sollten neue Möglichkeiten, sich vor genetisch festgelegten Krankheiten zu schützen, gefunden werden. Vor allem setzt man große Hoffnung darauf, das metabolische Syndrom und Krebs langfristig bekämpfen zu können. Man verspricht sich davon, vor allem bestimmte Biomarker zu identifizieren, die mit den entsprechenden Krankheiten in Verbindung stehen. Die Wichtigkeit, die epigenetische Veränderungen in Zusammenhang mit Krankheiten zu beobachten, wird bei eineiigen Zwillingsstudien deutlich, die idente Genome haben, aber aufgrund der verschiedenen Umwelteinflüsse (Ernährung, Lebensstil, Rauchen, Sport) unterschiedliche Epigenome besitzen. Das bedeutet, dass ein Zwilling für eine Krankheit prädisponierter ist, als der andere [Beck et al., 2005].

Die Idee der personalisierten Medizin und die auf dem Genotyp basierenden Ernährungsempfehlungen wurden auf der Grundlage der beiden Projekte aufgebaut. Die Zukunft und weitere Forschungen werden zeigen, ob man nur mehr mit einem Gen - Chip bewaffnet zum Arzt gehen muss, um sich vor diversen phänotypischen Krankheiten zu schützen, oder sie gegebenenfalls zu besiegen [Dahlhoff et al., 2008].

Der aus diesen Erkenntnissen entstandene Forschungsbereich der Epigenetik („über der Genetik“) beschäftigt sich mit den unterschiedlichen Modifikationen, die durch Umwelteinflüsse moduliert werden können, und von den Eltern auf deren Kinder weitervererbt werden. Das zentrale Thema der Epigenetik ist die Krankheitsprävention.

Der Zusammenhang zwischen nahrungsinduzierter Modulierung, den epigenetischen Mechanismen, und Krebs konnte bewiesen werden [Davis und Uthus, 2004].

Besonderes Interesse gilt den Methylendonatoren, die eine funktionelle Gruppe abgeben, und die Histonmodifikationen und die Chromatinstruktur beeinflussen können. Methylendonatoren werden über die Nahrung aufgenommen, und können auch supplementiert werden. Das beste Beispiel ist die zusätzliche Gabe von Folsäure bei Schwangeren, um einen Neuralrohrdefekt der Babys zu verhindern.

Adipositas, Diabetes und kardiovaskuläre Erkrankungen haben sich immer mehr zu einer Volkskrankheit entwickelt, die Zahl der Neuerkrankungen steigt jährlich. Laut dem Adipositasbericht 2006 sind 20 - 64% der Männer und 20 - 40% der Frauen übergewichtig [Rathmanner et al., 2006].

Diverse Umweltbelastungen in der frühen Entwicklung spielen eine Rolle in der Krankheitsanfälligkeit im späteren Leben, und scheinen transgenerationale Effekte zu haben. Epigenetische Modifikationen bieten eine plausible Verbindung zwischen Umwelt und Veränderungen in der Genexpression, die möglicherweise zu Krankheitsphänotypen führen. Diese Theorie wird durch Tierstudien unterstützt. Verschiedene Studien demonstrierten, dass vererbare umweltinduzierte epigenetische Modifikationen, reversiblen transgenerationalen Veränderungen im Phänotyp unterliegen [Jirtle und Skinner, 2007].

Momentan steht im Mittelpunkt der wissenschaftlichen Diskussion, ob wir über bestimmte Nahrungseinflüsse unser Erbgut steuern, und auf die nachfolgende Generation weiter vererben können. Die Idee, dass eine methylreiche Ernährung schwangerer Frauen das Risiko von Adipositas senken könnte, wäre ein bahnbrechender Schritt in der Forschung.

Weitere Fragen, mit denen sich die Wissenschaftler beschäftigen sind unter anderem:

Wie sinnvoll ist eine methylreiche Diät schwangerer adipöser Frauen?

Welchen Einfluss hat diese Intervention auf die Prädisposition der Nachkommenschaft?

Inwieweit verändert dieses Wissen unser Leben, die Lebensdauer, unsere Lebensqualität und die Medizin?

Epigenetische Veränderungen werden von einer Generation zur nächsten weitergegeben, was in Tierversuchen belegt wurde. Die Frage ist nun, ob auch beim

Menschen epigenetische Veränderungen vererbt werden, und ob von gegenwärtigen Schäden auch die weiteren Generationen beeinflusst werden.

Die „viable agouti“ (A^{vy}) Maus - Studien zeigten als erstes epigenetisches Beispiel, dass man durch bestimmte Nahrungseinflüsse (Methylendonatoren) das Risiko an Adipositas zu erkranken signifikant reduzieren kann. Inwieweit diese Studien auf den Menschen umlegbar sind, soll in dieser Arbeit erläutert werden. Die A^{vy} - Maus dient als wichtiges Tiermodell zur Aufklärung von epigenetischen Mechanismen, aufgrund ihrer kurzen Generationsdauer, der Vielzahl der Nachkommen, sowie dem bekannten Redundant. Das Agouti - Tiermodell ist vor allem interessant, da das murine agouti Gen in den Haarfollikeln exprimiert wird, das sich in der Änderung der Fellfarbe äußert, und das humane agouti Gen im Fettgewebe exprimiert wird. Erkenntnisse aus den A^{vy} - Maus - Studien, könnten in Beziehung mit der humanen Adipositas gesetzt werden, und damit einen richtigen Schritt in Richtung Therapieintervention bedeuten.

Transgenerationale Effekte der mütterlichen Ernährung sind bereits bekannt. Aber für die Möglichkeit, dass auch durch die männliche Keimbahn die Gesundheit der nächsten Generationen beeinflusst werden kann, sind noch wenige Beweise vorhanden.

Für den Menschen gibt es erste Hinweise, dass Ernährungsfaktoren in der epigenetischen und transgenerationalen Vererbung eine Rolle spielen können [Dahlhoff et al., 2008].

Humane epidemiologische Studien zeigten, dass pränatale Nahrungseinflüsse, die durch die männliche Keimbahn übertragen werden, kardiovaskuläre Krankheiten und Diabetes, in späteren Generationen beeinflussen können [Richards, 2006].

Eine der ersten transgenerationalen Vererbung durch die männliche Abstammungslinie konnte in der Kohortenstudie mit 239 Versuchspersonen von Kaati et al., (2002), die sogenannte „Överkalix Studie“, gezeigt werden. Die Studie beschäftigte sich mit dem Zusammenhang zwischen Ernährung von Kindern und Jugendlichen, und dem Risiko später an kardiovaskulären Krankheiten zu sterben. Das Gemeinderegister von Överkalix, im Norden Schwedens, wird seit mehr als 200 Jahren geführt. Die Nahrungsverfügbarkeit der Eltern und Großeltern, während ihrer „slow growth period“, wurde anhand von historischen Daten über die Ernte und den Nahrungsmittelpreisen

ermittelt. Die „slow growth period“ wurde zwischen 9 - 12 Jahren angesetzt, vor und nach diesem Zeitabschnitt, konnte kein Zusammenhang zwischen Hunger und Übersättigung festgestellt werden. Wenn der Vater während seiner „slow growth period“ an Hunger litt, sank das Risiko seines Sohnes an kardiovaskulären Krankheiten zu sterben. Ein Nahrungsüberfluss während der „slow growth period“ war mit einem erhöhten Risiko an kardiovaskulären Krankheiten zu sterben verbunden. Der Einfluss der Nahrungsmittelversorgung, während der Kindheit der Großmütter und Mütter, hatte jedoch keinen erkennbaren Einfluss auf die Enkel [Kaati et al., 2002].

Auch die „Avon Longitudinal Study of Parents and Children“ (ALSPAC) - Studie hat gezeigt, dass die männliche Abstammungslinie Einfluss auf die Nachfahren haben kann. Im Zuge dieser Untersuchungen stellte man fest, dass Väter, die in ihrer „slow growth period“ zu rauchen begonnen hatten, das Gewicht ihrer Kinder, im Alter von neun Jahren, negativ beeinflussten. Dieses Ergebnis unterstützt die Daten aus dem Överkalischen Gemeinderegister, dass nur die Exposition in der „slow growth period“ einen transgenerationalen Effekt hat, der in der Pubertät nicht mehr signifikant nachgewiesen werden kann [Pembrey et al., 2006].

Die ALSPAC-Studie ist eine bis heute andauernde Langzeituntersuchung von über 14.000 Kindern, die zwischen 1991 und 1992 in der Nähe von Bristol geboren wurden [Pembrey, 2004].

Zusammenfassend bestätigen beide Studien, dass die Ernährung unserer Großeltern, die Enkel direkt beeinflussen kann.

Die Erforschung der kombinierten Effekte, von Umwelt und Genetik auf die individuelle Variation auf das Krankheitsrisiko prüft den Zusammenhang zwischen Krankheitsanfälligkeit, Umweltbelastungen und Keimbahnmutationen in den codierenden Promotorregionen. Solche wissenschaftlichen Fortschritte zeigen die Wichtigkeit des Genotyps bei menschlichen Krankheiten. Es ist unentbehrlich, den vollen Zusammenhang der umweltassoziierten Interaktionen auf das Genom zu verstehen und welche epigenetischen Veränderungen involviert sind. Humane epidemiologische Studien zeigen, dass pränatale-, und postnatale Umweltfaktoren das Risiko im Erwachsenenalter an chronischen Krankheiten, wie Krebs, kardiovaskuläre Erkrankungen, Diabetes, Adipositas und an Verhaltensstörungen wie Schizophrenie zu

erkranken, beeinflussen. Ein genereller Mechanismus durch den pränatale und postnatale Exposition mit den phänotypischen Veränderungen im späteren Leben verknüpft sein könnte, sind die Veränderungen der epigenetischen Markierungen, die eine zentrale Rolle, in dem bestimmenden Output der Information spielen, die im Genom gespeichert sind [Jirtle und Skinner, 2007].

Eine wichtige Frage der Epigenetik ist, ob Gene ein Gedächtnis haben, und ob epigenetische Markierungen von den Eltern auf die Kinder weitervererbt werden. Man weiß aus zahlreichen Studien, dass die epigenetischen Markierungen stabil sind, und durch verschiedene Umwelteinflüsse moduliert werden können.

Im Rahmen des „Human Genome Projekts“ wurden ganze Genomsequenzen für Mensch und Tier untersucht. Die Ergebnisse zeigen, dass somatische Zellen in einem individuellen zellulären Individuum idente Genome besitzen, aber jede Zelle eine deutliche Struktur und Funktion hat. Dies wird durch die unterschiedliche Nutzung der Gene im Genom verdeutlicht [Nakao, 2001].

2 Epigenetik

Die Epigenetik ist ein noch junges und schnell wachsendes Forschungsgebiet, welches Umwelteinflüsse und die daraus entstehenden phänotypischen Veränderungen verbindet und eine Brücke zwischen Genotyp und Phänotyp bildet [Goldberg et al., 2007].

Diverse Tierstudien unterstützen die Theorie, dass Umweltbelastungen in der frühen Entwicklungsphase eine Rolle in der Krankheitsanfälligkeit im späteren Leben spielen. Dennoch sind viele Mechanismen der epigenetischen Regulation unbekannt.

2.1 Geschichte der Epigenetik

1651 stellte der britische Arzt Willam Harvey erstmals die Theorie der Epigenese auf. Damit bestätigte er eine durch Aristoteles aufgestellte Hypothese, die besagt, dass sich der Organismus aus dem Ei entwickelt, und neue Strukturen bildet, die vorher nicht im Ei vorgebildet waren [„Entwicklungsgeschichte (Allgemeine Biologie)“].

Erst 1796 bewies Caspar Friedrich Wolff (1734-1794) die Theorie der Epigenese, und widersprach damit vorherrschende Hypothese der Präformationslehre, die annimmt, dass der gesamte Organismus im Spermium (Antimakulisten) bzw. in der Eizelle (Ovulisten) vorgebildet ist. Er gilt als Begründer der modernen Embryologie [Horsthemke und Ludwig, 2005].

Der Begriff Epigenetik wurde erstmals 1942 von Conrad Hal Waddington (1905 –1975) definiert, und bedeutet „zusätzlich zur Genetik“. Waddington verwendete diesen Terminus, um die Genaktivität während der Entwicklung eines Organismus vom befruchteten Ei bis hin zum Erwachsenen zu beschreiben. Er veranschaulichte erstmals, wie der Phänotyp aus dem Genotyp, durch Programmänderung entspringt [Chong und Whitelaw, 2004].

Damit war Conrad Hal Waddington ein Pionier in der heutigen Entwicklungsbiologie [Feinberg, 2008].

Den ersten Beweis, der das Konzept von Conrad Hal Waddington unterstützte, lieferten Holliday und Pugh Dekaden später, als die beiden die DNA - Methylierung als ersten Mechanismus der in der Epigenetik involviert war, identifizierten [Ordovás und Smith, 2010].

2.2 Definition der Epigenetik

In den folgenden Jahren haben sich mehrere Auslegungen des Begriffes der Epigenetik angesammelt, je nach Fachgebiet der Wissenschaftler, wird Epigenetik jeweils anders interpretiert.

Historisch wurde das Wort Epigenetik genutzt, um Ereignisse zu beschreiben, die nicht durch genetische Prinzipien erklärt werden konnten [Goldberg et al., 2007].

Epigenetik: „ Studium mitotischer und meiotisch vererbbarer Veränderungen der Genfunktion, welche nicht durch Veränderungen der DNA - Sequenz erklärt werden können“ [Dahlhoff et al., 2008].

Somit wird die „Epigenetik als Phänomen verstanden, welches nachhaltig die zeitliche, räumliche und quantitative Expression eines Gens, ohne eine direkte Veränderung der zugrunde liegenden DNA-Sequenz bestimmt“ [Dahlhoff et al., 2008].

Eine modernere Definition der Epigenetik besagt, dass Informationen während der Zellteilung, unabhängig von der DNA - Sequenz, vererbt werden [Feinberg, 2007].

Arthur Riggs erklärt Epigenetik folgendermaßen: „Epigenetik ist die Studie der mitotischen oder meiotischen vererbaren Veränderungen in der Genfunktion, die nicht durch Veränderungen in der DNA-Sequenz erklärbar sind“ [Bird, 2007].

1999 legte Dr. Alan Wolffe mehr Bedeutung auf die transkriptionellen Repressionsmechanismen. Laut Wolffe´s Theorie ist die Repression, von unwichtigen Genen, möglicherweise eine Grundregel der Transkriptionskontrolle [Wolffe und Matzke, 1999].

Ohne Zweifel ist die Transkription einer der wichtigsten substanziellen Prozesse, der epigenetischen Regulation [Nakao, 2001].

2.3 Epigenetische Begriffsdefinitionen

Die Genetik oder auch Vererbungslehre, befasst sich mit der der Vererbung von Merkmalen auf die nächste Generation, und ist die Studie der menschlichen Genomsequenz und ihrer interindividuellen Variation [Kusmann et al., 2010].

Die Epigenetik beschreibt Ereignisse, welche nicht durch die genetischen Prinzipien erklärt werden können [Goldberg et al., 2007].

Deswegen sollen in diesem Kapitel wichtige zusätzliche Mechanismen der Epigenetik erklärt werden.

2.3.1 Epigenetische Programmierung

Epigenetische Programmierungen werden im Laufe der Entwicklung angelegt, und sollen gewährleisten, dass die vom Embryo und Fötus gesammelten Informationen nicht verloren gehen, und während der mitotischen Zellteilung stabil erhalten bleiben [Whitelaw und Whitelaw, 2008].

Die DNA - Sequenz wird während der Mitose konserviert [Nakao, 2001].

Epigenetische Programmierungen bieten somit eine plausible Erklärung für die Langzeiteffekte auf die Genexpression [Jirtle und Skinner, 2007].

2.3.2 Transgenerationale Vererbung

Die transgenerationale Vererbung ist unabhängig von der mendelschen Vererbungslehre [Rakyan et al., 2001].

Transgenerationale Vererbung bedeutet, dass epigenetische Modifikationen durch die Keimbahn auf die nachfolgende Generation weitervererbt werden können. Diese sind reversibel, da sie in der Keimbahn wieder gelöscht werden können. Eine unvollständige Löschung des epigenetischen Status nennt man transgenerationale Vererbung. Der daraus resultierende Epigenotyp wird vererbt, und führt zu unüblichen Vererbungsmustern - zu einem epigenetischen Gedächtnis [Jirtle und Skinner, 2007].

Um die transgenerationale epigenetische Vererbung, von Umwelteffekten auf das Epigenom als plausiblen Mechanismus, von phänotypischen Veränderungen in Erwägung ziehen zu können, müssen diese Veränderungen bis zur dritten Generation erhalten bleiben [Jirtle und Skinner, 2007].

Jedoch konnte die epigenetische Vererbung bisher nur in Pflanzen, Nematoden, Insekten und einzelligen Organismen nachgewiesen werden. Pflanzensysteme eignen sich gut, um die epigenetische Vererbung zu studieren, und wurden für wichtige Entdeckungen wie die, der Transposone, der Paramutation und der siRNA verwendet. Es konnte bewiesen werden, dass diverse biologische Eigenschaften durch epigenetische Mechanismen beeinflusst, werden z.B.: die Morphologie der Blüten und die Augenfarbe der Fruchtfliegen [Henderson und Jacobsen, 2007].

2.3.3 Epigenotyp

Im Gebiet der Epigenetik erweitert sich der Begriff des Phänotyps auf den Epigenotyp, so nennt man den epigenetischen Status der DNA, der durch die epigenetischen Markierungen beeinflusst wird.

„Der Epigenotyp ist die spezielle epigenetische Ausstattung eines Individuums“ [Kegel, 2009].

„Der Phänotyp der Nachkommen wird durch den Epigenotyp, und durch die vererbte Eltern DNA - Sequenz bestimmt. Gene müssen aktiv, also angeschaltet sein, um ihre Merkmale ausprägen zu können, um den Phänotyp beeinflussen zu können“ [Starzinski-Powitz, 2009].

Die verschiedenen Zelltypen, eines multizellulären Organismus sind genotypisch ident, aber phänotypisch unterschiedlich. Der Grund sind die Unterschiede in den Genexpressionsmustern, die zwischen den unterschiedlichen Zellgruppen existieren [Rakyan et al., 2001].

Phänotypische Unterschiede beim Menschen sind das Ergebnis einer langanhaltenden epigenetischen Programmierung.

2.3.4 Phänotypische Diversität

Die phänotypische Diversität wird durch genetische und epigenetische Mechanismen geschaffen, die gewebespezifische Muster der Genexpression programmieren. Zellen und Neuronen, unterliegen während der Entwicklung, massiven epigenetischen Reprogrammierungen. Diese epigenetischen Reprogrammierungen werden durch die kovalenten DNA -, und Chromatinmodifikation erzeugt. Die phänotypische Variation des Menschen beruht möglicherweise mehr, auf den unterschiedlichen Langzeitprogrammierungen der Genfunktion, als auf der normalen genetischen Sequenz. Variationen in der Umweltexposition, während kritischer Perioden, könnten in epigenetischen, und dadurch auch in phänotypischen Unterschieden im späteren Leben resultieren [McGowan et al., 2008].

2.3.5 Phänotypische Plastizität

Die phänotypische Plastizität bietet den Zellen, die Möglichkeit interne und externe Umwelteinflüsse zu adaptieren, und verdeutlicht, dass vererbare Störungen der epigenetischen Modifikationen, zu Entwicklungsstörungen führen können [Feinberg, 2007].

Die phänotypische Plastizität ermöglicht einem Organismus, verschiedene Umweltsignale zu adaptieren, und modifiziert die Entwicklung, in Antwort auf das Milieu. Die phänotypische Plastizität reflektiert die Fähigkeit, eines einzelnen Genoms, eine Bandbreite von möglichen biologischen Konsequenzen zu generieren, in Abhängigkeit von den Umwelterfahrungen [Kuzawa und Thayer, 2011].

2.3.6 Epigenom

„Das Epigenom ist dynamisch und beruht darauf, dass die Unterschiede in der Genfunktion und der Phänotypen nicht nur durch die genomischen Sequenzvarianten festgelegt werden. Die epigenetischen Muster sind zellspezifisch und werden durch ein dynamisches Gleichgewicht reguliert, wodurch es im Laufe des Lebens, unterschiedlich auf die sich ändernde Umwelteinflüsse reagieren kann“ [Szyf, 2009].

2.3.7 Metastabile Epiallele

Einige Säugetierallele weisen eine untypische variable Expressivität, in Abwesenheit von genetischer Heterogenität auf, ihre Aktivität ist abhängig von ihrem epigenetischen Zustand. Der epigenetische Status ist labil, resultiert in einem phänotypischen Mosaizismus zwischen den Zellen (Variegation), aber auch zwischen Individuen (Variable Expressivität). Die Etablierung des epigenetischen Status findet während der Embryogenese statt, und wird dadurch beeinflusst, ob das Allel vom paternalen oder maternalen Allel getragen wird. Murine metastabile Epiallele sind z.B.: A^{vy} , $Axin^{Fu}$ und $Cabp^{IAP}$. Weil die Aktivität der metastabilen Epiallele abhängig vom epigenetischen Status ist, unterscheiden sich die Varianten der Epiallele, in ihrer Dominanz. Diese speziellen Allele sind sensibel gegenüber der elterlichen Abstammung, obwohl dieser Effekt, nicht mit dem klassischen Imprinting (siehe Kap. 4.3) vergleichbar ist [Rakyan et al., 2002].

Die Identifizierung von epigenomischen Zielen, wie die metastabilen Epiallele, die anfällig auf die Fehlregulation in der frühen Entwicklung sind, hilft dabei, die

„Developmental Origins of Health and Disease“ Hypothese (siehe Kap. 7.3.1.) zu verstehen [Weinhouse et al., 2011].

Im Fall der Agouti - Maus haben die A^{vy}/A Mäuse die ein hypermethyliertes A^{vy} - Epiallel besitzen, ein Agouti Fell (braun), weil das hypermethylierte Epiallel revertant zum Wildtyp ist, und in dem Fall das A^{vy} nicht dominant über A ist. Einige gelbe Homozygote (A^{vy}/A^{vy}) Mäuse besitzen ein hypomethyliertes und hypermethyliertes A^{vy} Allel, das erste Epiallel ist dominant über dem Letzteren (Abb. 1). Die relative Dominanz der metastabilen Epiallele ist ein noch ungeklärtes Thema [Rakyan et al., 2002].

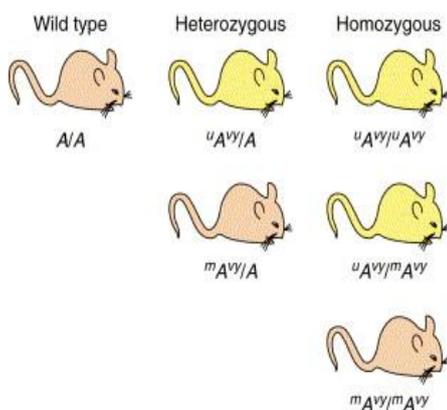


Abbildung 1 Der epigenetische Status der metastabilen Epiallele. Homozygote Mäuse mit zwei methylierten A^{vy} Allelen sind agoutifarben. $^m A^{vy}$: methyliertes A^{vy} Allel; $^u A^{vy}$: unmethyliertes A^{vy} Allel [Rakyan et al., 2002].

2.3.8 Epimutation

Werden Gene zur falschen Zeit an- oder abgeschaltet, führt dies zur Entwicklungsstörungen und zu Krankheiten. Daher ist es wichtig, dass sowohl im Embryonalstadium, als auch im erwachsenen Organismus, jede Zelle ein bestimmtes Muster an aktiven und inaktiven Genen enthält z.B.: Fibroblasten und Lymphozyten haben den gleichen Genotyp, aber einen unterschiedlichen Epigenotyp, da sie unterschiedliche Funktionen in den verschiedenen Geweben erfüllen müssen. Ein anormaler epigenetischer Status wird als Epimutation bezeichnet, und ist mit diversen Krankheiten beim Menschen assoziiert. Jedoch gibt es keine aussagekräftigen Beweise, dass es sich bei den Epimutationen um primäre Events handelt, die in Abwesenheit von genetischen Veränderungen vererbbar sind. Durch welchen Mechanismus der

epigenetische Status in die Zelle eingebracht wird, ist weitestgehend ungeklärt [Reik, 2007].

Bei den Epimutationen handelt es sich um epigenetische Fehler, die kritische Gene aktivieren oder inaktivieren, und so im Embryo oder in der Keimbahn Krankheiten verursachen, betroffen sind davon fast alle phänotypischen Krankheiten. Die reversible und stochastische Art der epigenetischen Phänomene prophezeit, dass es sich bei den Epimutationen wahrscheinlich um Mosaik handelt, die nicht durch die mendelschen Regeln vererbt werden [Martin et al., 2011].

2.3.9 Epigenetische Modifikationen

Epigenetische Markierungen oder auch epigenetische Modifikationen, sind die kovalenten Modifizierungen des Chromatins und der Histone, aber nicht der DNA-Sequenz, und bezeichnen die Regulierung auf dem post - DNA - Level [Ruemmele und Garnier-Lengliné, 2012].

Die epigenetischen Markierungen regeln den Aktivitätszustand einer Genomregion. Da Gene nicht in jeder Körperzelle zur gleichen Zeit aktiv sind, müssen sie durch gezielte Regulationsmechanismen an- und ausgeschaltet werden, d.h. sie regulieren den offenen oder geschlossenen Zustand einer Genomregion, bestimmte DNA - Bereiche können nicht mehr abgelesen werden, und werden nicht mehr transkribiert. Die Summe aller epigenetischen Markierungen bilden das epigenetische Muster einer DNA - Region [Jirtle und Skinner, 2007].

Ein noch ungeklärtes Problem stellt die Beziehung zwischen den Modifikationen dar, die während der Transkription etabliert werden [Berger, 2007].

3 Epigenetische Mechanismen

Die wichtigsten Modifikationen in der Epigenetik sind die DNA - Methylierung, das genomische Imprinting und die Histonmodifikationen, die allesamt die Chromatinstruktur beeinflussen, und stabil weitervererbt werden können. Viele Chromatinmarker sind kurzlebig [Bird, 2007].

3.1 Chromatinmodifikationen

Die Modifikationen der Chromatinstruktur, sind wichtig für zahlreiche nukleare Funktionen [Grant, 2001].

Die große Vielfalt in der Chromosomen Biochemie wird durch ein komplexes und ausgeklügeltes System erreicht, das den Proteinen Zugang gewährt, sie modifiziert, bindet und die Histone reorganisiert, um verschiedene funktionale Regionen in den eukaryotischen Chromosomen zu generieren [Grewal und Elgin, 2007].

Die Chromatinstruktur beeinflusst das An- und Ausschalten der Gene, darum ist es nicht überraschend, dass der Mechanismus der diese Veränderungen in der Chromatinstruktur auslöst, von Bedeutung für die Transkription ist [Nathan et al., 2003].

Die gesamte genetische Information ist in den Chromosomen enthalten und positioniert sich bevorzugt um das Zentrum oder in der Peripherie des Nukleus, das Folgen auf die Interaktionen von trans - wirkenden Faktoren oder auf andere Teile des Genoms hat [Fraser und Bickmore, 2007].

Im Zellkern der Eukaryoten wickelt sich die ca. zwei Meter lange DNA mit Histonen und Nicht – Histon - Proteinen zu einem Nukleoproteinkomplex zusammen, die das Chromosom bilden. Die Einheit des Chromatins ist das Nukleosom, das aus einem Core-Partikel und einer lysinreichen Linker - Region (H1) besteht, die benachbarte Nukleosomen perlschnurartig verbindet, und der DNA die nächsthöhere Verpackungseinheit erlaubt (Abb. 3) [Ringo, 2006].

Das H1 ist in seiner Struktur variabel, ein Angriffspunkt für Enzyme, und an der Oberfläche der Nukleosomen positioniert [Delage und Dashwood, 2008].

Ein Nukleosom besteht wiederum aus acht Histonmolekülen - dem Oktamer. Histone sind basische hoch konservierte Proteine, und sind die Verpackungseinheit der DNA. Sie bestehen aus max. 135 Aminosäuren, die reich an den Aminosäuren Lysin und Arginin sind. Die DNA wickelt sich 1,65- mal mit zwei linksgängigen superhelixalen Windungen um das Oktamer. Die Core - Partikel interagieren über die Histonfaltungsdomäne [Ringo, 2006].

Der Nukleosomenkern besteht aus einem Proteinkomplex, dem Histonoktamer, das von 146 Basenpaaren umschlossen ist [Kouzarides, 2007].

Ein Oktamer besteht aus den vier Haupt - Histonproteinen: H3, H4, H2A und H2B [Grant, 2001].

Das Oktamer ist scheibenförmig, 5 nm dick und hat einen Durchmesser von 6,5 nm. Die acht Histone sind in drei Abschnitten angeordnet, einem Tetramer (H3-H4)₂ das zwischen zwei Dimeren (H2A-H2B) liegt (Abb. 2) [Ringo, 2006].

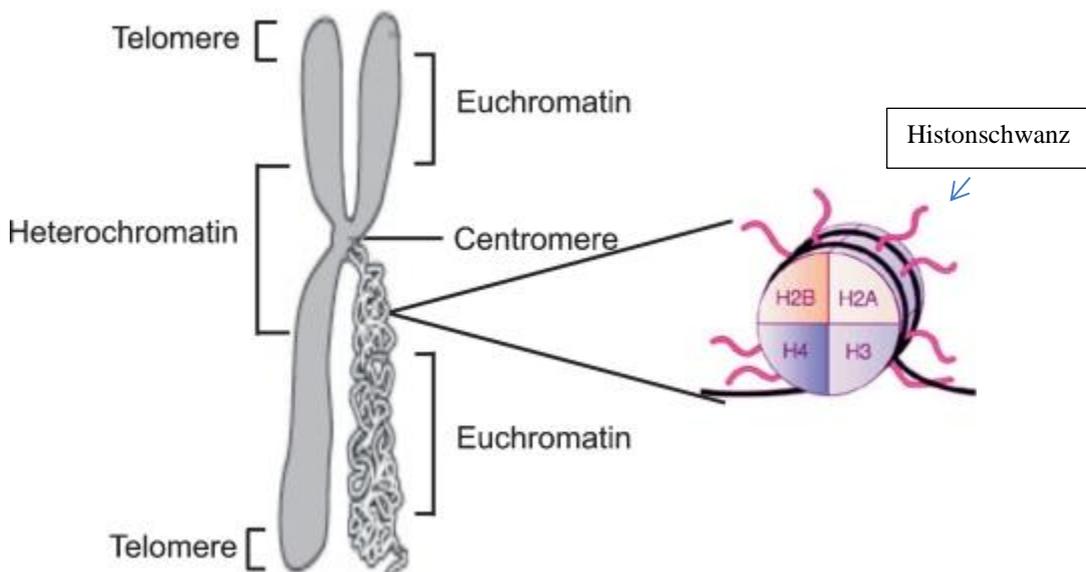


Abbildung 2 Schematischer Aufbau der Chromatin- und Histonstruktur

modifiziert nach [Muhonen und Holthofer, 2009].

Der Histonschwanz besteht aus 25 - 40 Resten (Abb. 2, Abb. 3). Die Modifikationen der Histonschwänze bieten zahlreiche Ansatzstellen für posttranslationale Modifikationen [Grant, 2001].

Die Modifikation der Histonschwänze beeinflusst die Interaktion der Histone mit anderen Proteinen und die Chromatinstruktur [Wu und Grunstein, 2000].

Auf molekularer Ebene arbeiten die DNA - Methyltransferasen, Methyl - CpG - Bindungsproteine sowie histonmodifizierende Enzyme zusammen. Bezogen auf die morphologischen Eigenschaften der Epigenetik, beinhaltet Euchromatin eine Vielzahl

von aktiv transkribierten Genen, in einer geöffneten Struktur [Wolffe und Matzke, 1999].

Die transkriptionell aktiven Regionen findet man im Euchromatin, die inaktiven Regionen im Heterochromatin (Abb. 2). Die Anwesenheit des Euchromatins und des Heterochromatins reflektiert die Regulation der Chromatinstruktur, durch die epigenetischen Mechanismen [Delage und Dashwood, 2008].

Chromatinmodifikationen finden bevorzugt an den Aminosäuren Lysin und Arginin statt wie z.B.: die Acetylierung oder Phosphorylierung von Serin, die Ubiquitinylierung von Lysin, im Gegensatz dazu steht die DNA - Methylierung, die selbst nur durch die Methylierung modifiziert werden kann [Choi und Friso, 2010].

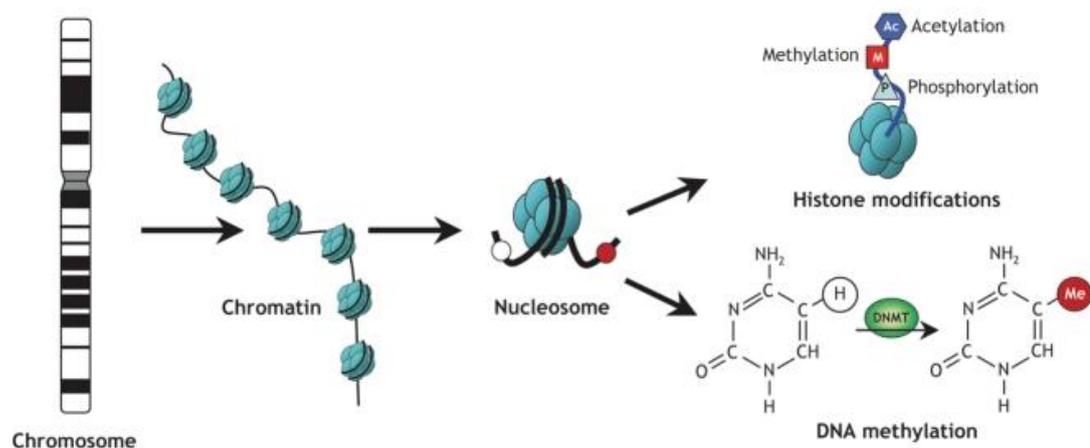


Abbildung 3 Schema der epigenetischen Modifikationen

modifiziert nach [Rodenhiser und Mann, 2006]. Die DNA wird um die Histonoktamere gewickelt, die dann das Nucleosom formen. Die Nucleosomen werden zu Chromatin geformt, die das Chromosom bilden. Die reversiblen und site-spezifischen Histonmodifikationen treten an mehreren Stellen durch Acetylierung, Methylierung und Phosphorylierung auf. Die DNA - Methylierung findet am 5' - Ende der Cytosinstellen statt, und wird durch die DNA - Methyltransferase (DNMT) katalysiert. Zusammen ergeben diese Modifikationen eine unverwechselbare epigenetische Signatur, die Chromatinorganisation und Genexpression regulieren. Me: Methylierung

Es gibt 2 Theorien für die mechanischen Funktionen der Chromosomenmodifikationen:

1. Entweder wird die Chromatinverpackung direkt durch die Veränderung der elektrostatischen Ladung, oder durch die intranukleosomalen Kontakte umgebaut, um damit das DNA – Polymer zu öffnen oder zu schließen, also durch Kontrolle des Zugangs, zu den DNA - Bindungsproteinen.
2. Oder der zugeführte chemische Restteil verändert die Nucleosomenoberfläche soweit, um die Verbindung der Chromosomen - Bindungsproteine zu fördern [Berger, 2007].

Das Chromatin gliedert sich in zwei Hauptbereiche (Abb. 2), das Euchromatin ist genreich und das Heterochromatin ist genarm. Diese zwei Bereiche haben verschiedene Muster der Histonmodifikationen, die mit verschiedenen Mustern der Nucleosomenverpackung assoziiert sind, und deshalb Unterschiede in der höheren Verpackung, sowie in der Nucleosomenorganisation zeigen [Grewal und Elgin, 2007].

Das Heterochromatin enthält die aktiven Gene und wird transkribiert. Hierbei handelt es sich um eine geschlossene Chromatinkonformation, die der DNA den Zugang erschwert, und genetisch inaktiv ist. Ein vermehrter Anteil an Heterochromatin im Kern bedeutet eine verminderte Stoffwechselaktivität [Grewal und Elgin, 2007].

Heterochromatische Regionen im Genom sind assoziiert mit einem hohen Level an CpG - Methylierungen [Razin, 1998].

Der heterochromatische Zustand verändert aufgrund der Modifikationen die Nucleosomenoberfläche. Chromatinmarkierungen sind komplexer als bisher angenommen. Die Struktur des H4 N - terminalen Schwanzes ist der kritische Kontakt zwischen den Nucleosomen [Berger, 2007].

Anders als bei der DNA - Methylierung (siehe Kap. 4) ist der Mechanismus, der die Erhaltung der Chromatinmodifikationen gewährleistet noch nicht ganz verstanden, da die dafür verantwortlichen Enzyme noch nicht identifiziert wurden, die die Chromosomenmodifikationen von den Elternzellen erkennen, und auf die Tochterzellen übertragen bzw. reproduzieren [Feinberg, 2008].

3.2 Histonmodifikationen

Auf dem Gebiet der Chromosomenforschung, sind die posttranslationalen Histonmodifikationen wichtig für die nukleare Regulation [Grant, 2001].

Die Histonmodifikationen spielen eine wichtige Rolle, in der Bildung des epigenetischen Gedächtnisses, sowie in der Aufrechterhaltung der zellulären Identität [Scharf und Imhof, 2011].

Histone können durch das kovalente Anhängen oder Entfernen von Seitengruppen spezieller Aminosäuren wie Lysin, Arginin, Threonin und Serin an ihren N - terminalen Schwanzdomänen, den sogenannten „tails“ modifiziert werden. Die Histone bestehen aus einem globulären Zentrum und flexiblen endständigen Armen, die viele positiv geladene basische Aminosäuren besitzen. Die aminoterminalen Schwanzdomänen dieser Aminosäuren sind leicht zugänglich für molekulare Wechselwirkungen, die DNA ist negativ geladen und es besteht eine elektrostatische Anziehungskraft. Der Verpackungsgrad der Histone beeinflusst die Genregulation. Die Histonmodifikationen verändern die Eigenschaften der Chromatinfasern, und dadurch die übergeordnete Struktur, das Chromatin, die Modifikationen ermöglichen das gezielte Einbringen von epigenetischen Mechanismen in das Chromatin [Ringo, 2006].

Die Histonmodifikationen unterdrücken jene Gene in der frühen Phase der Entwicklung, die erst später benötigt werden, und je nach Bedarf reversibel gelöst werden können, wenn die Expression der Gene erforderlich wird [Reik, 2007].

Posttranslationale Modifikationen werden von „modifier genes“ codiert, Proteine die solchen Modifizierungen unterliegen, können abhängig von Umweltfaktoren gebildet werden und diese beeinflussen. Einige histonmodifizierende Enzyme wurden identifiziert, durch die die Histonmodifikationen dynamisch bleiben. Eine Ausnahme ist jedoch die Methylierung von Arginin, bis jetzt wurde keine Demethylierungsaktivität gefunden [Kouzarides, 2007].

Es ist nicht genau bekannt, ob die Chromatinkonformationen stabil weitervererbt werden können. Die DNA - Methylierungen kann „switchen“, sie lösen die geschlossenen Chromatinkonformationen auf.

Die Nukleosomenoberfläche ist mit einer Vielfalt von Modifikationen übersät, bis jetzt wurden acht Klassen der Histonmodifikationen identifiziert (Abb. 4) [Kouzarides, 2007].

Histone werden an vielen Stellen modifiziert, bis jetzt wurden mehr als 60 solcher Stellen gefunden. Das spiegelt die unterschätzte Menge der Modifikationen wieder, die stattfinden können. Jede einzelne Modifikation kann zu biologischen Konsequenzen führen [Weinhouse et al., 2011].

Chromatinmodifikationen	Funktion
Acetylierung	Transkription, Reparatur, Replikation, Kondensation
Methylierung (Lysin)	Transkription, Reparatur
Methylierung (Arginin)	Transkription
Phosphorylierung	Transkription, Reparatur, Kondensation
Ubiquitylierung	Transkription, Reparatur
Sumoylierung	Transkription
ADP Ribosylierung	Transkription
Deimination	Transkription
Prolin Isomerisation	Transkription

Abbildung 4 Übersicht der verschiedenen Histonmodifikationen modifiziert nach [Kouzarides, 2007]. Jede der Funktionen wurde in den entsprechenden Histonmodifikationen identifiziert.

3.3 Der Histoncode

Durch die verschiedensten Histonmodifikationen entsteht eine Art Code, der die Transkription reguliert. Je nach Art der Veränderung kann eine Repression oder Aktivierung der Transkription stattfinden. Der Histoncode entsteht durch den Einbau von Modifikationen an die Histonschwänze. Bisher handelt es sich bei dem Histoncode nur um eine Arbeitshypothese. Histone unterliegen den posttranslationalen Modifikationen wie Acetylierung und Phosphorylierung. Diese Modifikationen alleine, oder in Kombination nehmen an der Regulierung der Genexpression teil, und erlauben den dynamischen Zugang zur DNA. Die Kombinationen der verschiedenen Histonmodifikationen formen einen Histoncode mit entsprechenden Mustern der Genexpression. Das erlaubt der Zelle komplexe physiologische Prozesse, wie die zelluläre Differenzierung mit hoher Plastizität, ohne Veränderung der DNA - Sequenz, zu codieren [Scharf und Imhof, 2011].

Die Acetylierung und Methylierung von Histonen beinhalten kleine chemische Gruppen, die Ubiquitinylierung und Sumoylierung addieren große Gruppen auf die Histone, was zu einer Veränderung der Chromatinstruktur führt. Eine Methylierung kann mehrere Male (mono, di, tri) auf einer Lysin - Seitenkette auftreten, und jedes Level der Modifizierungen kann verschiedene Ergebnisse liefern z.B.: ist die Acetylierung aktivierend, SUMO ist reprimierend, und diese zwei Modifikationen behindern gegenseitig. Die Methylierung und Ubiquitinylierung haben variable Effekte, z.B.: die Trimethylierung von Lysin 4 in H3 (H3K3 me 3) entsteht am 5' - Ende der ORFs (Open reading frames), und H3K9me3 bildet sich im perizentromerischen Heterochromatin, wo die Transkription inaktiv ist. Argininreste bei H3 und H4 können mono- oder dimethyliert werden. Die Methylierungen können symmetrisch oder asymmetrisch auf der Seitenkette platziert werden. Die Argininmethylierung aktiviert wahrscheinlich die Transkription [Berger, 2007].

Henikoff und Shilatifard (2011) bezweifeln die Existenz des Histoncodes, da die experimentellen Beweise die diese Theorie stützen, noch fehlen. Sie sind der Meinung, dass der Histoncode nicht durch die Replikation, sondern durch die Transkription vererbt wird. Die Spezifität der Chromatinstruktur wird durch das Nukleosomenreplacement während der Transkription, mit Hilfe von replikationsunabhängigen Histonvarianten, verursacht. Somit sind die Haupthistonmuster einfacher als Konsequenz der Nukleosomendisruption, in Abwesenheit von histonmodifizierenden Enzymen erklärt [Henikoff und Shilatifard, 2011].

3.3.1 Acetylierung

Bei der Acetylierung wird ein Acetylrest, von Acetyl - CoA durch eine Histon-Acetyltransferase (HAT), auf die ϵ -Aminogruppe konservierter Lysinreste übertragen. Die Histondeacetylasen (HDAC) entfernen eine Acetylgruppe vom N- ϵ -acetylierten Lysinrest der Histone, und sind Bestandteil der posttranskriptionellen Regulierung [Allfrey et al., 1964].

Die dadurch erlangte Strukturänderung kann die Aktivität, die Lokalisation und die Stabilität der HDAC's bestimmen. In Folge beeinflusst das die Modifikation ihrer Substrate, eine anormale HDAC - Aktivität kann zu mehreren ernsthaften Erkrankungen

beim Menschen führen, das macht die HDAC's attraktiv für therapeutische Interventionsstrategien [Brandl et al., 2009].

Die Acetylierung von Histonen ist entscheidend für die Bestimmung der Genexpressionsmuster. Transkriptionell aktives Chromatin wird hyperacetyliert, wo hingegen stillgelegtes Chromatin hypoacetyliert wird. Die Deacetylierung von Histonschwänzen verursacht die Chromatinkondensation, als Konsequenz ist der Zugang zur Transkriptionsmaschinerie der DNA blockiert [Brandl et al., 2009].

Die Histonacetylierung reduziert die Affinität des H4 für die DNA mit einer subsequenten Relaxation der Chromatinverpackung in einem aktiven transkriptionellen Status, wobei die Deacetylierung von H4 mit der Rekrutierung von H1 und der Verpackung der DNA in einer kondensierten Konformation korreliert [Rakyan et al., 2001].

Die Acetylierung von H3 und H4 erhöht die Genexpression durch Förderung der offenen Chromatinstruktur [Nakao, 2001].

Die reversible Acetylierung von N - terminalen Lysinresten an den Positionen 9, 14, 18 und 23 des H3 und 5, 8, 12 und 16 des H4 vermittelt eine Dekondensation der Nukleosomenstruktur, beeinflusst Histon- und DNA - Interaktionen, und erleichtert den Zugang und die Bindung von Transkriptionsfaktoren. Allgemein erhöhte Histonacetylierungen am H4 Lysin 5 oder H4 Lysin 8 wurden in Euchromatin gefunden, wo die Transkription aktiv ist, wohingegen die Acetylierung von H4 Lysin 12 in der heterochromatischen Region erhöht ist, wo die Transkription potentiell inaktiv ist. Die Hemmung der HDAC's kann epigenetisch stillgelegte Gene in Krebszellen wieder aktivieren. Bestimmte bioaktive Nahrungskomponenten wie z.B.: Sulfurophane, Isothiocyanate aus Brokkoli und Brokkolisprossen, und Diallylsulfide wirken als HDAC - Inhibitoren. Die Histonacetylierung ist assoziiert mit Entzündungsreaktionen [Choi und Friso, 2010].

18 HDAC's wurden bisher im Menschen identifiziert, die nicht direkt an die DNA binden aber durch Multiproteinkomplexe mit der DNA interagieren [Choi und Friso, 2010].

Die Histonmethylierung wurde erstmals 1964 beschrieben [Murray, 1964].

Durch das Anheften einer Methylgruppe (CH₃) an die Promotorregion, kann das Ablesen eines DNA - Bereichs verhindert werden, der jeweilige Grundbaustein der Zelle bleibt erhalten, und ist somit keine Mutation, greift aber in die Transkription ein [Scharf und Imhof, 2011].

Die Methylierung kann in unterschiedlichen Graden sowohl an Arginin und Lysin auftreten, wobei je nach Modifikationsstelle die Transkription gesteigert oder vermindert werden kann [Scharf und Imhof, 2011].

Bisher wurden 24 Lysin- bzw. Arginin - Methylierungsstellen für die Core - Histone beschrieben [Zhang und Reinberg, 2001].

Die Histonmethylierungen an Lysin- und Argininresten werden durch Histonmethyltransferasen (HMTasen) durchgeführt.

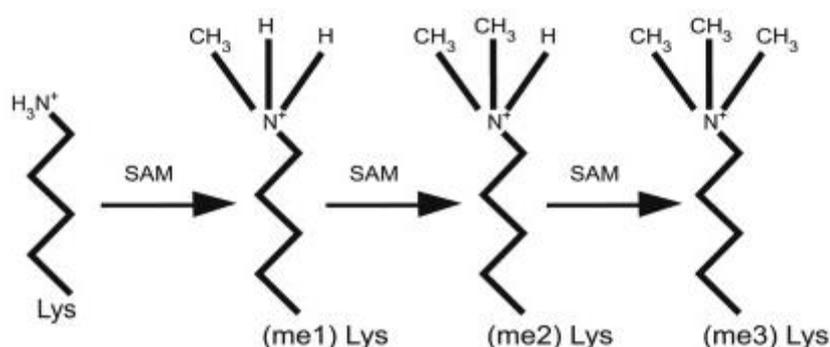


Abbildung 5 Der unterschiedliche Methylierungsstatus der Aminosäure Lysin mit SAM als **Methyl donor** Lysine können mono- (me1) di- (me2) oder tri- (me3) methyliert werden [Scharf und Imhof, 2011].

Die Histonmethylierung ist die stabilste Modifikation und schwer zu entfernen.

Eine Methylierung an Lysin 4 oder 79 des H3, korreliert mit der aktiven Transkription, H3K9, H3K27 oder H4K20 findet man in transkriptionell stillgelegten Regionen. Dieser Methylierungscode wird noch komplizierter, wenn man bedenkt, dass ein Lysin drei Mal methyliert werden kann (Abb. 5). Das hat verschiedene Effekte auf die Chromatinstruktur und die transkriptionelle Regulierung [Delage und Dashwood, 2008].

3.3.2 Phosphorylierung

Die Phosphorylierung ist schwer zu analysieren, da deutliche Signalwege aktiviert werden müssen, um die Phosphorylierungsvorgänge beobachten zu können [Kouzarides, 2007].

Proteinkinasen und Proteinphosphatasen vermitteln die Phosphorylierung und Dephosphorylierung von Proteinen. Die reversible Phosphorylierung ist ein wichtiger regulatorischer Mechanismus, der auch die HDAC's betrifft [Brandl et al., 2009].

Die Phosphorylierung der Histone erfolgt hauptsächlich an der Aminosäure Serin. Die Phosphorylierung von Serin 10 auf Histon H3 ist zellzyklusabhängig und bisher am besten untersucht [Nowak und Corces, 2004].

Die Phosphorylierung des Serins 10 H3 ist bedeutend für die Chromosomenkondensation während der Mitose, sie induziert die Acetylierung der benachbarten Lysinstellen durch die Histonacetylasen und korreliert mit der Genaktivierung [Thomson et al., 1999].

Die Phosphorylierung ist an der transkriptionellen Aktivierung, durch die Stimulierung der HAT - Aktivität am selben Histonschwanz beteiligt. Je mehr H1 phosphoryliert ist, desto leichter ist es vom Chromatin lösbar. Der Mechanismus der phosphorylierten Transkriptionsaktivierung ist nicht bekannt [Grant, 2001].

Durch die Addition negativ geladener Phosphatgruppen auf die Histonschwänze wird die Basisladung neutralisiert, und reduziert die Affinität für die DNA [Grant, 2001].

3.3.3 Sumoylierung

In den letzten Jahren wurden große Fortschritte im Bereich der Histonmodifikationen gemacht. SUMO (Small Ubiquitin - like Modifier) ist Mitglied der „Ubiquitin - like Proteine“ und ist in posttranslationalen Modifikationen involviert. SUMO erfüllt seine Funktion als Kofaktor der Transkription, und als Corepressor [Shiio und Eisenman, 2003].

Das SUMO ist zu 18% ident mit dem Ubiquitin [Melchior, 2000].

Die SUMO - Proteinfamilien ähneln dem Ubiquitin in der Struktur und in der Anbindung an die Substrate. In den funktionalen Auswirkungen unterscheiden sie sich jedoch vom Ubiquitin [Shiio und Eisenman, 2003].

Bisher wurden vier verschiedene SUMO - Proteine entdeckt, die Proteininteraktionen, Proteinlokalisierung und Transport beeinflussen [Brandl et al., 2009].

Die Sumoylierung ist in der Koordination der Histonmodifikationen und in der Chromatinstruktur involviert. Die Sumoylierung modifiziert reversibel Proteine, die wichtig für eine regulierte Genexpression sind, wie z.B.: die promotorspezifischen Transkriptionsfaktoren, die Transkriptionsfaktoren und die Chromatin - modifizierenden Enzyme und Histone. Das kovalente Anhängen einer SUMO Gruppe an Lysin hat verschiedene Effekte auf die Substrataktivität. Die Sumoylierung der Transkriptionsfaktoren korreliert mit der Transkriptionsrepression, und liefert eine neue Interaktionsplattform, welche die Rekrutierung von Corepressorkomplexen unterstützt, die die Chromatinstruktur regulieren, und zur aktiven Repression der Genexpression beitragen [Ouyang und Gill, 2009].

HDAC's unterstützen die SUMO vermittelte transkriptionelle Repression. Unklar ist noch, wie diese Promotoren durch die sumoylierten Transkriptionsfaktoren rekrutiert werden [Ouyang und Gill, 2009].

SUMO hat die Möglichkeit an einer Vielzahl von Proteinen zu binden, und korreliert mit einer erniedrigten transkriptionellen Aktivität. Der aminoternale Schwanz des H4 beinhaltet fünf Lysine, die alle Kandidaten der Sumoylierung sind [Nathan et al., 2003].

3.3.4 Ubiquitylierung

Das stark konservierte 76 Aminosäuren große Polypeptid Ubiquitin (8,5 kDa), ist kovalent an Histone geheftet, auf dem alle Histonproteine bis auf H4 nachgewiesen wurden. Über die Bedeutung ist noch wenig bekannt. Die Ubiquitylierung wird durch kovalentes Anhängen von Ubiquitin, auf die ϵ -Aminogruppe des Lysins, durch eine Isopeptidbindung erreicht. Polymerische Ubiquitinketten sind das Ziel der Proteine für den proteosomalen Abbau, wobei die Monoubiquitylierung verschiedene Funktionen kontrollieren kann [Brandl et al., 2009].

4 DNA - Methylierung

Die epigenetische Regulation durch die DNA - Methylierung wird primär durch die Addition einer Methylgruppe (CH₃) vermittelt, die auf das Carbon 5' - des Cytosins in den CpG - Dinukleotiden in der 5' - regulatorischen Sequenz der Gene angehängt wird, die als CpG - Inseln bekannt sind [Burdge und Lillycrop, 2010].

Ca. 60 – 90 % aller CpG - Sequenzen im Genom sind methyliert [Nakao, 2001].

Der Hauptanteil der unmethylierten CpG - Inseln liegt als Cluster vor, die innerhalb oder nahe den Promotoren gefunden werden [Rakyan et al., 2001].

Der Methylierungsstatus der CpG - Inseln in den Promotorregionen ist an der Transkription beteiligt. Eine Hypermethylierung ist gleich bedeutend mit einem verringerten Zugang der Transkriptionsfaktoren in der Promotorregion. [Ruemmele und Garnier-Lengliné, 2012].

Die DNA - Methylierung an den CpG - Dinukleotiden wird durch die DNA-Methyltransferasen (DNMT) aufrecht erhalten [Bjornsson et al., 2004].

Die DNA - Methylierung ist eine stabile repressive Markierung, ihre Regulierung ist dynamisch und kann aktiv an spezifischen loci wie auch genomweit, während der Phasen der Entwicklung, gelöscht werden [Faulk und Dolinoy, 2011].

Die Methylierung von CpG - Inseln ist nur unter bestimmten Bedingungen reversibel. Die CpG - Methylierung wird während der normalen Entwicklung nie gelöscht, nur die Methylierung von CpG-Inseln in den geprägten Genen muss in der Keimbahn gelöscht werden, damit eine geschlechtsspezifische Methylierung stattfinden kann [Reik, 2007].

Die DNA - Methylierung selbst ist Teil der kovalenten Struktur der DNA. Sie unterscheidet sich vom Chromatin, welches zwar mit der DNA assoziiert ist, aber nicht Teil der DNA - Moleküle ist. Die DNMT beschleunigt den Transfer der Methylgruppe vom Methylendonator SAM auf die 5' - Position des Cytosinrings. DNMT1, die Erhaltungsmethyltransferase 1, hat eine Präferenz für hemimethylierte Substrate, und kopiert das DNA - Methylierungsmuster während der zellulären Replikation. [McGowan et al., 2008].

Die Methylierungsmuster sind vererbbar. Das Enzym DNMT1 erkennt hemimethylierte DNA nach der Replikation, heftet sich aber an die unmethylierte DNA [Reik und Walter, 2001].

Bisher sind fünf verschiedene DNMT's bekannt: DNMT1, DNMT2, DNMT3a, DNMT3b und DNMTL. Die DNA - Demethylierung ist ein bedeutender zellulärer Prozess während der Embryogenese und Stammzellendifferenzierung [Choi und Friso, 2010].

Es gibt zwei Phasen für die genomweite Reprogrammierung, während der Gametogenese sowie in der frühen Embryogenese (Abb. 6). Nur einige der Enzyme, die an dem Löschen und der Reetablierung der Methylgruppen an diesen Stellen beteiligt sind, wurden bereits identifiziert [Morgan et al., 2005].

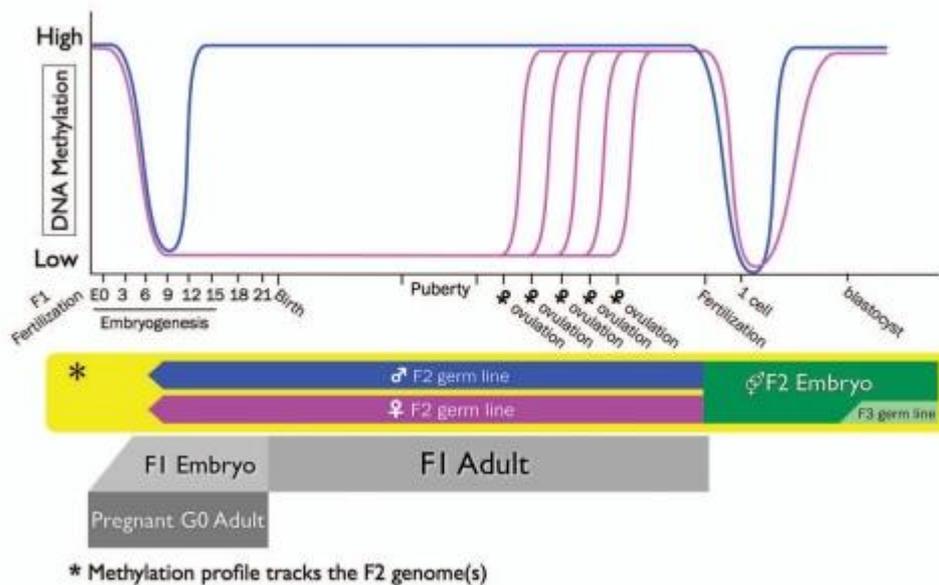


Abbildung 6 Die genomweite Programmierung [Faulk und Dolinoy, 2011]. Die genomweite Reprogrammierung erfolgt während der Embryogenese und der Gametogenese. Hier wird die globale Demethylierung am Beispiel eines F2 Mäusegenoms, von den Keimzellen bis zum somatischen Embryo dargestellt. Innerhalb der schwangeren G₀ Maus, generiert der F1 Embryo seine Gameten, die in weiterer Folge die F2 Generation formen werden.

Während der semikonservativen DNA - Replikation wird ein methyliertes CpG am DNA – Elternstrang mit einem neusynthetisierten unmethylierten CpG am Tochterstrang gepaart (d.h. der neuer DNA - Strang ist noch nicht methyliert, es erfolgt keine Prägung/Addition der CH₃ - Gruppe). Die DNMT1 sucht aus der hemimethylierten DNA aus, und platziert eine neue Methylgruppe am Tochter CpG - Strang. Eine wichtige umweltbedingte Verbindung zur Epigenetik ist die Quelle der Methylgruppen in dieser Reaktion. Methionin, eine essentielle Aminosäure, konvertiert zu einem biologisch aktiven Methylendonator, durch den 1 – Kohlenstoffstoffwechsel [Feinberg, 2008].

Der Cytosinrest im komplementären Strang des 3'- CpG - 5' - Dinukelotid ist entsprechend symmetrisch methyliert, und bildet eine dreidimensionale Struktur, die in der Hauptfurche der DNA - Doppelstränge hervorsteht [Nakao, 2001].

Diese Reprogrammierung ist wichtig für die Totipotenz, die korrekte Initiation der embryonalen Genexpression und für die Entwicklung des Embryos [Morgan et al., 2005].

DNMT3A und DNMT3B sind de novo - Methylyasen, die das initiale Muster der Methylierung während der Embryogenese bilden, und die neuen Methylgruppen an die beiden Tochterstränge heften [Rakyan et al., 2001].

Durch die DNA - Methylierung wird ein heterochromatischer Zustand um das Gen geschaffen. Das dynamische DNA - Methylierungsmuster und seine Empfindlichkeit auf zelluläre Signalwege stellen einen Ansatzpunkt für Umwelteinflüsse dar [Szyf, 2009].

Abnormale Methylierungsmuster, wie z.B.: in vielen Krebsarten, induzieren die Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen und die Instabilität des ganzen Genoms. Das 5'- Methyl - Cytosin im Genom wird spontan in einer Desaminierungsreaktion, zu Thymin konvertiert. Wenn der Mismatch T - G, durch die Zellteilung, ohne Korrektur des eigenen Reparatursystems vererbt wird, ist das der Hauptgrund für die Genmutationen in angeborenen Krankheiten und Krebs [Nakao, 2001].

„Methylgruppenbindende Domänproteine (MDB-Proteine) wie MeCP1 und MeCP2, erkennen und binden Methylgruppen an den Nukleotiden“ [Prawitt und Zabel, 2005].

MeCP1 und MeCP2 binden bevorzugt an methylierter DNA, und inhibieren die Transkription, indem sie die Histondeacetylase rekrutieren [Feng und Yi Zhang, 2001].

4.1 CpG Inseln

CpG - Inseln befinden sich nahe den Promotoren. In der frühen Entwicklung des Menschen werden die meisten CpG - Stellen, die innerhalb eines Transposons liegen, in somatischen Zellen methyliert, ein kleiner Teil der CpG - Inseln an anderen Stellen im Genom werden ebenfalls methyliert. Die Methylierung in den Promotorregionen schwächt die Transkription [Reik, 2007].

CpG - Inseln sind Abschnitte im Genom, die 0,5-2kb lang sind, und innerhalb eines Promotors liegen, sie weisen einen erhöhten Gehalt an den Basen Cytosin und Guanin auf, die durch einen Phosphodieester verbunden sind [Reik, 2007].

Der Mensch besitzt ca. 45% transposable Elemente im Genom, die Maus 40%. Die meisten transposablen Elemente werden durch die CpG - Methylierung stillgelegt. Der epigenetische Status der Transposone ist metastabil, und variiert zufällig von hypomethyliert zu hypermethyliert. Dieser variable epigenetische Status kann die benachbarten Gene beeinflussen, und so einen epigenetischen Mosaizismus zwischen den Zellen verursachen, sowie die phänotypische Variabilität zwischen den Zellen, in genetisch identen Individuen [Jirtle und Skinner, 2007].

Im Gegensatz zu Entwicklungsgenen, müssen Transposone komplett stillgelegt werden, um sie davor zu schützen im Genom herumzuwandern, und somit eventuell Mutationen auszulösen. Aus diesem Grund sind viele Transposonfamilien methyliert, und durch repressive Histonmodifikationen markiert z.B.: H3K9met. Einige der Transposonfamilien wie z.B.: das IAP, sind resistent gegenüber der Löschung durch die DNA - Methylierung in der Zygote. Das führt zu einer epigenetischen Vererbung. Die DNA - Methylierung gewährt ein Langzeitsilencing von Transposonen und von geprägten Genen, die auf der DNA - Methylierung basieren. Das Langzeitsilencing bleibt von den Gameten, dem frühen Embryo bis zum erwachsenen Organismus bestehen [Reik, 2007].

4.2 Gen - Silencing

Bei der Gen - Stilllegung werden Gene aktiv, über die DNA - Methylierungen und Histonmodifikationen abgeschaltet. Durch die Modifikation der Histonenden wird ein heterochromatischer Zustand um das Gen geschaffen, und die Transkription kann nicht mehr ausgeführt werden. Die Genregulierung erfolgt, über die Hemmung der Übertragung, von genetischer Information von der DNA auf die mRNA, oder der Hemmung der Translation, und das entsprechende Protein wird nicht mehr gebildet. Der heterochromatische Zustand um das Gen verwehrt der Transkriptionsmaschinerie (RNA - Polymerasen, Transkriptionsfaktoren) zu binden. Nachdem das Heterochromatin gebildet wurde, wird es während der Mitose stabil erhalten. Obwohl der heterochromatische Zustand vererbt wird, kann er dynamisch von aktiv auf inaktiv wechseln [Reik, 2007].

Die Positionseffekt - Variegation (PEV) ist ein klassisches Beispiel für ein transkriptionelles Silencing, und wurde bisher nur bei Hefen und Pflanzen beschrieben, jedoch noch nicht beim Menschen. PEV tritt auf, wenn ein Gen das normalerweise euchromatisch ist, neben Heterochromatin liegt. Durch Reorganisation und Transposition entsteht ein neuer PEV - Phänotyp und aktiviert Gene, die normalerweise stillgelegt sind, somit findet das transkriptionelle Silencing nicht statt [Grewal und Elgin, 2007].

4.3 Imprinting

Bei der genomischen Prägung handelt es sich um eine differenzielle, monoallelische Vererbung der Genexpression, welche unabhängig von der mendelschen Vererbungslehre agiert. Die Gene, die dem Imprinting unterliegen, werden geschlechtsspezifisch etabliert, der dem Imprinting zugrunde liegende Mechanismus ist die DNA - Methylierung, der die Gene in Abhängigkeit ihrer Herkunft, aktiviert oder inaktiviert [Dahlhoff et al., 2008].

Bis jetzt wurden 80 imprintete Gene identifiziert [Horsthemke und Ludwig, 2005].

Die Prägung ist reversibel, wird bei der Bildung neuer Keimzellen wieder gelöscht und überdauert nur eine Generation [Owen und Segars, 2009].

Nur ca. 1% der autosomalen Gene werden geprägt, mit einer Expression des maternalen oder paternalen Allels [Jirtle und Skinner, 2007].

Imprintete Gene werden willkürlich im Genom verteilt, tendieren aber dazu in Clustern vorzuliegen. Das bedeutet, dass die primäre Kontrolle des Imprintings auf dem Chromosomendomänenlevel liegt [Horsthemke und Ludwig, 2005].

Die paternalen Imprinting - Markierungen entstehen im Spermium und in der Oozyte, sie unterliegen nicht der Reprogrammierung. Die frühen primordialen Keimzellen besitzen ähnliche Imprinting - Markierungen, wie die somatischen Zellen. Die DNA - Methylierung löscht diese paternalen Imprints während der Gametogenese, in Vorbereitung auf die geschlechtsspezifische de novo - Methylierung [Morgan et al., 2005].

Die elterlichen Kopien von imprinteten Regionen, unterscheiden sich in der DNA - Methylierung und in den Histonmodifikationen, und demzufolge auch in der Genexpression [Horsthemke und Ludwig, 2005].

Imprinting ist eine epigenetische Form der Genregulierung, und besteht aus ca. 100 Genen, die alle für ein paternales Allel exprimieren. Obwohl es keine definitive Beschreibung des involvierten Mechanismus gibt, geht man davon aus, dass das Imprinting von speziellen Entwicklungsgenen benötigt wird, um den Konflikt zwischen dem maternalen und paternalen Investment, in der Entwicklung und dem Wachstum des Nachwuchses zu vermeiden [Delage und Dashwood, 2008].

4.3.1 Die „Parental Conflict Hypothesis“

Die „Parental Conflict Hypothesis“ oder der „Kampf der Geschlechter“ besagt, dass Imprinting keine günstige Adaption der Geschlechter ist, sondern vielmehr eine schädliche Konsequenz des Geschlechterkampfes, um die Kontrolle der Ressourcenanzahl, die von der Mutter für die Nachkommenschaft extrahiert werden. Ausgehend von dieser Hypothese ist das Imprinting ein unbeabsichtigter Kampf in der Reproduktion zwischen den Geschlechtern [Moore und Haig, 1991].

Die Theorie geht davon aus, dass jene geprägten Gene die, die Extraktion der Ressourcen von der Mutter erhöhen, paternal exprimiert und mütterlich gesilenced werden. Im Gegensatz dazu, werden imprintete Gene die die Nachwuchsressourcen der Mutter erhöhen, maternal exprimiert und väterlich gesilenced z.B.: bei der Maus wird der Igf2 paternal exprimiert und der Igf2r maternal exprimiert [Jirtle und Skinner, 2007].

Die „Parental Conflict Hypothese“ basiert auf den Beobachtungen, das paternal imprintete Gene im Fötuswachstum involviert sind, wohingegen maternal imprintete Gene die Entwicklung des extraembryonischen Gewebes fördern [Delage und Dashwood, 2008].

4.3.2 Imprintingdefekte

Da die individuelle epigenetische Prägung, die Entwicklung, das Wachstum und das Verhalten beeinflusst, können Prägungsfehler zu einem Funktionsverlust der geprägten Gene führen z.B.: Krebs.

In solchen Fällen kann das Imprinting die Ursache sein, dass bestimmte Mutationen oder Krankheiten, eine oder mehrere Generationen ruhig gestellt werden, nur um Generationen später sichtbar zu werden. Einige bestimmte Krankheiten wurden mit diesen Genen in Zusammenhang gebracht z.B.: wurden Imprintingdefekte in ca. 1 % der Prader – Willi - Syndrom Patienten, in 3 % der Patienten mit dem Angelman-Syndrom, und in 50% der Beckwith-Wiedemann Patienten gefunden [Horsthemke und Ludwig, 2005].

Noch gibt es wenige Beweise, dass Imprinting durch Ernährung beeinflusst werden kann [Horsthemke und Ludwig, 2005].

Das bekannteste Beispiel eines geschlechtsspezifischen Imprintings, ist die X-Chromosomeninaktivierung.

4.3.3 X - Inaktivierung

Die X - Chromosomeninaktivierung ist ein klassisches Beispiel der monoallelischen Genexpression [Yang und Kuroda, 2007].

Frauen und Männer unterscheiden sich in ihrer Reaktion auf Krankheiten. Diese geschlechtsspezifischen Reaktionen erschweren die Diagnose und Therapie von

kardiovaskulären Krankheiten, Infektionen und psychischen Störungen, auch gibt es Unterschiede in der Medikamentenverträglichkeit. Die meisten Frauen sind Mosaik, das bedeutet, sie besitzen eine Zellmischung, die aus den X - Chromosomen verbundenen Genen vom Vater oder der Mutter besteht. Der Mosaizismus der Frauen trägt zu deren Krankheitsheterogenität bei. Ob und wann eine Krankheit manifestiert wird, ist von der Mosaikzellenbildung abhängig [Migeon, 2006].

In der frühen Embryogenese wird bei den Weibchen ein X - Chromosom stillgelegt, um damit eine Überexpression der darauf lokalisierten Gene zu verhindern, um damit den Dosisunterschied zu kompensieren, da das Y Chromosom weniger als 100 funktionale Gene im Vergleich mit dem X - Chromosom, mit über 1000 Genen hat. Welches Chromosom stillgelegt wird, entweder das vom Vater oder der Mutter, ist reiner Zufall [Migeon, 2006].

Diese Dosiskompensierungsmechanismen sind wahrscheinlich mit der frühen Säugetierevolution aufgetreten, und basieren auf der langen funktionalen Xist - RNA (X - inactive specific transkript), welche einzigartig bei den Säugetieren ist [Ng et al., 2007].

Grundsätzlich erfolgt die X - Inaktivierung in zwei Schritten:

1. Während der Initiationsphase, unterliegt das angehende inaktive X - Chromosom der epigenetischen transkriptionellen Inaktivierung.
2. In der Erhaltungsphase, werden die Kopien des inaktiven X - Chromosoms durch die Zellteilung erhalten. Bei der Maus wird das X - Inaktivierungsmodell am Anfang der frühen Embryogenese eingeleitet, wenn die Zellen eines der beiden X - Chromosome, dem transkriptionellen Silencing unterliegen [Kalantry, 2011].

Ein einmal inaktiviertes X - Chromosom bleibt durch die epigenetische Regulierung fortlaufend inaktiv, und wird so von der Mutterzelle auf die Tochterzelle weitergegeben. Dabei handelt es sich um eine Genexpressionsregulierung, nicht um die Änderung der DNA - Sequenz, darum ist dieser Mechanismus prinzipiell umkehrbar [X-Inaktivierung, 2012].

Im Mäuseembryo findet zuerst eine geprägte paternale X - Inaktivierung statt. In den somatischen Geweben der meisten höheren Säugetieren findet die X - Inaktivierung zufällig statt [Gendrel und Heard, 2011].

Die zufällige X - Inaktivierung wird durch das Silencing eines X - Chromosoms durch das X - Inaktivierungscenter (Xic), einem cis regulatorischen Element am X - Chromosom etabliert. Xic beinhaltet Elemente, die die Zahl der X - Chromosomen zählt, und trifft die Wahl welches X - Chromosom stillgelegt wird. Die Xist - Expression wird für die Etablierung von epigenetischen Markierungen am inaktiven X - Chromosom benötigt. Das inaktive X Chromosom (Xi) ist durch mehrere epigenetische Markierungen wie z.B.: durch die Hypoacetylierung der Histone H3 und H4 sowie der DNA - Methylierung gekennzeichnet [Yang und Kuroda, 2007].

5 Methylendonatoren

Ein Donator ist ein Molekül, das im Rahmen einer chemischen Reaktion eine funktionelle Gruppe abgibt, in dem Fall eine Methylgruppe (CH₃ - Gruppe).

Methylgruppendonatoren sind u.a. Nahrungsmittelinhaltsstoffe oder Supplementierungen, die ihre Methylgruppen im Kohlenstoffstoffwechsel abgeben, und somit die Genexpression beeinflussen. Die Methylgruppen heften sich an Histone, an die Promotorregionen der CpG – Inseln, und beeinflussen die Transkription, indem sie die betreffenden Regionen stilllegen [Niculescu und Zeisel, 2002].

5.1 Folsäure

Folsäure ist für den Menschen essentiell. In der Nahrung liegt Folsäure als Polyglutamat vor, die im Bürstensaum des Duodenums und Jejunums durch die Folsäurekonjugase in Monoglutamate hydrolysiert werden. Die Monoglutamate werden über den Reduced Folate - Carrier (RFC), einem Transportprotein das die reduzierten Folsäure - Derivate, in die Zelle aufnimmt, und werden dann in Form von Polyglutamaten gespeichert [Elmadfa, 2004].

Metabolisch aktive Folate werden durch Addition von H - Atomen in den Positionen 5, 6,7,8 gebildet (5, 6,7,8-Tetrahydrofolsäure). Durch die Bindung von Monocarbonaten in Position N5 und/oder N10 kommt es zu Methyl, Methylen, Methenyl, Formyl und Formiminoderivaten. Durch die Anlagerung von bis zu sieben Glutaminsäureresten an das Glutamylende entstehen Polyglutamate. Die wichtigsten metabolisch aktiven Folate sind die N5 - Methyltetrahydrofolsäure, die N10 - Formyltetrahydrofolsäure und die Tetrahydrofolsäure [Elmadfa und Leitzmann, 1990].

Die Tetrahydrofolsäure wirkt als Coenzym, als Donator, sowie als Akzeptor von C1 - Körpern, im Aminosäure- und Nukleotidstoffwechsel. Ein Folatmangel führt zur Beeinträchtigung der DNA- und RNA-Synthese, daher sind bei Folatmangel in erster Linie schnell proliferierende Zellen und Gewebe z.B.: hämatopoetisches- und lymphatisches Gewebe und die Haarfollikel, betroffen [Elmadfa und Leitzmann, 1990].

Folat ist ein wasserlösliches Vitamin, und ein gut studiertes Beispiel für den Effekt auf die DNA - Methylierung, weil Folat eine Methylgruppe trägt, und diese Methylgruppe für die Synthese von SAM, dem einzigen Methyl-donator für die DNA - Methylierungsreaktionen, zur Verfügung stellt. Aber Folat ist nicht die einzige Determinante der DNA - Methylierung, andere Methyl-donatoren wie Methionin, Cholin, Betain und Vitamin B₁₂, wie auch Umweltfaktoren können den DNA - Methylierungsstatus verändern [Choi und Friso, 2010].

Methioninsupplementierung kann eine DNA - Hypermethylierung in speziellen genomischen Regionen induzieren, da die meisten Methylgruppen die in der DNA - Methylierung zur Verfügung gestellt werden von Methionin bezogen werden. Hohe Methioninaufnahmen verändern den 1 - Kohlenstoffstoffwechsel in Säugetieren, darum hat die Methioninsupplementierung das Potential physiologisch relevante Veränderungen in der CpG - Methylierung hervorzurufen. Es muss noch abgeklärt werden ob eine zusätzliche Methioninaufnahme eine Hyper - oder Hypomethylierung hervorruft. In bestimmten Fällen könnte die Methioninsupplementierung mit anderen Metaboliten eine effektive Therapie von epigenetischen Krankheiten darstellen. Bevor solche Fortschritte realisiert werden können, müssen noch viele Tierstudien durchgeführt werden [Waterland, 2006].

Eine erhöhte Konzentration an SAM stimuliert die DNA - Methyltransferasereaktionen, die eine Hypermethylierung einleiten, und das Genom vor einer globalen Hypomethylierung schützen, einem Kennzeichen von Krebs. Das reduzierte Derivat der 5,10 - Methylentetrahydrofolat, sowie das 5 - Methyltetrahydrofolat, stellen die Methylgruppen für die Methionin- und SAM - Synthese zur Verfügung [Detich, 2003].

Da eine hohe Folsäureaufnahme einen Vitamin B₁₂ Mangel verdecken kann, sollte die täglich zugeführte Menge an supplementierter Folsäure 1000 µg nicht überschreiten, währenddessen die Folatzufuhr/d aus den Nahrungsmitteln nicht beschränkt ist.

1 µg Folatäquivalent

= 0,5 µg freie Folsäure (Pteroylmonoglutamat)

=1µg Nahrungsfolat (Pteroylpolyglutamat)

[Deutsche Gesellschaft für Ernährung et al., 2012].

Die obere sichere Grenze der Zufuhr (UL): 1000 µg/d (Pteroylmonoglutamat) für den Erwachsenen.

Empfohlene Zufuhr: 400 µg Folatäquivalent/d

[Deutsche Gesellschaft für Ernährung et al., 2012].

5.2 Vitamin B₁₂ (Cobalamin)

Die aktive Form des Cobalamins, ist das Methylcobalamin oder 5´ - Desoxyadenosylcobalamin, das für die Blutbildung von Bedeutung ist, und Homocystein entgiftet [Elmadfa, 2004].

Vitamin B₁₂ ist ein essentieller Kofaktor der Methionin - Synthase im 1C - Stoffwechsel und beeinflusst die genomische DNA Methylierung, durch die Übertragung einer Methylgruppe [Choi und Friso, 2010].

Empfohlene Zufuhr: 3µg/d für den Erwachsenen, kein UL

[Deutsche Gesellschaft für Ernährung et al., 2012].

5.3 Cholin

Cholin (β -Hydroxyl-Trimethyl-Ammoniumhydroxid) ist ein primärer, einwertiger Alkohol, und ein aktiver biologischer Metabolit, und weist katalytische und/oder steuernde Funktionen auf [Elmadfa, 2004].

Voraussetzung für die Cholinsynthese im Organismus ist das Vorhandensein von Methylendonatoren wie Folsäure und Vitamin B₁₂. Die Vorstufe des Cholins ist das Ethanolamin, das durch Decarboxylierung von Serin gebildet wird. Durch eine stufenweise, dreifache Methylierung von Ethanolamin wird dann Cholin gebildet [Elmadfa und Leitzmann, 1990].

Die maternale Cholinverfügbarkeit ist wichtig für die fetale Neurogenese, die Hippocampusentwicklung und die Gedächtnisfunktion, während des ganzen Lebens [Choi und Friso, 2010].

Ein Teil des Cholinbedarfs kann durch die endogene de novo - Synthese des Phosphatidylcholins, das durch die PEMT in der Leber katalysiert wird, gedeckt werden. Obwohl viele Nahrungsmittel Cholin enthalten, nehmen einige Menschen nicht genug aus der Nahrung auf, z.B.: Entwickelten ein paar Frauen in der Postmenopause Zeichen einer Organdysfunktion, die sich in einer Fettleber, Leber-, und einer Muskelzellschädigung äußerte. Die Unterschiede in dem gesteigerten Bedarf, der postmenopausalen Frauen rührt dadurch, dass das Hormon Östrogen, die Expression des PEMT - Gens (Phosphatidylethanolamin – N - Methyltransferase) induziert, und mehr endogenes Cholin synthetisiert wird [Zeisel, 2008].

Cholin ist eine Nahrungskomponente, die wichtig für die normale Zellfunktion ist, und dient als eine Hauptquelle der Methylgruppen in der Ernährung. Cholin ist ein wichtiger Bestandteil der Zellmembranen und dem Neurotransmitter Acetylcholin, von Bedeutung für die Gehirnentwicklung, und schützt vor dem Neuralrohrdefekt [Zeisel, 2008].

Menschen, die sich cholinarm ernähren, auch wenn die adäquate Folateinnahme gewährleistet ist, entwickeln erhöhte Homocysteinplasmakonzentrationen nach einem Methioninbelastungstest [Zeisel, 2008].

1998 wurde vom „Institute of Medicine and National Academy of Science“ die empfohlene Zufuhr der Cholinaufnahme festgelegt.

Empfohlene Zufuhr:

425 mg/d für Frauen

550 mg/d für Männer

450 mg/d für Schwangere

550 mg/d für Stillende

200 – 250 mg/d für Kinder

400 mg/d für weibliche Jugendliche zwischen 14 – 18 Jahren

550 mg/d für männliche Jugendliche zwischen 14 – 18 Jahren
[Institute of Medicine, National Academy of Sciences USA., 1998].

Die signifikante Variation des Cholinbedarfs, kann durch die SNP's (Single Nucleotide Polymorphism) in den Genen des Cholins - und Folatstoffwechsels, erklärt werden [Zeisel, 2008].

5.4 Betain

Betain ist ein Oxidationsprodukt des Cholins und eine quartäre Ammoniumverbindung mit drei Methylgruppen. Betain ist neben SAM einer der wichtigsten Methylgruppendonatoren im Organismus. Betain ist ein Derivat der Aminosäure Glycin, die Aminosäuren liegen am Isoelektronischen Punkt als Betaine (innere Salze) vor. Zusammen mit Folsäure, B₆ und B₁₂ soll Betain erhöhte Homocysteinwerte senken [Elmadfa und Leitzmann, 1990].

Lever et al., (2012) fanden einen Zusammenhang zwischen einem Biotinmangel und den vaskulären Risiken, in Patienten mit dem metabolischen Syndrom. Sowohl eine Hohe, als auch eine niedrige Betainplasmakonzentration, waren mit einem erhöhten koronaren Risiko verbunden. Ein Betainmangel ist schwer zu evaluieren, am besten ist ein Methioninbelastungstest geeignet, um diesen zu testen [Lever et al., 2012].

5.5 Der 1 - Kohlenstoffstoffwechsel

Der 1 - Kohlenstoffstoffwechsel (1C - Stoffstoffwechsel), ist ein Netzwerk aus zusammenhängenden biochemischen Reaktionen, die eine Kohlenstoffgruppe von einer Seite auf die andere transferieren (Abb. 7) [Mason, 2003].

Der 1 - Kohlenstoffstoffwechsel ist wichtig für die biologische Methylierung, die Nukleotidsynthese, und essentiell für die DNA - Synthese und alle zellulären Biomoleküle (Nukleinsäuren, Proteine, Lipide) [Christensen und Marsit, 2011].

Die 1 - Kohlenstoff Einheit kann in Form von Methenyl, Formyl oder als Methylgruppe abgegeben werden [Mason, 2003].

Methionin kann aus Homocystein gebildet werden, unter Verwendung von Methylgruppen, die von methyl-THF bereitgestellt werden, oder unter Benutzung einer Methylgruppe von Betain, das aus dem Cholin entstanden ist [Niculescu und Zeisel, 2002].

Aus Methionin entsteht durch die Reaktion mit ATP, unter Abspaltung von Phosphat, das S - Adenosylmethionin (SAM). Die S - Methylgruppe ist besonders reaktiv, und kann für eine Reihe von Biosynthesen genutzt werden. Dabei entsteht S - Adenosylhomocystein (SAH), nach der Abspaltung von Adenosin entsteht die Aminosäure Homocystein. Diese kann zu Methionin remethyliert werden, oder zu Propionyl - CoA abgebaut werden [Kim, 2004].

SAM führt zu DNA - Hypermethylierung, im Gegensatz dazu führt eine Erhöhung des Nahrungsfolats, oder ein Abbau des intrazellulären SAM, zu einer DNA - Hypomethylierung. Der derzeitige akzeptierte Mechanismus für die Effekte des Methyl donors SAM auf die DNA - Methylierung, und die Tumorgenese ist gefunden, in der Annahme, dass die DNA - Methylierungsreaktionen irreversibel sind, und durch die DNMT's festgelegt werden [Detich, 2003].

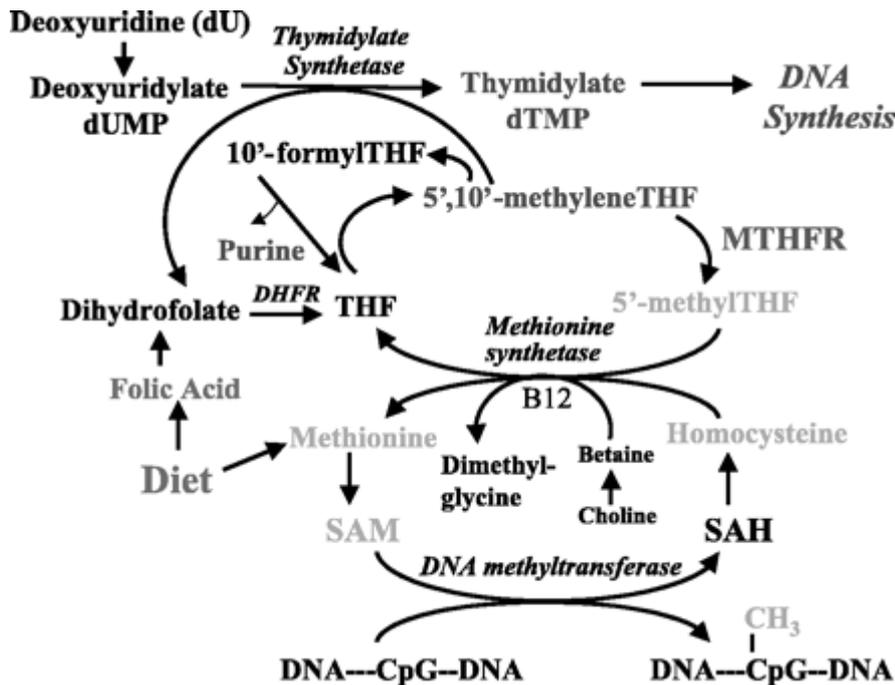


Abbildung 7 Vereinfachtes Schema des Folatstoffwechsels der die DNA - Synthese und die DNA - Methylierung beinhaltet. DHFR: Dihydrofolatreduktase, THF: Tetrahydrofolat, MTHFR: Methyltetrahydrofolatreduktase [Kim, 2004].

Die DNA - Methylierung ist abhängig von der Methylgruppenverfügbarkeit, die von SAM zur Verfügung gestellt werden. Menschen nehmen ca. 50 mmol Methylgruppen pro Tag aus der Nahrung auf, 60% entstammen dem Cholin [Niculescu und Zeisel, 2002].

Cholin kann durch eine SAM vermittelte Methylgruppenabgabe von Methionin de novo synthetisiert werden, durch Abgabe einer Methylgruppe von Serin, oder via Dimethylglycin [Niculescu und Zeisel, 2002].

Ein Cholindefizit führt zur vermehrten Verwendung von methyl - THF um Homocystein in der Leber zu remethylieren, was im Gegenzug den Nahrungsfolatbedarf erhöht. Bei einem Folatdefizit werden mehr Methylgruppen von Cholin benötigt, um dieses Defizit auszugleichen, was wiederum den Nahrungsbedarf an Cholin erhöht. Die DNA - Methylierung wird durch die DNMT während der Embryogenese katalysiert, und die DNMT's transferieren eine CH₃ - Gruppe von SAM auf Cystein. Beim Menschen ist die Methylgruppenhauptquelle das Methionin (ca. 10 mmol Methyl/d) und von Cholin stammen ca. 30 mmol Methyl/d [Niculescu und Zeisel, 2002].

Vitamin B₆ (Pyridoxin) ist im 1 - Kohlenstoffstoffwechsel involviert, da ein Vitamin B₆ Defizit die Bluthomocysteinwerte erhöht, und die Methylierungsreaktionen beeinträchtigt. Riboflavin (Vitamin B₂) ist ein Kofaktor, für die kritische folatabhängige Methylenetetrahydrofolatreduktase (MTHFR) [Mason, 2003].

Die B - Vitamine, Homocystein und Methionin sind wichtige Spender zur Erhaltung der DNA-, Integrität und der Methylierung. Die Schlüsselrolle von Folat im 1 - Kohlenstoffstoffwechsel birgt das Risiko von hochdosierten Nahrungssupplementen. Eine Folatsupplementierung ist verbunden mit einem reduzierten Risiko vieler Krebsformen. Eine Überdosierung der Folatsupplementierung hat möglicherweise negative Effekte, wie z.B.: das Verdecken des Vitamin B₁₂ Defizits, und einer Störung der Zinkfunktion [Christensen und Marsit, 2011].

Die Beweise, einer durch die Ernährung induzierten epigenetischen Veränderung im Menschen sind spärlich, aber es ist nachweisbar, dass der 1 - Kohlenstoffstoffwechsel während der Schwangerschaft, den hohen fetalen Anforderungen für Folat und Cholin gerecht werden muss, um eine normale Entwicklung zu gewährleisten. Hunger und saisonabhängige Nahrungsmittelverfügbarkeit während der Schwangerschaft, und die Variation in den Umweltexpositionen in utero, führen zu Unterschieden in der DNA - Methylierung des Nachwuchses [Dominguez-Salas et al., 2012].

Während der Schwangerschaft und der Stillzeit ist die Nachfrage an Nährstoffen höher, und die Methyldonorversorgung kritisch. Der 1C - Stoffwechsel wird intensiv erforscht, aber konkrete Beweis für seine Beteiligung an der DOHAD (siehe Kap. 7.3.1) müssen noch aufgebaut werden. Die "Pune Maternal Nutrition Study Cohort" in Indien hat die Wichtigkeit des 1C - Stoffwechsels in der fetalen Programmierung belegt. Niedrige maternale Vitamin B₁₂ - Spiegel (> 150 µmol/l) korrelieren stark mit dem Homocysteinspiegel (>15 µmol/l). Die pränatale Unterernährung ist mit negativen metabolischen Phänotypen, wie z.B.: einem hohen BMI (Body-Mass-Index) und einer gestörten Glukosetoleranz verbunden [Dominguez-Salas et al., 2012].

Die Störung des C1 - Stoffwechsels verändert die DNA - Methylierung und beeinflusst die neuronalen Zellproliferation und Apoptose. Das führt zu Langzeitveränderungen in der Gehirnstruktur-, und Funktion, im speziellen der Gedächtnisfunktion [Zeisel, 2008].

Es wurde ein mathematisches Modell für den Folat vermittelten 1 - Kohlenstoffstoffwechsel entwickelt, um den genetischen Einfluss und die Nahrungsmittelvariationen besser vorhersagen zu können. Das Modell basiert auf bereits veröffentlichte Daten der Folat – Enzymkinetik. Die mathematische Simulation des Folat vermittelten 1C – Stoffwechsel bietet eine kosteneffiziente Methode für computerunterstützte Laborexperimente [Reed et al., 2006].

Die interindividuelle Variation in den DNA – Methylierungsmustern bei der Geburt können durch Umwelt -, genetische- und stochastische Faktoren erklärt werden [McKay et al., 2012].

Mc Kay et al., (2012) untersuchte die genetischen und nicht genetischen Determinanten der DNA – Methylierungsvariation, und fokussierte sich auf den Folatstoffwechsel bei Kindern. Die aus der Studie gewonnen Daten unterstützen die Theorie, dass Umwelt -, und genetische Faktoren im 1C – Stoffwechsel involviert sind, und dadurch die DNA – Methylierung, der Kinder beeinflusst werden. Die interindividuelle Variation der DNA - Methylierung bei Erwachsenen ist bereits dokumentiert, aber der Grad der interindividuellen Variation der DNA - Methylierung bei der Geburt, und die Faktoren die die DNA - Methylierungsmuster beeinflussen sind noch nicht vollständig erwiesen. Ethnie, das Alter der Eltern, der maternale prägestionale BMI und eine geringe Geburtsgröße können die DNA - Methylierung beeinflussen. Die nicht genetischen -, und genetischen Faktoren machen ca. 0,3 – 8 % der interindividuellen Variation, in der globalen und genspezifischen DNA – Methylierung, bei Kindern aus. Es gibt eine Verbindung zwischen dem maternalen Homocystein/Folat - Spiegel und der DNA - Methylierung bei Kindern. Die Ergebnisse dieser Studie gehen mit der Hypothese einher, dass die Modulation des C1 – Stoffwechsels, die DNA - Methylierung in den Neugeborenen beeinflusst [McKay et al., 2012].

Der 1 - Kohlenstoffstoffwechsel hat in den letzten Jahren immer mehr an Beachtung gewonnen, da ein Defizit der Coenzyme wie Vitamin B₆, Vitamin B₁₂, Folat und Methionin zu Syndromen wie dem Neuralrohrdefekt, kardiovaskulären Krankheiten und Krebs führen kann [Horsthemke und Ludwig, 2005].

6 Das Agouti Protein

Das Agouti - Maus - Modell ist eines der am besten untersuchten Beispiele für die transgenerationale Vererbung, da es einen direkten Einfluss von Methylendonatoren auf die epigenetischen Prozesse zeigt. Es stellt ein interessantes Tiermodell dar, da das Agouti (A) Protein beim Menschen in den Adipocysten exprimiert wird. Man hoffte auf neue Erkenntnisse für die Adipositasintervention.

Das Agouti Gen hat seinen Namen von Südamerikanischen Säugetieren, den „Agouti paca“ und dem „Agouti taczanowskii“, welche dieselben Fellpigmentierungsmuster wie, das durch das agouti Gen übertragene Muster in den Agouti - Mäusen haben [Miltenberger et al., 1997].

Das agouti Gen war das erste Adipositas Gen, das geklont wurde [Bultman et al., 1992].

Die Mäuse die das A^{vy} Allele tragen, zeigen ein umfangreiches Spektrum an Fellfarben. Mäuse mit dem Genotyp A^{vy}/a werden eher für Studien verwendet, als die A^{vy}/A^{vy} Mäuse, weil die A^{vy}/a ein kompletteres Spektrum der Fellfarben und in den epigenetischen Variation zeigen, wohingegen die A^{vy}/A^{vy} meistens ganz gelb sind [Cooney et al., 2002].

Die am meisten untersuchten und analysierten dominanten Mutation sind das A^y und A^{vy} , die eine Form des Diabetes mellitus Typ 2 verursachen, der durch eine Insulinresistenz, Hyperplasie, Hyperinsulinämie, Hypertrophie und einer gestörten Glukosetoleranz gekennzeichnet ist [Klebig et al., 1995].

Das A^y ist charakterisiert durch eine große Deletion, die die codierenden Regionen des Gens Raly (heterogene nuklear-ribonukleo-protein assoziiert mit lethal yellow) beinhalten, einem Mitglied der hnRNP Gen - Familie, die in der prä - RNA Verpackung und Prozessierung involviert ist. Bis jetzt ist die Funktion des Gens Raly unbekannt, die letale gelbe Mutation suggeriert, dass diese wichtig, für die frühe embryonische Entwicklung ist. Das Gen Raly wird in allen somatischen Zellen exprimiert, daher resultiert die Fusion des Raly - Promotors mit dem agouti Gen in einer ektopischen Überexpression des agouti Gens. Der Raly Promotor überschreitet den Agouti eigenen

Promotor durch die Regulierung der Transkription, und leitet eine pausenlose Formation des gelben Pigments ein [Wolff et al., 1999].

Heterozygote Tiere, die das A^y - Allel tragen, sind nicht nur durch die gelbe Fellfarbe, sondern auch durch eine Spätform der Adipositas, die mit Hyperphagie assoziiert ist, charakterisiert. Genetische Analysen zeigten, dass das A^y das Ergebnis eines Chromosomenrearrangements ist, wo der Promotor am ersten nicht codierenden Exon mit dem Gen Raly vernetzt ist. Der chronische Antagonismus des MC1 - R durch das Agouti Protein resultiert im gelben Fell, wohingegen das Agouti Protein am MC4 -R des Hypothalamus, einen adipösen Phänotyp entwickelt [Dinulescu und Cone, 2000].

Die A^y - Mutation ist durch die pränatale Letalität des Homozygoten A^y/A^y - Genotyps gekennzeichnet. Der A^{vy} Phänotyp unterscheidet sich, von dem klaren gelben A^y Phänotyp durch eine Eumelaninsprenkelung, das sind irreguläre Regionen oder kleine Punkte von agouti/schwarzem Haar auf gelben Hintergrund. Eine pränatale Exposition mit Methylendonatoren erhöht die Gebiete der Eumelaninsprenkelung, wahrscheinlich durch die IAP - Insertion. Die Adipositas der A^y Maus folgt einem autosomal dominanten Erbgang [Wolff et al., 1998].

Im extremsten Fall, mit oder ohne Methylidiät, wird eine pseudoagouti Maus produziert, dessen Fellfarbe der Wildtyp - Maus ähnlich ist [Wolff et al., 1999].

6.1 Die Struktur des Agouti Proteins

Der Agouti Maus Locus (non Agouti) beeinflusst die Fellfarbe durch die DNA - Methylierung an einem upstream Transposon [Bird, 2007].

Die genomische Organisation des murinen Agouti Proteins ist komplex. Es besteht aus drei codierenden Exonen, festgelegt als 2, 3 und 4, wie auch vier nicht codierenden Exonen, 1A, A', B und C locus stromabwärts [Vrieling et al., 1994].

Die normale Agouti - DNA ist ca. 800 Nukleotide lang und wird von einem primären Transkript das vier oder fünf Exonen beinhaltet, abgeleitet. Die Agouti - DNA wird nach der Geburt, und nur während eines kurzen kritischen Zeitfensters, in der gelbes Pigment gebildet wird, in der Haut exprimiert [Duhl et al., 1994].

Der Agouti Phänotyp, resultiert aus der Expression der Exonen 1B und 1C, während der mittleren Phase des Haarwachstumszykluses, zwischen dem dritten und siebten Tag, nach der Geburt [Vrieling et al., 1994].

Über 25 verschiedene, dominante und rezessive agouti locus Allele wurden identifiziert, in denen die Phäomelaninsynthese generell dominanter über die Eumelaninsynthese ist [Siracusa, 1991].

Einige Beispiele dieser agouti locus Allele sind Mäuse, die das viable yellow (A^{vy}), IAP yellow (A^{iapy}) oder hyperviable yellow (A^{hvy}) Allel tragen. Sie synthetisieren mehr Phäomelanin als Eumelanin. Die Expression von A^{vy} , A^{iapy} , A^{hvy} kann epigenetisch herunterreguliert werden [Wolff et al., 1999].

Das Agouti Protein hat vier Merkmale:

1. ein aminoterminaleres Signal, das wichtig für den Eintritt in den sekretorischen Pfad ist
2. eine zentrale Region, in der 16 von 29 Aminosäuren, basische Arginin -, oder Lysinstellen sind
3. eine cysteinreiche Carboxy - terminale – Domäne
4. und ein Poly - Prolinstück [Miltenberger et al., 1997].

6.1.1 Die A^{vy} - Maus

Ähnlich mit den meisten Formen der humanen Adipositas, ist die gesteigerte Adipositas in den gelben Mäusen hypertroph, sie äußert sich durch eine erhöhte magere Körpermassen und einer Insulinresistenz. Die Expressivität des A^{vy} ist variabel, und wird durch parentale Imprinting Effekte beeinflusst. Die meisten A^{vy} Tiere sind adipös und haben eine Fellfarbenvariegation, wobei die gelben Haare in unregelmäßigen Flecken vom schwarzen Pigment durchbrochen sind (Eumelaninmotteling). Die Fellfarbenvariegation und das paternale Imprinting wurden nicht in anderen Agouti - Mäusen wie z.B.: beim A^y entdeckt [Duhl et al., 1994].

Das A^{vy} Allel ist ein metastabiles Epiallel. Aktive Epiallele sind assoziiert mit einer Hypermethylierung. Klare metastabile Epiallele besitzen Eigenschaften, die sie von klassischen Allelen unterscheiden. Wie häufig diese Allele im Menschen sind, ist

aufgrund der Heterogenität des Menschen nicht einfach zu beantworten. Metastabile Epiallele sind einfacher zu erkennen, wenn die genetischen Unterschiede und die Umweltfaktoren zwischen den Individuen minimiert werden. Das ist nur durch Inzuchtstämme, in einer kontrollierten Umwelt möglich. Die beste Möglichkeit beim Menschen metastabile Epiallele zu identifizieren, sind Studien bei monozygotischen Zwillingen, wo die genetischen Unterschiede geringfügig sind. Ca. 9 % des menschlichen Genoms ist aus Retrotransposonen zusammengesetzt. Wenn nur ein kleiner Teil diese beschriebenen Effekte hat, dann ist ihr Potential den Phänotyp zu beeinflussen, groß. Metastabile Epiallele können Erklärungen für Krankheiten liefern [Rakyan et al., 2002].

Das murine „viable yellow“ Agouti metastabile Epiallel weist stochastische DNA und Histonmodifikationen auf, und ist mit einer Fellfarbenvariation in isogenischen Individuen assoziiert. Die Verteilung der A^{vy} variablen Expressivität wird durch die maternale Ernährung und durch die verschiedenen Umweltexpositionen verlagert. Die Charakterisierung von metastabilen Epiallelen beim Menschen ist wichtig für die Entwicklung von Novel - Screenings und von therapeutischen Zielen für die Krankheitsprävention [Weinhouse et al., 2011].

6.1.2 Die ektopische Expression des A^{vy} - Allels

Der kryptische Promotor im proximalen Ende des A^{vy} - IAP unterstützt die konstitutive ektopische Agouti Transkription, und erzeugt eine phänotypische Variabilität, die zu einer gelben Fellfarbe führt, welche mit Diabetes, Krebs und Adipositas im Zusammenhang steht [Jirtle und Skinner, 2007].

Das A^{vy} - Allel entsteht durch eine Insertion eines intracisternales A Partikels (IAP) 1kb oder 100 kb 5' - stromabwärts der agouti codierenden Sequenz (Abb. 8). Die „lethal yellow“ (A^y) und „viable yellow“ (A^{vy}) Mutationen des agouti locus der Maus sind dominante pleiotrope Mutationen. Die Faktoren, die die IAP - Transposition kontrollieren, sind noch nicht genau verstanden, sie werden aber in der frühen Embryogenese exprimiert. Das Wildtyp agouti Gen hat keinen Einfluss auf das Körpergewicht [Duhl et al., 1994].

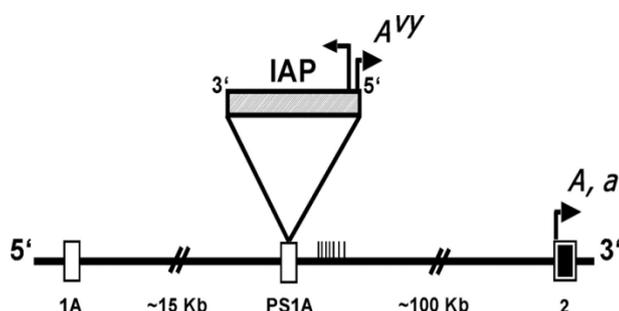


Abbildung 8 Der Avy locus der Maus

Die A^{vy} - Mutation wird durch eine Retrotransposition eines IAP 100 kb stromabwärts des ersten codierenden Exons verursacht. Das agouti (A) und das nonagouti (a) Transkript entstehen am Exon 2 (Die Pfeilspitze ist mit A, a beschriftet). Das A^{vy} Transkript entsteht durch einen kryptischen Promotor innerhalb des IAP (Pfeilspitze beschriftet mit A^{vy}). Die vertikalen Streifen der 3' IAP Insertionsite zeigen die Positionen der CpG - Inseln an, wie die CpG - Methylierung mit der Fellfarbenphänotyp korrelierte [Waterland et al., 2007]. PS1A: Pseudoexon 1

Das IAP kann als kryptischer Promotor für das Agouti Gen agieren. Mäuse mit einem unmethylierten IAP haben ein aktives agouti Gen und eine gelbe Fellfarbe, wohingegen Mäuse mit einem methylierten IAP ein stillgelegtes agouti Gen besitzen und ein braunes Fell haben [Whitelaw und Whitelaw, 2008].

Das A^{vy} Allel ist das Resultat einer Retrotransposition Insertion stromabwärts des agouti Gens. Die Expression an diesem locus, wird durch das LTR (Long terminal repeat) kontrolliert [Blewitt et al., 2006].

In den pseudoagouti Mäusen, ist der IAP (intracisternales A Partikel) Promotor inaktiv, er erlaubt dem Agouti Promotor die Transkription der Gene zu regulieren. In den A^{vy}/a Mäusen findet eine partielle maternale, epigenetische Vererbung des Phänotyps statt [Wolff et al., 1998].

Aufgrund dieser Mutation kommt es zu einer Fehlregulierung des agouti Gens, das zu einer dauerhaften Expression des A^{vy} Allels führt. Somit wird bei den A^{vy}/a Mäusen konstitutiv Phäomelanin gebildet, woraus die gelbe Fellfarbe resultiert, die im Gegensatz zu den agouti - farbigen A/a Mäusen steht [Duhl et al., 1994].

6.2 Fellpigmentierung

Die Hypermethylierung des A^{vy} Allels verschiebt die Fellfarbe von braun zu gelb, und demonstriert den Einfluss der epigenetischen Prozesse, die auf eine methytreiche Ernährung reagieren, und ruft die wahre Wildtyp Farbe (braun) der Mäuse hervor.

„Funktionsfähige Allele, die in der Natur vorkommen, und einen normalen Phänotyp ausmachen, werden als Wildtyp bezeichnet. Dieser Begriff wird nicht beim Menschen angewendet“ [Ringo, 2006].

Das Wildtyp - Pigmentierungsmuster der Maushaare wird Agouti genannt. Das Agouti Haar hat eine schwarze Spitze, das subterminales Band ist gelb, der Rest des Haarschafts ist schwarz. Das Maus agouti Gen kodiert ein 131 Aminosäuren parakrines Molekül, welches von Haarfollikelzellen abgesondert wird, und den Melanocyten signalisiert von der Synthese des schwarzen Pigments zu gelbem Pigment zu wechseln. Das führt zu der Produktion eines subterminalen gelben Bandes [Cooney et al., 2002].

Die Transkription wird normalerweise von einem entwicklungsregulierten Haarzyklus spezifischen Promotor im Exon 2 des Agouti - Alles reguliert [Jirtle und Skinner, 2007].

Anders als bei den meisten Genen, die die Fellfarbe beeinflussen, agiert das agouti Gen nicht direkt mit den Melanocyten, sondern in einer nicht Zell autonomen Art, als parakriner Faktor. Aufgrund ihrer Rolle in der Regulierung der Fellfarbe, ist das Agouti Maus - Modell wichtig für die Erforschung von Genaktionen [Miltenberger et al., 1997].

6.2.1 Eumelanin- und Phäomelaninsynthese

Die Melanocyten produzieren zwei unterschiedliche Arten des Melaninpigments: Eumelanin (braun-schwarz) und Phäomelanin (gelb-rot).

Die Variationen in der Fellpigmentierung, der Mäuse, wurden intensiv untersucht. Bis jetzt wurden 169 murine Fellfarbengene geklont, aber nur weniger als 20 sind direkt in der Produktion von Melanin involviert. Durch die Tyrosinase, dem Schlüßelenzym der Melanogense, entsteht aus Tyrosin das Dopaquinon aus dem Eumelanin und Phäomelanin werden abgeleitet werden (Abb. 9) [Ito und Wakamatsu, 2011].

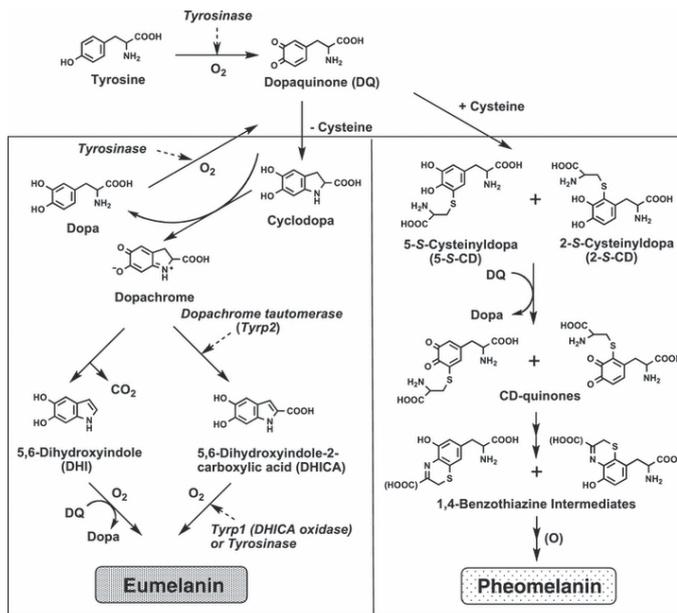


Abbildung 9 Biosynthetischer Weg der Eumelanin- und Pheomelaninproduktion [Ito und Wakamatsu, 2011].

In Abwesenheit des Agouti Proteins bindet α -MSH an den MC1-R auf der Oberfläche der Melanocyten, in Folge wird das cAMP in der Zelle nach oben reguliert, was zur Produktion von Eumelanin führt [Cooney et al., 2002].

Das gibt einen Hinweis darauf, dass das Agouti Protein möglicherweise eine zusätzliche physiologische Funktion in der Melanogenese hat, die unabhängig von der α -MSH-Aktivität ist. Durch die ubiquitäre Expression in den A^{vy} Mäusen wird möglicherweise die Signaltransduktion antagonisiert [Cooney et al., 2002].

Die Eumelanin-Synthese wird durch die Bindung des α -MSH Liganden am MC1-R stimuliert. Das zeigt sich in einem G-Protein vermittelten Wachstum, des intrazellulären cAMP-Levels, das wiederum die melanogenischen Enzyme reguliert [Jackson, 1994].

Das Agouti Protein hat eine hohe Affinität für die MC1-R und MC4-R, zeigt aber keine Auswirkungen auf den MC3-R und MC2-R. Interessanterweise entwickeln Mäuse mit einer zielgerichteten Störung des MC4-R ein vergleichbares Adipositasyndrom, wie die A^{vy} Mäuse. Das ist durch das erhöhte skelettale Wachstum und dem gelben Fell erkennbar [Lu et al., 1994]. Das lässt vermuten, dass dieser

chronische Antagonismus des MC4 - R durch das Agouti Protein ein zentraler Mechanismus im Agouti - induzierten Adipositas - Syndrom ist.

Wir wissen, dass der Melanocortinrezeptor Antagonismus in den peripheren Geweben zu Adipositas führt, obwohl die Gewebeverteilung des MC4 - R für die Mäuse noch nicht bestätigt wurde. Der Agouti Antagonismus des MC1 - R ist nicht signifikant für die Entwicklung der Adipositas, weil die chronische agouti Expression in der Haut zu gelbem Fell führt, jedoch zu keiner Körpergewichtsveränderung, oder zur Hyperglykämie. Die MC3 - R und MC2 - R Rezeptoren bleiben potentielle Ziele für das Agouti Protein in den peripheren Geweben. Die Charakterisierung der molekularen Ätiologie des „yellow obese“ Syndroms ist potentiell nützlich für die humanen Adipositas Studien. Das humane Homolog des agouti Gens, ist zu 80% ident mit dem murinen agouti Gen [Miltenberger et al., 1997].

Der MC4 - R wird im Gehirn exprimiert und involviert mehrere Regionen im Hypothalamus, die an der direkten Regulation des Körpergewichts beteiligt sind [Lu et al., 1994].

Mutationen im humanen MC4 - R, sind ebenfalls mit Übergewicht assoziiert, was die Bedeutung dieses Rezeptors als Ansatz der Adipositas therapie unterstreicht. Die MC4-R - Aktivität beeinflusst die Mahlzeitengröße und Nahrungsauswahl, und die Ernährung beeinflusst die Effektivität des MC4 - R Agonisten, um dadurch die Nahrungsaufnahme zu reduzieren [Adan et al., 2006].

6.3 Das „yellow obese“ Maus - Syndrom

Das Versagen der epigenetischen Unterdrückung des A^{vy} Gens führt dazu, dass das agouti Gen im späteren Leben ektopisch exprimiert wird. Der hohe Level der agouti Expression verursacht stromabwärts mehrere metabolische und endokrine Effekte, die große biologische Endpunkte, sowie die Adipositasentwicklung beeinflussen. Die Agouti Überexpression und dessen physiologische Effekte werden „yellow obese“ Maus - Syndrom genannt [Cooney et al., 2002].

Die Rolle des agouti Gens im „yellow obese“ - Syndrom umfasst viele pleiotrope Effekte wie: gelbes Fell, Adipositas, Hyperinsulinämie, Insulinresistenz, Hyperglykämie, erhöhtes Skelettwachstum und magere Körpermasse [Miltenberger et al., 1997].

Das „yellow obese“ Maus - Syndrom äußert sich durch Diabetes und einer höheren Krebsanfälligkeit, im Alter von 24 Monaten [Cooney et al., 2002].

Die größte offensichtliche Abnormität, abgesehen von der gelb - orangenen Fellfarbe ist, dass die Adipositas ihren Höhepunkt zwischen 8 - 17 Monaten erreicht [Miltenberger et al., 1997]

Zusätzlich zur Adipositas und Diabetes haben die A^{vy} Mäuse ein höheres Risiko Hyperplasie oder Neoplasie zu entwickeln [Klebig et al., 1995].

Obwohl die yellow agouti Mutanten eine höhere Motivation zur Nahrungsaufnahme wie ihre schlanken Geschwister haben, ist ihr Sättigungsmechanismus intakt [Bray und York, 1979].

Die molekulare Basis dieses Syndroms wird immer mehr aufgedeckt, und spielt eine Rolle bei der Adipositas- und Diabetesentwicklung beim Menschen. Verschiedene Experimente haben gezeigt, dass der Hypothalamus und das Fettgewebe die biologisch aktiven Zielstellen für das agouti Gen in der "yellow obese" - Mutantenlinie sind [Miltenberger et al., 1997]

Hepatische Lipogenese Raten sind sechsmal höher in A^{vy} Mäusen, als in den altersgleichen Kontrollmäusen [Johnson und Hirsch, 1972].

6.3.1 Hypothesen für die Entstehung des „yellow obese“ Maus - Syndroms

Eine Hypothese für die Rolle des agouti Gens im „yellow obese“ Maus Syndrom ist, dass es aufgrund der ubiquitären Expression in Mutanten die Signaltransduktion antagonisiert, die durch die Melanocortinrezeptoren vermittelt werden [Michaud et al., 1997].

Eine zweite These für den agouti Mechanismus im Adipositassyndrom ist das, dass Agouti Protein auf die Ionenkanäle zielt, und dadurch ein Anstieg des intrazellulären freien $[Ca^{2+}]$ verursacht wird [Michaud et al., 1997].

Weder die moderate Fresssucht noch die verminderte Thermogenese die in den A^y - und A^{vy} Mäusen beobachtet wurden, ist für das „yellow obese“ Maus - Syndrom verantwortlich. Stattdessen wurde vorgeschlagen, dass die gesteigerte Effektivität mit der sie ihre Kalorien verbrauchen, die Ursache des Adipositassyndroms ist. Die A^{vy}

Mäuse sind geübt, ihre aufgenommenen Kalorien als Fett zu speichern, als sie mit Aktivität und der Erhaltung der Körperwärme zu verbrauchen [Yen et al., 1994].

Verschiedene Studien unterstützen die These, dass die ektopische Expression des Agouti Proteins, eine Reaktion auf die Veränderungen in der Nahrungszusammensetzung und die Nahrungsverwertung ist [Frigeri et al., 1988].

„Yellow obese“ Mäuse zeigen einen Anstieg um 10% im skelettalen Längenwachstum und in der Muskelmasse. Diese Beobachtungen führen zu der Hypothese, dass das agouti Gen möglicherweise einen nachahmenden Effekt der Wachstumshormone bewirkt, aber ein kausaler Zusammenhang zwischen Wachstumshormonen und der Adipositas, wurde schon vor langer Zeit ausgeschlossen [Wolff, 1965].

Adipöse gesprenkelte gelbe A^{vy}/a F1 Hybriden unterscheiden sich von ihren schlanken pseudoagouti A^{vy}/a und ihren schwarzen a/a Geschwistern in bestimmten Immunantworten, wie z.B.: in einer erhöhten Antikörper Antwort auf die T - abhängigen immunogenen Tetanus - Toxine, einer verstärkte Antikörperantwort auf die T-unabhängigen immunogenen Typ III pneumococcalen Polysaccharide, den erhöhten Raten der Kohlenstoff Freisetzung und einem erhöhten IgA - Spiegel. Der Fakt, dass die „yellow obese“ - Mäuse sich von den schlanken pseudoagouti und schwarzen schlanken Mäusen in diesen Immunantworten unterscheiden, lässt daraus folgern, dass diese Veränderungen möglicherweise direkt oder indirekt, in Verbindung stehen, mit dem adipösen Phänotyp mehr, als mit dem ektopischen agouti Protein an sich. Die Möglichkeit, dass das ektopische Agouti Protein möglicherweise direkt die Immunantwort beeinflusst, kann nicht ausgeschlossen werden, und weitere Studien sind notwendig um einen eventuellen Zusammenhang herzustellen. Obwohl Leptin, das Agouti Protein und die Melanocortinrezeptoren alle mit der Immunfunktion verbunden sind, braucht ihre gegenseitige Beziehung eine genauere Definition[Wolff et al., 1999].

Weil gelbe agouti Mäuse ein erhöhtes somatisches Wachstum aufweisen, scheint es paradox, dass die Wachstumshormonspiegel in gelben A^{vy}/a Mäusen während des Tages niedriger sind, mit einer kleinen Indikation auf den diurnalen Rhythmus. Im Gegensatz dazu zeigen die schwarzen a/a eine diurnale Fluktuation in der Wachstumshormonkonzentration [Mendel, 1980].

Der dominante pleiotrope Effekt des „yellow obese“ Maus - Syndroms wird durch die ektopische Expression hervorgerufen. Molekulare Analysen dieser und zahlreicher anderer dominanter „obese yellow“ a-locus Mutationen beweisen, dass die ektopische Expression des normalen Agouti Proteins diesen komplexen pleiotropen Phänotyp hervorruft [Klebig et al., 1995].

6.3.2 Insulin und Leptin

Die „yellow obese“ Mäuse sind hyperinsulinämisch und hyperleptinämisch, darum wird vermutet, dass das agouti Gen die Leptinsekretion direkt beeinflussen kann. Leptin ist ein Hormon, und wird durch das Fettgewebe sekretiert. Leptin agiert u.a. als Appetitzügler, reduziert das Körpergewicht, erhöht die sympathische Aktivität und den arteriellen Druck [Correia et al., 2002].

Ab einem Alter von sechs Wochen ist die Hyperinsulinämie der A^{vy} - Mäuse offensichtlich, im Vergleich mit Lep^{ob} - und Lep^{ob} - Mäusen. Die in den A^{vy} - Mäusen auftretende Hyperinsulinämie, trägt zur Entwicklung der Adipositas, sowie zur anderen Symptomen des pleiotropen Syndroms bei [Miltenberger et al., 1997].

Die adipösen Agouti Mäuse sind resistent gegenüber den anorexigen Effekten und dem Gewichtsverlust von Leptin, obwohl sie keine Mutationen im Leptinrezeptorgen haben [Halaas et al., 1997].

Die Hypertonie in den Agouti Mäusen, führt man auf die Hyperleptinämie zurück. Eine leptininduzierte Erhöhung der Nahrungsaufnahme und der Körpergewichtsteigerung wurde festgestellt, aber hauptsächlich in den schlanken Geschwistern der Agouti Mäusen. Leptin verursachte eine dosisabhängige Suppression der Nahrungsaufnahme und einen Gewichtsverlust in schlanken Tieren. Die A^{vy} - Mäuse haben einen höheren arteriellen Druck, als ihre schlanken Geschwister [Correia et al., 2002].

Die Insulinspiegel der gelben agouti Maus sind im Alter erhöht, aber nicht in den schwarzen Mäusen. Viele, wenn nicht die meisten der Unterschiede zwischen den adipösen gesprenkelten und schlanken pseudoagouti $A^{vy/a}$ Phänotypen resultieren zweifelsfrei aus den physiologischen Veränderungen, die mit der Hyperinsulinämie und der Adipositas verbunden sind [Wolff et al., 1999].

6.4 Transgenerationale Vererbung

Die Ernährung während der frühen Phase der Entwicklung kann die DNA - Methylierung an spezifischen loci beeinflussen, dass führt zu einer permanenten Veränderung der Genexpression und der CpG – Methylierung. Dies wurde zuerst beim murinen agouti „viable yellow“ - locus demonstriert [Waterland, 2009].

Wie schon, in den vorigen Kapitel besprochen, sind die A^{vy}/a Mäuse größer, adipös, hyperinsulinämisch, krebsdisponierter, leben kürzer als ihre braunen Geschwister, und sind epigenetische Mosaik, die von einem gelben Phänotyp mit einer maximalen ektopischen Überexpression, bis zu einem gesprenkelten agouti/gelben Phänotyp mit partialer agouti Überexpression, zu einem pseudoagouti Phänotyp mit einer minimalen ektopischen Expression variieren [Wolff et al., 1998].

Durch Fütterung von schwangeren schwarzen a/a Stämmen mit einer methylsupplementierten Diät, wurde die epigenetische Regulierung der agouti Expression der Nachkommen in die Richtung des pseudoagouti Phänotyps verändert. Das war ein Beweis dafür, dass die epigenetischen Phänotypen maternal vererbt werden können. Obwohl bekannt ist, dass die A^{vy} Expression durch Imprinting moduliert wird, wird die Expression auch durch die maternale Ernährung beeinflusst. Diese Beobachtungen lassen in diesem speziellen Fall darauf schließen, dass die mütterliche Diätsupplementierung die Gesundheit und die Langlebigkeit der Nachkommenschaft positiv beeinflusst [Wolff et al., 1998].

Der epigenetische Phänotyp beeinflusst nicht nur die epigenetische Vererbung in den A^{vy}/a Genotyp, sondern überträgt auch das Potential für die multigenerationale Vererbung der epigenetischen Charakteristika.

Die erste Aufzeichnung, über den Effekt von diätetischen Methylsupplementen, auf das Imprinting und die spezifische Genexpression stammt von Wolff et al., (1998).

Wolff et al., (1998) erbrachten den Beweis, dass der epigenetische Phänotyp der A^{vy} Maus maternal vererbbar ist, z.B.: produzieren pseudoagouti Stämme mehr pseudoagouti Nachwuchs, als gelbe Stämme gelben, phänotypischen Nachwuchs erzeugen. Wenn das A^{vy} - Allel vom Vater abgeleitet ist, häuft sich der pseudoagouti

Phänotyp der Nachkommen, d.h. das agouti Gen wird nur teilweise imprintet. Die Ergebnisse beweisen auch, dass die methytreiche Diät, die IAP - Expression moduliert.

Der Phänotyp der Nachkommen wird vom Phänotyp der Mutter beeinflusst, Mütter mit gelbem Fell haben mehr Nachkommen mit gelbem Fell, als Mütter mit einer Agouti - Fellfarbe.

Die Haarfollikel der Agouti Maus zeigen eine inverse Korrelation zwischen dem Grad der Eumelaninsprenkelung und der Entwicklungsphase, in der das A^{vy} - IAP in den betreffenden Zellen epigenetisch herunterreguliert wird, z.B.: Wenn das IAP durch Methylierung nach unten reguliert wird, produziert der ganze Klon Eumelanin, ausgenommen ist die normale gelbe Band Produktion. Die epigenetische Regulierung der A^{vy} - Expression findet während der Gametogenese und der Entwicklung statt (Abb. 10) [Wolff et al., 1998].

Die A^{vy} - Expression wird zum Teil maternal vererbt. Man nimmt an, dass entweder die epigenetischen Informationen erhalten bleiben, oder während der Gametogenese akkumuliert werden. Dieser maternale Einfluss ist ein Beweis für die Modulierung der Expression des paternalen A^{vy} Allels durch den maternalen Genotyp. Paternale Phänotypen (gelb oder pseudoagouti) haben kaum bis keinen Effekt auf den Phänotyp des Nachwuchses, wobei der maternale Genotyp und der Phänotyp große Effekte ausüben. Die Studie von Wolff et al., (1998) zeigte, dass der maternale Einfluss auf die Expression, stark durch die mütterliche Diät beeinflusst wird, die unabhängig vom Genotyp ist [Wolff et al., 1998].

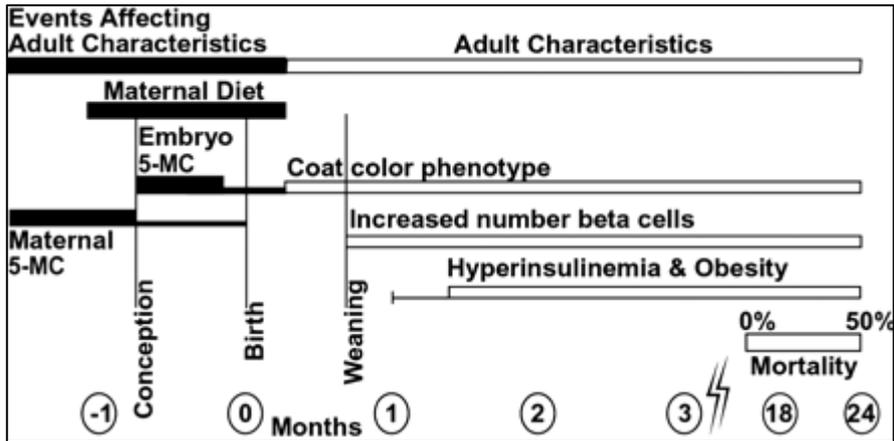


Abbildung 10 Zeitstrahl der Methylierungsveränderungen am agouti locus und deren phänotypische Konsequenzen In den Kreisen sind die Monate angegeben. Der pränatale Status, wie die maternale Ernährung und das maternale 5-MC, beeinflusst das 5-MC des Embryos/Fötus/Neugeborene zwischen der Empfängnis (- 3 w) und einer Woche nach der Geburt. Diese frühen Ereignisse haben lebenslange Konsequenzen. Der Ausfall einer passenden Methylierung des A^{vy} - Allels während der Entwicklung mündet im „yellow obese“ Maus - Syndrom, dass mit Adipositas und Diabetes verknüpft ist, und führt mit 24 Monaten zu einer erhöhten Mortalität, im Vergleich mit einem stark methylierten A^{vy} - Allel. Es gibt einen Bruch in der Zeitskala zwischen dem dritten und 18 Monat. 5-MC: 5 Methyldeoxycytidin [Cooney et al., 2002].

Durch die Nahrungssupplementierung trächtiger Mäuse mit Metaboliten bzw. Kometaboliten des 1 - Kohlenstoffstoffwechsels wie Folat, Vitamin B_{12} , Vitamin B_6 , Cholin und Betain, verlagert sich die Fellfarbe der Nachkommen des $A^{vy/a}$ Genotyps, hin zum wildfarbenen (pseudoagouti) Phänotyp. Füttert man gelbe, dicke Agouti Mäuse während der Schwangerschaft mit Methylgruppendonatoren bringen sie braune, gesunde Nachkommen zur Welt, da mit Hilfe der methylldonorreichen Ernährung eine A^{vy} - Hypermethylierung induziert wird. Daraus kann man schließen, dass die Ernährung in der Schwangerschaft den Aktivitätszustand bestimmter Gene in den Nachkommen, beeinflusst [Cropley et al., 2006].

Die Agouti - Mäuse besitzen ein Gen für eine starke Prädisposition für Adipositas, Diabetes und Krebs. Alles spricht dafür, dass hier eine primäre Epimutation vorliegt, die durch Ernährung rückgängig gemacht wird und so ins epigenetische Gedächtnis überführt wird. Die Hypomethylierung ist assoziiert mit der ektopischen Genexpression und einer gelben Fellfärbung. Die Hypermethylierung korreliert mit der normalen Agouti - Expression was in einer Agouti Fellfärbung resultiert. Mäuse mit gelb - braun geschecktem Fell repräsentieren Mosaik für die ektopische Expression (Abb. 11, Abb. 12).

Im Falle der Agouti Mäuse spielen die maternalen Effekte keine Rolle.

DNA - Analysen der Allele der pseudoagouti Nachkommen ergaben, dass durch die Supplementierung während der Trächtigkeit die CpG's in einem wichtigen genregulatorischen Element des A^{vy} - Allels methyliert werden, welche die Regulierung der Expression des Agouti - Gens beeinflussen. Diese nährstoffabhängige, epigenetische DNA - Methylierung erfolgt in einer frühen Phase der Embryonalentwicklung [Waterland und Jirtle, 2003].

Der epigenetische Status des A^{vy} - Allels, wird durch in utero Modulation beeinflusst, aber nur wenn das paternale A^{vy} Allel vererbt wird. Die Fütterungsstudie von Cropley et al., (2006) folgerte, dass eine Supplementierung mit Methylendonatoren den epigenetischen Status des A^{vy} - Allels beeinflusst. Dieser Effekt wird nur für eine weitere Generation stabil weitervererbt, ohne eine weitere Exposition mit Methylendonatoren.

Die Methylendonatorsupplementierung verschiebt das Spektrum der Fellfarbenphänotypen des A^{vy} - Allels in Richtung des epigenetisch unterdrückten Status der pseudoagouti genannt wird. Diese Veränderung korreliert mit einer erhöhten Cytosinmethylierung im A^{vy} - Allel und beweist dessen Beeinflussbarkeit durch bestimmte Umweltfaktoren. Cropley et al., (2006) gelang es in der Studie nicht, eine transgenerationale Vererbung nachzuweisen. Das Ergebnis sagt aus, dass die Herkunft der Genvariante bestimmt, ob das Transposon still gelegt wird oder nicht [Cropley et al., 2006].



Abbildung 11 Der A^{vy} Phänotyp modifiziert nach [Cropley et al., 2006]

Die A^{vy} Phänotypen werden eingeteilt von 1 - 5, basierend auf ihrer Fellfarbe. Komplet gelbe Mäuse bewertet man mit 1, und ganz agoutifarbene Mäuse mit 5. Die Mosaikphänotypen schwanken

von hauptsächlich gelb (2) bis zu gelb gesprenkelt/agouti (3) zu hauptsächlich agouti (4).

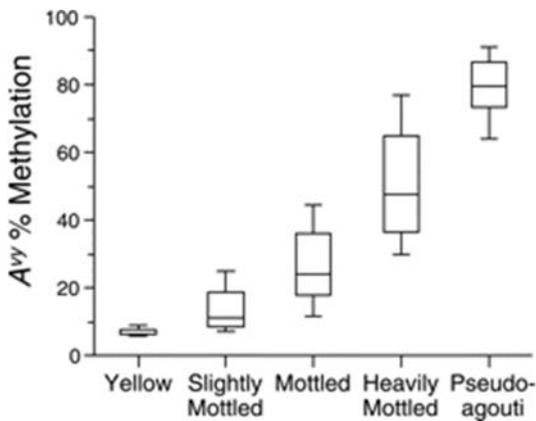


Abbildung 12 Das A^{vy} Allel als Stellvertreter der Fellfarbe modifiziert nach [Waterland et al., 2007]. Der Box-Plot der durchschnittlichen A^{vy} Methylierung vs. Fellfarbenklassifikation in den $A^{vy/a}$ Mäusen. Schnurrhaare zeigen eine 5-9 Perzentile, die Boxen zeigen eine 25 -75 Perzentile, und die horizontale Linie zeigt den Medianwert jeder Kategorie. Es gibt keine Gemeinsamkeiten der durchschnittlichen A^{vy} -Methylierung zwischen den Mäusen, die als slightly mottled und jenen die als heavily mottled klassifiziert werden.

In einer weiteren drei Generationen - Fütterungsstudie von Waterland et al., (2007) wurde kein kumulativer Effekt aufgrund der Supplementierung mit Methylendonatoren auf die Fellfarbe durch die Generationen beobachtet. Wenn der durch die Methylendonatoren modifizierte Methylierungsstatus vererbt wird, so müssten sich rein theoretisch die Effekte kumulieren, sodass der Anteil der gesunden Tiere von Generation zu Generation zunimmt, jedoch wird der nahrungsinduzierte A^{vy} Status, nicht transgenerational durch die Weibchen übertragen. Die Ergebnisse lassen nur vermuten, dass in der weiblichen Keimbahn eine nahrungsinduzierte

Hypermethylierung auftritt, aber keine weiteren epigenetischen Modifikationen stattfinden, die normalerweise den epigenetischen Status auf die weiteren Generationen übertragen würden [Waterland et al., 2007].

Cropley et al., (2006) waren der Meinung, dass der modifizierte epigenetische Status durch die Keimbahn transgenerational vererbt werden kann, Waterland et al., (2007) widersprach der Hypothese, weil seine Resultate keine transgenerationale Vererbung zeigten, da sie nur auf die erste Generation sichtbar übertragen wurde. Diese unterschiedlichen Ergebnisse lagen vermutlich am anderen Studiendesign, sowie am initialen Status des A^{vy} Allels, der in beiden Studien unterschiedlich war [Waterland et al., 2007].

Die durch die Methylendonatoren induzierte Verlagerung der Fellfarbenverteilung ist das Ergebnis der gesteigerten DNA - Methylierung an den CpG-sites im upstream IAP - Element. Die Methylierungsprofile an der CpG-sites ähneln sich im ektodermalen-, endodermalen- und mesodermalen Gewebe. Das belegt, dass die Methylierungsprofile in Antwort auf die Methylsupplementierung, bereits vor der embryonischen Stammzellendifferenzierung etabliert werden. Diese epigenetischen Veränderungen, sowie die Menge an Methylierungen im Gewebe sind stabil. Die Effekte der mütterlichen Methylendonatoren Diät, auf die Fellfarbenverteilung im A^{vy} Nachwuchs kann auch an die zweite Generation, durch die Keimbahn vererbt werden [Jirtle und Skinner, 2007].

Cooney et al., (2002) wollten festzustellen, ob die maternale Methylendonatorsupplementierung (Abb. 13) die DNA - Methylierung und den methylierungsabhängige epigenetische Phänotypen im Nachwuchs erhöht, aufgrund dessen wurden der Phänotyp und die DNA - Methylierung am Long terminal Repeat (LTR) des IAP's untersucht. Die gewonnenen Ergebnisse, deuten drauf hin, dass die Methylsupplemente den Level der DNA - Methylierung im agouti LTR erhöhen, und so den Phänotyp des Nachwuchses in die gesündere Richtung verschieben, und auch die Langzeitgesundheit beeinflussen.

Conney et al., (2002) fanden heraus, dass es eine weite Distribution der epigenetischen Variationen in der Mäusepopulation gab. Die Verteilung tendierte zu den Phänotypen

mit mehr agouti Farbe, (kombinierte schwarze und gelbe Pigmente in den Haaren) wenn Methylendonatoren der Nahrung zugefügt wurden. Die Resultate zeigen einen starken Effekt der mütterlichen Ernährung auf die Methylendonatoren, und das diese epigenetischen Phänotypen stark mit der LTR - DNA - Methylierung korrelieren.

Des Weiteren zeigten Cooney et al., (2002), in dieser Studie eine Verschiebung, in der Verteilung der epigenetischen Variation in der Nachkommenschaft. nach einer mütterlichen Methylsupplementierung. Daraus kann man schließen, dass man die Verteilung der Gesundheitsvariationen in den Populationen verschieben und verbessern kann. Eine ungenügende Methylierung im Genom führt zu Krankheiten beim Menschen und bei Mäusen, und auch zu einer verminderten Überlebenschance [Cooney et al., 2002].

Cooney et al., (2002) und Wolff et al., (1998) erbrachten Beweise, dass das agouti Gen durch bestimmte Nahrungseinflüsse moduliert werden kann.

Zusammensetzung der MS und 3SZM maternalen Nahrungsmethylsupplemente ¹		
Nahrungskomponente	MS Diätsupplement/ kg	3SZM Diätsupplement/ kg
Cholin, g	5	15
Betain, g	5	15
Folsäure, mg	5	15
Vitamin B-12, mg	0.5	1.5
l-Methionin, g	—	7.5
Zink, mg	—	150

Abbildung 13 Zusammensetzung der MS und 3 SZM maternalen Nahrungssupplemente modifiziert nach [Cooney et al., 2002]. ¹Die oben genannten Supplemente wurden der NIH-31 Standarddiät hinzugefügt, um 1000 g der entsprechenden Nahrungssupplementierung zu entsprechen. MS: Methylsupplementierte Ernährung, 3 SZM: beinhaltet drei Mal mehr Methylsupplemente, als die MS, zusätzlich werden noch Zink und Methionin hinzugefügt.

Wenn man nun Mäuse mit Nahrung füttert die es den Mäusen einfacher macht eines der beiden Allele neu zu methylieren damit, es nicht mehr aktiv werden kann, wird häufiger

das mutierte Gen aktiv sein, als bei Mäusen, die dieses Futter nicht erhalten haben [Wolff et al., 1998].

Spezielles Interesse der Wissenschaftler gilt der Studie von Weaver et al., (2005) die besagt, dass die epigenetische Reprogrammierung durch die Umwelt, auch nach der Geburt beeinflusst werden kann. Die Veränderungen die am epigenetischen Level beobachtet wurden, könnten aus der Veränderung der Transkriptionsmuster resultieren, die durch andere Events initiiert wurden, wie z.B.: die hormonale Konsequenz von Stress. In diesem Fall verschiebt sich die Fellfarbe auch in Richtung der agoutifarbenen [Weaver et al., 2005].

Die molekulare Natur der vererbaren Markierung ist unbekannt, jedoch gibt es Beweise, dass nicht die CpG – Methylierung, sondern die Chromatinproteine oder RNA vererbt werden. Die epigenetische Vererbung dieser loci erscheint aufgrund eines seltenen Retrotranspositionsevents (IAP). Ob es menschliche Parallelen gibt ist unklar. Weitere Unterstützung für die Idee, dass einige epigenetischen Markierungen von Generation zu Generation erhalten bleiben, beruht auf der Entdeckung der paternalen Effekte in den Agouti - Mäusen [Chong et al., 2007].

Chong et al., (2007) berichteten über die paternalen Effekte in den Säugetieren, dass der nicht übertragbare Genotyp des Vaters den Phänotyp des Nachwuchses beeinflussen kann.

Durch die DNA - Methylierungsanalyse in vollentwickelten Gameten, Zygoten und Blastocyten stellte man fest, dass die maternal und paternal vererbten Allele unterschiedlich behandelt werden. Das paternal vererbte Allel wird schnell demethyliert, und das maternal vererbte Allel wird langsamer demethyliert. Folgt man der maternalen Transmission des Allels, findet in den Blastocyten keine DNA - Methylierung statt, was vermuten lässt, dass die DNA - Methylierung keine vererbare Markierung ist. Das maternale A^{vy} - Allel wird vor der Implantierung des Embryos komplett demethyliert. Die DNA - Methylierung am A^{vy} Allel wird nicht, während der primordialen Keimzellenentwicklung reprogrammiert [Blewitt et al., 2006].

Cropley et al., (2006) nimmt an, dass die Epimutationen aus Umweltveränderungen entstehen und nicht nur die erste Generation, sondern auch die zweite betreffen.

Das Gewicht der un-supplementierten Mütter, und die des Nachwuchses korrelierten signifikant, und äußerten sich in einem signifikanten transgenerationalen Anstieg der Adipositas. Dieser Effekt konnte durch Methylendonatoren verhindert werden [Waterland et al., 2009].

Waterland et al., (2008) nimmt an, dass es möglich wäre, aufgrund der Methyl donorsupplemente, über mehrere Generationen hinweg, eine kumulative A^{vy} Hypermethylierung zu verursachen, das in Folge zu einem Silencing der zur Fettsucht neigenden A^{vy} Allele führt [Waterland et al., 2008].

Die Ergebnisse, die aus den transgenerationalen Studien gewonnen wurden, sind nicht ohne weiteres auf den Menschen zu übertragen, da die Generationszeit des Menschen wesentlich länger, als die der Mäuse ist. Unbestreitbar sind jedoch die positiven Effekte, der Methylendonatoren, auf die erste Generation des Nachwuchses. Dass die gegenwärtige Ernährungssituation einen Einfluss auf unsere Enkel haben kann, wurde schon bewiesen. Jedoch ist die nahrungsinduzierte Vererbung nur durch die männliche Keimbahnlinie vererbt worden [Kaati et al., 2002].

Methylgruppen werden nicht von einer Generation auf die andere weitervererbt. Das bedeutet, dass das Methylierungsmuster der Mutter nicht dem des Nachwuchses entspricht. Jedoch gibt es keinen Zweifel, dass Methylendonatoren den epigenetischen Status der Gene verändern. Weitere Forschungen fokussieren sich auf die Untersuchung der posttranslationalen Histonmodifikationen, und ob diese alleine oder in Kombination die Chromatinstruktur, die genomische Stabilität und die Genexpression beeinflussen können. Weiteres forscht man im Bereich epigenetischen Prozesse, die durch die Ernährung moduliert werden können [Delage und Dashwood, 2008].

Die Herausforderung der Epigenetik ist die Identifizierung der humanen metastabilen Epiallele [Waterland, 2009].

6.5 Agouti - related - Peptid

Das Menschliche Ortholog des Agouti Proteins, das hAGRP (humane Agouti – related - Peptid) konnte isoliert werden, und weist ähnliche molekulare und physiologische Eigenschaften wie das murine AGRP auf [Brown et al., 2001].

Das menschliche Homolog des agouti Gens wird im Fettgewebe und im Pankreas exprimiert, und ist zu 85 % ident mit dem murinen Agouti Protein. Es codiert ein Protein, von 132 Aminosäuren, mit einem übereinstimmenden Signalpeptid [Kwon et al., 1994].

Das AGRP ist ein endogener Melanocortinrezeptor, und hat Ähnlichkeit mit dem Agouti Protein, obwohl ihre Verteilungsmuster komplett unterschiedlich sind. [Bultman et al., 1992].

Das menschliche Ortholog befindet sich auf Chromosom 16q22 und hat ähnliche physiologische Wirkungen, was durch Tierstudien bestätigt wurde [Argyropoulos et al., 2002].

Das humane AGRP ist ein relativ kurzes Gen, das 1.1 kb umfasst. Es besteht aus vier Exonen (ein 5' - nicht - codierendes und drei codierende Exone). Das AGRP beinhaltet neun Cysteinstellen in den konservierten Regionen, welche die Disulfidbrücken formen [Ilnytska und Argyropoulos, 2008].

Das murine AGRP (Agouti - related - Protein) ist in adipösen und in diabetischen Mäusen hochreguliert und stimuliert Hyperphagie, wenn es intracerebroventrikulär appliziert wird, oder wenn es in transgenen Mäusen überexprimiert wird [Brown et al., 2001].

Um das humane agouti Expressionsmuster in den Mäusen nachzuahmen, wurde eine transgene Maus (aP2-agouti) die das Agouti Protein im Fettgewebe exprimiert, erzeugt. Diese transgenen Mäuse entwickelten eine milde Form der Adipositas und reagierten sensibel auf die Insulinaktionen. Die aus der Studie gewonnenen Daten demonstrieren, dass das agouti Gen potente Effekte auf das Fettgewebe hat, vermutlich erhöht das agouti Gen die Adipositasanfälligkeit und fördert die Insulinsensibilität via PPAR- γ [Mynatt et al., 1997].

Es wurden putative Bindungsstellen für die Transkriptionsfaktoren im Promotor des Gens identifiziert, wie auch die Wiedererkennungsstellen für die Signaltransduktoren und Transkriptionsfaktoren (STAT) was potentiell Leptinaktionen im Hypothalamus hervorrufen könnte. Das mAGRP ist ein Appetiteffektor und wird überwiegend im Hypothalamus exprimiert [Brown et al., 2001].

Das AGRP vermittelt eine diabetischen Hyperphagie und diese Expressionslevel könnten durch Insulin reguliert werden. Das AGRP wird durch Leptin herunterreguliert, und seine antagonistische Rolle bei den MC3 - R und MC4 - R kann das Fütterungsverhalten signifikant beeinflussen. Das AGRP nimmt Einfluss auf die Kalorieneinnahme und auf die Lebensmittelauswahl [Brown et al., 2001].

Das mAGRP ist im Hypothalamus co - lokalisiert und exprimiert das Neuropeptid-Y (NPY) [Brown et al., 2001].

In transgenen Mäusen ist die Überexprimierung von mAGRP ein ernster Beleg für die Adipositas [Brown et al., 2001].

Das hAGRP wurde bis jetzt nur partiell sequenziert und präsentiert zwei alternativ exprimierte Transkripte im Nukleus arcuatus und im peripheren Gewebe. Die zwei gewebsspezifischen Transkripte unterscheiden sich beim 5´ - nicht translierten Exon. [Brown et al., 2001].

Das hAGRP wird im Nukleus arcuatus, in den Hoden und der Nebenniere exprimiert [Argyropoulos et al., 2002].

Die Humanen und murinen AGRP - Expression Profile weisen ein prädominantes Transkript im Hypothalamus auf, den subthalamischen Nukleus, und ein kürzeres Transkript der die 5´ - nicht codierende Region in der Nebenniere fehlt. Obwohl es bis jetzt unklar ist ob diese Transkripte vom differentiellen Splicen oder von zwei unabhängig regulierten Promotoren stammen, das 5´ - untranslierte Exon hat eine signifikante Promotoraktivität in den peripher abgeleiteten Zelllinien. Die N-terminalen Teile des AGRP können nicht an die Melanocortinrezeptoren binden, und könnten daher einen signifikanten Effekt auf die Energiebalance haben [Inytska und Argyropoulos, 2008].

Der im dritten Exon des hAGRP auftretende Polymorphismus, der C. 199 → A Polymorphismus resultiert in einer nichtkonservierten Aminosäuresubstitution, dem Ala⁶⁷Thr. Der C. 199 → A Polymorphismus im hAGRP könnte eine Rolle in der Entwicklung von altersabhängiger Adipositas beim Menschen spielen. Leptin reguliert die AGRP Expression herunter, das hAGRP kann selbst ein negativer Regulator der Leptinfunktion sein. Die Carboxyregion kann aktiver sein als die anderen Regionen des Proteins. Die synthetische Isoform von hAGRP beinhaltet eine 46 Carboxyl -

cysteinreiche - Sequenz (hAGRP -(87-132)) und ist in der Lage, die Melanocortinrezeptoren MC3-R und MC4-R und MC5-R effektiv zu binden, sowie die Bindung von α -MSH zu verhindern [Argyropoulos et al., 2002].

Es wurde gezeigt, dass der C.199→A Polymorphismus die Sekundärstruktur des Proteins beeinflusst, und dass der G/G Genotyp signifikant mit der menschlichen altersabhängigen Adipositas assoziiert ist. Er könnte einen wichtigen diagnostischen Marker für das Übergewicht in der kaukasischen Population darstellen [Argyropoulos et al., 2002].

Ein AGRP - Defizit führt zu einer erhöhten metabolischen Rate und einer längeren Lebensdauer, wenn die Mäuse eine fettreiche Diät konsumieren. Beim Menschen ist der AGRP - Polymorphismus mit der Resistenz des Übergewichts bei Schwarzen und Weißen verbunden, sowie der Hemmung der Entwicklung eines Diabetes mellitus Typ 2 bei afrikanischen Schwarzen [Ilnytska und Argyropoulos, 2008].

Systematisch verabreichtes AGRP akkumuliert in der Leber, der Nebenniere und im Fettgewebe, und suggeriert, dass das AGRP möglicherweise einen inversen agonistischen Effekt hat. Die Abwesenheit von AGRP oder dessen reduzierte Funktionalität bietet möglicherweise einen Vorteil hin zu einer negativen Energiebalance in einer zur Fettsucht neigende Umwelt. AGRP spielt eine wichtige Rolle in der Energiehomöostase, aufgrund seines Expressionsmusters und der physiologischen Effekte. Studien zeigten, dass die Neurone im Hypothalamus die AGRP exprimieren, essentiell für die Kontrolle der Energiehomöostase sind, daher ist das AGRP ein signifikanter Modulator der Energiebalance und ein Kandidatengenen für die humane Adipositas [Ilnytska und Argyropoulos, 2008].

Der minimale Promotor von hAGRP wurde charakterisiert, und zwei vermeintliche Bindungsstellen wurden für die Signaltransduktion und Transkriptionsaktivatoren identifiziert, die Bindungsstellen für die langen Isoformen der Leptinrezeptoren haben. Man glaubt das AGRP seine orexigene Funktion durch entgegenwirken der Reaktion von α - MSH und seiner Rezeptoren MC3 - R und MC4 - R einsetzt. Das passiert durch die Aktivierung von AGRP/Neuropeptid Y Neuronen, was in einer erhöhten Expression der zwei Neuropeptide resultiert. Im paraventriculären Nukleus blockieren erhöhte

Mengen an AGRP und Neuropeptid Y die Bindung von α - MSH an seine Rezeptoren MC4 - R, was zu einem gesteigerten Appetit und Nahrungsaufnahme führt [Argyropoulos et al., 2002].

Wie das NPY, wird die AGRP mRNA im hypothalamischen Nucleus arcuatus produziert, und ist in leptinresistenten db/db Mäusen, und leptindefizienten ob/ob Mäusen erhöht. Mizuno und Mobbs (1999) nahmen an, dass die AGRP mRNA durch Leptin und Ernährung beeinflusst werden kann. Um die Hypothese zu testen, dass die AGRP mRNA, wie die NPY mRNA durch Leptin inhibiert und durch Fasten stimuliert wird, führten sie eine Northern - Blot - Analyse der RNA und eine in situ Hybridisierung des Hypothalamus durch. Die Studie bewies, dass die AGRP mRNA durch Leptin inhibiert und durch Fasten stimuliert wird. Das stützt die These, dass die AGRP eine Rolle in der Körpergewichtsregulierung hat. Jedoch bedarf es weiteren Studien, die die Inhibierung des AGRP durch Leptins bestätigen [Mizuno und Mobbs, 1999].

6.6 Agouti - Signaling - Peptid

Obwohl es kein offensichtliches humanes Gegenstück der gebänderten Fellfärbung der Agouti Mäuse gibt, wurde das humane Ortholog des Agouti Proteins geklont. Die mRNA des ASIP's kommt in einer Vielzahl von Geweben vor: Fettgewebe, Testis, Herz, Leber und Niere. Jedoch bleiben die physiologischen Funktionen von ASIP im humanen Gewebe unklar [Yang et al., 2001].

Der Effekt von ASIP auf die Haarfollikelmelanozyten ist die erhöhte Produktion von Phäomelanin, und hilft dabei, die dorsoventrale Pigmentierung zu etablieren [Västermark et al., 2012].

Die funktionale Analyse des rekombinierten ASIPs, dem humanen Homolog des Agouti Proteins, induziert ein ähnliches pharmakologisches Profil. ASIP ist ein potenter Antagonist des MC1-R und MC4-R, und ein schwacher Antagonist des MC3-R. Der kompetitive Antagonismus von ASIP ist nur beim MC1-R offensichtlich. Es wurden zwei autosomale Mutationen mahogany (mg) und mahoganoir (md) identifiziert, die als natürliche Suppressoren der Agouti - Aktionen dienen. Beiden Mutationen ist es möglich, die Melanogenese von der Phäomelanin- auf die Eumelaninsynthese zu verschieben.

Mahogany unterdrückt nicht nur die Phäomelaninsynthese, sondern auch das agouti – induzierte Adipositasyndrom [Dinulescu und Cone, 2000].

Mahogany assoziiertes Agouti Protein, hat Immunfunktion, ist ein Homolog von Attrazin und wird durch aktivierte T - Zellen produziert. Das mahogany Gen ist wichtig für den Agouti - Antagonismus der Melanocortinrezeptoren [Nagle et al., 1999].

Das mahogany Gen produziert ein 1428 Aminosäureprotein mit einem C-terminalen Peptid [Pan und Kastin, 2007].

Die „late - onset“ Adipositas“ der A^{vy/a} Mäuse steht mit einer Überexpression des ASIP's in Verbindung. Mahogany moduliert die ASIP - Aktionen. Pan und Kastin (2007) testeten den Transport des Mahogany-Peptids durch die Blut-Gehirn-Schranke. Die im Gehirn stattfindende Aufnahme des Mahogany-Peptids war in jungen A^{vy/a} Mäusen signifikant höher. Die ASIP – Aktionen werden durch das mahogany/Attrazin Gen beeinflusst. Dessen Mutation, das Atrn^{mg} unterdrückt den Effekt der ASIP – Überexpression, sodass der mahogany – Rezeptor die Entwicklung von Adipositas verhindert. Im Alter von 1 - 7 Monaten gab es keine signifikanten Unterschiede im Körperfettanteil zwischen den A^{vy} - Mäusen und den Kontrollmäusen. Mit sieben Monaten war der Fettanteil nahezu ident. Mit einem Jahr wiesen die A^{vy} Mäuse einen erhöhten Fettgehaltsanstieg auf, währenddessen die Kontrollmäuse einen leichten Rückgang verzeichneten [Pan und Kastin, 2007].

Heterozygote Tiere, die das A^y - Allel tragen, sind nicht nur durch die gelbe Fellfarbe, sondern auch durch eine Spätform der Adipositas, die mit Hyperphagie assoziiert ist, charakterisiert. Genetische Analysen zeigten, dass das A^y das Ergebnis eines Chromosomenrearrangements ist, wo der Promotor am ersten nicht codierenden Exon mit dem Gen Raly vernetzt ist. Der chronische Antagonismus des MC1-R durch das Agouti Protein resultiert im gelben Fell, wohingegen der Agouti Wettkampf am MC4-R des Hypothalamus in der Adipositas endet [Dinulescu und Cone, 2000].

6.7 Agouti und die Fettsäuresynthese

Xue und Zemel (2000) haben gezeigt, dass das Agouti Protein die Lipogenese und Lipolyse reguliert, und die Fettspeicherung durch einen Ca^{2+} - abhängigen Mechanismus in vitro fördert, wodurch diese Mechanismen möglicherweise einen Effekt auf die Agouti induzierte Adipositas haben [Xue und Zemel, 2000].

Bis jetzt ist nur wenig über die agouti abhängigen physiologischen Funktionen im Menschen bekannt. In der Studie von Xue und Zemel (2002) wurde der Agouti Gehalt in den menschlichen reifen Adipocyten und Präadipocyten untersucht. Der Agouti Proteinspiegel in den menschlichen reifen Adipocytenzellen war fünf Mal höher, als in den Präadipocyten ($19,18 \pm 2,46$ in den Adipocytenzellen und $4,07 \pm 0,51$ pg/ μg Protein in den Präadipocyten). Das legt nahe, dass das Agouti Protein während der Adipocytendifferenzierung nach oben reguliert wird [Xue und Zemel, 2000].

Der Agouti Proteingehalt im humanen Fettgewebe variierte über das 10 fache zwischen den Individuen der Studie. Es wurde außerdem eine starke Korrelation zwischen dem humanen Agouti Protein Gehalt im Fettgewebe, und der FAS – Aktivität festgestellt, sowie auch eine Korrelation zwischen der humanen Fettgewebe mRNA- und FAS mRNA Level gezeigt [Xue und Zemel, 2000].

Durch die gewonnenen Daten nahmen Xue und Zemel (2002) an, dass das Agouti Protein möglicherweise einen zusätzlichen Adipocytenfaktor darstellt, der den Lipidstoffwechsel durch einen parakrinen/autokrinen Mechanismus modulieren kann. [Xue und Zemel, 2000].

Obwohl transgene Mäuse das Agouti Protein nur im Fettgewebe exprimieren werden sie nicht adipös und Hyperinsulinämie wurde nur durch eine tägliche Insulininjektion hervorgerufen [Mynatt et al., 1997].

Das humane agouti Gen wird im Fettgewebe exprimiert und rekombiniertes Agouti Protein stimuliert die Lipogenese in den Adipocyten in einer Ca^{2+} - abhängigen Art. Wie auch immer, Adipocyten spezifische agouti transgene Mäuse werden nur adipös in Anwesenheit von Hyperinsulinämie. Die intrazelluläre Ca^{2+} - Konzentration ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) ist ein primäres Signal für die Insulinfreisetzung. Das Agouti Protein erhöht das intrazelluläre Calcium in mehreren Zelltypen. Der Funktionen des agouti Gens in der Adipositas und Insulin Resistenz wurde noch nicht erläutert. Aber es wurde bewiesen,

dass das agouti Gen zellulären Funktionen wie Zell Ca^{2+} - Signal unabhängig vom Melanocortinrezeptor Antagonismus reguliert. Das Agouti Protein stimuliert beides: Die Expression und die Aktivität der FAS, ein Schlüsselenzym in der de novo - Lipogenese, und erhöht die Triglyceridakkumulation in einer Ca^{2+} - abhängigen Art. Weil das humane Homolog des Agouti im Fettgewebe exprimiert, hat es wahrscheinlich ähnliche parakrine Effekte auf die Adipocyten, stimuliert die de novo - Lipogenese, und fördert so die Adipositas. Es ist möglich, dass Hyperinsulinämie ein direkter Effekt der Agouti Aktion auf den Pankreas ist. In Kombination mit der Adipocyten agouti Expression ist es möglicherweise verantwortlich für das Adipositas Syndrom, das in Agouti - Mutanten gefunden wurde [Xue et al., 1999].

Das agouti Gen reguliert den Adipocytenstoffwechsel sowie die Lipogenese und Lipolyse [Jones et al., 1996].

6.8 Die Ca^{2+} - Hypothese

Eine alternative Hypothese für den Mechanismus des agouti Gens im Adipositas Syndrom, der nicht den Melanocortinrezeptor Antagonismus involviert, ist ein Anstieg der intrazellulären Calcium Konzentrationen. Ionisiertes Calcium wird in den Zellen reguliert, und ist ein gewöhnlicher Signaltransduktionsfaktor. Das carboxyterminale Ende des Agouti Proteins ist cysteinreich, Zahl und der Abstand der Cysteinstellen sind ähnlich im Aufbau wie die Invertebraten - Toxine, die auch die Ionenkanäle beeinflussen. Diese Beobachtungen schließen darauf, dass der C - Terminus des Agouti Proteins möglicherweise eine dreidimensionale Struktur formt, die ähnlich dieser Toxine ist. Neu kombiniertes Agouti Protein verursacht eine Erhöhung an Calcium in den Skelettmuskelmyocyten und Adipocyten durch Erhöhung des Ca^{2+} - Influxes, es ist nicht bekannt ob das Agouti Protein das erhöhte Ca^{2+} durch Signalrezeptoren, Melanocortinrezeptoren, oder direkt durch die Ionenkanäle stimuliert. Weil Calcium in den Zellen reguliert wird und als „second – messenger“ agiert, wird die Agouti induzierte Adipositas durch Veränderungen in den Ca^{2+} - Konzentrationen im peripheren Geweben, vermittelt [Dinulescu und Cone, 2000].

Das murine und das humane Agouti Protein zeigen, eine dosisabhängige Erhöhung des Ca^{2+} - Influx in den Adipocyten und in den β -Zellen. Daher scheint es, dass das Agouti

wie die Invertebraten Toxine, die intrazellulären Ca^{2+} Spiegel direkt beeinflusst, durch die Regulierung der Calcium - Kanäle [Dinulescu und Cone, 2000].

7 Krankheiten

Einige Krankheiten stehen mit der Epigenetik in Beziehung, man erhofft sich durch die komplette Erforschung der epigenetischen Mechanismen eine frühzeitige Therapieintervention. Eine Intervention in der frühen Entwicklungsphase ist sinnvoll, da die Demethylierung in der frühen Embryonalphase stattfindet.

Umwelteffekte und Ernährung modulieren die genetische Prädisposition von Krankheiten, und epigenetische Markierungen beeinflussen die Krankheitsphänotypen, durch ein direktes betreffen der Zielgene [Bjornsson et al., 2004].

7.1 Krebs

„Krebs wird definiert als eine bösartige Entartung einer Zelle, die durch aberrante Funktion keine normale Entwicklung durchlebt“ [Prawitt und Zabel, 2005].

Die Hauptmerkmale von Krebs sind veränderte genomische Muster und eine anormale Genexpression. Die epigenetischen Modifikationen spielen eine wichtige Rolle bei der Krebsinitiation. Die Umpolung epigenetischer Veränderungen könnte ein Ansatzpunkt für die Krebstherapie sein [Ellis et al., 2009].

Die Tumorgenese lässt sich in 3 Schritten einteilen: in die Initiation, Promotion und Proliferation. Während der Initiation ist die DNA das Ziel unterschiedlicher kanzerogener Noxen, die zur Bildung des Protoonkogens führen, und dann in ein Onkogen umgewandelt werden. Die epigenetischen Mechanismen der Transkriptionskontrolle sind an der Zelldifferenzierung und Proliferation beteiligt, und können über diese Wege in die Krebsentstehung und –Entwicklung eingreifen [Ellis et al., 2009].

Unter Epimutation versteht man die Störung molekularer Mechanismen, die für die Entstehung von Krankheiten verantwortlich gemacht werden. Sekundäre Epimutationen entstehen durch eine Veränderung der DNA - Sequenz [Horsthemke 2006].

1987 definierte Robin Holliday den Begriff der Epimutation, und versuchte damit das mangelhafte Erhalten des Epigenoms nach der Zellteilung zu erklären, das in einer Epimutation resultiert und der menschlichen Krankheitslast zugerechnet wird. Epimutationen können aus zufälligen Defekten entstehen, und die Erhaltung des epigenetischen Status während der Mitose nicht mehr gewährleisten, das bezieht sich auf zufällige Reprogrammierungen oder Umweltveränderungen. Primäre Epimutationen entstehen in Abwesenheit von genetischen Veränderungen. Sekundäre Epimutationen sind initiale genetische Veränderungen, die eine epigenetische Veränderung an einem Gen verursacht. Ethanolexposition, Methylendonatoren, Glukokortikoide, endokrine Disruptoren, sowie eine mangelhafte fetale Ernährung führen zu Krankheiten beim Menschen. Eine der frühesten Berichte über umweltinduzierte Epimutation involviert die A^{vy} - Form der Mäuse [Whitelaw und Whitelaw, 2008].

Veränderungen in den Methylierungsmustern führen zur Krebsentstehung. Eine abweichende DNA - Methylierung verursacht eine globale Hypomethylierung die mit einer regionsspezifischen Hypermethylierung in den Promotorgenen einhergeht. Dadurch kommt es zur Aktivierung von Krebsgenen. Eine globale Hypomethylierung verursacht eine Chromosomeninstabilität, und die Hypermethylierung zieht eine Funktionsminderung der Tumorsuppressorgene nach sich [Davis und Uthus, 2004].

Ein transkriptionelles Silencing durch die DNA - Hypomethylierung tritt in verschiedenen Malignomen auf [Bhalla, 2005].

Die Hypermethylierung der Promotorregionen ist assoziiert mit dem transkriptionellen Silencing, einem Mechanismus für die Inaktivierung der Tumorsuppressorgene in den menschlichen Krebszellen. Die abnormale Methylierung der Gene, die die Tumorgenese unterdrücken, erscheint schon in der frühen Tumorentstehung und wächst zunehmend [Davis und Uthus, 2004].

Abnormale Muster der DNA - Methylierung in Krebszellen sind schon lange bekannt [Brown und Strathdee, 2002]. Sie sind entweder das Resultat einer DNMT - Überexpression oder einer gestörten Rekrutierung [Ellis et al., 2009].

Histonmodifikationen spielen zweifelsfrei eine wichtige Rolle in der epigenetischen Deregulierung. Hauptsächlich konnte man die DNA - Methylierung und die

Acetylierung mit den pathologischen Störungen von Krebs assoziieren. Der Verlust der Acetylierung oder der DNA - Methylierung an den spezifischen Kernhistonen H3 und H4 wurden bereits als Tumormarker identifiziert [Fraga et al., 2005].

Diverse Klinische Studien ziehen eine Verbindung zwischen bestimmten bioaktiven Nahrungsmittelkomponenten, die krebsprotektive Effekte haben, und auch die DNA – Methylierungsmuster beeinflussen. Die Nahrungsfaktoren des 1 – Kohlenstoffstoffwechsels interagieren mit der DNA – Methylierung, indem sie das Methylgruppenangebot und den Methylierungsprozess beeinflussen [Davis und Uthus, 2004].

Bioaktive Nahrungskomponenten sind von Interesse im Gebiet der Epigenetik. Viele bioaktive Komponenten zeigen antikanzerogene Eigenschaften, und spielen möglicherweise eine Rolle in der Krebsprävention. Einige der Nahrungskomponenten haben epigenetische Ziele in den Krebszellen [de Kok et al., 2008].

Diese Nahrungsinhaltsstoffe sind vor allem Vitamin B₁₂, Vitamin B₆, Folat, Methionin und Cholin [Davis und Uthus, 2004].

Ein Folatdefizit kann eine DNA – Hypomethylierung verursachen [Jacob et al., 1998].

Erhöhte SAH - Spiegel inhibieren die Methyltransferaseaktivität und daher auch die DNA - Methylierungsreaktionen [Davis und Uthus, 2004].

Vitamin B₆ ist ein notwendiger Cofaktor für die Glycinhydroxymethyltransferase in der Synthese des 5,10 – Methylentetrahydrofolats [ROSS, 2003].

Das Problem mit der Idee, dass die Veränderungen der DNA - Methylierung dem Krebs unterliegen ist, dass sie bis jetzt weder in der Methylierungsmodifikation, noch in der Wiedererkennungsmaschinerie bei humanen Krebs identifiziert wurden [Feinberg, 2007].

Der Verzehr von bioaktiven Nahrungsmitteln könnte den epigenetischen Status verändern, wie die Genaktivität und das Silencing. Nahrungsmittel wie auch die nicht nutritiven Inhaltsstoffe von Früchten und verschiedenen Gemüsesorten können die epigenetischen Prozesse beeinflussen, und sind in Prozessen wie die Reaktivierung von Tumorsuppressorgenen, die Initiation der Apoptose, und in der Repression der Krebsverwandten Gene involviert [Hardy und Tollefsbol, 2011].

Bestimmte HDAC - Inhibitoren können effektive Krebstherapie Agenzien sein, und die Entwicklung einer epigenetischen Diät dient der Krebsprävention, z.B.: hat Kurkumin die Möglichkeit, die HAT's und HDAC's bei der Tumorgenese zu inhibieren. Folatdefizite fördern die Entwicklung von verschiedenen Krebsarten, wie in der Brust und in der Lunge [Hardy und Tollefsbol, 2011].

Eine cholinarme Ernährung, oder ein kombinierter Defizit an Cholin und Methionin erhöhen die Prävalenz des hepatozellulären Karzinoms [Cooney et al., 2002].

Genistein in Kombination mit DNA - Methylierungsinhibitoren oder anderen DNMT's kann die Reaktivierung der stillgelegten Gene verbessern [Li et al., 2009].

7.2 Adipositas

Adipositas ist ein weltweit anerkanntes Public Health Problem, und gilt als die meist prävalente metabolische Krankheit. Bei der Adipositas handelt es sich um eine chronische Erkrankung die durch das Wachstum der Fettspeicher charakterisiert ist, und anhand des BMI's (Body Mass Index) gemessen wird [James, 2008].

Der BMI ist definiert: $\text{Körpergewicht(kg)} / \text{Körpermaße im Quadrat (m}^2\text{)}$

Adipositas: BMI > 30

Übergewicht und Adipositas sind verantwortlich für 80% des Diabetes mellitus Typ 2 [Banegas et al., 2003].

Adipositas ist eine komplexe Krankheit mit gut definierten Risikofaktoren. Die Adipositas Prädisposition variiert von Mensch zu Mensch, und bietet eine Erklärung für Gen x Umweltinteraktionen in der Krankheitsätiologie. Diese Interaktionen entstehen durch diverse Umwelteffekte wie Rauchen, Sport und Ernährung, die sich auf ein Krankheitsmerkmal auswirken und vom Genotyp des Einzelnen abhängig sind [Franks und Ling, 2010].

Franks und Links (2010) nehmen an, dass es wahrscheinlich zwei Mechanismen gibt, die diese Gen x Umweltinteraktionen hervorrufen:

1. Der Genotyp reagiert auf die diversen Umwelteinflüsse mit unterschiedlichen Transkriptionsraten
2. Oder die epigenetischen Mechanismen, wie die DNA - Methylierung und die Histonmodifikationen modulieren die Gen x Umweltinteraktionen [Franks und Ling, 2010].

Beim Menschen sind 47 Fälle von monogener Adipositas beschrieben, bei denen 19 Mutationen auf sechs verschiedenen Genen eine Rolle spielen, und zu 60% weitervererbt wird. Diejenigen, am Gen für den Melanocortinrezeptor Typ 4, betreffen ca. 70% der monogenen Ausprägung der Adipositas [Rankinen et al., 2006].

Adipositas ist aber meist eine polygen verursachte Erkrankung, genetische Faktoren und Umwelteinflüsse tragen zur Entstehung und dem Verlauf bei. Aufgrund der Genvielfalt ist es schwer, die genetischen Mechanismen, die der Adipositas zu Grunde liegen, zu identifizieren. Die Epigenetik und die Forschung an Modellorganismen bieten eine Möglichkeit, die genetisch relevanten Mechanismen die zur Entstehung der Adipositas beitragen aufzuklären. Dank der Genomweitenassoziationsstudien wurden 40 loci identifiziert, die mit der humanen Adipositas verbunden sind. Der kombinatorische Effekt aller identifizierten loci zählt für ca. 2 – 3 % der vererbten Verteilung der Adipositas (40 – 70 %), das verdeutlicht die komplexe Struktur dieser Erkrankung. Epigenetische Modifikationen sind möglicherweise verantwortlich für die signifikante Verteilung der fehlenden Vererbbarkeit [Christensen und Marsit, 2011].

7.3 Diabetes mellitus Typ 2

Diabetes ist eine chronische Krankheit, in der der Körper nicht genug Insulin bildet. Diabetes mellitus Typ 2 ist die häufigste Diabetes Erkrankung weltweit, und entwickelt sich immer mehr zu einem „Public Health“ – Problem. Ursprünglich war Diabetes mellitus Typ 2 eine Krankheit in den Industrieländern, jedoch breitet sie sich jetzt auch in den Entwicklungsländern aus, wo mehr als 80% der Bevölkerung leben. Es gibt ca. 366 Millionen Diabetes Kranke weltweit, und über 165 Millionen davon leben in den Entwicklungsländern [Whiting et al., 2011].

Im Jahr 2025, rechnet die „ International Diabetes Federation“ mit 380 Millionen Diabetes Erkrankten weltweit, mit der größten Verteilung in Niedrig-, und Mittellohnländern [International Diabetes Federation, 2012].

Die verschiedenen Risikofaktoren des Diabetes mellitus Typ 2 sind: Übergewicht, eine mangelhafte Ernährung, genetische Prädisposition, Ethnie, Bewegungsmangel und eine Mangelernährung während der Schwangerschaft.

Bis jetzt sind mehr als 45 Gene dokumentiert, die mit Diabetes mellitus Typ 2 in Verbindung stehen [Ahlqvist et al., 2011].

Die diabetischen Patienten in den Entwicklungsländern und Asien haben, verglichen mit den Europäern, unterschiedliche Krankheitseigenschaften, z.B.: werden Indische Diabetes Patienten schon im frühen Alter diagnostiziert. Zusätzlich dazu sind sie kleiner, dünner und haben weniger magere Körpermasse [Yajnik, 2001].

7.3.1 Die „Developmental Origins of Health and Disease“ Hypothese

Die DOHAD Hypothese (Developmental Origins of health and disease Hypothese) besagt, dass schon die frühe Lebensphase sensibel auf unzureichende Ernährung oder Umweltfaktoren reagiert, was zu permanenten Veränderungen im Stoffwechsel führt. Die in utero Modulationen werden im zellulären Gedächtnis archiviert, und tragen zur persistenten Adaption von Langzeiteffekten der zellulären Funktionen bei [Heijmans et al., 2009].

Die fetale Programmierung wird durch das metabolische und hormonale Milieu, Infektionen, Entzündungen, dem C1 - Stoffwechsel und die Ernährung beeinflusst [Hoet und Hanson, 1999].

Allgemein glaubt man daran, dass genetische Aspekte und ein ungesunder Lebensstil der Erwachsenen zu Diabetes mellitus Typ 2 führt, einer chronischen nicht übertragbaren Krankheit. Die DOHAD schlägt vor, dass die Ursache für Diabetes mellitus Typ 2, schon im inauterinen Milieu, durch die umweltbedingten fetale Programmierung entsteht. Die fetale Unterernährung, (manchmal als geringes Geburtsgewicht manifestiert) und Überernährung (das Baby einer diabetischen Mutter) erhöhen das Risiko des zukünftigen Diabetes mellitus Typ 2. Die Gemeinsamkeit dieser Babys ist ihre erhebliche Adipositasausprägung. Der 1 - Kohlenstoffstoffwechsel

scheint eine zentrale Rolle in der fetalen Programmierung zu spielen [Yajnik und Deshmukh, 2008].

Die DOHAD postuliert, dass die Epigenetik der Hauptmechanismus der Gen-Umweltinteraktionen ist, da sich diese in Langzeiteffekten manifestieren [Faulk und Dolinoy, 2011].

Mithilfe einer Genomweiten Assoziation Studie in Europa wurden 10 Marker für Diabetes mellitus Typ 2 gefunden [Zeggini et al., 2007].

Hales und Barker (1991) stellten 1991 ihre Hypothese des „thrifty Phänotyps“ vor, wo ein niedriges Geburtsgewicht und Magerkeit Risikofaktoren des Diabetes mellitus Typ 2 sind. Die Aufmerksamkeit fokussierte sich auf das inuterine Leben als Gesundheitsdeterminante für das spätere Leben. Diese Zusammenhänge wurden in verschiedenen ethnischen Populationen bestätigt, auch dass das Geburtsgewicht ein Anzeichen eines zukünftigen Diabetes mellitus Typ 2 ist. Der Zusammenhang zwischen Diabetes mellitus Typ 2 und der inuterinen Exposition wird im Konzept der fetalen Programmierung beschrieben [Eriksson et al., 2003].

Die Beziehung zwischen Geburtsgröße und einem späteren Diabetes wird möglicherweise durch die Ernährung des Fötus bestimmt. Die „Dutch Winter Famine Study“ demonstrierte, dass die in utero Exposition des Fötus durch Hungern während der mittleren und späten Gestation, mit einer höheren Plasmaglukosekonzentration im späteren Leben assoziiert war. Die Idee der DOHAD hat die Ideen der Ätiologie der chronischen nicht übertragbaren Krankheiten revolutioniert, und lieferte echte Präventionsstrategien für Diabetes mellitus Typ 2 und für koronare Herzerkrankungen [Yajnik und Deshmukh, 2008].

7.4 Der „thrifty Genotyp“

1962 stellte Neel die Hypothese auf, dass die Verbreitung von Adipositas und Diabetes auf den „thrifty Genotyp“ zurückzuführen sind. Dabei handelt es sich um ein „sparsames Gen“, das Energie in Form von Körperfett speichert, was bei einer verringerten Nahrungsmittelverfügbarkeit von Vorteil war. Demnach soll der „thrifty Genotyp“ für die Verbreitung der Adipositas und dem Diabetes mellitus Typ 2

verantwortlich sein. Die Hypothese versucht die Tendenz bestimmter ethnischer Gruppen zu einem erhöhten Körpergewicht und Diabetes mellitus Typ 2 zu erklären [Neel, 1999].

In Zeiten der Hungersnöte war der „thrifty Genotyp“ für die Hungerprävention verantwortlich, und nicht für die Gewichtsregulation, in Zeiten des Überflusses verursacht er eine Gewichtszunahme.

7.5 Die „thrifty Phänotyp“ Hypothese

Die „thrifty Phänotyp“ Hypothese wurde 1992 von Hales und Barker aufgestellt, um die Verbindung zwischen mangelhaftem fetalen -, und Kinderwachstum, und dem damit verbundenen Risiko einer gestörten Glukosetoleranz, und der Entwicklung des metabolischen Syndroms im Erwachsenenalter zu erklären. Diese Veränderungen beinhalten eine reduzierte Kapazität für die Insulinsekretion und Insulinresistenz, welche kombiniert mit den Effekten von Adipositas, Altern und physischer Inaktivität, die wichtigsten Faktoren in der Bestimmung des Diabetes mellitus 2 sind [Hales und Barker, 2001].

Die Diskussion über das Ausmaß der zugrundeliegenden Mechanismen in der Erklärung der Zusammenhänge ist, ob diese genetisch oder umweltbedingt sind. Die genetischen Gründe liegen auf der Hand, die Frage ist ob eine mangelhafte Insulinsekretion mit einem geringen fetalen Wachstum assoziiert werden kann. Die „thrifty Phänotyp“ Hypothese (der sparsame Phänotyp) geht davon aus, dass Umweltfaktoren eine zentrale Rolle in der Entstehung des Diabetes mellitus Typ 2 spielen.

Eine mangelhafte fetale und Kindesernährung, fördert die Entstehung von Diabetes mellitus Typ 2. Die weltweit wichtigste Ursache der fetalen Mangelernährung ist die maternale Unterernährung.

Unter Berücksichtigung der nachgelagerten Effekte einer mangelhaften fetalen Ernährung, schlugen Hales und Barker (2001) vor, dass die mangelnde Entwicklung der pankreatischen β -Zellen und deren Funktion (inkl. Inselzellen und Innervation) Schlüsselemente sind, die mit einer mangelhafter Kinderernährung und dem späterem Diabetes mellitus 2 verbunden sind.

Hales und Barker (2001) schlugen im Zuge ihrer Theorie des „thrifty Phänotyps“ vor, dass die fetale Mangelernährung zur Insulinresistenz führt. Die fetale Ernährung setzt einen fetalen Ernährungsthift in Gang, was wiederum Auswirkungen auf das Organwachstum hat. Das führt zur permanenten Struktur-, und Funktionsumgestaltungen des Körpers. In welchem Ausmaß genetische und umweltbedingte Aspekte zusammenwirken, um diese Mechanismen auszulösen, bedarf noch weiteren Forschungen. Eine mangelhafte funktionale Kapazität für die Insulinresistenz würde keine schädlichen Auswirkungen haben, wenn sich das Individuum Zeit seines Lebens weiter mangelhaft ernähren würde und dünn bleiben würde, die Glukosetoleranz würde erst durch eine positive Energiebilanz ausgelöst werden, was dann zur Adipositas führt [Hales und Barker, 2001].

Die Beobachtungen von Hales und Barker (2001) wurden durch viele epidemiologische, und Tierstudien bestätigt. Human integrative Studien bieten Einblick in die zugrundeliegenden molekularen Mechanismen. Nur zwei der ca. 45 bekannten Diabetes mellitus Typ 2 Suszeptibilitäts Gene sind mit einem geringem Geburtsgewicht assoziiert. Das zeigt, dass die Verbindung zwischen geringem Geburtsgewicht und Diabetes mellitus Typ 2 nicht genetisch bedingt ist. Heute ist die „thrifty Phänotyp“ Hypothese als vielversprechendes Rahmengerüst für die nachhaltige intergenerationale Prävention des Diabetes mellitus Typ 2 etabliert. Hales und Barker bewiesen eine Verbindung zwischen geringem Geburtsgewicht und einem erhöhten Risiko an Diabetes mellitus Typ 2, und Bluthochdruck. Auch zeigen sich erhöhte Triglycerolspiegel und eine Insulinresistenz im späteren Leben. Die „thrifty Phänotyp“ - Hypothese repräsentiert die plausibelste Erklärung des Ursprungs des metabolischen Syndroms [Vaag et al., 2012].

Die Bestätigung des „thrifty Phänotyps“ gelang mit der „Pune Childrens Study“. 400 vierjährige Kinder wurden bezüglich ihrer Anthropometrie, der Glukosetoleranz und ihrer Insulinkonzentrationen untersucht. Es wurde gezeigt, dass nach einer oralen Glukosebelastung, die Plasmaglukose-, und Insulinkonzentrationen invers mit dem Geburtsgewicht korrelierten [Yajnik et al., 1995].

In einem Follow - up der „Pune Childrens Study“ 1999, waren die Risikofaktoren für Diabetes und kardiovaskulären Krankheiten am höchsten für die Kinder, die ein

niedriges Geburtsgewicht hatten, aber acht Jahre später am schwersten waren [Bavdekar et al., 1999].

Beide Hypothesen führten in weiterer Folge zu intensiven Suche nach „thrifty“ Genen. Mit mäßigem Erfolg im Falle des metabolischen Syndroms, im Gegensatz zu einigen monogenen Krankheiten. Kandidatengene für das metabolische Syndrom sind unter anderem: Leptin und Leptinrezeptoren, POMC und Melanocortinrezeptoren und das Agouti Protein. Leptin reagiert sensibel auf Umwelteinflüsse und kann möglicherweise einen „thrifty Genotyp“ erwerben [Kusmann et al., 2010].

Zusammenfassend werden viele Aspekte der postnatalen Entwicklung durch Ereignisse vor der Geburt beeinflusst. Eine ungünstige maternale, intrauterine Umwelt, wie z.B.: ein schlechter maternaler Ernährungsstatus, viele Schwangerschaften und Frühgeburten sind mit einem erhöhten Risiko einer beeinträchtigten Kindheitsentwicklung verknüpft, was in Folge zu einer höheren Krankheitsprädisposition im Erwachsenenalter führt. Die Assoziation zwischen einer geringen Geburtsgröße und der Entwicklung eines Diabetes mellitus Typ 2 und kardiovaskulären Krankheiten ist gut etabliert. Maternale Unterernährung und maternale Adipositas sind mit einer veränderten fetalen Entwicklung und einem erhöhten Krankheitsrisiko im Nachwuchs verbunden [Bloomfield, 2011].

8 Weitere Nahrungseinflüsse, die epigenetischen Mechanismen regulieren können

Nicht nur die bekannten Methylendonatoren lösen epigenetische Modifikationen aus, sondern auch bestimmte natürliche Nahrungsmittelkomponenten beeinflussen epigenetische Mechanismen. Zwar nicht über die Abgabe einer Methylgruppe aber z.B.: durch Inhibierung der HDAC's und HAT's. Vor allem spielen diese eine Rolle in der Krebsprävention und bei kardiovaskulären Krankheiten.

Nahrungsmittelinhaltsstoffe werden schon lange auf ihre positive Wirkung auf die Krebsprävention untersucht, Sojaprodukte haben eine krebsinhibierende Wirkung [Adlercreutz et al., 1995].

Die HDAC's sind z.B.: Kandidaten für Antikrebsmedikamente. Eine Zahl von natürlichen Nahrungskomponenten beeinflussen die HDAC's und den Acetylierungsstatus der Histone. Untersuchungen des Mechanismus von Ernährung – Gen – Interaktionen sind wichtig für das Verständnis, wie die Ernährung das Risiko von chronischen Krankheiten modulieren kann. Einige Nahrungsagenzien zielen auf die spezifischen nuklearen Rezeptoren, und andere betreffen direkt das Epigenom [Delage und Dashwood, 2008].

Die Verwendung von natürlichen Nahrungsmittelkomponenten in Kombination mit konventionellen Krebstherapien, könnten für die erfolgreiche Behandlung von Krebs in Betracht gezogen werden [Reuter et al., 2011].

Bestimmte bioaktive Nahrungskomponenten, wie Tee – Polyphenole, Genistein aus der Sojabohne, oder Isothiocyanate aus der pflanzlichen Ernährung, inhibieren die Krebsentwicklung durch die Reduzierung des DNA - Hypermethylierungsstatus in kritischen Genen, wie z.B.: beim p16^{INK4a} oder dem Retinsäurerezeptor-β [Fang et al., 2007].

Diese bioaktiven Nahrungsmittelinhaltsstoffe beeinflussen die epigenetischen Mechanismen, entweder durch eine direkte Beeinflussung der Enzyme, die die DNA – Methylierung und die Histonmodifikationen katalysieren, oder durch die Beeinflussung der Substratverfügbarkeit, die für diese enzymatischen Reaktionen wichtig sind [Choi und Friso, 2010].

8.1 Biotin

Biotin modifiziert die Histonschwänze H2A, H3 und H4 durch die kovalente Anbindung von Biotin auf spezifische Lysinstellen. Dieser Vorgang wird durch die Enzyme Biotinidase und Holocarboxylasesynthase katalysiert. Die Biotinylierung der Histone H4 Lysin 8 und Histon 4 Lysin 12 sind mit den heterochromatischen Strukturen, dem Gen - Silencing, der mitotischen Chromatinkondensation und der DNA – Reparatur assoziiert [Zempleni et al., 2009].

Die Histonbiotinylierung ist ein reversibler Prozess, jedoch wurden bis jetzt keine Debiotinylasen identifiziert [Choi und Friso, 2010].

Ein Biotinmangel könnte sich auf die Chromatinstrukturen auswirken [Camporeale et al., 2006].

Auf dem Gebiet der Biotinylierung gibt es noch viele unbeantwortete Fragen [Choi und Friso, 2010].

Niacin ist involviert in der Histon ADP - Ribosylierung, als Substrat der poly - (ADP-ribose) Polymerase sowohl als Histonacetylierung, wie auch als Substrat für Sirt1, welches als Histondeacetylase arbeitet [Choi und Friso, 2010].

Pantothensäure ist ein Teil der CoA - Form des Acetyl - CoA, welches eine Quelle der Acetylgruppen in der Histonacetylierung ist [Choi und Friso, 2010].

Resveratrol, Butyrate, Sulforaphane und Diallylsulfide hemmen die HDAC Aktivität, und Kurkumin behindert die Histonacetyltransferase (Abb. 14). Die veränderte Enzymaktivität aufgrund dieser Faktoren beeinflusst physiologische und pathologische Prozesse während des Lebens, durch Veränderung der Genexpression [Choi und Friso, 2010].

Resveratrol ist ein Stilben, das in der Weintraubenhaut, Erdnüssen, Blaubeeren, und Cranberries vorkommt, und auch in Form von Rotwein konsumiert wird. Resveratrol ist ein Antioxidans und hat anti - inflammatorische Effekte, agiert als Aktivator von Sirt1 und als Inhibitor der Ribonukleotidreduktase, damit wird dessen tumorprotektive Wirkung erklärt [Hardy und Tollefsbol, 2011].

Natürliche Komponenten wie Kurkumin, Epigallocatechin Gallate (EGCG) und Resveratrol haben gezeigt, dass sie die epigenetischen Mechanismen verändern können, was möglicherweise zu einer erhöhten Sensitivität der Krebszellen auf konventionelle Agens führt, und das Tumorwachstum inhibieren kann [Reuter et al., 2011].

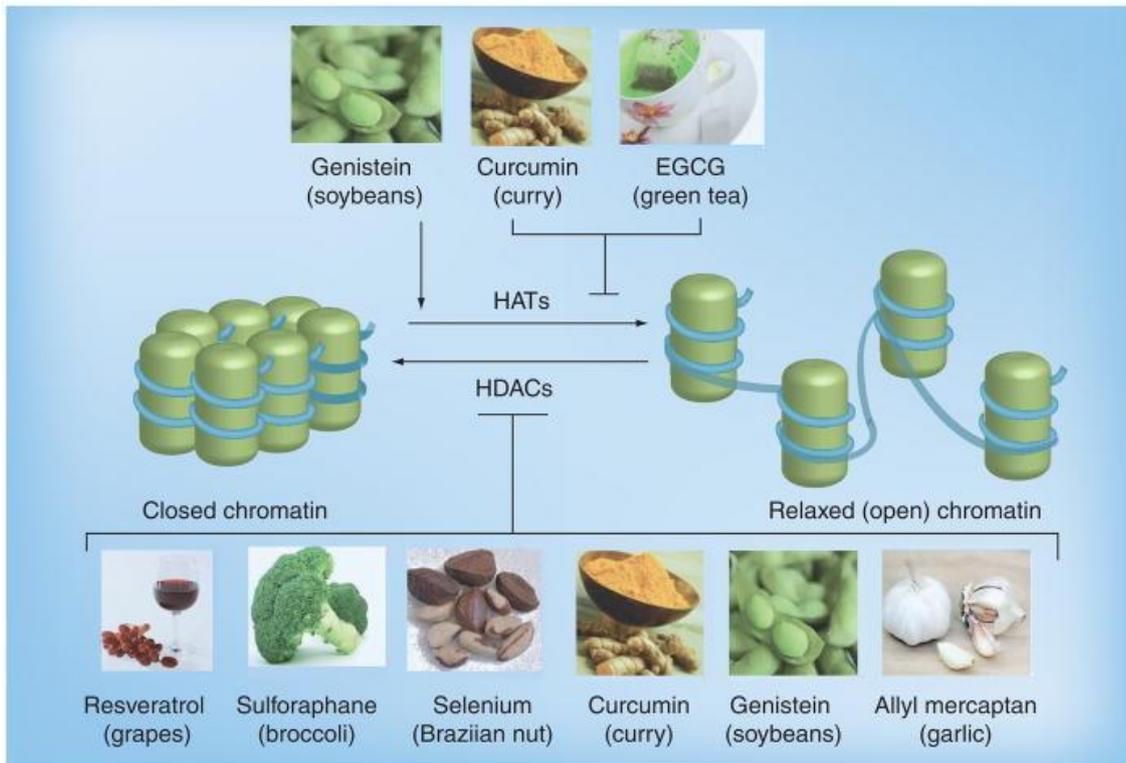


Abbildung 14 Histon modulierenden Nahrungsinhaltsstoffe [Hardy und Tollefsbol, 2011]. Bioaktive Nahrungsmittelinhaltsstoffe wie Resveratrol, Sulforaphane und Kurkumin beeinflussen die HAT's und HDAC's. Diese Histonmodifikationen verursachen eine Konformationsveränderung der Chromatinstruktur die zur Veränderungen in der DNA – Zugänglichkeit führt. Die HAT's induzieren eine geöffnete Chromatinstruktur, die es den Transkriptionsfaktoren erlaubt an die DNA zu binden (blauen Bänder) und die Genexpression aktiviert. Die geschlossene Chromatinkonformation deutet auf eine Genstilllegung hin. Die Nahrungsinhaltsstoffe können die HAT's und HDAC's inhibieren oder verstärken (Pfeile) und dadurch die Genexpression verändern. EGCG: Epigallocatechin-3-gallat

8.2 Kurkumin

Kurkumin (*Curcuma longa*, Gelbwurzel), bekannt als Kurkuma, ruft epigenetische Veränderungen hervor, und ist eines der vielversprechendsten chemoprotektiven und krebspräventiven Substanzen. Epidemiologische Beweise zeigten, dass ein hoher Kurkumin - Konsum mit einer niedrigeren Krebsprävalenz verknüpft ist. Kurkumin ist ein Antioxidans und reguliert möglicherweise die Acetylierung und Deacetylierung

durch die Modulierung des oxidativen Stresses. Über den Effekt von Kurkumin auf die DNA – Methylierung, ist nur wenig bekannt [Reuter et al., 2011].

Die intensiven Forschungen der letzten Jahre zeigten die positiven Eigenschaften des Kurkumins auf: Kurkumin reduziert den Blutcholesterinspiegel, schützt vor der LDL - Oxidation, unterdrückt Thrombose und Myokard Infarkt, vermindert die Diabetes mellitus Typ 2 Symptome, nimmt Einfluss auf die Multiple Sklerose, unterdrückt die Tumorbildung und führt zu einer verbesserte Wundheilung [Shishodia et al., 2007].

Diese divergenten Effekte des Kurkumins lassen sich auf dessen pleiotrope molekularen Effekte zurückführen [Reuter et al., 2011].

Kurkumin ist einer der effektivsten HDAC – Inhibitoren, und zahlreiche klinische präklinische Studien bewiesen die krebsschutz Wirkung des Polyphenols [Bora-Tatar et al., 2009].

Es konnte jedoch noch nicht bewiesen werden, ob Kurkumin die HDAC's direkt inhibieren kann [Fu und Kurzrock, 2010].

Kurkumin moduliert Transkriptionsfaktoren, die in den Krebszellen konstitutiv- oder überexprimiert werden. Das lässt sich größtenteils durch die molekulare Struktur des Kurkumins erklären. Die strukturellen Eigenschaften des Kurkumins können mit einer Vielzahl von Molekülen innerhalb der Zelle interagieren. Die versatile Struktur des Kurkumins führt zu verschiedenen biologischen Effekten: Modulierung des Zellzyklus, Hochregulierung der proapoptotischen Faktoren und zu einer Unterdrückung des Tumorwachstums (Abb. 15) [Reuter et al., 2011].

Kurkumin kann sich an bis zu 33 Proteinen anlagern wie z.B.: an die Proteinkinasen, Tubulin und Thioredoxin [Fu und Kurzrock, 2010].

Die molekularen Ziele, die durch Kurkumin moduliert werden können sind die Transkriptionsfaktoren, Wachstumsfaktoren und deren Rezeptoren, Cytokine und Enzyme [Fu und Kurzrock, 2010].

Die klinischen Vorteile von Kurkumin als Einzelagens, werden in Patienten mit fortgeschrittenen Pankreaskrebs demonstriert [Fu und Kurzrock, 2010].

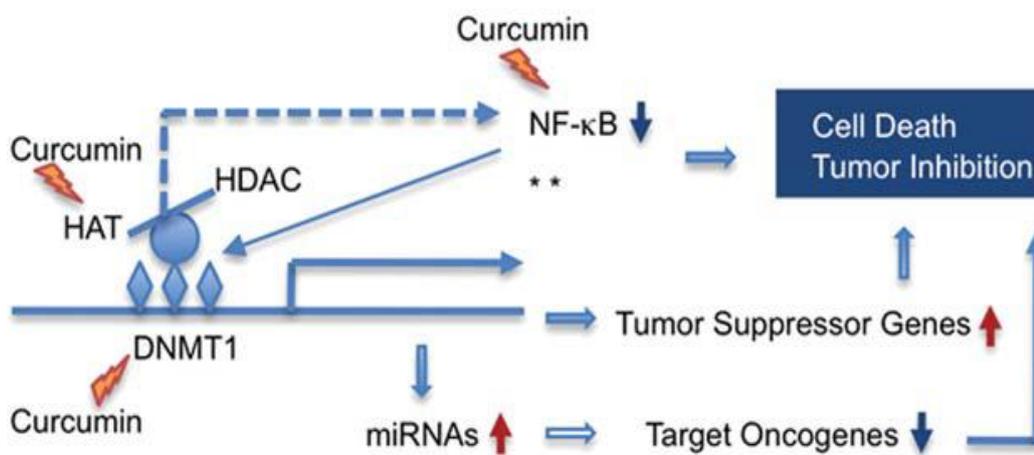


Abbildung 15 Beeinflussung der Genexpression durch Kurkumin [Fu und Kurzrock, 2010]. Kurkumin beeinflusst die Genexpression durch die direkte Interaktion mit Transkriptionsfaktoren wie z.B.: dem NF-κB (nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells), die epigenetische Modulation durch die Inhibition der DNMT 1, und die HAT-, und HDAC Komplexe. Der induzierte Tod der Krebszellen durch Kurkumin wird vermittelt durch die Reaktivierung der Tumorsuppressorexpressionsgene und/ oder durch die Inaktivierung der Onkogene durch die microRNA (miRNA).

Eine mögliche Erklärung für die Aktivität von Kurkumin im Menschen ist die Akkumulation von Kurkumin und dessen Metaboliten in den Zellen während der täglichen Exposition, weil es hoch hydrophob ist. Eine andere Erklärung ist, dass Kurkumin nach biologischer Aktivität durch epigenetische Modulation strebt, was niedrigere Konzentrationen benötigt [Fu und Kurzrock, 2010].

Kurkumin ist ein potentes DNA hypomethylierendes Agens, und der genaue Mechanismus, mit dem Kurkumin die Genexpression moduliert, ist noch nicht beschrieben [Fu und Kurzrock, 2010].

8.3 Genistein

Dolinoy et al., (2006) erbrachten den ersten in utero Beweis, dass Nahrungsgenistein die Genexpression durch die permanente Modifikation des Epigenoms verändert. Die maternale Genisteinsupplementierung in den A^{vy}/a Mäusen hatte eine Fellfarbenverschiebung in Richtung der pseudoagouti (braun) Mäuse zur Folge. Diese phänotypischen Veränderungen gehen mit einer erhöhten Methylierung an sechs bestimmten CpG - Stellen im IAP - Retrotransposon des agouti Gens, einher [Dolinoy et al., 2006].

Interessanterweise war der Effekt der Methylierung auf die Fellfarbe am ausgeprägtesten, wenn die site - 4 des Methylierungsstatus spezifiziert wurde. Dieses Ergebnis legt nahe, dass die site - 4 - Methylierung den Effekt der Genisteinsupplementierung auf die A^{vy}/a Fellfarbe vermittelt. Da die DNA - Methylierung in allen drei Gewebstypen (endodermal, ektodermal, mesodermal) ähnlich war, schloss man daraus, dass Genistein seinen Einfluss schon in der frühen Embryogenese zur Geltung bringt. Die durch Genistein induzierte Hypermethylierung bleibt bis ins Erwachsenenalter der A^{vy}/a Mäuse bestehen. Dieser Langzeiteffekt erhöhte die ektopische agouti Expression, und wirkte protektiv auf die Adipositas des Nachwuchses. Es wurde kein Zusammenhang des Genisteineinflusses auf die SAM - und SAH - Synthese beobachtet [Dolinoy et al., 2006].

Genistein ist ein Isoflavonoidglykosid und das Hauptphytoöstrogen in Soja, es wirkt nicht als Methyldonator. Wird Genistein in vergleichbarer Menge wie eine hochdosierte Soja - Diät verabreicht, erhöht es die DNA - Methylierung. Daraus lässt sich ableiten, dass hypermethylierende Nahrungsinhaltsstoffe die toxischen Effekte auf das Epigenom verringern, indem sie eine Hypomethylierung einleiten [Jirtle und Skinner, 2007].

Genistein verändert die Muster der Histonacetylierung und induziert die Tumorsuppressor Gene, der zugrundeliegende Mechanismus ist noch unklar [Kikuno et al., 2008].

Die DNA - Methylierungsmuster werden oft als therapeutische Biomarker während der Krebstherapie genutzt. Genistein erhöht die Methylierung des H3 Lysin 4, während es die Aktivität der DNMT's und MBD2 erniedrigt [Zhang und Chen, 2011].

Nicht nur die Dosis, sondern auch der Expositionszeitpunkt ist von Bedeutung, denn wenn diese zu spät erfolgt, haben Methyldonatoren oder Genistein keine modifizierenden Eigenschaften mehr [Dolinoy et al., 2006].

9 Zusammenfassung

Epigenetische Mechanismen bieten eine potentielle Erklärung für Umwelteinflüsse in der frühen Entwicklung, die eine Langzeitveränderung in der chronischen Krankheitsanfälligkeit verursachen. Wobei die epigenetische Dysregulation vermehrt in variablen seltenen Entwicklungssyndromen und Krebs verwickelt ist, ist die Rolle der Epigenetik in komplexen chronischen Krankheiten wie Diabetes mellitus Typ 2 und Adipositas größtenteils uncharakterisiert. Zwillingsstudien sind für die Erforschung dieser Krankheiten geeignet, da sie ein identes Epigenom haben, aber durch andere Umwelteinflüsse modifiziert werden.

Ziel der Epigenetik ist die Krankheitsprävention, durch genetische Differenzierung und einer Genotyp - abhängigen Ernährungsempfehlung. Verschiedene Menschen sprechen auf die gleiche Ernährung unterschiedlich an, darum müssen sich die Ernährungsempfehlungen, je nach Genotyp unterscheiden.

Je nach den phänotypischen Merkmalen sollten unterschiedliche Therapiestrategien entwickelt werden. Dennoch sind einige Fragen ungeklärt, wie z.B.: entwickeln sich bei gleicher genetischer Ausstattung von Zellen unterschiedliche Genexpressionsmuster, die aber bei der Zellteilung stabil weitervererbt werden können?

Die Epigenetik kann eine wichtige Rolle in der personalisierten Medizin spielen, in den letzten Jahren wurden immer mehr epigenetische Veränderungen bei verschiedenen Erkrankungen festgestellt. Das ergibt neue Möglichkeiten verschiedene Therapien für Krebs oder Aids zu entwickeln, z.B.: werden DNA - Methylierungsinhibitoren wie 5 - Azacytidin und 5 - aza2' - Deoxycytidin bei der Therapie des myelodysplastischen Syndroms angewendet [Ellis et al., 2009].

Die Reversibilität der epigenetischen Modifikationen ist wichtig für die pharmakologische Behandlung.

Die A^{vy} - Studien haben einen vererbaren Effekt von Methylendonatoren bis in die zweite Generation bestätigt, jedoch konnte die erhoffte transgenerationale Vererbung nicht erwiesen werden. Da der Embryo zwei Phasen der Demethylierung, während der Entwicklung durchläuft, ist es wahrscheinlich, dass während dieser Phasen die

Methylgruppen der Methylendonatoren gelöscht werden, und nur zu einem geringen Anteil an die zweite und gar nicht auf die dritte Generation übertragen werden. Dadurch rückt die Modifizierung der Chromatinstruktur und der Histone in den Vordergrund der wissenschaftlichen Arbeiten, da diese stabil weitervererbt werden können.

Der Agouti - Locus beeinflusst die Fellfarbe durch die DNA - Methylierung an einem upstream Transposon, und das A^{vy} Allel entsteht durch eine Insertion des intracisternalen A Partikels (IAP) stromabwärts der agouti codierenden Sequenz. Eine Hypermethylierung verschiebt die Fellfarbe von braun zu gelb und demonstriert den Einfluss der epigenetischen Prozesse, die durch eine methylreiche Ernährung hervorgerufen werden [Bird, 2007].

Durch Fütterung von schwarzen a/a Mäusen mit einer methylsupplementierten Diät wurde die epigenetische Regulierung der Agouti - Expression der Nachkommen in Richtung des pseudoagouti Phänotyps verschoben. Dadurch wurde bewiesen, dass der epigenetische Phänotyp maternal vererbt werden kann. Die mütterliche Nahrungssupplementierung beeinflusst die Gesundheit der Nachkommen positiv. Die A^{vy} - Expression wird zum Teil maternal vererbt und findet während der Gametogenese und Entwicklung statt.

Die Transkription des Haarzyklus spezifischen Promotors findet im Exon 2 des Agouti Allels statt [Jirtle und Skinner, 2007].

Das Agouti Haar ist gekennzeichnet durch eine schwarze Spitze und ein gelbes, subterminales Band, der übrige Haarschaft ist schwarz [Cooney et al., 2002].

Das agouti Gen reagiert nicht direkt mit den Melanocyten, was es von anderen Genen unterscheidet, die die Fellfarbe beeinflussen, es reagiert in einer zellautonomen Art, als parakriner Faktor [Miltenberger et al., 1997].

Das A^{vy} ist ein metastabiles Epiallel, und mit einer Hypermethylierung assoziiert, und weist stochastische DNA- und Histonmodifikationen auf [Rakyan et al., 2002].

Das Agouti Protein agiert als Antagonist und wirkt der Bindung von α - MSH am MC1 -R entgegen, das die Aufhebung von cAMP innerhalb der Melanocyten bewirkt, und zu einer Fehlproduktion von Phäomelanin führt [Cooney et al., 2002].

Das Agouti Protein hat eine hohe Affinität für den MC1 - R und MC4 - R. Mäuse mit einer zielgerichteten Störung des MC4 - R, entwickeln ein ähnliches Adipositasyndrom wie die A^{vy} - Mäuse, das lässt vermuten, dass der chronische Antagonismus des MC4 - R ein zentraler Mechanismus im „yellow obese“ Maus - Syndrom ist [Lu et al., 1994].

Das „yellow obese“ Maus - Syndrom ist gekennzeichnet durch: Diabetes, einer höheren Krebsanfälligkeit, Hypertrophie, gestörten Glukosetoleranz, Insulinresistenz, Hyperplasie, Hyperinsulinämie, Adipositas und ein größeres Skelettales- und Muskelwachstum [Miltenberger et al., 1997].

Die „yellow agouti“ - Mutanten haben eine höhere Motivation zur Nahrungsaufnahme als ihre schlanken Geschwister, jedoch ist ihr Sättigungsmechanismus intakt [Bray und York, 1979].

Der epigenetische Status des A^{vy} wird in utero moduliert, aber nur, wenn das paternale Allel des A^{vy} - Allels vererbt wird. Es gelang nicht eine transgenerationale Vererbung nachzuweisen. Der Nahrungsinduzierte A^{vy} Status wird nicht maternal transgenerational übertragen, es findet zwar eine nahrungsinduzierte Hypermethylierung in der Keimbahn statt, aber keine weiteren epigenetischen Modifikationen, die den epigenetischen Status auf die nachfolgenden Generationen übertragen.

Jedoch sind einige Wissenschaftler der Meinung, dass der epigenetische Status transgenerational vererbt werden kann. Der paternale Effekt bei Mäusen, der nicht übertragbare Genotyp des Vaters, beeinflusst den Phänotyp des Nachwuchses. Die maternal und paternal vererbten Allele werden unterschiedlich behandelt, das maternale Allel wird langsamer und das paternale schneller methyliert. In den Blastocyten findet keine DNA - Methylierung statt, was vermuten lässt, dass die DNA Methylierung keine vererbare Markierung ist. Die DNA - Methylierung am A^{vy} Allel wird während der primordialen Keimzellenentwicklung nicht reprogrammiert [Blewitt et al., 2006].

Die Ergebnisse der transgenerationalen Studien sind nicht ohne weiteres auf den Menschen zu übertragen. Unbestreitbar sind die positiven Effekte der Methylendonatoren auf die erste Generation des Nachwuchses, es besteht aber erst eine transgenerationale Vererbung, wenn der epigenetischen Status bis in die dritte Generation weitervererbt wird. Methylgruppen werden aber nicht von einer Generation auf die andere vererbt. Aber Methylendonatoren verändern den epigenetischen Status der Gene. Die

epigenetischen Forschungen konzentrieren sich nun mehr auf die Chromatinmodifikationen und Histonschwänze, da die Modifikationen an diesen Zielen vererbt werden können, und lösen epigenetische Modifikationen über die Inhibierung der HDAC's und HAT's aus, und nicht durch die Abgabe der Methylgruppe.

Die ernährungsabhängigen, transgenerationalen Effekte, die über die männliche Linie vererbt werden, sind noch weitgehend unbekannt.

Epidemiologische Studien liefern Beweise für die transgenerationale epigenetische Vererbung beim Menschen. Die Interpretation dieser Studien ist fehlerhaft, aufgrund der kulturellen und genetischen Heterogenität der Populationen. Ein Grund für das wachsende Interesse an den epigenetischen Mechanismen ist seine schnelle Form der adaptiven Evolution [Chong und Whitelaw, 2004].

Adipositas eignet sich um dieses Paradigma zu untersuchen, nicht nur wegen der hohen „Public Health“ Signifikanz, sondern auch wegen der Rolle des Hypothalamus, wo epigenetische Alterationen zu Adipositas führen. Viele Gene, die ihre Funktion im Hypothalamus Leptin - MC4 - R Weg haben, sind mit Adipositas im Menschen assoziiert. Noch liegen keine Studien über die epigenetische Kontrolle der Hypothalamus Gene vor.

Neue Hoffnung legt man in die bioaktiven Nahrungsmittelinhaltsstoffe wie Genistein, Kurkumin und Biotin, deren protektiver Effekte auf der Ebene der Chromatinmodifikationen wirkt und die krebsprotektive Wirkung haben. Die antikanzerogene Wirkung ist bestätigt, da sie auf Ebene der HDAC's und HAT's arbeiten, und die Chromatinstruktur beeinflussen.

Bis zu einer bestimmten Grenze haben wir selbst die Möglichkeit, unser Epigenom und das unserer Kinder durch gesunde Ernährung, Sport, Vermeidung von Stress und Rauchen zu modulieren, da bestimmte epigenetische Signale von den Eltern an die Kinder weitervermittelt werden.

Ausführliche Studien an Tiermodellen werden benötigt, um spezifische Hypothesen zu entwickeln, die am Menschen getestet werden können. Das Mausmodell zeigte, das eine Methyl donorsupplementierung vor der transgenerationalen Ausbreitung der Adipositas schützt, und schlägt somit die DNA - Methylierung zur Gewichtskontrolle vor. Die

Verbindung solcher Modelle mit kürzlich entwickelten epigenomischen Technologien könnte es möglich machen, zu bestimmen, ob die Epigenetik eine wichtige Verbindung zwischen einer frühen Umweltexposition und Erwachsenen Krankheiten ist.

Diverse Studien belegen, dass die Ernährung der Mutter während bestimmter kritischer Zeitpunkte in der Schwangerschaft die Gesundheit der Kinder beeinflusst. Dies geschieht über fetale bzw. postnatale metabolische Programmierung.

Ein reduziertes Geburtsgewicht aufgrund von maternaler Unterernährung reflektiert einer adverse inuterine Umwelt, sowie ein erhöhtes Risiko für Diabetes mellitus Typ 2 und kardiovaskulären Krankheiten. Das geringe Geburtsgewicht, und veränderte postnatale Wachstumstrajektoren, sind Marker für das Risiko von metabolischen Krankheiten. Die frühe embryonale Entwicklung ist durch eine genomweite, epigenetische Reprogrammierung gekennzeichnet, und wird über die Keimbahn weitergeleitet und durch Umweltfaktoren beeinflusst. Maternale Unterernährung und maternale Adipositas sind assoziiert mit einer veränderten fetalen Entwicklung und einem erhöhten Krankheitsrisiko im Nachwuchs [Bloomfield, 2011].

Adaptive Mechanismen erlauben eine Anpassung auf die Umweltveränderungen, und während kritischer Perioden der Entwicklung geschieht der Transfer der Umweltinformation zwischen den Generationen. Der Nachwuchs ist empfänglich für diese Veränderungen. Nährstoffe und Hormone die in utero, oder in der Kindheit wirken, beeinflussen eine Vielzahl von biologischen Eigenschaften wie Bluthochdruck, den Glukosemetabolismus und die Fettdepots. [Kuzawa und Thayer, 2011].

Andere Studien berichten über den Einfluss der großväterlichen und väterlichen Ernährung auf die Langlebigkeit ihrer Kinder [Kaati et al., 2002].

Epigenetische Veränderungen können sich über die Jahre hinweg anhäufen und erst in Kombination eine Krankheit auslösen. Das erschwert es einer einzelnen epigenetischen Modifikation, eine bestimmte Krankheit zuzuordnen.

10 Summary

Epigenetics is a young and increasing field of Research, and provides the possibility to change the epigenome through certain nutritional influences, like Methyl donors. Methyl donors are Folic acid, Vitamin B₆, Betaine, Choline and Vitamin B₁₂. Without a doubt, there is a relationship between these nutritional factors. It has been proven that Methyl donors can modify the DNA-Sequence without altering the DNA itself. That rises the interest, that certain nutritional influences can change the DNA - Sequenz through modifying the Chromatinstructure and Histontails, because a Methyl donor can provide the Methylgroup in the One Carbon Metabolism and influences therefore the Genexpression. Methyl donors are admitted through Food products, and can even be supplemented.

Since Obesity, Diabetes mellitus and Cardiovascular Disease are recognized as a widespread disease, and the number of Diseases rises every year, Intervention and Therapie Treatment are getting more important for researchers. One important question is, if there is a possibility to change or control the Epigenom through nutritional influences. Certain Environment expositons in the early development in the embryo have the ability to change the epigenome. Another question is, if there is a transgenerational inheritance, which can be obtained in the future generations, and also have a positive effect on the offspring.

Researchers focused on the Agouti Mouse Model, that was the first epigenetic example, it showed that Nutrition can alter the Epigenome through decrease of the obesity susceptibility. How this study can be transferable on the human is discussed. The murine agouti Gen is expressed in the hair follicle and switches the coat color from yellow to brown, the human ortholog is expressed in the Adipocyte.

11 Literatur

ADAN R. A. H. TIESJEMA B. HILLEBRAND J. J. G. LA FLEUR S. E. KAS M. J. H. DE KROM M. The MC4 receptor and control of appetite. *British journal of pharmacology*, 2006; Bd. 149, Nr. 7, S. 815–827

ADLERCREUTZ C. H. GOLDIN B. R. GORBACH S. L. HÖCKERSTEDT K. A. WATANABE S. HÄMÄLÄINEN E. K. MARKKANEN M. H. MÄKELÄ T. H. WÄHÄLÄ K. T. ET AL. Soybean phytoestrogen intake and cancer risk. *The Journal of nutrition*, 1995; Bd. 125, Nr. 3 Suppl, S. 757S–770S

AHLQVIST E. AHLUWALIA T. S. GROOP L. Genetics of type 2 diabetes. *Clinical chemistry*, 2011; Bd. 57, Nr. 2, S. 241–254

ALLFREY V. G. FAULKNER R. MIRSKY A. E. ACETYLATION AND METHYLATION OF HISTONES AND THEIR POSSIBLE ROLE IN THE REGULATION OF RNA SYNTHESIS. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1964; Bd. 51, S. 786–794

ARGYROPOULOS GEORGE RANKINEN T. NEUFELD D. R. RICE T. PROVINCE M. A. LEON A. S. SKINNER J. S. WILMORE J. H. RAO D. C. ET AL. A polymorphism in the human agouti-related protein is associated with late-onset obesity. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 2002; Bd. 87, Nr. 9, S. 4198–4202

BANEGAS J. R. LÓPEZ-GARCÍA E. GUTIÉRREZ-FISAC J. L. GUALLAR-CASTILLÓN P. RODRÍGUEZ-ARTALEJO F. A simple estimate of mortality attributable to excess weight in the European Union. *European journal of clinical nutrition*, 2003; Bd. 57, Nr. 2, S. 201–208

BAVDEKAR A. YAJNIK C S FALL C. H. BAPAT S. PANDIT A. N. DESHPANDE V. BHAVE S. KELLINGRAY S. D. JOGLEKAR C. Insulin resistance syndrome in 8-year-old Indian children: small at birth, big at 8 years, or both? *Diabetes*, 1999; Bd. 48, Nr. 12, S. 2422–2429

BECK S. BERLIN K. ECKHARDT F. *Das Epigenomprojekt* 2005; Bd. 17,

- BERGER S. L. The complex language of chromatin regulation during transcription. *Nature*, 2007; Bd. 447, Nr. 7143, S. 407–412
- BHALLA K. N. Epigenetic and chromatin modifiers as targeted therapy of hematologic malignancies. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 2005; Bd. 23, Nr. 17, S. 3971–3993
- BIRD A. Perceptions of epigenetics. *Nature*, 2007; Bd. 447, Nr. 7143, S. 396–398
- BJORNSSON H. T. DANIELE FALLIN M. FEINBERG A. P. An integrated epigenetic and genetic approach to common human disease. *Trends in Genetics*, 2004; Bd. 20, Nr. 8, S. 350–358
- BLEWITT M. E. VICKARYOUS N. K. PALDI A. KOSEKI H. WHITELAW EMMA Dynamic reprogramming of DNA methylation at an epigenetically sensitive allele in mice. *PLoS genetics*, 2006; Bd. 2, Nr. 4, S. e49
- BLOOMFIELD F. H. Epigenetic modifications may play a role in the developmental consequences of early life events. *Journal of neurodevelopmental disorders*, 2011; Bd. 3, Nr. 4, S. 348–355
- BORA-TATAR G. DAYANGAÇ-ERDEN D. DEMIR A. S. DALKARA S. YELEKÇI K. ERDEM-YURTER H. Molecular modifications on carboxylic acid derivatives as potent histone deacetylase inhibitors: Activity and docking studies. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 2009; Bd. 17, Nr. 14, S. 5219–5228
- BRANDL A. HEINZEL T. KRÄMER O. H. Histone deacetylases: salesmen and customers in the post-translational modification market. *Biology of the Cell*, 2009; Bd. 101, Nr. 4, S. 193–205
- BRAY G. A. YORK D. A. Hypothalamic and genetic obesity in experimental animals: an autonomic and endocrine hypothesis. *Physiological reviews*, 1979; Bd. 59, Nr. 3, S. 719–809
- BROWN A. M. MAYFIELD D. K. VOLAUFOVA J. ARGYROPOULOS G The gene structure and minimal promoter of the human agouti related protein. *Gene*, 2001; Bd. 277, Nr. 1-2, S. 231–238

BROWN R. STRATHDEE G. Epigenomics and epigenetic therapy of cancer. Trends in molecular medicine, 2002; Bd. 8, Nr. 4 Suppl, S. S43–48

BULTMAN S. J. MICHAUD E. J. WOYCHIK R. P. Molecular characterization of the mouse agouti locus. Cell, 1992; Bd. 71, Nr. 7, S. 1195–1204

BURDGE G. C. LILLYCROP K. A. Bridging the gap between epigenetics research and nutritional public health interventions. Genome Medicine, 2010; Bd. 2, Nr. 11, S. 80

CAMPOREALE G. GIORDANO E. RENDINA R. ZEMPLINI J. EISSENBERG J. C. Drosophila melanogaster holocarboxylase synthetase is a chromosomal protein required for normal histone biotinylation, gene transcription patterns, lifespan, and heat tolerance. The Journal of nutrition, 2006; Bd. 136, Nr. 11, S. 2735–2742

CHOI S.-W. FRISO S. Epigenetics: A New Bridge between Nutrition and Health. Advances in nutrition (Bethesda, Md.), 2010; Bd. 1, Nr. 1, S. 8–16

CHONG S. VICKARYOUS N. ASHE A. ZAMUDIO N. YOUNGSON N. HEMLEY S. STOPKA T. SKOULTCHI A. MATTHEWS J. ET AL. Modifiers of epigenetic reprogramming show paternal effects in the mouse. Nature genetics, 2007; Bd. 39, Nr. 5, S. 614–622

CHONG S. WHITELAW EMMA Epigenetic germline inheritance. Current opinion in genetics & development, 2004; Bd. 14, Nr. 6, S. 692–696

CHRISTENSEN B. C. MARSIT C. J. Epigenomics in Environmental Health. Frontiers in Genetics, 2011; Bd. 2,

COONEY CRAIG A DAVE A. A. WOLFF GEORGE L Maternal methyl supplements in mice affect epigenetic variation and DNA methylation of offspring. The Journal of nutrition, 2002; Bd. 132, Nr. 8 Suppl, S. 2393S–2400S

CORREIA M. L. G. HAYNES W. G. RAHMOUNI K. MORGAN D. A. SIVITZ W. I. MARK A. L. The concept of selective leptin resistance: evidence from agouti yellow obese mice. Diabetes, 2002; Bd. 51, Nr. 2, S. 439–442

CROPLEY J. E. SUTER C. M. BECKMAN K. B. MARTIN D. I. K. Germ-line epigenetic modification of the murine Avy allele by nutritional supplementation. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2006a; Bd. 103, Nr. 46, S. 17308 –17312

DAHLHOFF C. FÜRST R. W. RUHLIG K. SEDLMEIER E.-M. BADER B. L. Epigenetik und Ernährung. *Ernährung - Wissenschaft und Praxis*, 2008; Bd. 2, Nr. 3, S. 116–124

DAVIS C. D. UTHUS E. O. DNA Methylation, Cancer Susceptibility, and Nutrient Interactions. *Experimental Biology and Medicine*, 2004; Bd. 229, Nr. 10, S. 988–995

DELAGE B. DASHWOOD R. H. Dietary manipulation of histone structure and function. *Annual review of nutrition*, 2008; Bd. 28, S. 347–366

DETICH N. The Methyl Donor S-Adenosylmethionine Inhibits Active Demethylation of DNA: A CANDIDATE NOVEL MECHANISM FOR THE PHARMACOLOGICAL EFFECTS OF S-ADENOSYLMETHIONINE. *Journal of Biological Chemistry*, 2003; Bd. 278, Nr. 23, S. 20812–20820

DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR ERNÄHRUNG ÖSTERREICHISCHE GESELLSCHAFT FÜR ERNÄHRUNG SCHWEIZERISCHE GESELLSCHAFT FÜR ERNÄHRUNG *Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr*. Umschau-Verl., Frankfurt am Main. 2012

DINULESCU D. M. CONE R. D. Agouti and agouti-related protein: analogies and contrasts. *The Journal of biological chemistry*, 2000; Bd. 275, Nr. 10, S. 6695–6698

DOLINOY D. C. HUANG D. JIRTLE R. L. Maternal nutrient supplementation counteracts bisphenol A-induced DNA hypomethylation in early development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007; Bd. 104, Nr. 32, S. 13056–13061

DOLINOY D. C. WEIDMAN J. R. WATERLAND ROBERT A JIRTLE R. L. Maternal genistein alters coat color and protects Avy mouse offspring from obesity by modifying the fetal epigenome. *Environmental health perspectives*, 2006; Bd. 114, Nr. 4, S. 567–572

DOMINGUEZ-SALAS P. COX S. E. PRENTICE A. M. HENNIG B. J. MOORE S. E. Maternal nutritional status, C(1) metabolism and offspring DNA methylation: a review of current evidence in human subjects. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 2012; Bd. 71, Nr. 1, S. 154–165

DUHL D. M. J. VRIELING HARRY MILLER KIMBERLY A. WOLFF GEORGE L. BARSH GREGORY S. Neomorphic agouti mutations in obese yellow mice. *Nat Genet*, 1994; Bd. 8, Nr. 1, S. 59–65

- DUHL D. M. VRIELING H MILLER K A WOLFF G L BARSH G S Neomorphic agouti mutations in obese yellow mice. *Nature genetics*, 1994; Bd. 8, Nr. 1, S. 59–65
- ELLIS L. ATADJA P. W. JOHNSTONE R. W. Epigenetics in cancer: targeting chromatin modifications. *Molecular cancer therapeutics*, 2009a; Bd. 8, Nr. 6, S. 1409–1420
- ELMADFA I. *Ernährungslehre : 101 Tabellen*. Ulmer, Stuttgart. 2004
- ELMADFA I. LEITZMANN C. *Ernährung des Menschen*. Ulmer, Stuttgart. 1990
- ERIKSSON J. G. FORSEN T. J. OSMOND CLIVE BARKER D. J. P. Pathways of infant and childhood growth that lead to type 2 diabetes. *Diabetes care*, 2003; Bd. 26, Nr. 11, S. 3006–3010
- FANG M. CHEN D. YANG C. S. Dietary polyphenols may affect DNA methylation. *The Journal of nutrition*, 2007; Bd. 137, Nr. 1 Suppl, S. 223S–228S
- FAULK C. DOLINOY D. C. Timing is everything. *Epigenetics*, 2011; Bd. 6, Nr. 7, S. 791–797
- FEINBERG A. P. Phenotypic plasticity and the epigenetics of human disease. *Nature*, 2007; Bd. 447, Nr. 7143, S. 433–440
- FEINBERG A. P. Epigenetics at the epicenter of modern medicine. *JAMA: the journal of the American Medical Association*, 2008; Bd. 299, Nr. 11, S. 1345–1350
- FENG Q. ZHANG YI The MeCP1 complex represses transcription through preferential binding, remodeling, and deacetylating methylated nucleosomes. *Genes & Development*, 2001; Bd. 15, Nr. 7, S. 827–832
- FRAGA M. F. BALLESTAR E. VILLAR-GAREA A. BOIX-CHORNET M. ESPADA J. SCHOTTA G. BONALDI T. HAYDON C. ROPERO S. ET AL. Loss of acetylation at Lys16 and trimethylation at Lys20 of histone H4 is a common hallmark of human cancer. *Nature genetics*, 2005; Bd. 37, Nr. 4, S. 391–400
- FRANKS P. W. LING C. Epigenetics and obesity: the devil is in the details. *BMC medicine*, 2010; Bd. 8, S. 88
- FRASER P. BICKMORE W. Nuclear organization of the genome and the potential for gene regulation. *Nature*, 2007; Bd. 447, Nr. 7143, S. 413–417

- FRIGERI L. G. WOLFF G L TEGUH C. Differential responses of yellow Avy/A and agouti A/a (BALB/c X VY) F1 hybrid mice to the same diets: glucose tolerance, weight gain, and adipocyte cellularity. *International journal of obesity*, 1988; Bd. 12, Nr. 4, S. 305–320
- FU S. KURZROCK R. Development of curcumin as an epigenetic agent. *Cancer*, 2010; Bd. 116, Nr. 20, S. 4670–4676
- GENDREL A.-V. HEARD E. Fifty years of X-inactivation research. *Development* (Cambridge, England), 2011; Bd. 138, Nr. 23, S. 5049–5055
- GOLDBERG A. D. ALLIS C. D. BERNSTEIN E. Epigenetics: A Landscape Takes Shape. *Cell*, 2007; Bd. 128, Nr. 4, S. 635–638
- GRANT P. A. A tale of histone modifications. *Genome biology*, 2001; Bd. 2, Nr. 4, S. REVIEWS0003
- GREWAL S. I. S. ELGIN S. C. R. Transcription and RNA interference in the formation of heterochromatin. *Nature*, 2007a; Bd. 447, Nr. 7143, S. 399–406
- HALAAS J. L. BOOZER C. BLAIR-WEST J. FIDAHUSEIN N. DENTON D. A. FRIEDMAN J. M. Physiological response to long-term peripheral and central leptin infusion in lean and obese mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1997; Bd. 94, Nr. 16, S. 8878–8883
- HALES C. N. BARKER D. J. The thrifty phenotype hypothesis. *British medical bulletin*, 2001; Bd. 60, S. 5–20
- HARDY T. M. TOLLEFSBOL T. O. Epigenetic diet: impact on the epigenome and cancer. *Epigenomics*, 2011; Bd. 3, Nr. 4, S. 503–518
- HEIJMANS B. T. TOBI E. W. LUMEY L. H. SLAGBOOM P. E. The epigenome: archive of the prenatal environment. *Epigenetics: official journal of the DNA Methylation Society*, 2009; Bd. 4, Nr. 8, S. 526–531
- HENDERSON I. R. JACOBSEN S. E. Epigenetic inheritance in plants. *Nature*, 2007; Bd. 447, Nr. 7143, S. 418–424

HENIKOFF S. SHILATIFARD A. Histone modification: cause or cog? Trends in genetics: TIG, 2011; Bd. 27, Nr. 10, S. 389–396

HOET J. J. HANSON M. A. Intrauterine nutrition: its importance during critical periods for cardiovascular and endocrine development. The Journal of physiology, 1999; Bd. 514 (Pt 3), S. 617–627

HORSTHEMKE B. LUDWIG M. Assisted reproduction: the epigenetic perspective. Human reproduction update, 2005; Bd. 11, Nr. 5, S. 473–482

ILNYTSKA O. ARGYROPOULOS G The role of the Agouti-Related Protein in energy balance regulation. Cellular and molecular life sciences: CMLS, 2008; Bd. 65, Nr. 17, S. 2721–2731

INSTITUTE OF MEDICINE, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES USA. *Dietary reference intakes for folate, thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B12, panthothenic acid, biotin, and choline*. National Academy Press; Washington D.C., 1998

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION *2010-2012 strategy*. Aktuelle Version:2012. Internet: <http://www.idf.org/2010-2012-strategy> (Zugriff: 08.11.2012).

ITO S. WAKAMATSU K. Human hair melanins: what we have learned and have not learned from mouse coat color pigmentation. Pigment Cell & Melanoma Research, 2011; Bd. 24, Nr. 1, S. 63–74

JACKSON I. J. Molecular and developmental genetics of mouse coat color. Annual review of genetics, 1994; Bd. 28, S. 189–217

JACOB R. A. GRETZ D. M. TAYLOR P. C. JAMES S J POGRIBNY I. P. MILLER B. J. HENNING S. M. SWENDSEID M. E. Moderate folate depletion increases plasma homocysteine and decreases lymphocyte DNA methylation in postmenopausal women. The Journal of nutrition, 1998; Bd. 128, Nr. 7, S. 1204–1212

JAMES W. P. T. The epidemiology of obesity: the size of the problem. Journal of internal medicine, 2008; Bd. 263, Nr. 4, S. 336–352

JIRTLE R. L. SKINNER M. K. Environmental epigenomics and disease susceptibility. Nature reviews. Genetics, 2007; Bd. 8, Nr. 4, S. 253–262

JOHNSON P. R. HIRSCH J. Cellularity of adipose depots in six strains of genetically obese mice. *Journal of lipid research*, 1972; Bd. 13, Nr. 1, S. 2–11

JONES B. H. KIM J. H. ZEMEL M. B. WOYCHIK R. P. MICHAUD E. J. WILKISON W. O. MOUSTAID N. Upregulation of adipocyte metabolism by agouti protein: possible paracrine actions in yellow mouse obesity. *The American journal of physiology*, 1996; Bd. 270, Nr. 1 Pt 1, S. E192–196

KAATI G BYGREN L O EDVINSSON S Cardiovascular and diabetes mortality determined by nutrition during parents' and grandparents' slow growth period. *European journal of human genetics: EJHG*, 2002; Bd. 10, Nr. 11, S. 682–688

KALANTRY S. Recent advances in X-chromosome inactivation. *Journal of cellular physiology*, 2011; Bd. 226, Nr. 7, S. 1714–1718

KEGEL B. *Epigenetik wie Erfahrungen vererbt werden*. DuMont, Köln. 2009

KIKUNO N. SHIINA H. URAKAMI S. KAWAMOTO K. HIRATA H. TANAKA Y. MAJID S. IGAWA M. DAHIYA R. Genistein mediated histone acetylation and demethylation activates tumor suppressor genes in prostate cancer cells. *International journal of cancer. Journal international du cancer*, 2008; Bd. 123, Nr. 3, S. 552–560

KIM Y.-I. Folate and DNA Methylation: A Mechanistic Link between Folate Deficiency and Colorectal Cancer? *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 2004; Bd. 13, Nr. 4, S. 511–519

KLEBIG M. L. WILKINSON J. E. GEISLER J. G. WOYCHIK R. P. Ectopic expression of the agouti gene in transgenic mice causes obesity, features of type II diabetes, and yellow fur. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1995; Bd. 92, Nr. 11, S. 4728–4732

DE KOK T. M. VAN BREDA S. G. MANSON M. M. Mechanisms of combined action of different chemopreventive dietary compounds: a review. *European journal of nutrition*, 2008; Bd. 47 Suppl 2, S. 51–59

KOUZARIDES T. Chromatin modifications and their function. *Cell*, 2007; Bd. 128, Nr. 4, S. 693–705

KUSSMANN M. KRAUSE L. SIFFERT W. Nutrigenomics: where are we with genetic and epigenetic markers for disposition and susceptibility? *Nutrition reviews*, 2010; Bd. 68 Suppl 1, S. S38–47

KUZAWA C. W. THAYER Z. M. Timescales of human adaptation: the role of epigenetic processes. *Epigenomics*, 2011; Bd. 3, Nr. 2, S. 221–234

KWON H. Y. BULTMAN S. J. LÖFFLER C. CHEN W. J. FURDON P. J. POWELL J. G. USALA A. L. WILKISON W. HANSMANN I. ET AL. Molecular structure and chromosomal mapping of the human homolog of the agouti gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1994; Bd. 91, Nr. 21, S. 9760–9764

LEVER M. GEORGE P. M. ELMSLIE J. L. ATKINSON W. SLOW S. MOLYNEUX S. L. TROUGHTON R. W. RICHARDS A. M. FRAMPTON C. M. ET AL. Betaine and Secondary Events in an Acute Coronary Syndrome Cohort. *PLoS ONE*, 2012; Bd. 7, Nr. 5,

LI Y. LIU L. ANDREWS L. G. TOLLEFSBOL T. O. Genistein depletes telomerase activity through cross-talk between genetic and epigenetic mechanisms. *International journal of cancer. Journal international du cancer*, 2009; Bd. 125, Nr. 2, S. 286–296

LU D. WILLARD D. PATEL I. R. KADWELL S. OVERTON L. KOST T. LUTHER M. CHEN W. WOYCHIK R. P. ET AL. Agouti protein is an antagonist of the melanocyte-stimulating-hormone receptor. *Nature*, 1994; Bd. 371, Nr. 6500, S. 799–802

MARTIN D. I. K. CROPLEY J. E. SUTER C. M. Epigenetics in disease: leader or follower? *Epigenetics: official journal of the DNA Methylation Society*, 2011; Bd. 6, Nr. 7, S. 843–848

MASON J. B. Biomarkers of Nutrient Exposure and Status in One-Carbon (Methyl) Metabolism. *The Journal of Nutrition*, 2003; Bd. 133, Nr. 3, S. 941S–947S

MCGOWAN P. O. MEANEY M. J. SZYF MOSHE Diet and the epigenetic (re)programming of phenotypic differences in behavior. *Brain research*, 2008; Bd. 1237, S. 12–24

MCKAY J. A. GROOM A. POTTER C. CONEY WORTH L. J. FORD D. MATHERS J. C. RELTON C. L. 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; Bd. 7, Nr. 3, S. e33290

MELCHIOR F. SUMO--nonclassical ubiquitin. *Annual review of cell and developmental biology*, 2000; Bd. 16, S. 591–626

MENDEL V. E. Influence of the insulin-to-growth hormone ratio on body composition of mice. *The American journal of physiology*, 1980; Bd. 238, Nr. 3, S. E231–234

MICHAUD E. J. MYNATT R. L. MILTENBERGER R. J. KLEBIG M. L. WILKINSON J. E. ZEMEL M. B. WILKISON W. O. WOYCHIK R. P. Role of the agouti gene in obesity. *The Journal of endocrinology*, 1997; Bd. 155, Nr. 2, S. 207–209

MIGEON B. R. The role of X inactivation and cellular mosaicism in women's health and sex-specific diseases. *JAMA: the journal of the American Medical Association*, 2006; Bd. 295, Nr. 12, S. 1428–1433

MILTENBERGER R. J. MYNATT R. L. WILKINSON J. E. WOYCHIK R. P. The role of the agouti gene in the yellow obese syndrome. *The Journal of nutrition*, 1997; Bd. 127, Nr. 9, S. 1902S–1907S

MOORE T. HAIG D. Genomic imprinting in mammalian development: a parental tug-of-war. *Trends in genetics: TIG*, 1991; Bd. 7, Nr. 2, S. 45–49

MORGAN HUGH D SANTOS F. GREEN K. DEAN W. REIK WOLF Epigenetic reprogramming in mammals. *Human molecular genetics*, 2005; Bd. 14 Spec No 1, S. R47–58

MUHONEN P. HOLTHOFER H. Epigenetic and microRNA-mediated regulation in diabetes. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 2009; Bd. 24, Nr. 4, S. 1088–1096

MURRAY K. THE OCCURRENCE OF EPSILON-N-METHYL LYSINE IN HISTONES. *Biochemistry*, 1964; Bd. 3, S. 10–15

MURRELL A. RAKYAN VARDHMAN K BECK S. From genome to epigenome. *Human molecular genetics*, 2005; Bd. 14 Spec No 1, S. R3–R10

MYNATT R. L. MILTENBERGER R. J. KLEBIG M. L. ZEMEL M. B. WILKINSON J. E. WILKINSON W. O. WOYCHIK R. P. Combined effects of insulin treatment and adipose tissue-specific agouti expression on the development of obesity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1997; Bd. 94, Nr. 3, S. 919–922

NAGLE D. L. MCGRAIL S. H. VITALE J. WOOLF E. A. DUSSAULT B. J. JR DIROCCO L. HOLMGREN L. MONTAGNO J. BORK P. ET AL. The mahogany protein is a receptor involved in suppression of obesity. *Nature*, 1999; Bd. 398, Nr. 6723, S. 148–152

NAKAO M. Epigenetics: interaction of DNA methylation and chromatin. *Gene*, 2001; Bd. 278, Nr. 1-2, S. 25–31

NATHAN D. STERNER D. E. BERGER S. L. Histone modifications: Now summoning sumoylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003; Bd. 100, Nr. 23, S. 13118–13120

NEEL J. V. Diabetes mellitus: a „thrifty“ genotype rendered detrimental by „progress“? 1962. *Bulletin of the World Health Organization*, 1999; Bd. 77, Nr. 8, S. 694–703; discussion 692–693

NG K. PULLIRSCH D. LEEB M. WUTZ A. Xist and the order of silencing. *EMBO reports*, 2007; Bd. 8, Nr. 1, S. 34–39

NICULESCU M. D. ZEISEL S. H. Diet, Methyl Donors and DNA Methylation: Interactions between Dietary Folate, Methionine and Choline. *The Journal of Nutrition*, 2002; Bd. 132, Nr. 8, S. 2333S–2335S

NOWAK S. J. CORCES V. G. Phosphorylation of histone H3: a balancing act between chromosome condensation and transcriptional activation. *Trends in genetics: TIG*, 2004; Bd. 20, Nr. 4, S. 214–220

ORDOVÁS J. M. SMITH C. E. Epigenetics and cardiovascular disease. *Nature reviews. Cardiology*, 2010; Bd. 7, Nr. 9, S. 510–519

OUYANG J. GILL G. SUMO engages multiple corepressors to regulate chromatin structure and transcription. *Epigenetics: official journal of the DNA Methylation Society*, 2009; Bd. 4, Nr. 7, S. 440–444

OWEN C. M. SEGARS J. H. JR Imprinting disorders and assisted reproductive technology. *Seminars in reproductive medicine*, 2009; Bd. 27, Nr. 5, S. 417–428

PAN W. KASTIN A. J. Mahogany, blood-brain barrier, and fat mass surge in AVY mice. *International journal of obesity (2005)*, 2007; Bd. 31, Nr. 6, S. 1030–1032

PEMBREY M. The Avon Longitudinal Study of Parents and Children (ALSPAC): a resource for genetic epidemiology. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*, 2004; Bd. 151 Suppl 3, S. U125–129

PEMBREY M. E. BYGREN LARS OLOV KAATI GUNNAR EDVINSSON SÖREN NORTHSTONE K. SJÖSTRÖM M. GOLDING J. Sex-specific, male-line transgenerational responses in humans. *European journal of human genetics: EJHG*, 2006; Bd. 14, Nr. 2, S. 159–166

PRAWITT ZABEL *Krebsepigenetik, Epigenetik*. 2005; Bd. 17, Nr. 3, S. 296–302

RAKYAN V K PREIS J. MORGAN H D WHITELAW E The marks, mechanisms and memory of epigenetic states in mammals. *The Biochemical journal*, 2001; Bd. 356, Nr. Pt 1, S. 1–10

RAKYAN VARDHMAN K BLEWITT M. E. DRUKER R. PREIS J. I. WHITELAW EMMA Metastable epialleles in mammals. *Trends in genetics: TIG*, 2002; Bd. 18, Nr. 7, S. 348–351

RANKINEN T. ZUBERI A. CHAGNON Y. C. WEISNAGEL S. J. ARGYROPOULOS GEORGE WALTS B. PÉRUSSE L. BOUCHARD C. The human obesity gene map: the 2005 update. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 2006; Bd. 14, Nr. 4, S. 529–644

RATHMANNER T. MEIDLINGER B. BARITSCH C. LAWRENCE K. DORNER T. KUNZE M. Erster Österreichischer Adipositasbericht 2006 Grundlage für zukünftige Handlungsfelder: Kinder, Jugendliche, Erwachsene 2006;

RAZIN A. CpG methylation, chromatin structure and gene silencing—a three-way connection. *The EMBO journal*, 1998; Bd. 17, Nr. 17, S. 4905–4908

REED M. C. NIJHOUT H. F. NEUHOUSER M. L. GREGORY J. F. SHANE B. JAMES S. JILL BOYNTON A. ULRICH C. M. A Mathematical Model Gives Insights into Nutritional and Genetic Aspects of Folate-Mediated One-Carbon Metabolism. *The Journal of Nutrition*, 2006; Bd. 136, Nr. 10, S. 2653–2661

REIK W WALTER J. Genomic imprinting: parental influence on the genome. *Nature reviews. Genetics*, 2001; Bd. 2, Nr. 1, S. 21–32

REIK WOLF Stability and flexibility of epigenetic gene regulation in mammalian development. *Nature*, 2007; Bd. 447, Nr. 7143, S. 425–432

REUTER S. GUPTA S. C. PARK B. GOEL A. AGGARWAL B. B. Epigenetic changes induced by curcumin and other natural compounds. *Genes & nutrition*, 2011; Bd. 6, Nr. 2, S. 93–108

RICHARDS E. J. Inherited epigenetic variation--revisiting soft inheritance. *Nature reviews. Genetics*, 2006; Bd. 7, Nr. 5, S. 395–401

RINGO J. *Genetik kompakt*. Elsevier, Spektrum, Akad. Verl., München; Heidelberg. 2006

RODENHISER D. MANN M. Epigenetics and human disease: translating basic biology into clinical applications. *CMAJ: Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne*, 2006; Bd. 174, Nr. 3, S. 341–348

ROSS S. A. Diet and DNA methylation interactions in cancer prevention. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2003; Bd. 983, S. 197–207

RUEMMELE F. M. GARNIER-LENGLINÉ H. Why are genetics important for nutrition? Lessons from epigenetic research. *Annals of nutrition & metabolism*, 2012; Bd. 60 Suppl 3, S. 38–43

SCHARF A. N. D. IMHOF A. Every methyl counts – Epigenetic calculus. *FEBS Letters*, 2011; Bd. 585, Nr. 13, S. 2001–2007

SHIIO Y. EISENMAN R. N. Histone sumoylation is associated with transcriptional repression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003; Bd. 100, Nr. 23, S. 13225–13230

SHISHODIA S. SINGH T. CHATURVEDI M. M. Modulation of transcription factors by curcumin. *Advances in experimental medicine and biology*, 2007; Bd. 595, S. 127–148

SIRACUSA L. D. Genomic organization and molecular genetics of the agouti locus in the mouse. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1991; Bd. 642, S. 419–430

STARZINSKI-POWITZ A. *Die Gene sind nicht alleine schuld*. Aktuelle Version:2009. Internet: http://www.forschung-frankfurt.uni-frankfurt.de/36050609/1Starzinski__Seite_12_16.pdf (Zugriff: 01.04.2012).

SZYF M. Dynamisches Epigenom als Vermittler zwischen Umwelt und Genom. *medizinische genetik*, 2009; Bd. 21, Nr. 1, S. 7–13

THOMSON S. MAHADEVAN L. C. CLAYTON A. L. MAP kinase-mediated signalling to nucleosomes and immediate-early gene induction. *Seminars in cell & developmental biology*, 1999; Bd. 10, Nr. 2, S. 205–214

UMWELTBUNDESAMT *Bisphenol A*. Aktuelle Version:2012. Internet: http://www.umweltbundesamt.at/umweltsituation/schadstoff/schadstoffe_einleitung/bpa/ (Zugriff: 08.11.2012).

VAAG A. A. GRUNNET L. G. ARORA G. P. BRØNS C. The thrifty phenotype hypothesis revisited. *Diabetologia*, 2012; Bd. 55, Nr. 8, S. 2085–2088

VÄSTERMARK Å. KRISHNAN A. HOULE M. E. FREDRIKSSON R. CERDÁ-REVERTER J. M. SCHIÖTH H. B. Identification of Distant Agouti-Like Sequences and Re-Evaluation of the Evolutionary History of the Agouti-Related Peptide (AgRP). *PLoS ONE*, 2012; Bd. 7, Nr. 7,

VRIELING H DUHL D. M. MILLAR S. E. MILLER K A BARSH G S Differences in dorsal and ventral pigmentation result from regional expression of the mouse agouti gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1994; Bd. 91, Nr. 12, S. 5667–5671

WATERLAND R A TRAVISANO M TAHILIANI K G RACHED M. T. MIRZA S. Methyl donor supplementation prevents transgenerational amplification of obesity. *International journal of obesity (2005)*, 2008; Bd. 32, Nr. 9, S. 1373–1379

WATERLAND ROBERT A Assessing the effects of high methionine intake on DNA methylation. *The Journal of nutrition*, 2006; Bd. 136, Nr. 6 Suppl, S. 1706S–1710S

WATERLAND ROBERT A Is epigenetics an important link between early life events and adult disease? *Hormone research*, 2009; Bd. 71 Suppl 1, S. 13–16

WATERLAND ROBERT A JIRTLE R. L. Transposable elements: targets for early nutritional effects on epigenetic gene regulation. *Molecular and cellular biology*, 2003; Bd. 23, Nr. 15, S. 5293–5300

WATERLAND ROBERT A TRAVISANO MICHAEL TAHILIANI KAJAL G Diet-induced hypermethylation at agouti viable yellow is not inherited transgenerationally through

the female. FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology, 2007; Bd. 21, Nr. 12, S. 3380–3385

WEAVER I. C. G. CHAMPAGNE F. A. BROWN S. E. DYMOV S. SHARMA S. MEANEY M. J. SZYF MOSHE Reversal of maternal programming of stress responses in adult offspring through methyl supplementation: altering epigenetic marking later in life. The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience, 2005; Bd. 25, Nr. 47, S. 11045–11054

WEINHOUSE C. ANDERSON O. S. JONES T. R. KIM J. LIBERMAN S. A. NAHAR M. S. ROZEK L. S. JIRTLE R. L. DOLINOY D. C. An expression microarray approach for the identification of metastable epialleles in the mouse genome. Epigenetics: official journal of the DNA Methylation Society, 2011; Bd. 6, Nr. 9, S. 1105–1113

WHITELAW N. C. WHITELAW EMMA Transgenerational epigenetic inheritance in health and disease. Current opinion in genetics & development, 2008; Bd. 18, Nr. 3, S. 273–279

WHITING D. R. GUARIGUATA L. WEIL C. SHAW J. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. Diabetes Research and Clinical Practice, 2011; Bd. 94, Nr. 3, S. 311–321

WIKIPEDIA AUTOREN *X-Inaktivierung*. Aktuelle Version:2.11.2012. Internet: <http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=X-Inaktivierung&oldid=107996712> (Zugriff: 03.11.2012).

WOLFF G L Hereditary obesity and hormone deficiencies in yellow dwarf mice. The American journal of physiology, 1965; Bd. 209, Nr. 3, S. 632–636

WOLFF G L KODELL R. L. MOORE S. R. COONEY C A Maternal epigenetics and methyl supplements affect agouti gene expression in Avy/a mice. FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology, 1998; Bd. 12, Nr. 11, S. 949–957

WOLFF G L ROBERTS D. W. MOUNTJOY K. G. Physiological consequences of ectopic agouti gene expression: the yellow obese mouse syndrome. Physiological genomics, 1999; Bd. 1, Nr. 3, S. 151–163

WOLFFE A. P. MATZKE M. A. Epigenetics: regulation through repression. *Science* (New York, N.Y.), 1999; Bd. 286, Nr. 5439, S. 481–486

WU J. GRUNSTEIN M. 25 years after the nucleosome model: chromatin modifications. *Trends in biochemical sciences*, 2000; Bd. 25, Nr. 12, S. 619–623

XUE B. Z. WILKISON W. O. MYNATT R. L. MOUSTAID N. GOLDMAN M. ZEMEL M. B. The agouti gene product stimulates pancreatic [beta]-cell Ca²⁺ signaling and insulin release. *Physiological genomics*, 1999; Bd. 1, Nr. 1, S. 11–19

XUE B. ZEMEL M. B. Relationship between human adipose tissue agouti and fatty acid synthase (FAS). *The Journal of nutrition*, 2000; Bd. 130, Nr. 10, S. 2478–2481

YAJNIK C S The insulin resistance epidemic in India: fetal origins, later lifestyle, or both? *Nutrition reviews*, 2001; Bd. 59, Nr. 1 Pt 1, S. 1–9

YAJNIK C S FALL C. H. VAIDYA U. PANDIT A. N. BAVDEKAR A. BHAT D. S. OSMOND C HALES C. N. BARKER D. J. Fetal growth and glucose and insulin metabolism in four-year-old Indian children. *Diabetic medicine: a journal of the British Diabetic Association*, 1995; Bd. 12, Nr. 4, S. 330–336

YAJNIK CHITTARANJAN S DESHMUKH U. S. Maternal nutrition, intrauterine programming and consequential risks in the offspring. *Reviews in endocrine & metabolic disorders*, 2008; Bd. 9, Nr. 3, S. 203–211

YANG P. K. KURODA M. I. Noncoding RNAs and intranuclear positioning in monoallelic gene expression. *Cell*, 2007; Bd. 128, Nr. 4, S. 777–786

YANG Y. K. DICKINSON C. LAI Y. M. LI J. Y. GANTZ I. Functional properties of an agouti signaling protein variant and characteristics of its cognate radioligand. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 2001; Bd. 281, Nr. 6, S. R1877–1886

YEN T. T. GILL A. M. FRIGERI L. G. BARSH G. S. WOLFF G. L. Obesity, diabetes, and neoplasia in yellow A(vy)^{-/-} mice: ectopic expression of the agouti gene. *The FASEB Journal*, 1994; Bd. 8, Nr. 8, S. 479–488

ZEGGINI E. WEEDON M. N. LINDGREN C. M. FRAYLING T. M. ELLIOTT K. S. LANGO H. TIMPSON N. J. PERRY J. R. B. RAYNER N. W. ET AL. Replication of genome-wide

association signals in UK samples reveals risk loci for type 2 diabetes. *Science* (New York, N.Y.), 2007; Bd. 316, Nr. 5829, S. 1336–1341

ZEISEL S. H. Genetic polymorphisms in methyl-group metabolism and epigenetics: lessons from humans and mouse models. *Brain research*, 2008; Bd. 1237, S. 5–11

ZEMPLINI J. CHEW Y. C. BAO B. PESTINGER V. WIJERATNE S. S. K. Repression of transposable elements by histone biotinylation. *The Journal of nutrition*, 2009; Bd. 139, Nr. 12, S. 2389–2392

ZHANG YI REINBERG D. Transcription regulation by histone methylation: interplay between different covalent modifications of the core histone tails. *Genes & Development*, 2001; Bd. 15, Nr. 18, S. 2343–2360

ZHANG YUKUN CHEN H. Genistein, an epigenome modifier during cancer prevention. *Epigenetics: official journal of the DNA Methylation Society*, 2011; Bd. 6, Nr. 7, S. 888–891

Entwicklungsgeschichte (Allgemeine Biologie). Aktuelle Version: Internet: <http://www.wissen.de/lexikon/entwicklungsgeschichte-allgemeine-biologie?keyword=Biogenese> (Zugriff: 18.10.2012).

„Ich habe mich bemüht, sämtliche Inhaber der Bildrechte ausfindig zu machen und ihre Zustimmung zur Verwendung der Bilder in dieser Arbeit eingeholt. Sollte dennoch eine Urheberrechtsverletzung bekannt werden, ersuche ich um Meldung bei mir.“

12 Anhang

LEBENS LAUF

Persönliche Daten

Name: Illetschko
 Vorname: Natalia
 Geb. Datum: 11.03.1979
 Staatsbürgerschaft: Österr.
 Adresse: Brigittaplatz 9/8/8
 1200 Wien
 E-Mail: natalia.illetschko@chello.at
 Tel: 0699/10414431

Ausbildung

1986 – 1990 Volksschule Treustraße, 1200 Wien
 1990 – 1995 AHS Unterbergergasse, 1200 Wien
 1995 – 2000 HBLA Strassergasse 19, 1090 Wien
 Abschluss mit Matura (Thema der Projektarbeit:
 Ernährungszustand diverser Österreichischer
 Bevölkerungsgruppen und aktuelle Trends im
 Lebensmittelbereich)
 ab 2000 Studium der Ernährungswissenschaften an der Universität Wien

Berufspraxis

Seit 1.06.12 JONAS, Franz Jonas Platz 10-12/EG/Top 3, 1210 Wien, Teilzeit
 im Service
 6.6.11 – 1.06.012 JONAS, Franz Jonas Platz 10-12/EG/Top 3, 1210 Wien,
 geringfügig im Service
 16.11.09 – 31.5.09 Allianz Elementar Vers. AG, Floridsdorfer Hauptstraße 37,
 1210Wien im KC Floridsdorf, geringfügige Beschäftigung

- 6.8.09 – 4.9.09 Allianz Elementar Vers. AG, Floridsdorfer Hauptstraße 37, 1210 Wien
Im KC Floridsdorf als Praktikantin
- 3.7.09 – 5.8.09 Allianz Elementar Vers. AG, Floridsdorfer Hauptstraße 37, 1210 Wien im KC Floridsdorf, geringfügige Beschäftigung
- 1.9.08 – 30.9.08 LEBENSMITTELUNTERSUCHUNGSANSTALT Ma 38, Henneberggasse 3, 1030 Wien in der Bakteriologie und Lebensmittelchemie
- 1.8.07 – 31.8.07 DONAUSPITAL, Langobarden Straße 122 in der Anstaltsapotheke, als Praktikantin
- 1.10.06 – 31.3.07 Fa. IMMORENT, Windmühlgasse 22-24, 1060 Wien in der Personalabteilung. Verwaltung der Bewerberstammdaten, Urlaubs- und Krankenstandsmeldungen, allgemeine Büroarbeit
- 3.11.06 – 31.12.11 HOPFEN UND MALZ, Lenaugasse 5, 1080 Wien im Service
- 1.8.06 - 30.9.06 Ferialaushilfe Fa. IMMORENT in der Marketingabteilung.
- 1.12.05 – 31.1.06 Aushilfe Fa. IMMORENT in der Personalabteilung. Erstellung des internen Ausbildungskatalogs, Organisation betriebsinterner Seminare, allgemeine Büroarbeit
- 1.6. 05 – 30.9.05 Aushilfe Fa. IMMORENT in der Marketingabteilung. Korrekturlesen, Pressespiegelerstellung, Marktdatenaufbereitung in Word und Excel, Internet Recherche, Werbemittelversand, Erstellung von Referenzblättern.
- 1.12.04 – 31.1.05 Aushilfe Fa. IMMORENT in der Marketingabteilung. Neben den üblichen Sekretariatstätigkeiten Eingabe und Kontrolle von Statistiken und Aufbau des Pressearchivs.

- 1.2.04 – 2.3.04 Ferialpraktikum am INSTITUT FÜR ERNÄHRUNGSWISSENSCHAFTEN. Tätigkeit war die Dateneingabe im Bereich Ernährungserhebung.
- 2001 Freie Mitarbeit bei der Firma Lycos als Onlineredakteurin
1. 6.98 – 1.8.98 Praktikum im HOTEL PRESIDENT, Wallgasse 23, 1060 Wien im Restaurant und in der Küche

Besondere Kenntnisse

IT: MS Office

Sprachen: Englisch fließend in Wort und Schrift
Französisch Grundkenntnisse