

Received: 2013.04.24  
Accepted: 2014.05.27  
Published: 2014.06.30

## Programowanie rozwojowe chorób metabolicznych – przegląd wyników badań na zwierzęcych modelach doświadczalnych

### Developmental programming of metabolic diseases – a review of studies on experimental animal models

Iwona Piotrowska, Paulina Zgódko, Marta Milewska, Maciej Błaszczuk, Katarzyna Grzelkowska-Kowalczyk

Katedra Nauk Fizjologicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

#### Streszczenie

Wzrost i rozwój *in utero* jest kompleksowym i dynamicznym procesem, wymagającym interakcji między organizmem matki i płodu. Dostarczenie makro – i mikrośladników odżywczych, tlenu i sygnałów endokrynych ma kluczowe znaczenie dla zapewnienia wysokiego poziomu proliferacji, wzrostu i różnicowania komórek, a zakłócenia w odżywianiu wpływają niekorzystnie nie tylko na wzrost płodu, ale także na zdrowie potomstwa w przyszłości. Choroby powiązane z niewłaściwym stylem życia dorosłych, takie jak cukrzyca typu 2, otyłość, nadciśnienie tętnicze, mogą być „zaprogramowane” we wczesnym rozwoju, a zakłócony wzrost płodu prowadzi do objawów zespołu metabolicznego. U podstaw zaburzeń metabolicznych leżą zmiany strukturalne niektórych narządów, takich jak mózg, trzustka i nerki, modyfikacje szlaków sygnałowych i metabolicznych w mięśniach szkieletowych i tkance tłuszczowej, mechanizmy epigenetyczne oraz dysfunkcja mitochondriów. Programowanie zaburzeń metabolicznych jest związane z zakłóceniem środowiska wewnątrzmacicznego doświadczonym we wczesnym i późniejszym okresie ciąży, powoduje zmiany w odkładaniu triglicerydów, aktywację hormonalnej „osi stresu” i zaburzenia tolerancji glukozy u potomstwa. W pracy podsumowano wyniki doświadczeń, które pozwoliły zidentyfikować te zależności oraz podkreślono rolę, jaką w badaniach tego ważnego zagadnienia odegrały modele zwierzęce.

#### Słowa kluczowe:

cukrzyca typu 2 • matczyna otyłość • modele zwierzęce • programowanie rozwojowe • zespół metaboliczny

#### Summary

Growth and development *in utero* is a complex and dynamic process that requires interaction between the mother organism and the fetus. The delivery of macro – and micronutrients, oxygen and endocrine signals has crucial importance for providing a high level of proliferation, growth and differentiation of cells, and a disruption in food intake not only has an influence on the growth of the fetus, but also has negative consequences for the offspring's health in the future. Diseases that traditionally are linked to inappropriate life style of adults, such as type 2 diabetes, obesity, and arterial hypertension, can be “programmed” in the early stage of life and the disturbed growth of the fetus leads to the symptoms of the metabolic syndrome. The structural changes of some organs, such as the brain, pancreas and kidney, modifications of the signaling and metabolic pathways in skeletal muscles and in fatty tissue, epigenetic mechanisms and mitochondrial dysfunction are the basis of the metabolic disruptions. The programming of the metabolic disturbances is connected with the disruption in the intrauterine environment experienced in the early and late gestation period. It causes the changes

	in deposition of triglycerides, activation of the hormonal “stress axis” and disturbances in the offspring’s glucose tolerance. The present review summarizes experimental results that led to the identification of the above-mentioned links and it underlines the role of animal models in the studies of this important concept.
<b>Keywords:</b>	<b>type 2 diabetes • maternal obesity • animal models • fetal programming • metabolic syndrome</b>
<b>Full-text PDF:</b>	<a href="http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1111134">http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1111134</a>
<b>Word count:</b>	5444
<b>Tables:</b>	–
<b>Figures:</b>	1
<b>References:</b>	108

**Adres autorki:** dr hab. Katarzyna Grzelkowska-Kowalczyk, Katedra Nauk Fizjologicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa; e-mail: k\_grzel\_kow@poczta.fm

**Wykaz skrótów:** **11β-HSD2** – 11β hydroksysteroidowa dehydrogenaza 2 (11β-hydroxysteroid dehydrogenase 2); **ARC** – jądro łukowate podwzgórza (arcuate nucleus); **ATP** – adenozyno-5'-trifosforan (adenosine-5'-triphosphate); **CRH** – hormon uwalniający adrenokortykotropinę (adrenocorticotrophic hormone); **DMH** – jądro grzbietowo-przyśrodkowe podwzgórza (dorsomedial hypothalamic nucleus); **GDM** – cukrzyca ciążowa (gestational diabetes mellitus); **Gen Agtr1b** – receptor angiotensyny, typu 1b; **Gen Lxra** – liver-X-receptor α; **GLUT4** – transporter glukozy typu 4 (glucose transporter type 4); **ICR** – regiony kontroli piętnowania (imprinting control regions); **IGF1** – insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (insulin-like growth factor 1); **IGF2** – insulinopodobny czynnik wzrostu 2 (insulin-like growth factor 2); **IUGR** – model ograniczenia wewnątrzmacicznego wzrostu płodu (intrauterine growth restriction); **LHA** – obszar boczny okołosklepieniowy; **NO** – tlenek azotu (nitric oxide); **NOS** – syntaza tlenu azotu (nitric oxide synthase); **OH** – rodnik hydroksylowy; **Pdx-1** – trzustkowo-dwunastniczy homeobox 1 (pancreatic and duodenal homeobox 1); **PI3K** – 3-kinaza fosfatydylinozytolu (phosphatidylinositol 3-kinases); **PKCζ** – kinaza białkowa C zeta (protein kinase C ζ); **PPARα/γ** – aktywowany proliferatorami peroksysomów receptor α/γ (peroxisome proliferator-activated receptor α/γ); **PVN** – jądro przykomorowe (paraventricular nucleus); **RNS** – reaktywne formy azotu (reactive nitrogen species); **ROS** – reaktywne formy tlenu (reactive oxygen species); **STZ** – streptozotocyna (streptozotocin); **USF-1** – nadrzędny czynnik transkrypcyjny 1 (upstream transcription factor-1).

## WPROWADZENIE – HIPOTEZA PROGRAMOWANIA ROZWOJOWEGO

Koncepcja „rozwojowego pochodzenia zdrowia i choroby” lub „programowania rozwojowego” zakłada, że bodziec działający podczas najważniejszego okresu wzrostu i rozwoju, wprowadza długotrwałe zmiany rozwojowe i fizjologiczne w głównych tkankach lub układach narządów [30]. Mimo że pojęcie programowania sugerowano przed ukazaniem się prac Barkera i wsp., to właśnie ich badania epidemiologiczne w Wielkiej Brytanii w późnych latach 80 XX w., pozwoliły na wyciągnięcie wniosku, że wydarzenia w życiu płodowym mogą mieć wpływ na powstanie długoterminowego ryzyka chorób metabolicznych. Badania w grupie 64-letnich mężczyzn ujawniły odwrotną zależność między ciśnieniem skurczowym krwi i zwiększoną śmiertelnością wywołaną chorobami sercowo-naczyniowymi, a masą urodzeniową oraz odwrotny związek między masą urodzeniową, a tolerancją glukozy i insulinoopornością [31]. Okazało się, że osoby z najniższą masą urodzeniową były 6-krotnie bardziej narażone

na rozwój cukrzycy typu 2 lub zaburzeń tolerancji glukozy, niż osoby o większej masie ciała w chwili urodzenia. Wyniki te potwierdzono w różnych grupach etnicznych. Na podstawie tych obserwacji Hales i Barker zaproponowali „hipotezę oszczędnego fenotypu” („thrifty phenotype hypothesis”), według której niedożywienie płodu powoduje uruchomienie serii fizjologicznych i/lub metabolicznych adaptacji, mających na celu zwiększenie szans na przetrwanie w warunkach słabego żywienia w okresie pourodzeniowym [30]. Przystosowanie to polega na priorytetowym rozwoju ważnych narządów, takich jak mózg, kosztem innych tkanek i narządów, np. trzustki. Zgodnie z tą koncepcją, niedostateczne odżywianie wewnątrzmaciczne ma wpływ i trwale zmienia (lub „programuje”) metabolizm całego organizmu, promując odkładanie tłuszczu. Te fizjologiczne i metaboliczne zmiany w okresie pourodzeniowym byłyby korzystne dla potomstwa narażonego na niedożywienie, stają się jednak szkodliwe, gdy potomstwo po urodzeniu jest eksponowane na środowisko bogate w składniki odżywcze.

## MODELE ZWIERZĘCE W BADANIU „PROGRAMOWANIA ROZWOJOWEGO”

Modele zwierzęce zapewniają nieocenioną pomoc w wyjaśnianiu mechanizmów i skutków wywołanych podczas programowania rozwojowego. Dzięki nim można nie tylko kontrolować warunki, na które jest wystawiony płód, ale także jest możliwe pobieranie próbek tkanek matki, płodu lub potomstwa w każdej fazie rozwoju. Wiele doświadczeń przeprowadzono na dużych zwierzętach, takich jak owce [100], świnie [67] i ssaki naczelne [19,55], jednak większość badań wykorzystuje modele gryzoni ze względu na krótki czas ciąży i życia osobniczego. Żywieniowe, chirurgiczne i farmakologiczne modele doświadczalne gryzoni pozwalają śledzić zjawisko programowania rozwojowego i gromadzić dowody na działanie mechanizmów wyjaśniających zależności między zakłóconym rozwojem płodu a chorobami wieku dorosłego [97].

## MODELE DOŚWIADCZALNE MATCZYNEGO NIEDOŻYWIENIA

### Ograniczenie podaży kalorii matce

Opisano liczne badania na szczurach z wykorzystaniem ogólnych ograniczeń składników odżywczych w płodowym programowaniu chorób wieku dorosłego. Wykazano, że zmniejszenie całkowitego spożycia energii przez ciężarne matki wywołuje endokrynne i metaboliczne zaburzenia u potomstwa. Badania te ujawniły ponadto, że ograniczenie dostępu do składników odżywczych w czasie trwania ciąży jest podstawowe w programowaniu tych zaburzeń. U szczurów ograniczenie żywienia do 50% dawki *ad libitum* w ostatnim tygodniu ciąży powoduje niską masę urodzeniową potomstwa oraz zmniejszoną masę komórek  $\beta$  trzustki. Mimo że zwierzęta te mogą odzyskać masę ciała i trzustki po prawidłowym karmieniu w okresie pourodzeniowym, wykazują zmniejszoną masę komórek  $\beta$  trzustki i zawartość insuliny w wieku dorosłym [8]. Przedłużenie ograniczenia podaży składników odżywczych na okres ssania powoduje stałą redukcję masy komórek  $\beta$ , a następnie wraz z wiekiem u potomstwa dochodzi do zaburzeń tolerancji glukozy. Dalsze ograniczenie spożycia pokarmu u samic (do 30% dawki *ad libitum*) powoduje zahamowanie wzrostu potomstwa, które w dorosłym życiu wykazuje hiperfagię, a także hiperinsulinemię, nadciśnienie tętnicze, hiperleptynemię i otyłość [92]. Podanie IGF1 (insulin-like growth factor 1), silnego anabolicznego czynnika wzrostu zaangażowanego w rozwój płodu, potomstwu niedożywionych matek łagodzi zachowania hiperfagiczne i otyłość, przywraca prawidłowe ciśnienie krwi oraz redukuje stężenie insuliny i leptyny w osoczu [94]. Podobne wyniki uzyskano u tego samego potomstwa po podaniu noworodkom leptyny [93]. Inne badania z ograniczeniem podaży pokarmu matce do 50% dawki *ad libitum* wykazały, że potomstwo w wieku 1 miesiąca cechowało zmniejszenie stężenia adiponektyny i zwiększenie rezystyny, co zwykle wiąże się z rozwojem insulinooporności [33].

### Ograniczenie podaży białka matce

Aminokwasy są głównymi składnikami odżywczymi w rozwoju płodu, pełnią rolę substratów do budowy białek komórkowych lub prekursorów w syntezie hormonów i innych cząsteczek sygnałowych (np. tlenek azotu i hormony tarczycy). Hipoteza „oszczędnego fenotypu” podkreśla ważną rolę dostarczania białek, zatem model gryzoni z ograniczeniem podaży białka matkom był jednym z najbardziej badanych modeli ograniczenia rozwoju płodowego (IUGR – intrauterine growth restriction). Niskobiałkowa dieta samic szczura (5-8% zawartości białka) ograniczała wzrost potomstwa [24]. Spowolnienie wzrostu zaobserwowano u potomstwa karmionego mlekiem przez matki utrzymywane na niskobiałkowej diecie oraz po przestawieniu z żywienia mlekiem matki na kontrolną dietę o 20% zawartości białka. Ta dietetyczna manipulacja naśladuje sytuację obserwowaną w krajach rozwijających się, w których niski status społeczno-ekonomiczny ogranicza ilość spożywanego białka (podsumowane w [83]). Fizjologiczne znaczenie tego modelu dodatkowo potwierdza zmniejszenie masy łożyska oraz zaburzenia endokrynne i metaboliczne [23]. Męskie potomstwo urodzone w tym modelu w 15 miesiącu życia wykazuje upośledzoną tolerancję glukozy, a w 17 miesiącu życia u tych osobników rozwija się cukrzyca typu 2 i insulinooporność [65]. U żeńskiego potomstwa hiperinsulinemia i zaburzenie tolerancji glukozy rozwijają się w późniejszym wieku (21 miesięcy) [24]. Badania na tym modelu wykazały również redukcję masy komórek  $\beta$  trzustki, mięśni szkieletowych, trzewnej tkanki tłuszczowej [61] i zmiany metaboliczne w niektórych insulinowrażliwych tkankach [1]. Ten model IUGR przejawiał również rozwój nadciśnienia, co sugeruje, że nerki i układ renina-angiotensyna odgrywają tu istotną rolę [44].

### Niedobór żelaza u matek

Anemia spowodowana niedoborem żelaza jest powszechnym problemem spotykanym w czasie ciąży i jest uznana za istotny czynnik ryzyka zarówno dla matki, jak i dla płodu. Istnieje związek między stężeniem hemoglobiny w krwi matki a masą urodzeniową potomstwa [68], badania ujawniły ponadto, że matczyna anemia wywołuje komplikacje w unaczynieniu łożyska i deregulację matczynych i płodowych hormonów, takich jak CRH (hormon uwalniający adrenokortykotropinę) i IGF1. Uwolnienie CRH może wywołać przedwczesny poród i stan przedrzucawkowy u matki, a następnie zahamować syntezę IGF1, co potencjalnie wpływa na rozwój płodu [13]. Badania na modelu z niedoborem żelaza u matek gryzoni, nie tylko ujawniły zmniejszenie masy urodzeniowej, ale także wzrost ciśnienia krwi u potomstwa już w wieku 10 tygodni [27]. Te fizjologiczne i metaboliczne zmiany można przypisać zmniejszeniu liczby nefronów w nerkach [48], a także zmniejszeniu ekspresji genów związanych z syntezą kwasów żółciowych i tłuszczowych w wątrobie [106].

## MODELE DOŚWIADCZALNE NADMIERNEGO ŻYWIENIA MATKI

Mimo że większość modeli zwierzęcych jest ukierunkowana na niedożywienie, coraz więcej badań ma na celu poznanie następstw matczynego przekarmienia. We wczesnych badaniach używano najczęściej modeli żywienia dietą wysokotłuszczową.

### Dieta wysokotłuszczowa u matek

Przekarmienie i zmiany w spożyciu tłuszczu w czasie ciąży zwiększają ryzyko rozwoju cukrzycy typu 2 i chorób układu krążenia w późniejszym życiu [10]. Potomstwo samic szczurów, karmionych dużą ilością tłuszczu w czasie ciąży przejawia zaburzenia przemian cholesterolu i lipidów [80], hiperinsulinemię, insulinooporność [85] oraz zwiększone ryzyko nadciśnienia tętniczego [41]. Howie i wsp. wykazali, że potomstwo samic szczurów karmionych wysokotłuszczową dietą przez całe życie nie różni się od potomstwa matek karmionych dietą z dużą zawartością tłuszczu tylko w czasie ciąży i laktacji [37]. Potomstwo otrzymujące dużą dawkę tłuszczu *in utero* jest otyłe w wieku dorosłym oraz przejawia hiperleptynemię i hiperinsulinemię, co oznacza, że dieta wysokotłuszczowa stosowana w ciąży i laktacji jest wystarczającym czynnikiem, zwiększającym ryzyko wystąpienia otyłości i zaburzeń metabolicznych w wieku dorosłym.

### Matczyna otyłość

Wraz ze wzrostem występowania matczynej otyłości w krajach zachodnich i świadomości, że ta cecha może być przekazywana na następne pokolenie [15], modele zwierzęce matczynej otyłości są obecnie używane do badania mechanizmów, dzięki którym skłonność do otyłości i objawów zespołu metabolicznego są przekazywane potomstwu. W badaniach Samuelsen i wsp. potomstwo urodzone przez otyłe myszy nie tylko wykazywało względny wzrost masy tkanki tłuszczowej i zachowania hiperfagiczne, ale w wieku 3 miesięcy było również odporne na insulinę, a męskie potomstwo przed osiągnięciem 6 miesiąca życia przejawiało zaburzenie tolerancji glukozy [73]. Badania te również ujawniły, że matczyna otyłość może powodować predyspozycje u potomstwa do chorób układu krążenia, ponieważ u młodych zwierząt stwierdzono nadciśnienie tętnicze i oznaki dysfunkcji komórek śródbłonna. Nivoit i wsp. wykazali podobny fenotyp u potomstwa otyłych samic szczurów [56]. U zwierząt obu płci stwierdzono rozwój fenotypu podobnego do zespołu metabolicznego z otyłością, jednak tylko męskie potomstwo wykazało insulinooporność. Wyniki te zostały potwierdzone przez wiele innych badań przeprowadzonych na myszach i szczurach, dokumentujących zmiany w stężeniu leptyny, zachowania hiperfagiczne [29,54], insulinooporność [77] oraz ryzyko rozwoju chorób układu krążenia u dorosłego potomstwa otyłych samic [14].

## MODELE CHIRURGICZNE – PODWIĄZANIE TĘTNIC MACIŻNYCH

Niewydolność maciczno-łożyskowa u ludzi jest jedną z najczęstszych przyczyn ograniczonego wzrostu i niskiej masy urodzeniowej potomstwa w społeczeństwach zachodnich [4]. Szczurzy model opracowany przez Wiggleswortha wykorzystuje jednostronne i dwustronne podwiązanie tętnicy macicznej w celu wywołania zaburzenia środowiska wewnątrzmacicznego i asymetrycznego ograniczonego wzrostu [22]. Płody samic szczurów w tym modelu badawczym odznaczają się niedotlenieniem, hipoglikemią i redukcją stężenia insuliny i IGF1. Badania przeprowadzone na tym modelu wykazały, że ograniczonemu wzrostowi wywołanemu niewydolnością maciczno-łożyskową towarzyszą zaburzenia w rozwoju trzustki [82], nerek, wątroby [95], a także oporność na insulinę oraz nieprawidłowe wydzielanie insuliny we wczesnym okresie życia, a w późniejszym życiu również cukrzyca typu 2 [95] i nadciśnienie tętnicze [53].

## MODELE FARMAKOLOGICZNE

### Cukrzyca ciążowa

Cukrzyca ciążowa (GDM – gestational diabetes mellitus) jest znana jako poważne zagrożenie dla zdrowia zarówno płodu jak i matki [103] i jest spowodowana przez cukrzycę przedciążową lub przez rozwój nietolerancji glukozy podczas ciąży. GDM, w zależności od stopnia nasilenia u matek, może doprowadzić do narodzin potomstwa z makro – lub mikrosomią. Cukrzyca doświadczalna wywołana streptozotocyną (STZ) u matek prowadzi do zmian w rozwoju trzustki i zwiększa ryzyko rozwoju cukrzycy typu 2 w obu rodzajach zaburzeń wzrostu płodu [35]. Łagodna postać GDM powoduje u płodów hiperinsulinemię, upośledzenie tolerancji glukozy i większą masę urodzeniową potomstwa. Ciężka cukrzyca u matki w okresie ciąży, skutkuje ograniczonym wzrostem, hiperglikemią i hipoinsulinemią u potomstwa [42]. Dane te wyraźnie wskazują na podobieństwa do sytuacji u ludzi i podkreślają znaczenie matczynej glikemii w rozwoju trzustki płodu.

### Ekspozycja na glikokortykosteroidy

We wczesnym okresie ciąży płód rozwija się w środowisku pozbawionym glikokortykosteroidów, ponieważ hormony te pochodzące od matki ulegają inaktywacji przez łożyskową dehydrogenazę, 11 $\beta$ -HSD2 (11 $\beta$ -hydroksysteroidowa dehydrogenaza 2). Stymulacja nadnerczy płodu w późnym okresie ciąży powoduje wzrost syntezy glikokortykosteroidów, a to pobudza wiele tkanek płodu do dojrzewania [25]. Nadmierna ekspozycja płodu na glikokortykoidy matki, endogenne lub egzogenne, może spowodować zahamowanie wzrostu płodu, zarówno u ludzi jak i u zwierząt. Doświadczalne podawanie syntetycznych związków, takich jak deksametazon lub inhibitorów 11 $\beta$ -HSD2, takich jak karbenoksolon, hamuje wzrost płodu u różnych gatunków zwierząt [75]. Nadmiar glikokortykosteroidów, złasz-



cza w ostatnim trymestrze ciąży, zwiększa ryzyko rozwoju nietolerancji glukozy u płodu, insulinooporności i nadciśnienia tętniczego [57]. Wyniki kilku badań sugerują, że glikokortykosteroidy mogą pośredniczyć w programowanych skutkach niedożywienia matki, ponieważ zarówno ograniczenie podaży białka, jak i ilości przyjmowanych kalorii przez matkę powodują wzrost uwalniania tych hormonów i zwiększoną ekspozycję płodu na glikokortykosteroidy [45]. Istnieją jednak dowody na odwrotną zależność: podawany matce deksametazon może spowodować zmniejszenie spożycia przez nią pokarmu [100,101] i niedożywienie.

### MODEL WCZESNEGO PROGRAMOWANIA OTYŁOŚCI

W nielicznych badaniach na zwierzętach starano się określić wpływ matczynej otyłości ograniczonej jedynie do „okresu okołozapłodnieniowego” (obejmującego czas od dojrzewania oocytów do wczesnej ciąży) na rozwój tkanki tłuszczowej u potomstwa. Okres okołozapłodnieniowy jest ważny i względnie bezpieczny do potencjalnych interwencji żywieniowych u kobiet z nadwagą lub otyłych, ponieważ umożliwia uzyskanie optymalnej masy ciała w okresie przedciążowym i poprawę warunków ciąży.

Wpływ otyłości na jakość oocytu i rozwój wczesnego zarodka oceniali Minge i wsp. za pomocą mysiego modelu otyłości wywołanej dietą [52]. Zarodki wyizolowane od otyłych samic hodowano *in vitro* i zauważono, że wykazywały one wolniejszy rozwój od etapu cztero- do ośmiokomórkowego i później, do stadium blastocysty. Do zaburzenia rozwoju zarodka związanego z matczyną otyłością nie dochodziło, jeśli matce jeszcze przed zapłodnieniem podano związki zwiększające wrażliwość na insulinę. Zatem matczyzna otyłość i obwodowa wrażliwość na insulinę przed poczęciem są ważne dla rozwoju przyszłego potomstwa.

W innym badaniu otyłe samice szczurów utrzymywano na kontrolnej diecie przez miesiąc przed kopulacją, przez cały okres ciąży i laktacji, a następnie porównano wyniki z uzyskanymi u otyłych samic szczurów otrzymujących dietę wysokotłuszczową przed i w czasie ciąży oraz w okresie laktacji [105]. W 21. dniu po urodzeniu stężenie triglicerydów, leptyny i insuliny było wyższe u potomstwa matek otyłych żywionych wysokotłuszczową dietą, ale nie u potomstwa matek otyłych będących na diecie kontrolnej. Wzrost masy tkanki tłuszczowej widoczny u 5-miesięcznego potomstwa matek będących na wysokotłuszczowej diecie nie ujawnił się u potomstwa matek otyłych utrzymywanych na diecie kontrolnej [105]. To badanie udowadnia skuteczność interwencji żywieniowej polegającej na utracie masy ciała w okresie poprzedzającym ciążę.

Wiele badań dotyczących wczesnego programowania rozwojowego wykonano z wykorzystaniem owiec jako modelu ciąży dużych zwierząt. Owca jest doskonałym modelem do badań wczesnego rozwoju otyłości wieku

dorosłego. U owiec, tak jak u ludzi, rozwój tkanki tłuszczowej oraz sieci neuronów podwzgórza regulującej apetyt i równowagę energetyczną w późniejszym życiu, odbywa się przed narodzinami, podczas gdy u gryzoni, rozwój tkanki tłuszczowej i podwzgórzowego systemu regulującego apetyt w okresie postnatalnym [50,51]. Ekspozycja owiec na dietę zawierającą 150% zapotrzebowania metabolicznego od 60 dnia przez zapłodnieniem aż do końca ciąży powodowała zmiany w rozwoju tkanki tłuszczowej, tolerancji glukozy i regulacji apetytu u dorosłego potomstwa [49].

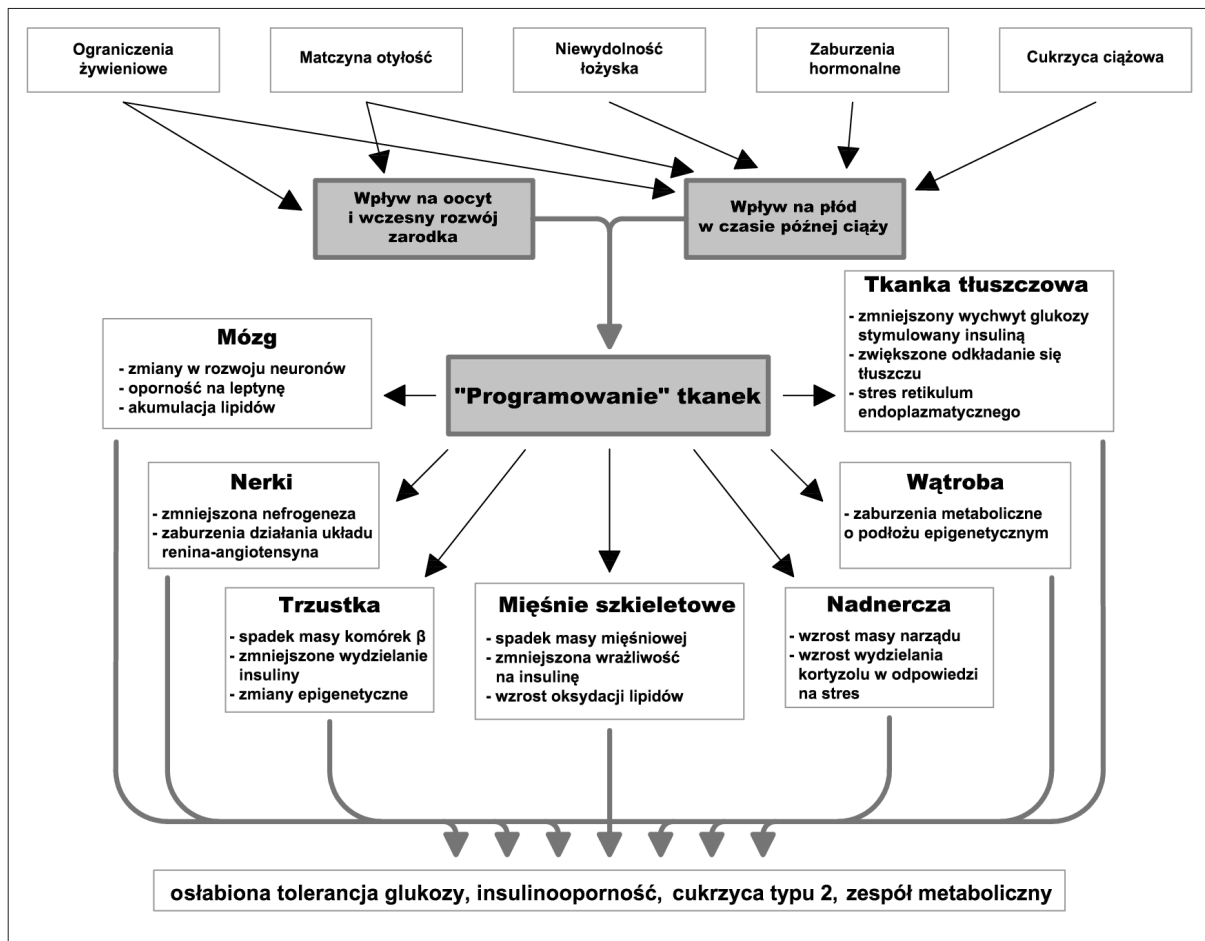
Opracowano model, w którym nieciążarne owce były przekarmiane albo żywione prawidłowo przez co najmniej 4 miesiące przed sztuczną inseminacją [69,107]. Tydzień po zapłodnieniu, pojedyncze zarodki przenoszono od owiec-dawczyń do nieotyłych owiec-biorczyń, które były utrzymywane na kontrolnej diecie do końca ciąży. Taki model pozwolił ocenić skutki ekspozycji potomstwa na matczyną otyłość w czasie okresu okołozapłodnieniowego. Odkryto, że przekarmienie okołozapłodnieniowe wpływa na masę tkanki tłuszczowej u 4-miesięcznych jagniąt zależnie od płci: powoduje wzrost całkowitej ilości tkanki tłuszczowej u żeńskich, ale nie u męskich jagniąt [69]. Ekspozycja oocytu i wczesnego zarodka na nadmiar składników pokarmowych zwiększa zatem zdolność do syntezy i magazynowania triglicerydów u żeńskich jagniąt po urodzeniu. Ograniczenie żywieniowe matek nałożone na przekarmione owce w okresie okołozapłodnieniowym usuwa skutki zwiększenia całkowitej masy tkanki tłuszczowej u potomstwa.

### MECHANIZMY ZAANGAŻOWANE PODCZAS PROGRAMOWANIA ROZWOJU

Nie ulega wątpliwości, że zakłócenia w środowisku płodowym mogą mieć poważne konsekwencje dla potomstwa w dorosłym życiu. Mimo złożonego charakteru zaburzeń metabolicznych, badania na zwierzęcych modelach ograniczonego wzrostu i nadmiernego wzrostu płodu ujawniają kilka ważnych mechanizmów leżących u podstaw programowania rozwojowego chorób wieku dorosłego. Wykorzystanie zwierzęcych modeli zaburzonego wzrostu płodu umożliwia wskazanie zarówno strukturalnych, jak i funkcjonalnych zmian. W zakłóconym środowisku wewnątrzmacicznym rozwój przechodzi wprawdzie przez kolejne punkty krytyczne, jednak elastyczność zmian struktury narządów i ich późniejsze funkcje homeostatyczne stają się bardziej ograniczone. Zmiany w ekspresji genów mogą się utrzymywać przez całe życie, zarówno w wyniku przebudowy tkanek i narządów płodu i noworodka, jak i w odpowiedzi na bodźce środowiskowe po urodzeniu (ryc. 1).

### ZMIANY STRUKTURALNE W NARZĄDACH

Narządy i tkanki tworzą się w różnych okresach rozwoju płodowego oraz we wczesnym okresie życia noworodka i jeśli w tych kluczowych momentach wystąpi zakłócenie warunków żywieniowych lub hormonalnych, może



Ryc. 1. Strukturalne i molekularne mechanizmy warunkujące adaptację organizmu do środowiska w czasie rozwoju płodowego, prowadzące do rozwoju zaburzeń metabolicznych w życiu dorosłym (wg [97,108], zmodyfikowano)

dojść do zaburzenia danego procesu rozwojowego. Ma to ogromny wpływ na liczbę i typ komórek w tkance, a zatem na jej strukturę i funkcje w późniejszym okresie życia [34]. Badania na zwierzęcych modelach opisanych wyżej pozwoliły zidentyfikować zmiany w strukturach anatomicznych mózgu, nerek i trzustki.

### Mózg

Większość wiadomości o tym, w jaki sposób mózg kontroluje homeostazę energetyczną pochodzi z prac nad leptyną i jej działaniem na jądro łukowate podwzgórza (ARC) [43]. Badania te ujawniły złożony mechanizm neurologiczny, który odpowiada na sygnały hormonalne i żywieniowe ważne nie tylko w procesie utrzymania homeostazy energetycznej w dorosłym życiu, ale mające zasadnicze znaczenie w rozwoju mózgowia we wczesnym okresie życia [7]. Po urodzeniu u gryzoni ten ośrodkowy mechanizm jest w stanie niedojrzałym aż do drugiego tygodnia życia, ponieważ szlaki wychodzące z jądra łukowatego podwzgórza nie osiągają miejsc docelowych [11]. W tym okresie wzrasta wydzielanie leptyny, stymulującej ekspansję aksonów

neuronów jądra łukowatego w kierunku jądra przykomorowego, obszaru bocznego okołosklepieniowego (LHA) i jądra grzbietowo-przyśrodkowego podwzgórza (DMH) [12], tj. struktur podwzgórza zaangażowanych w regulację spożycia pokarmu. W kilku badaniach wykazano, że odżywianie w ciąży i we wczesnym okresie życia ma wpływ na ten ośrodkowy mechanizm kontroli apetytu. U gryzoni okołourodzeniowe przekarmienie spowodowane zmniejszeniem wielkości miotu po urodzeniu powoduje zmiany w głównych strukturach podwzgórza (ARC i PVN), a także żarłoczność, hiperinsulinemię i otyłość [20]. Dowiedziono również, że niedożywienie matki może spowodować przedwczesny wzrost wydzielania leptyny, co wpływa na rozwój ARC [104]. Naśladowanie przedwczesnego wyrzutu leptyny u zwierząt urodzonych przez kontrolne samice, wywołuje przyspieszony przyrost masy ciała i wzrost otyłości u potomstwa. Potwierdziły to później badania opisujące żarłoczność i oporność na leptynę u zdrowego potomstwa, któremu wstrzyknięto podskórnie leptynę we wczesnym okresie pourodzeniowym [88]. Powyższe dane wskazują, że zaburzone odżywianie w najważniejszym etapie rozwoju pod-

wzgórza (u gryzoni w czasie pierwszych 2 tygodni życia) ma wpływ na rozwój tej części mózgowia i kontrolę homeostazy energetycznej u potomstwa. Teza ta może dotyczyć również ludzi, wprawdzie rozwój podwzgórza występuje w życiu płodowym, a ekspresja leptyny zaczyna się po 19 tygodniu ciąży [16], stwierdzono jednak, że stężenie leptyny jest zmniejszone u noworodków z małą masą urodzeniową [59].

## Nerki

Istnieje pogląd, że zmniejszenie liczby nefronów powoduje brak równowagi między obciążeniem wydalniczym a zdolnością wydalniczą nerek, co prowadzi do rozwoju nadciśnienia tętniczego i choroby nerek. Liczne badania na modelach zwierzęcych wykazały, że zaburzenia środowiska wewnątrzmacicznego i w następstwie wewnątrzmaciczne zahamowanie wzrostu płodu powodują osłabienie nefrogeny [3]. Wprawdzie po urodzeniu zredukowana liczba nefronów może być skompensowana przez rozrost pozostałych nefronów i zwiększenie wskaźnika filtracji kłębuszkowej, badania wykazały jednak, że nefropenia związana z ograniczonym wzrostem zwiększa skłonność do rozwoju nadciśnienia tętniczego w wieku dorosłym przez wywoływanie niekorzystnych skutków w pozostałych nefronach [74]. Hipotezę tę poparły wyniki badań na gryzoniach, chirurgicznie pozbawionych nefronów w młodym wieku, które wykazały objawy uszkodzenia kłębuszków nerkowych i rozwój nadciśnienia tętniczego w dorosłym życiu. Zmniejszona nefrogena nie jest jedynym czynnikiem odpowiedzialnym za generowanie nadciśnienia tętniczego, jednak przyczynia się do jego rozwoju [3]. Niewydolność łożyska, ograniczenie podaży białka matce, ekspozycja na glikokortykosteroidy i pokarm wysokotłuszczowy w okresie życia płodowego, wpływają na regulację układu renina-angiotensyna [44,102].

## Trzustka

Rozwój trzustki rozpoczyna się w endodermie, gdzie niewielka populacja multipotentjalnych komórek progenitorowych proliferuje i różnicuje się w komórki pęcherzykowe i komórki linii endokrynej [5]. W późnym okresie płodowym u gryzoni następuje różnicowanie komórek  $\beta$  i szybki wzrost ich masy. Mimo pewnych różnic w dojrzewaniu trzustki u człowieka i u gryzoni (u ludzi w pełni funkcjonujące komórki  $\beta$  pojawiają się przed końcem pierwszego trymestru, podczas gdy u gryzoni po urodzeniu [66]) badania wykazały, że wzrost masy komórek  $\beta$  ulega znacznemu spowolnieniu w wieku dorosłym [86]. Masa wysp trzustki może być utrzymana jedynie przez samopowielanie już zróżnicowanych komórek  $\beta$  [21], zatem ekspozycja narządu w życiu płodowym lub po urodzeniu na niekorzystne bodźce/warunki nie tylko zakłóca proliferację i/lub różnicowanie komórek progenitorowych, ale wpływa również na wczesny wzrost trzustki i jej zdolności regeneracyjne w życiu dorosłym [81].

Wczesne badania na modelu ograniczenia podaży białka u matki ujawniły zmniejszenie masy komórek  $\beta$ , któremu towarzyszy zmniejszenie unaczynienia trzustki i spadek wydzielania insuliny u potomstwa. W wyspach trzustki u potomstwa matek poddanych ograniczonej podaży białka stwierdzono wydłużony cykl komórkowy, z dłuższą fazą G1 i nasileniem apoptozy. Model ograniczonego spożycia kalorii u matki również wykazał spadek masy komórek  $\beta$ , jednak nie z powodu zwiększonej apoptozy, ale zmienionej neogenezy komórek  $\beta$ . Później odkryto, że jeśli ograniczenie kalorii u matki było przedłużone do czasu zakończenia ssania, następowało znaczne zahamowanie wzrostu komórek  $\beta$  u potomstwa. Po przestawieniu z mleka matki na dietę kontrolną, zwierzęta w wieku 3 miesięcy wykazywały tylko częściową poprawę masy komórek  $\beta$ , natomiast zwierzęta niedożywione *in utero* i karmione mlekiem przez matki kontrolne ujawniły przyspieszenie wzrostu masy komórek  $\beta$  tak, że w wieku 3 miesięcy nie różniły się od zwierząt kontrolnych. Jednak, gdy zwierzęta z obu niedożywionych grup (w okresie płodowym i wczesnie po urodzeniu lub tylko płodowym) weszły w okres starzenia nie przejawiały wzrostu masy komórek  $\beta$  w porównaniu z grupą kontrolną, co przemawia za wpływem ograniczenia dostaw kalorii w czasie rozwoju wewnątrzmacicznego na wzrost komórek  $\beta$  dorosłych zwierząt. Nieprawidłowy wzrost trzustki prowadził do insulinopenii, zaburzeń tolerancji glukozy i hiperglikemii u zwierząt, którym ograniczono dopływ kalorii do czasu odsadzenia oraz do zwiększonej glikemii na czczo, u tych osobników, którym ograniczono dopływ kalorii tylko w okresie prenatalnym.

Zmniejszenie masy komórek  $\beta$  i zawartości insuliny u potomstwa zaobserwowano również w modelu podwiązania tętnic macicznych [82]. Mimo ciągłej dyskusji, czy zakłócenia środowiska płodowego i wynikające z tego zjawisko zahamowania wzrostu płodu są zależne od zmian stężenia glikokortykosteroidów, badania wykazały, że nadmiar tych hormonów może niekorzystnie wpływać na trzustkę płodu [28]. Korzystając z modelu ograniczenia kalorii u matki, ustalono, że istnieje ujemna korelacja między stężeniem glikokortykosteroidów a masą komórek  $\beta$ . Podsumowując powyższe badania, zaburzenia środowiska wewnątrzmacicznego i/lub żywienia we wczesnym okresie pourodzeniowym mogą mieć negatywny wpływ na właściwości strukturalne ważnych narządów.

## ZMIANY KOMÓRKOWE I MOLEKULARNE W METABOLIZMIE I EKSPRESJI GENÓW

Adaptacje do nieprawidłowego żywienia w okresie płodowym i wczesnym pourodzeniowym mogą mieć wpływ na ekspresję genów. Dobrze udokumentowano to na przykładzie insulinooporności obserwowanej w wielu modelach ograniczonego wzrostu płodu oraz w badaniach ludzi. Insulina działa na różne tkanki w organizmie, jednak w regulacji homeostazy glukozy szczególne znaczenie mają mięśnie szkieletowe, wątroba i tkanka tłuszczowa.

## Mięśnie szkieletowe i tkanka tłuszczowa

Badania męskiego potomstwa matek poddawanych ograniczonej podaży białka wykazały zmiany w ekspresji białek aktywowanych przez receptor insuliny zarówno w tkance tłuszczowej, jak i w mięśniach szkieletowych [62]. Stymulowany insuliną wychwyt glukozy zmniejszył się w obu tkankach, a badane zwierzęta wykazywały zmniejszone połączenie podjednostki katalitycznej p110 $\beta$  3-kinazy fosfatydyloinozytolu (PI3K) z jej podjednostką regulacyjną, p85 i, w następstwie, obniżoną aktywność PI3K w tkance tłuszczowej, natomiast w mięśniach szkieletowych, redukcji wychwyty glukozy towarzyszył spadek ekspresji kinazy białkowej Czeta (PKC $\zeta$ ) [60]. Obserwacje stwierdzone na modelu gryzoni, zostały później potwierdzone u zdrowych dorosłych ludzi, którzy urodzili się z małą masą urodzeniową: przejawiali podobne zmniejszenie ekspresji GLUT4, PKC $\zeta$ , a także podjednostek PI3K: p85 i p110 $\beta$  w mięśniach szkieletowych [62].

Badania Devaskara i wsp. wykazały, że ograniczenie kalorii w czasie ciąży u szczurów również wywołuje zmiany w częstotliwości sygnałowych insuliny w mięśniach szkieletowych potomstwa. Zahamowaniu wzrostu płodu wywołanemu ograniczeniem podaży kalorii matkom towarzyszyło zmniejszenie poziomu mRNA dla GLUT4 i ekspresji tego białka w tkance mięśniowej. Białko przenośnikowe GLUT4 było umiejscowione w sąsiedztwie błony komórkowej, co powodowało zaburzenia w jego translokacji po podaniu insuliny, wywołujące insulinooporność mięśni szkieletowych [58]. U tych osobników biała tkanka tłuszczowa zachowała zdolność odpowiedzi na insulinę, przypuszcza się więc, że wchłanianie składników odżywczych przez tę tkankę może się przyczyniać do rozwoju otyłości w wieku dorosłym [71].

Ekspozycja owczych zarodków na okołozapłodnieniowe przekarmienie zwiększa otyłość trzewną oraz powoduje brak wzrostu ekspresji PPAR $\gamma$ , leptyny, podczas gdy przekarmienie matki w późnej ciąży powoduje wzrost ekspresji PPAR $\gamma$  i leptyny w trzewnej tkance tłuszczowej oraz wzrost masy podskórnej tkanki tłuszczowej u potomstwa po urodzeniu. Prawdopodobnie różne systemy sygnałowe są aktywowane w adipocytach po ekspozycji na matczyne przekarmienie w okresie okołozapłodnieniowym i w późnej ciąży. Płodowe programowanie późniejszej otyłości może być wynikiem zmian indukowanych w tarczce zarodkowej związanych ze wzrostem różnicowania, proliferacji i/lub hipertrofii trzewnych adipocytów pod wpływem matczyne przekarmienia w okresie okołozapłodnieniowym oraz następstwem zwiększonego odżywiania płodu w późniejszej ciąży [108].

### Wyspy trzustki

Korzystając z modelu ograniczenia podaży białka matkom, Arantes i wsp. ustalili, że ograniczenie białka *in utero* wpływa na ekspresję genu *Pdx-1* (trzustkowo-dwu-

nastniczy homeobox-1) [2], czynnika transkrypcyjnego o podstawowym znaczeniu dla różnicowania linii komórek endokrynnych i wzrostu masy komórek  $\beta$  [5]. Badanie to wykazało również, że prawidłowa ekspresja *Pdx-1* może być przywrócona, jeśli potomstwo jest karmione mlekiem przez kontrolne samice. Zmiany ekspresji *Pdx-1* skorelowane zarówno z masą wysp, jak i poziomem wydzielania insuliny wskazują, że ograniczenie białka zaburza strukturę i funkcję wysp [2]. Zmiany te zachodziły na poziomie potranskrypcyjnym, ponieważ poziom transkryptu mRNA *Pdx-1* nie różnił się między grupami. Redukcja ekspresji *Pdx-1* występowała również w wyniku ekspozycji płodu na deksametazon [78], co sugeruje, że regulacja ekspresji *Pdx-1* jest wspólną ścieżką, która pośredniczy w powstawaniu szkodliwych skutków długotrwałej ekspozycji na czynniki diabetogenne *in utero*.

## EPIGENETYKA W PROGRAMOWANIU ROZWOJOWYM CHOROÓB METABOLICZNYCH

Zmiany epigenetyczne stanowią dodatkowy poziom regulacji genów w ustalonym genomie, który może podlegać stałemu przekształcaniu przez wiele cykli mitotycznych, bez zmiany sekwencji nukleotydów w DNA [6]. Epigenetyczne modyfikacje polegają na metylacji dinukleotydów CpG, potranslacyjnej modyfikacji histonów i kontrolują ekspresję genów przez przebudowę chromatyny. Przy ustalonym genotypie, epigenetyka może nadawać plastyczność fenotypową, umożliwiając odpowiedź na bodźce środowiska i zmiany ekspresji genów. Ten poziom regulacji genów przyciąga obecnie dużo uwagi w związku z programowaniem rozwojowym, ponieważ oznaki zaburzeń epigenetycznych występujące w odpowiedzi na zakłócone środowisko wewnątrzmaciczne mogą zwiększać podatność na rozwój cech zespołu metabolicznego w późniejszym życiu.

### Skutki metylacji DNA

Pierwsze badanie wpływu diety matki na epigenom potomstwa przeprowadził zespół Wolffa na modelu myszy [18]. Potomstwo matek utrzymywanych na diecie wzbogaconej w donory grup metylowych (kwas foliowy, witamina B<sub>12</sub>, cholina lub betaina) wykazało hipermetylację elementów retrotranspononów znalezionych powyżej allelu A<sub>vy</sub> (Agouti viable yellow), która spowodowała wyciszenie ekspresji tego genu. Zwierzęta te przejawiały mniejsze otluszczenie i zmiany koloru sierści (pseudo-Agouti) w porównaniu z otyłym potomstwem o żółtej sierści, u którego następowała prawidłowa ekspresja genu A<sub>vy</sub>. Wynik ten potwierdziły inne badania, które wykazały ponadto, że epigenetyczne procesy zapobiegały międzypokoleniowemu wzmocnieniu otyłości obserwowanemu w tym modelu [98]. Badania na modelach gryzoni z ograniczeniem wzrostu płodowego wykazały inne modyfikacje epigenetyczne genów zaangażowanych w metabolizm. U potomstwa samic poddanych ograniczonej podaży białka zidentyfikowano zmiany w metylacji DNA w obrębie genów kodujących PPAR $\alpha$  (receptor- $\alpha$  aktywowany proliferato-



rami peroksydomów) i receptor glikokortykosteroidów w wątrobie [46]. Badanie potomstwa matek utrzymywanych na diecie ubogiej w białko wykazało hipometylację promotorów obu tych genów, co wiązało się ze zwiększoną ekspresją odpowiadających im transkryptów. Stosując model ograniczenia podaży białka Bogdarina i wsp. wykazali zmniejszenie metylacji w promotorze genu *Agtr1b* (receptor angiotensyny typu 1b), skorelowane ze wzrostem ekspresji transkryptu mRNA *Agtr1b* oraz ekspresji białka receptora, a zmiany te uznano za przyczynę rozwoju nadciśnienia tętniczego w późniejszym życiu [9]. Niedawne badania na myszach wskazują, że dieta matki uboga w białko zmienia metylację ponad 200 regionów promotorowych w wątrobie płodu, w tym genu *Lxra* (liver-X-receptor  $\alpha$ ) [91].

Modyfikacje epigenetyczne odgrywają istotną rolę w procesie wzmocnienia reakcji na stres u jagniąt, których matki poddano ograniczeniom żywieniowym w okresie okołozapłodnieniowym. Ustalono, że ograniczenie żywieniowe nałożone w okresie okołozapłodnieniowym zarówno na owce o prawidłowej masie ciała jak i na otyłe wzmacnia wydzielanie kortyzolu w odpowiedzi na stres u żeńskich 3-4-miesięcznych jagniąt [107]. Dowiedziono, że w nadnerczach jagniąt, których matki poddano restrykcjom żywieniowym, występuje wyraźnie zmniejszona metylacja w tzw. regionach ICR (imprinting control regions) genu *IGF2* i sąsiadującego z nim genu kodującego *H19*. Wzrost masy nadnerczy u jagniąt urodzonych przez matki poddane ograniczeniom żywieniowym był zatem paradoksalnie związany ze spadkiem ekspresji nadnerczowego *IGF2*, spowodowanym spadkiem poziomu metylacji w regionie ICR genów *IGF2/H19*.

Długotrwały wpływ diety matki na epigenom potomstwa stwierdzono także u ludzi. Badania wykazały, że osoby narażone na tzw. holenderską zimę głodu miały niższy poziom metylacji w genie *IGF2* w wieku dorosłym [32]. „Zima głodu” (1944/1945) była spowodowana racjonowaniem żywności przez okupanta oraz późniejszą niemożnością dostarczenia żywności w czasie ostrej zimy. Wywoływało to krótkoterminowe okresy głodu: dzienne dawki kalorii dla ludzi były ograniczone do 450-750 kalorii i stanowiły połowę ilości kalorii przyjmowanych przez badanych przez cały czas trwania drugiej wojny światowej [70]. Tobi i wsp. zidentyfikowali dodatkowe sześć loci, które były odmiennie metylowane po prenatalnej ekspozycji na głód, a każdy z nich był zaangażowany w procesy wzrostu, metabolizm i funkcje układu krążenia [87].

### Wpływ modyfikacji histonów

Coraz więcej dowodów wskazuje, że modyfikacje histonów są równie ważne w kontroli ekspresji genów w odpowiedzi na odżywianie i inne bodźce środowiskowe, takie jak zmiany w metylacji DNA. Gen *Pdx-1* podlega epigenetycznej regulacji w następstwie ograniczonego wzrostu płodu w modelu podwiązania tętnic [63]. Po urodzeniu zwierzęta wykazywały wprawdzie prawidłową masę komórek  $\beta$ , ale zmniejszoną ekspre-

sję *Pdx-1*, która zmniejszała masę komórek  $\beta$  w dorosłym życiu. Park i wsp. stwierdzili, że wczesne zmniejszenie ekspresji *Pdx-1* było związane z deacetylacją histonów oraz ze zmniejszeniem wiązania z USF-1 (upstream transcription factor-1) [63]. Zwierzęta o ograniczonym wzroście w czasie rozwoju płodowego z wiekiem ujawniły dalsze zmiany w histonach i wzrost metylacji DNA w locus *Pdx-1*, związane ze stopniowym zmniejszaniem ekspresji *Pdx-1*.

Modyfikacje histonów opisano również w modelu zahamowanego wzrostu płodu spowodowanego ograniczeniem kalorii u matki. Raychaudhuri i wsp. wykazali, że zmniejszonemu wzrostowi towarzyszyły modyfikacje histonów w locus *GLUT4*, obejmujące straty w acetylacji i wzrost dimetylacji histonu H3 [71]. Zmiany te utrzymywały się do dorosłości, dlatego też uznano je za istotne w rozwoju cukrzycy typu 2.

Ograniczenie podaży białka w czasie rozwoju wewnątrzmacicznego u potomstwa szczurów powodowało modyfikacje histonów w locus genu kodującego reduktazę glutationową w wątrobie szczurów [47], obejmujące zmniejszenie dimetylacji histonów H3 i wzrost acetylacji H3, co mogło prowadzić do wzrostu transkrypcji.

### Programowanie funkcji mitochondriów

Mitochondria mają podstawowe znaczenie w generowaniu głównego źródła energii w komórce, ATP, który powstaje w cyklu kwasów trikarboksylowych i fosforylacji oksydacyjnej. Elektrony uwalniane w tym procesie są wykorzystane w redukcji tlenu i tworzeniu wody. W mitochondriach są też wytwarzane nie w pełni zredukowane formy tlenu, takie jak anionorodnik nadtlenkowy ( $O_2^{\cdot-}$ ) [90], który wchodzi w reakcję z innymi cząsteczkami w komórce, czego następstwem jest powstanie innych reaktywnych form tlenu (ROS), takich jak rodnik hydroksylowy ( $\cdot OH$ ). Jest to bardzo reaktywna cząsteczka, która powoduje uszkodzenia białek, lipidów i DNA w komórce. Białka mogą być również uszkodzone na skutek nadmiernego wytwarzania reaktywnych form azotu (RNS), takich jak tlenek azotu ( $NO\cdot$ ), generowany przez syntazę tlenku azotu (NOS). Reakcja między  $O_2^{\cdot-}$ , a  $NO\cdot$  prowadzi do powstania bardzo niestabilnego nad-tlenoazotynu (ONOO-), który powoduje uszkodzenia zarówno lipidów, jak i DNA. Wysoki poziom tych cząsteczek oraz uszkodzenia jakie powodują, określane stresem oksydacyjnym i nitrozowym, biorą udział w etiologii wielu objawów zespołu metabolicznego. Poziom stresu oksydacyjnego w warunkach fizjologicznych jest ograniczony przez endogenne mechanizmy obrony antyoksydacyjnej [72], jednak w warunkach nadmiernej podaży kalorii, obserwowanej u osobników otyłych i chorych na cukrzycę, może dochodzić do zmiany stanu redoks w mitochondriach, wytworzenia większej ilości  $O_2^{\cdot-}$  i przedłużenia okresu trwania rodników. Wyniki badań na ludziach wskazują, że w cukrzycy występują zaburzenia czynności mitochondriów w mięśniach szkieletowych [89] oraz że wzrost stresu oksydacyjnego jest

związany z zahamowaniem wzrostu płodu [40]. Mimo że ta wczesna ekspozycja na stres oksydacyjny wpływa na różne tkanki i narządy, niektóre z nich, takie jak trzustka, mogą być bardziej wrażliwe na zaburzenia czynności mitochondriów i na ekspozycję na ROS niż inne. W celu utrzymania wydzielania insuliny stymulowanego glukozą, komórki  $\beta$  wymagają dużego stężenia ATP [26]. Mimo dużego zapotrzebowania na energię oksydacyjną, komórki  $\beta$  wykazują bardzo niski poziom enzymów obrony antyoksydacyjnej, w związku z tym zaburzenia w funkcjonowaniu mitochondriów lub wzrost stresu oksydacyjnego poważnie wpływają na funkcję komórek  $\beta$ . W kilku niezależnych badaniach wykazało, że podwyższone stężenie ROS wpływa na wydzielanie insuliny stymulowane glukożą [26] i zmniejsza ekspresję głównych genów w komórkach  $\beta$  [39].

Wykorzystując podwiązanie tętnic u szczurów wykazano, że potomstwo z ograniczonym wzrostem w okresie płodowym doświadcza zwiększonego stresu oksydacyjnego i zwiększonych zaburzeń funkcji mitochondriów w porównaniu z grupą kontrolną, a zmiany te nasilają się z wiekiem. Przejawiało się to zależnym od wieku spadkiem aktywności szlaku fosforylacji oksydacyjnej i wytwarzaniem ATP, a także akumulacji uszkodzeń DNA mitochondriów [79]. Dysfunkcja mitochondriów nie była ograniczona do komórek  $\beta$ , ponieważ także mitochondria wątroby i mięśni szkieletowych wykazały zmniejszenie utleniania pirogronianu, co prowadziło do rozwoju objawów charakterystycznych dla cukrzycy typu 2 [64,76]. Zmniejszenie utleniania pirogronianu w wątrobie, prawdopodobnie, predysponuje zwierzę do zwiększonej glukoneogenezy wątrobowej, natomiast zmiany w tkance mięśniowej prowadzą do przewlekłego obniżenia wytwarzania ATP, a następnie zmniejszenia poziomu translokacji GLUT4 i transportu glukozy do tkanek, przyczyniając się do hiperglikemii.

Stres oksydacyjny powoduje także uszkodzenia genomowego DNA, przez co wpływa na regulację cyklu komórkowego i ekspresję genów [17]. Mimo że ROS są ogólnie ukierunkowane na DNA, telomery, składające się z powtarzanych sekwencji bogatych w heksanukleotydy GC, które znajdują się na końcach każdego chromosomu, są szczególnie wrażliwe na uszkodzenia spowodowane przez wolne rodniki [36]. Przypuszcza się, że wzrost uszkodzeń oksydacyjnych może przyspieszać skracanie telomerów,

a następnie wywołać przedwczesne starzenie [96]. Ryzyko rozwoju cukrzycy typu 2 i chorób układu krążenia wzrasta z wiekiem, wysunięto zatem hipotezę, że biologia telomerów może stanowić ważny związek między wzrostem stresu oksydacyjnego a rozwojem tych zaburzeń. Badania wykazały, że skracanie telomerów jest związane nie tylko ze starzeniem się [36], ale również z ograniczeniem wzrostu w życiu płodowym. Według obserwacji przeprowadzonych na modelu zmniejszonej podaży białka u matek, dieta w czasie ciąży i w początkowym okresie życia może modylować biologię telomerów, znacząco wpływając na rozwój objawów zespołu metabolicznego i długość życia potomstwa [38,84]. Okazało się, że ograniczenie białka w diecie i szybkości wzrostu w okresie laktacji zwiększa długość życia potomstwa oraz powoduje zwiększenie aktywności enzymów obrony antyoksydacyjnej w nerkach i aorcie, natomiast ograniczenie białka w diecie i wzrostu w czasie ciąży, powoduje skrócenie życia potomstwa oraz osłabienie antyoksydacyjnych mechanizmów obronnych w nerkach, aorcie, wyspach trzustki, a także zmniejsza długość telomerów zarówno w aorcie, jak i w wyspach trzustki.

## PODSUMOWANIE

Istnieją dowody wskazujące na znaczenie wewnątrzmacicznego środowiska dla rozwoju płodu i jego predyspozycji do objawów zespołu metabolicznego w późniejszym życiu. W większości badań nad mechanizmami leżącymi u podstaw zdrowia i choroby stosowano modele zwierzęce, jednak opisane procesy regulacyjne występują również u ludzi, co sugeruje ich ogólnobiologiczne znaczenie. Należą do nich stałe zmiany strukturalne niektórych narządów, modyfikacje epigenetyczne powodujące trwałe zakłócenia ekspresji genów oraz dysfunkcje mitochondriów, prowadzące do kumulacji uszkodzeń oksydacyjnych. Z ostatnich badań wynika, że wczesne programowanie zaburzeń metabolicznych jest związane z matczynym odżywianiem doświadczonym we wczesnym i późniejszym okresie ciąży. Każda z tych ekspozycji działa przez inne mechanizmy, takie jak: zmiana wydajności odkładania triglicerydów w okresie pourodzeniowym, aktywacja hormonalnej „osi stresu” i jej potencjalny wpływ na tolerancję glukozy u potomstwa. Jest to istotne w zaleceniach żywieniowych dla przyszłych matek, które wykazują nadwagę lub otyłość, ponieważ każda interwencja żywieniowa w okresie okołozapłodnieniowym może wywołać następstwa metaboliczne i endokrynne u potomstwa.

## PIŚMIENNICTWO

[1] Abdul-Ghani M.A., Molina-Carrion M., Jani R., Jenkinson C., DeFronzo R.A.: Adipocytes in subjects with impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance are resistant to the anti-lipolytic effect of insulin. *Acta Diabetol.*, 2008; 45: 147-150

[2] Arantes V.C., Teixeira V.P., Reis M.A., Latorraca M.Q., Leite A.R., Carneiro E.M., Yamada A.T., Boschero A.C.: Expression of PDX-1 is reduced in pancreatic islets from pups of rat dams fed a low protein diet during gestation and lactation. *J. Nutr.*, 2002; 132: 3030-3035

[3] Bagby S.P.: Maternal nutrition, low nephron number, and hypertension in later life: pathways of nutritional programming. *J. Nutr.*, 2007; 137: 1066-1072

[4] Baschat A.A., Hecher K.: Fetal growth restriction due to placental disease. *Semin. Perinatol.*, 2004; 28: 67-80

[5] Bernardo A.S., Hay C.W., Docherty K.: Pancreatic transcription factors and their role in the birth, life and survival of the pancreatic  $\beta$  cell. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2008; 294: 1-9

- [6] Bernstein B.E., Meissner A., Lander E.S.: The mammalian epigenome. *Cell*, 2007; 128: 669-681
- [7] Berthoud H.R., Morrison C.: The brain, appetite, and obesity. *Annu. Rev. Psychol.*, 2008; 59: 55-92
- [8] Bertin E., Gangnerau M.N., Bellon G., Bailbe D., Arbelot De Vacqueur A., Portha B.: Development of  $\beta$ -cell mass in fetuses of rats deprived of protein and/or energy in last trimester of pregnancy. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2002; 283: R623-R630
- [9] Bogdarina I., Welham S., King P.J., Burns S.P., Clark A.J.: Epigenetic modification of the renin-angiotensin system in the fetal programming of hypertension. *Circ. Res.*, 2007; 100: 520-526
- [10] Boney C.M., Verma A., Tucker R., Vohr B.R.: Metabolic syndrome in childhood: association with birth weight, maternal obesity, and gestational diabetes mellitus. *Pediatrics*, 2005; 115: 290-296
- [11] Bouret S.G., Draper S.J., Simerly R.B.: Formation of projection pathways from the arcuate nucleus of the hypothalamus to hypothalamic regions implicated in the neural control of feeding behavior in mice. *J. Neurosci.*, 2004; 24: 2797-2805
- [12] Bouret S.G., Draper S.J., Simerly R.B.: Trophic action of leptin on hypothalamic neurons that regulate feeding. *Science*, 2004; 304: 108-110
- [13] Breyman C.: Iron deficiency and anaemia in pregnancy: modern aspects of diagnosis and therapy. *Blood Cells Mol. Dis.*, 2002; 29: 506-521
- [14] Calvert J.W., Lefer D.J., Gundewar S., Poston L., Coetzee, W.A.: Developmental programming resulting from maternal obesity in mice: effects on myocardial ischaemia-reperfusion injury. *Exp. Physiol.*, 2009; 94: 805-814
- [15] Catalano P.M.: Obesity and pregnancy – the propagation of a vicious cycle? *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2003; 88: 3505-3506
- [16] Cetin I., Morpurgo P.S., Radaelli T., Taricco E., Cortelazzi D., Bellotti M., Pardi G., Beck-Peccoz P.: Fetal plasma leptin concentrations: relationship with different intrauterine growth patterns from 19 weeks to term. *Pediatr. Res.*, 2000; 48: 646-651
- [17] Chen J.H., Hales C.N., Ozanne S.E.: DNA damage, cellular senescence and organismal ageing: causal or correlative? *Nucleic Acids Res.*, 2007; 35: 7417-7428
- [18] Cooney C.A., Dave A.A., Wolff G.L.: Maternal methyl supplements in mice affect epigenetic variation and DNA methylation of offspring. *J. Nutr.*, 2002; 132: 2393S-2400S
- [19] Cox L.A., Nijland M.J., Gilbert J.S., Schlabritz-Loutsevitch N.E., Hubbard G.B., McDonald T.J., Shade R.E., Nathanielsz, P.W.: Effect of 30 per cent maternal nutrient restriction from 0.16 to 0.5 gestation on fetal baboon kidney gene expression. *J. Physiol.*, 2006; 572: 67-85
- [20] Davidowa H., Li Y., Plagemann A.: Altered responses to orexigenic (AGRP, MCH) and anorexigenic ( $\alpha$ -MSH, CART) neuropeptides of paraventricular hypothalamic neurons in early postnatally overfed rats. *Eur. J. Neurosci.*, 2003; 18: 613-621
- [21] Dor Y., Brown J., Martinez O.I., Melton D.A.: Adult pancreatic  $\beta$ -cells are formed by self-duplication rather than stem-cell differentiation. *Nature*, 2004; 429: 41-46
- [22] Ergaz Z., Avgil M., Ornoy A.: Intrauterine growth restriction-etiology and consequences: what do we know about the human situation and experimental animal models? *Reprod. Toxicol.*, 2005; 20: 301-322
- [23] Fernandez-Twinn D.S., Ozanne S.E., Ekizoglou S., Doherty C., James L., Gusterson B., Hales C.N.: The maternal endocrine environment in the low-protein model of intra-uterine growth restriction. *Br. J. Nutr.*, 2003; 90: 815-822
- [24] Fernandez-Twinn D.S., Wayman A., Ekizoglou S., Martin M.S., Hales C.N., Ozanne S.E.: Maternal protein restriction leads to hyperinsulinaemia and reduced insulin-signaling protein expression in 21-mo-old female rat offspring. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2005; 288: R368-R373
- [25] Fowden A.L., Forhead A.J.: Endocrine mechanisms of intrauterine programming. *Reproduction*, 2004; 127: 515-526
- [26] Fujimoto S., Nabe K., Takehiro M., Shimodaira M., Kajikawa M., Takeda T., Mukai E., Inagaki N., Seino Y.: Impaired metabolism-secretion coupling in pancreatic  $\beta$ -cells: role of determinants of mitochondrial ATP production. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 2007; 77: S2-S10
- [27] Gambling L., Dunford S., Wallace D.I., Zuur G., Solanky N., Srai S.K., McArdle H.J.: Iron deficiency during pregnancy affects postnatal blood pressure in the rat. *J. Physiol.*, 2003; 552: 603-610
- [28] Gesina E., Tronche F., Herrera P., Duchene B., Tales W., Czernichow P., Breant B.: Dissecting the role of glucocorticoids on pancreas development. *Diabetes*, 2004; 53: 2322-2329
- [29] Gupta A., Srinivasan M., Thamadilok S., Patel M.S.: Hypothalamic alterations in fetuses of high fat diet-fed obese female rats. *J. Endocrinol.*, 2009; 200: 293-300
- [30] Hales C.N., Barker D.J.: The thrifty phenotype hypothesis. *Br. Med. Bull.*, 2001; 60: 5-20
- [31] Hales C.N., Barker D.J., Clark P.M., Cox L.J., Fall C., Osmond C., Winter P.D.: Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64. *Br. Med. J.*, 1991; 303: 1019-1022
- [32] Heijmans B.T., Tobi E.W., Stein A.D., Putter H., Blauw G.J., Susser E.S., Slagboom P.E., Lumey L.H.: Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008; 105: 17046-17049
- [33] Hietaniemi M., Malo E., Jokela M., Santaniemi M., Ukkola O., Kesaniemi Y.A.: The effect of energy restriction during pregnancy on obesity-related peptide hormones in rat offspring. *Peptides*, 2009; 30: 705-709
- [34] Hoet J.J., Hanson M.A.: Intrauterine nutrition: its importance during critical periods of cardiovascular and endocrine development. *J. Physiol.*, 1999; 514: 617-627
- [35] Holemans K., Aerts L., Van Assche F.A.: Lifetime consequences of abnormal fetal pancreatic development. *J. Physiol.*, 2003; 547: 11-20
- [36] Houben J.M., Moonen H.J., van Schooten F.J., Hageman G.J.: Telomere length assessment: biomarker of chronic oxidative stress? *Free Radic. Biol. Med.*, 2008; 44: 235-246
- [37] Howie G.J., Sloboda D.M., Kamal T., Vickers M.H.: Maternal nutritional history predicts obesity in adult offspring independent of postnatal diet. *J. Physiol.*, 2009; 587: 905-915
- [38] Jennings B.J., Ozanne S.E., Dorling M.W., Hales C.N.: Early growth determines longevity in male rats and may be related to telomere shortening in the kidney. *FEBS Lett.*, 1999; 448: 4-8
- [39] Kaneto H., Suzuma K., Sharma A., Bonner-Weir S., King G.L., Weir G.C.: Involvement of protein kinase C  $\beta$  in c-myc induction by high glucose in pancreatic  $\beta$ -cells. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 3680-3685
- [40] Karowicz-Bilinska A., Suzin J., Sieroszewski P.: Evaluation of oxidative stress indices during treatment in pregnant women with intrauterine growth retardation. *Med. Sci. Monit.*, 2002; 8: CR211-CR216
- [41] Khan I.Y., Dekou V., Douglas G., Jensen R., Hanson M.A., Poston L., Taylor P.D.: A high-fat diet during rat pregnancy or suckling induces cardiovascular dysfunction in adult offspring. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2005; 288: R127-R133
- [42] Kiss A.C., Lima P.H., Sinzato Y.K., Takaku M., Takeno M.A., Rudge M.V., Damasceno D.C.: Animal models for clinical and gestational diabetes: maternal and fetal outcomes. *Diabetol. Metab. Syndr.*, 2009; 1: 1-7
- [43] Konner A.C., Klockener T., Bruning, J.C.: Control of energy homeostasis by insulin and leptin: targeting the arcuate nucleus and beyond. *Physiol. Behav.*, 2009; 97: 632-638
- [44] Langley-Evans S.C., Langley-Evans A.J., Marchand M.C.: Nutritional programming of blood pressure and renal morphology. *Arch. Physiol. Biochem.*, 2003; 111: 8-16

- [45] Lesage J., Blondeau B., Grino M., Breant B., Dupouy J.P.: Maternal undernutrition during late gestation induces fetal overexposure to glucocorticoids and intrauterine growth retardation, and disturbs the hypothalamo-pituitary adrenal axis in the newborn rat. *Endocrinology*, 2001; 142: 1692-1702
- [46] Lillycrop K.A., Phillips E.S., Jackson A.A., Hanson M.A., Burdge G.C.: Dietary protein restriction of pregnant rats induces and folic acid supplementation prevents epigenetic modification of hepatic gene expression in the offspring. *J. Nutr.*, 2005; 135: 1382-1386
- [47] Lillycrop K.A., Slater-Jefferies J.L., Hanson M.A., Godfrey K.M., Jackson A.A., Burdge G.C.: Induction of altered epigenetic regulation of the hepatic glucocorticoid receptor in the offspring of rats fed a protein-restricted diet during pregnancy suggests that reduced DNA methyltransferase-1 expression is involved in impaired DNA methylation and changes in histone modifications. *Br. J. Nutr.*, 2007; 97: 1064-1073
- [48] Lisle S.J., Lewis R.M., Petry C.J., Ozanne S.E., Hales C.N., Forhead A.J.: Effect of maternal iron restriction during pregnancy on renal morphology in the adult rat offspring. *Br. J. Nutr.*, 2003; 90: 33-39
- [49] Long N.M., George L.A., Uthlaut A.B., Smith D.T., Nijland M.J., Nathanielsz P.W., Ford S.P.: Maternal obesity and increased nutrient intake before and during gestation in the ewe results in altered growth, adiposity, and glucose tolerance in adult offspring. *J. Anim. Sci.*, 2010; 88: 3546-3553
- [50] McMillen I.C., Rattanatray L., Duffield J.A., Morrison J.L., MacLaughlin S.M., Gentili S., Muhlhausler B.S.: The early origins of later obesity: pathways and mechanisms. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2009; 646: 71-81
- [51] McMillen I.C., Robinson J.S.: Developmental origins of the metabolic syndrome: prediction, plasticity, and programming. *Physiol. Rev.*, 2005; 85: 571-633
- [52] Minge C., Bennett B., Norman R., Robker R.: Peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  agonist rosiglitazone reverses the adverse effects of diet-induced obesity on oocyte quality. *Endocrinology*, 2008; 149: 2646-2656
- [53] Moritz K.M., Mazza M.Q., Siebel A.L., Mibus A., Arena D., Tare M., Owens J.A., Wlodek M.W.: Uteroplacental insufficiency causes a nephron deficit, modest renal insufficiency but no hypertension with ageing in female rats. *J. Physiol.*, 2009; 587: 2635-2646
- [54] Morris M.J., Chen H.: Established maternal obesity in the rat reprograms hypothalamic appetite regulators and leptin signaling at birth. *Int. J. Obes.*, 2009; 33: 115-122
- [55] Nijland M.J., Schlambitz-Loutsevitch N.E., Hubbard G.B., Nathanielsz P.W., Cox L.A.: Non-human primate fetal kidney transcriptome analysis indicates mammalian target of rapamycin (mTOR) is a central nutrient-responsive pathway. *J. Physiol.*, 2007; 579: 643-656
- [56] Nivoit P., Morens C., Van Assche F.A., Jansen E., Poston L., Remacle C., Reusens B.: Established diet-induced obesity in female rats leads to offspring hyperphagia, adiposity and insulin resistance. *Diabetologia*, 2009; 52: 1133-1142
- [57] Nyirenda M.J., Lindsay R.S., Kenyon C.J., Burchell A., Seckl J.R.: Glucocorticoid exposure in late gestation permanently programs rat hepatic phosphoenolpyruvate carboxykinase and glucocorticoid receptor expression and causes glucose intolerance in adult offspring. *J. Clin. Invest.*, 1998; 101: 2174-2181
- [58] Oak S.A., Tran C., Pan G., Thamocharan M., Devaskar S.U.: Perturbed skeletal muscle insulin signaling in the adult female intrauterine growth-restricted rat. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2006; 290: E1321-E1330
- [59] Ong K.K., Ahmed M.L., Emmett P.M., Preece M.A., Dunger D.B.: Association between postnatal catch-up growth and obesity in childhood: prospective cohort study. *Br. Med. J.*, 2000; 320: 967-971
- [60] Ozanne S.E., Dorling M.W., Wang C.L., Nave B.T.: Impaired PI 3-kinase activation in adipocytes from early growth-restricted male rats. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2001; 280: E534-E539
- [61] Ozanne S.E., Dorling M.W., Wang C.L., Petry C.J.: Depot-specific effects of early growth retardation on adipocyte insulin action. *Horm. Metab. Res.*, 2000; 32: 71-75
- [62] Ozanne S.E., Jensen C.B., Tingey K.J., Storgaard H., Madsbad S., Vaag A.A.: Low birthweight is associated with specific changes in muscle insulin-signalling protein expression. *Diabetologia*, 2005; 48: 547-552
- [63] Park J.H., Stoffers D.A., Nicholls R.D., Simmons R.A.: Development of type 2 diabetes following intrauterine growth retardation in rats is associated with progressive epigenetic silencing of Pdx1. *J. Clin. Invest.*, 2008; 118: 2316-2324
- [64] Peterside I.E., Selak M.A., Simmons R.A.: Impaired oxidative phosphorylation in hepatic mitochondria in growth-retarded rats. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2003; 285: E1258-E1266
- [65] Petry C.J., Dorling M.W., Pawlak D.B., Ozanne S.E., Hales C.N.: Diabetes in old male offspring of rat dams fed a reduced protein diet. *Int. J. Exp. Diabetes Res.*, 2001; 2: 139-143
- [66] Piper K., Brickwood S., Turnpenny L.W., Cameron I.T., Ball S.G., Wilson D.I., Hanley N.A.:  $\beta$  Cell differentiation during early human pancreas development. *J. Endocrinol.*, 2004; 181: 11-23
- [67] Poore K.R., Fowden A.L.: Insulin sensitivity in juvenile and adult Large White pigs of low and high birthweight. *Diabetologia*, 2004; 47: 340-348
- [68] Rasmussen K.: Is there a causal relationship between iron deficiency or iron-deficiency anemia and weight at birth, length of gestation and perinatal mortality? *J. Nutr.*, 2001; 131: 590S-601S
- [69] Rattanatray L., MacLaughlin S.M., Kleemann D.O., Walker S.K., Muhlhausler B.S., McMillen I.C.: Impact of maternal periconceptional overnutrition on fat mass and expression of adipogenic and lipogenic genes in visceral and subcutaneous fat depots in the postnatal lamb. *Endocrinology*, 2010; 151: 5195-5205
- [70] Ravelli A.C., van der Meulen J.H., Michels R.P., Osmond C., Barker D.J., Hales C.N., Bleker O.P.: Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. *Lancet*, 1998; 351: 173-177
- [71] Raychaudhuri N., Raychaudhuri S., Thamocharan M., Devaskar S.U.: Histone code modifications repress glucose transporter 4 expression in the intrauterine growth-restricted offspring. *J. Biol. Chem.*, 2008; 283: 13611-13626
- [72] Rolo A.P., Palmeira C.M.: Diabetes and mitochondrial function: role of hyperglycemia and oxidative stress. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2006; 212: 167-178
- [73] Samuelsson A.M., Matthews P.A., Argenton M., Christie M.R., McConnell J.M., Jansen E.H., Piersma A.H., Ozanne S.E., Twinn D.F., Remacle C., Rowlerson A., Poston L., Taylor P.D.: Diet-induced obesity in female mice leads to offspring hyperphagia, adiposity, hypertension, and insulin resistance: a novel murine model of developmental programming. *Hypertension*, 2008; 51: 383-392
- [74] Sanders M.W., Fazzi G.E., Janssen G.M., Blanco C.E., De Mey J.G.: High sodium intake increases blood pressure and alters renal function in intrauterine growth-retarded rats. *Hypertension*, 2005; 46: 71-75
- [75] Seckl J.R., Meaney M.J.: Glucocorticoid "programming" and PTSD risk. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2006; 1071: 351-378
- [76] Selak M.A., Storey B.T., Peterside I., Simmons R.A.: Impaired oxidative phosphorylation in skeletal muscle of intrauterine growth-retarded rats. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2003; 285: E130-E137
- [77] Shankar K., Harrell A., Liu X., Gilchrist J.M., Ronis M.J., Badger T.M.: Maternal obesity at conception programs obesity in the offspring. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2008; 294: R528-R538
- [78] Shen C.N., Seckl J.R., Slack J.M., Tosh D.: Glucocorticoids suppress  $\beta$ -cell development and induce hepatic metaplasia in embryonic pancreas. *Biochem. J.*, 2003; 375: 41-50



- [79] Simmons R.A., Suponitsky-Kroyter I., Selak M.A.: Progressive accumulation of mitochondrial DNA mutations and decline in mitochondrial function lead to  $\beta$ -cell failure. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 28785-28791
- [80] Srinivasan M., Katewa S.D., Palaniyappan A., Pandya J.D., Patel M.S.: Maternal high-fat diet consumption results in fetal malprogramming predisposing to the onset of metabolic syndrome-like phenotype in adulthood. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2006; 291: E792-E799
- [81] Stanger B.Z., Tanaka A.J., Melton D.A.: Organ size is limited by the number of embryonic progenitor cells in the pancreas but not the liver. *Nature*, 2007; 445: 886-891
- [82] Styrd J., Eriksson U.J., Grill V., Swenne I.: Experimental intrauterine growth retardation in the rat causes a reduction of pancreatic B-cell mass, which persists into adulthood. *Biol. Neonate*, 2005; 88: 122-128
- [83] Symonds M.E., Sebert S.P., Hyatt M.A., Budge H.: Nutritional programming of the metabolic syndrome. *Nat. Rev. Endocrinol.*, 2009; 5: 604-610
- [84] Tarry-Adkins J.L., Chen J.H., Smith N.S., Jones R.H., Cherif H., Ozanne S.E.: Poor maternal nutrition followed by accelerated postnatal growth leads to telomere shortening and increased markers of cell senescence in rat islets. *FASEB J.*, 2009; 23: 1521-1528
- [85] Taylor P.D., McConnell J., Khan I.Y., Holemans K., Lawrence K.M., Asare-Anane H., Persaud S.J., Petrie L., Hanson M.A., Poston L.: Impaired glucose homeostasis and mitochondrial abnormalities in offspring of rats fed a fat-rich diet in pregnancy. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2005; 288: R134-R139
- [86] Teta M., Long S.Y., Wartschow L.M., Rankin M.M., Kushner J.A.: Very slow turnover of  $\beta$ -cells in aged adult mice. *Diabetes*, 2005; 54: 2557-2567
- [87] Tobi E.W., Lumey L.H., Talens R.P., Kremer D., Putter H., Stein A.D., Slagboom P.E., Heijmans B.T.: DNA methylation differences after exposure to prenatal famine are common and timing - and sex specific. *Hum. Mol. Genet.*, 2009; 18: 4046-4053
- [88] Toste F.P., de Moura E.G., Lisboa P.C., Fagundes A.T., de Oliveira E., Passos M.C.: Neonatal leptin treatment programmes leptin hypothalamic resistance and intermediary metabolic parameters in adult rats. *Br. J. Nutr.*, 2006; 95: 830-837
- [89] Ukropcova B., Sereda O., de Jonge L., Bogacka I., Nguyen T., Xie H., Bray G.A., Smith S.R.: Family history of diabetes links impaired substrate switching and reduced mitochondrial content in skeletal muscle. *Diabetes*, 2007; 56: 720-727
- [90] Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M., Telser J.: Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2007; 39: 44-84
- [91] van Straten E.M., Bloks V.W., Huijkman N.C., Baller J.F., van Meer H., Lutjohann D., Kuipers F., Plosch T.: The liver X-receptor (LXR) gene promoter is hypermethylated in a mouse model of prenatal protein restriction. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2010; 298: R275-R282
- [92] Vickers M.H., Breier B.H., Cutfield W.S., Hofman P.L., Gluckman P.D.: Fetal origins of hyperphagia, obesity, and hypertension and postnatal amplification by hypercaloric nutrition. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2000; 279: E83-E87
- [93] Vickers M.H., Gluckman P.D., Coveny A.H., Hofman P.L., Cutfield W.S., Gertler A., Breier B.H., Harris M.: Neonatal leptin treatment reverses developmental programming. *Endocrinology*, 2005; 146: 4211-4216
- [94] Vickers M.H., Ikenasio B.A., Breier B.H.: IGF-I treatment reduces hyperphagia, obesity, and hypertension in metabolic disorders induced by fetal programming. *Endocrinology*, 2001; 142: 3964-3973
- [95] Vuguin P., Raab E., Liu B., Barzilai N., Simmons R.: Hepatic insulin resistance precedes the development of diabetes in a model of intrauterine growth retardation. *Diabetes*, 2004; 53: 2617-2622
- [96] Vulliamy T.J.: Premature ageing. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2009; 66: 3091-3094
- [97] Warner M.J., Ozanne S.E.: Mechanisms involved in the developmental programming of adulthood disease. *Biochem. J.*, 2010; 427: 333-347
- [98] Waterland R.A., Travasano M., Tahiliani K.G., Rached M.T., Mirza S.: Methyl donor supplementation prevents transgenerational amplification of obesity. *Int. J. Obes.*, 2008; 32: 1373-1379
- [99] Williams P.J., Kurlak L.O., Perkins A.C., Budge H., Stephenson T., Keisler D., Symonds M.E., Gardner D.S.: Hypertension and impaired renal function accompany juvenile obesity: the effect of prenatal diet. *Kidney Int.*, 2007; 72: 279-289
- [100] Woods L.L.: Maternal glucocorticoids and prenatal programming of hypertension. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2006; 291: R1069-R1075
- [101] Woods L.L., Weeks D.A.: Prenatal programming of adult blood pressure: role of maternal corticosteroids. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2005; 289: R955-R962
- [102] Wyrwoll C.S., Mark P.J., Waddell B.J.: Developmental programming of renal glucocorticoid sensitivity and the renin-angiotensin system. *Hypertension*, 2007; 50: 579-584
- [103] Yogev Y., Metzger B.E., Hod M.: Establishing diagnosis of gestational diabetes mellitus: impact of the hyperglycemia and adverse pregnancy outcome study. *Semin. Fetal Neonatal Med.*, 2009; 14: 94-100
- [104] Yura S., Itoh H., Sagawa N., Yamamoto H., Masuzaki H., Nakao K., Kawamura M., Takemura M., Kakui K., Ogawa Y., Fujii S.: Role of premature leptin surge in obesity resulting from intrauterine undernutrition. *Cell Metab.*, 2005; 1: 371-378
- [105] Zambrano E., Martinez-Samayo P.M., Rodriguez-Gonzalez G.L., Nathanielsz P.W.: Dietary intervention prior to pregnancy reverses metabolic programming in male offspring of obese rats. *J. Physiol.*, 2010; 588: 1791-1799
- [106] Zhang J., Lewis R.M., Wang C., Hales N., Byrne C.D.: Maternal dietary iron restriction modulates hepatic lipid metabolism in the fetuses. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2005; 288: R104-R111
- [107] Zhang S., Rattanatray L., MacLaughlin S.M., Cropley J.E., Suter C.M., Molloy L., Kleemann D., Walker S.K., Muhlhauser B.S., Morrison J.L., McMillen I.C.: Periconceptional undernutrition in normal and overweight ewes leads to increased adrenal growth and epigenetic changes in adrenal IGF2/H19 gene in offspring. *FASEB J.*, 2010; 24: 2772-2782
- [108] Zhang S., Rattanatray L., McMillen I.C., Suter C.M., Morrison J.L.: Periconceptional nutrition and the early programming of a life of obesity or adversity. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 2011; 106: 307-314

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.