



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUIMICA

**TESINA QUE PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN BIOQUÍMICA
CLÍNICA PRESENTA**

QFB LUZ ELENA ALCANTARA GOMEZ

**TITULO: MECANISMOS TRANSGENERACIONALES EN LA PROGRAMACIÓN
DEL DESARROLLO DE ALTERACIONES DEL METABOLISMO DE
CARBOHIDRATOS**

ASESOR: DRA. ELENA ZAMBRANO GONZÁLEZ

**INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MEDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR
ZUBIRAN**

México D.F.

Diciembre, 2008



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS:

A ti señor Jesús porque me has acompañado en este caminar....

Al QFB Mario García Sánchez por romper paradigmas y creer que era digna de confianza.

A los directivos de Carpermor por darme el tiempo y el apoyo económico para realizar esta especialidad.

A la Dra. Elena Zambrano González por permitirme desarrollar este trabajo bajo su asesoría en el laboratorio de Biología de la reproducción, INCMNSZ, por su aprecio y apoyo total.

DEDICATORIA:

A mi familia, porque los amo y especialmente a ti Julián, querido hermano, te llevaste una buena parte de mi corazón.

“En mi principio esta mi final”

“In my beginning is my end”

T.S. Eliot: Four Quartets; The Dry Salvages

MECANISMOS TRANSGENERACIONALES EN LA PROGRAMACIÓN DEL DESARROLLO DE ALTERACIONES DEL METABOLISMO DE CARBOHIDRATOS

1. INDICE

1. INDICE.....	1
2. RESUMEN	2
3. INTRODUCCION	4
4. JUSTIFICACIÓN.....	6
5. OBJETIVO	7
6. PROGRAMACIÓN DEL DESARROLLO.....	8
7. METABOLISMO DE CARBOHIDRATOS	11
7.1 Síndrome metabólico	12
8. EL CONCEPTO TRANSGENERACIONAL.....	14
9. MECANISMOS EPIGENÉTICOS DE LOS PATRONES DE HERENCIA.....	17
10. ESTUDIOS CON ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.....	22
10.1 Modelo Transgeneracional de nutrición.	23
10.2 Modelo de restricción del flujo sanguíneo uterino.	27
10.3 Modelo de sobre exposición a glucocorticoides	28
10.4 Modelo de diabetes gestacional.	30
11. PROGRAMACIÓN INTERGENERACIONAL HUMANA	33
12. DISCUSIÓN	36
13. CONCLUSIONES	38
14. REFERENCIAS	39

MECANISMOS TRANSGENERACIONALES EN LA PROGRAMACIÓN DEL DESARROLLO DE ALTERACIONES DEL METABOLISMO DE CARBOHIDRATOS

2. RESUMEN

El metabolismo de carbohidratos es una de las principales rutas metabólicas para sustentar la vida. Dicha ruta metabólica esta finamente regulada por hormonas como la insulina, el glucagón, y el cortisol; responde de diversas maneras según las circunstancias alimentarias del individuo (post prandio, ayuno o ayuno prolongado). Un desequilibrio en éste metabolismo puede inducir a diferentes patologías como son la intolerancia a la glucosa, el síndrome metabólica, obesidad y diabetes [89, 90]. La evidencia experimental y epidemiológica indica que un medio ambiente sub-óptimo como una alimentación deficiente durante el desarrollo fetal y el crecimiento neonatal tanto en humanos como en animales puede programar en su descendencia la susceptibilidad a desarrollar posteriormente enfermedades crónicas originadas por la alteración del metabolismo de carbohidratos [5].

Las consecuencias adversas del medio ambiente intrauterino alterado pueden pasar de manera transgeneracional del individuo afectado a sus siguientes generaciones a través de mecanismos que no involucran mutaciones a nivel del gen pero si cambios en la expresión de los mismos. Los estudios revelan que durante la etapa de embriogénesis, la alteración del patrón de des-metilación y re metilación origina “marcas” que perdurarán en las siguientes generaciones mientras no se trabaje en modificar las condiciones del ambiente intrauterino y neonatal, una vez hecho lo cual la recuperación podrá tardar entre tres y cuatro generaciones [40].

Los estudios epidemiológicos en seres humanos que han pasado por difíciles episodios de la historia como lo son las hambrunas durante y después de guerras han revelado un patrón de concordancia con los estudios realizados en animales, lo que ha animado a los investigadores a continuar en la búsqueda por la elucidación de la relación causa-mecanismo-efecto con el fin de encontrar formas para contrarrestarla [81].

El objetivo de éste trabajo ha sido hacer una revisión sobre las investigaciones que existen para elucidar justamente ésta relación causa-mecanismo-efecto y durante la misma se ha podido poner de manifiesto que las condiciones intrauterinas y neonatales condicionan en gran manera la vida adulta y considerando las alteraciones que estas pueden traer podemos hablar de presión arterial elevada, intolerancia a la glucosa, diabetes gestacional e incluso afecciones psiquiátricas como esquizofrenia.

Si bien se han realizado diferentes estudios, el entendimiento de los mecanismos transgeneracionales está aún comenzando y durante los siguientes años será necesario realizar aún más estudios dirigidos a vislumbrar de una forma detallada y exacta los mecanismos que llevan a ésta herencia no debida a modificaciones en genes sino a una variación en su expresión.

3. INTRODUCCION

Es sabido que el fenotipo de un individuo no es determinado exclusivamente por el genotipo. Estudios epidemiológicos en humanos [1, 2] y experimentales en animales [3-5] han demostrado que el medio ambiente sub-óptimo en el útero y durante la vida neonatal temprana, altera el crecimiento y predispone al individuo hacia problemas de salud durante toda su vida. El concepto de programación del desarrollo describe aquellas situaciones que durante la gestación y la vida neonatal condicionan una respuesta fisiológica persistente en la descendencia. La desnutrición en diferentes etapas de la gestación modifica el crecimiento, comprometiendo el desarrollo de órganos lo cual podría tener como consecuencia alteraciones en su funcionamiento en etapas posteriores de la vida [11].

El concepto de que el origen de las enfermedades de la vida adulta se encuentra en las primeras etapas del desarrollo (fetal y neonatal) ha sido bien aceptado, debido a que existen estudios en animales que han definido de manera precisa los resultados que se obtienen ante exposiciones específicas como son: 1) restricción nutricional y/o exceso de alimento durante el embarazo y la lactancia; 2) Restricción del flujo sanguíneo uterino; 3) exposición fetal a niveles de glucocorticoides que son inapropiadamente altos para la etapa del desarrollo en que esta el individuo y 4) diabetes materna experimental.

Los individuos que nacieron con bajo peso en relación a su edad gestacional muestran una tasa de crecimiento incrementado en etapas tempranas de la vida post natal. Esta “recuperación” acelerada del crecimiento (catch-up growth), que podría ser benéfica a corto plazo, tiene efectos nocivos a largo plazo sobre la longevidad del individuo [6].

Una de las características más interesantes y significativas de la programación del desarrollo es la evidencia de que las consecuencias adversas de un medio ambiente intrauterino alterado negativamente pueden pasar transgeneracionalmente de madre a hija y a la segunda generación por mecanismos que no involucran cambios genéticos pero si la expresión alterada de genes. Para obtener el fenotipo transgeneracional se requiere de un medio ambiente negativo durante la etapa fetal o en la etapa temprana de la vida neonatal, el fenotipo

fisiológico o enfermedad puede ser transmitido a través de la línea germinal y las subsiguientes generaciones que no han sido expuestas directamente a ese factor ambiental o tóxico pero si sufrir las consecuencias del mismo. Los estudios sugieren que los mecanismos que están involucrados en la programación del desarrollo son epigenéticos más que debido a mutaciones en la secuencia del ADN, permitiendo la propagación de la actividad del gen de una generación de células a la otra [21, 23, 26].

4. JUSTIFICACIÓN

Hoy en día la vida familiar está integrada por baja actividad física, comida rápida y una gran carga de estrés y aunque con el paso del tiempo se ha puesto de manifiesto el daño que esto conlleva, por un lado parecería que no alcanzamos a evidenciar que el daño puede no ser únicamente para quien está llevando éste tipo de vida sino para generaciones posteriores.

Si bien, existen teorías que implican que somos lo que comemos aparentemente no estamos tan conscientes de cuan cierto puede ser esto. A través de investigaciones se ha determinado que ciertos estímulos ya sean positivos o negativos durante periodos críticos de la vida inducen cambios en el individuo y que si estos estímulos se presentan en la vida intrauterina y/o neonatal condicionarán en gran medida su fenotipo en la vida adulta.

La presente revisión busca poner de manifiesto que las alteraciones en la vida intrauterina y neonatal tendrán un impacto no sólo en la vida adulta del individuo, sino que también condicionarán la salud o enfermedad de sus siguientes generaciones particularmente en lo que respecta al metabolismo de carbohidratos ya que actualmente patologías como el sobrepeso y la diabetes son un problema de salud pública en nuestro país con una prevalencia de 7.5% en los individuos mayores de 20 años, según los datos publicados en la encuesta nacional de salud del Instituto de Salud Pública del año 2000. Además en ésta revisión se exploran desde el punto de vista de la programación del desarrollo los mecanismos que pueden estar involucrados en el paso transgeneracional de estas alteraciones metabólicas lo que permitirá en buena parte su prevención y/o el retraso de su aparición, así como la posibilidad de revertir su efecto transgeneracional.

5. OBJETIVO

Elaborar una monografía que contribuya al entendimiento de cómo los factores del medio ambiente intrauterino y de la vida perinatal influyen en el desarrollo de trastornos en el metabolismo de carbohidratos en la vida adulta del individuo con un efecto transgeneracional, así como los probables mecanismos que lo ocasionan.

6. PROGRAMACIÓN DEL DESARROLLO

Desde principios del siglo XX ya se visualizaba una relación causal entre las condiciones de los primeros años de vida y la enfermedad en la edad adulta [7, 8]. En 1962 Neel propuso que durante el proceso de evolución, cuando existía escases de alimento, se seleccionaron ciertos genes “ahorradores” que originaban en el organismo el almacenamiento de nutrientes en forma de grasa (con el consecuente riesgo de resistencia a la insulina y diabetes) con el objeto de garantizar la subsistencia del individuo [9] .

Sin embargo, no es sino hasta 1986 cuando Barker y colaboradores establecen la teoría de “ El origen de la enfermedad del adulto está en la etapa fetal de desarrollo” indicando que los factores ambientales, particularmente la nutrición, actúan en la vida temprana de un individuo programando su propio riesgo para la aparición de enfermedad cardiovascular y metabólica en la vida adulta así como para la muerte prematura [10]; de tal forma que, el fenotipo de un individuo está influenciado no sólo por factores genéticos sino por el medio ambiente al que ha estado expuesto, entendiendo que un ambiente intrauterino o perinatal negativo podrá predisponer al individuo a enfermedades en la vida adulta. En 1991 Lucas estudió la influencia de la dieta post natal en niños prematuros y define a la programación como el proceso en el cual un reto (estímulo negativo) en un período crítico del desarrollo tiene influencia a lo largo de toda la vida del individuo [11] .

En 1992 Hales and Baker retoman la idea de Neel y proponen el término “fenotipo ahorrador”, sugiriendo que, cuando el medioambiente fetal es pobre, se desencadena una respuesta adaptativa en el feto que optimiza el crecimiento de órganos clave a expensas del crecimiento de otros dando como resultado alteraciones en el metabolismo posnatal del individuo [12].

Podemos decir entonces que la programación del desarrollo es el estudio del medio ambiente al que ha estado expuesto el producto durante la gestación y la vida neonatal y que condicionará una respuesta fisiológica permanente en la vida adulta.

El término impronta metabólica (metabolic imprinting) ha sido también utilizado para describir el fenómeno biológico que podría ser causa de la relación entre la nutrición intrauterina y el estado de salud o enfermedad subsecuente [13].

Existe controversia sobre si es correcto hablar de programación (que podría involucrar un fenómeno reversible) o impronta genómica ya que ambos términos podrían originar confusión en su uso de tal forma que se ha propuesto un nuevo término, plasticidad del desarrollo, entendiéndose como la habilidad de un genotipo para producir más de una forma estructural alternativa, estado físico o comportamiento en respuesta a condiciones medioambientales diferentes [14]

Algunos ejemplos de estas condiciones o retos medioambientales que programan intrauterinamente la función fisiológica post-natal a través de retrasar el crecimiento intrauterino son: estrés materno, hipoxia, administración de glucocorticoides, manipulación de la dieta (restricción calórica o dieta isocalórica baja en proteínas), insuficiencia del flujo sanguíneo placentario y diabetes gestacional. Existe evidencia de que estas condiciones ocasionan cambios metabólicos, cardiovasculares y endócrinos en ratas, cerdos, ovejas, caballos y primates. [15]

De forma similar, se ha relacionado en humanos el bajo peso al nacimiento con hipertensión post-natal, intolerancia a la glucosa y alteraciones en el funcionamiento de varios ejes endócrinos incluidos el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, alteraciones en el sistema nervioso y óseo. [16]

La presencia de estos factores en periodos críticos de la vida como lo son el desarrollo fetal (desde la etapa peri-concepción, pre-implantación, implantación y desarrollo de la placenta, organogénesis, máximo crecimiento fetal, maduración preparto), nacimiento, lactancia y el comienzo de la ingesta de alimento sólido condicionarán en gran medida la calidad de vida adulta de un individuo y más aún, de sus siguientes generaciones. Tal como lo demuestran diversos estudios donde se ha restringido la dieta durante el periodo peri-concepción lo que ha ocasionado acortar el periodo gestacional y causar hipertensión en la oveja adulta. El periodo en

el que se presentan así como la duración del mismo diferenciará el impacto en la vida adulta.
[17]

Los mecanismos de la programación intrauterina pueden involucrar cambios funcionales y estructurales en genes, células, tejidos y aún en órganos completos. Existe una asociación entre la mutación del gen pancreático de la glucosa cinasa y la disminución en la secreción de insulina fetal, el bajo peso al nacer y la intolerancia a la glucosa en la vida adulta lo que sugiere que el crecimiento fetal y la susceptibilidad a la enfermedad pueden estar ligados a un solo gen.[18]

El entendimiento de los efectos del medio ambiente negativo en los periodos críticos del desarrollo y su impacto a corto, mediano y largo plazo incluyendo futuras generaciones permitirá modificar la historia natural de la enfermedad desde su inicio y establecer políticas claras de prevención así como disminuir el costo de salud.

7. METABOLISMO DE CARBOHIDRATOS

El organismo humano requiere un aporte de 160g de glucosa diaria para ser utilizada como materia prima en la generación de energía, el cerebro en particular usa 120g de estos 160g y representa casi su único combustible. De igual forma, los eritrocitos de los mamíferos utilizan exclusivamente glucosa para llevar a cabo sus funciones, de ahí la importancia de ésta molécula como combustible para llevar a cabo las funciones celulares [90].

La glucosa es obtenida de diferentes fuentes como son las frutas, cereales, harinas, verduras, etc. Una vez que entra la glucosa a nuestro organismo es censada por las células beta del páncreas y de ser necesario disminuir su concentración sanguínea el páncreas libera la hormona insulina que es la encargada de promover la entrada de la glucosa a las células para ser utilizada en la generación de energía o como materia prima. Existe una regulación muy estricta de los niveles de glucosa sanguínea con la finalidad primordial de que el cerebro nunca tenga desabasto, en condiciones de ayuno esto se hace a través de la hormona glucagón que es la antítesis de la hormona insulina; es decir, si la insulina se encarga de disminuir la concentración de glucosa sanguínea, el glucagón se encarga de aumentarla. El aumento de glucosa se realiza en primera instancia a expensas del glucógeno hepático almacenado (glucogenólisis). Si el organismo no puede cubrir sus necesidades energéticas a través del uso del glucógeno, utilizará otras moléculas como materia prima como son lípidos (lipólisis) y en última instancia proteínas, siendo esto último lo que lleva a los individuos en condiciones de extrema hambruna a la pérdida casi absoluta de la masa muscular [90].

El ayuno prolongado se considera un factor estresante para el organismo y es en éstas condiciones en que el organismo aumenta su consumo de glucosa como consecuencia de la liberación de adrenalina, éste requerimiento es suplementado a través de la glucogenólisis y/o el catabolismo de proteínas siendo éste último estimulado por la liberación de cortisol en condiciones de estrés.

La desregulación del metabolismo de carbohidratos origina enfermedad. La falla en la producción y/o funcionamiento de la insulina trae como consecuencia alteraciones que pueden ir desde intolerancia a la glucosa hasta diabetes mellitus. La diabetes se ha convertido en un problema de salud muy importante en nuestro país colocándose como el No.1 en enfermedades crónicas degenerativas. Es por esto que su prevención más que su control es lo que nos permitirá mejorar la calidad de vida de las personas

7.1 Síndrome metabólico

La vida moderna actual ha traído un cambio en el estilo de vida, en el tipo de alimentación, aumento del sedentarismo y de estrés ambiental entre otros, ya sea por presiones profesionales, por ambientes contaminados o por la desigualdad en la distribución de la riqueza, el cambio del ambiente en general ha dado origen a enfermedades que antes no se encontraban [89].

El síndrome metabólico es un conjunto de padecimientos que se presentan al mismo tiempo en un individuo y que surgen de éstos cambios ambientales y de costumbres. De manera general, se caracteriza por resistencia a la insulina, obesidad abdominal, presión sanguínea elevada y anormalidades en el metabolismo de lípidos. Se considera la presencia de síndrome metabólico en un individuo cuando tiene al menos 3 de las siguientes características:

Tabla No. 1 Criterios diagnósticos del síndrome metabólico según la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Panel del Tratamiento del Adulto (ATP III) [89]

Componentes	Criterio diagnóstico de la OMS (resistencia a la insulina* más dos de los siguientes)	Criterio diagnóstico según ATP III (tres de los siguientes síntomas)
Obesidad central/abdominal	Relación cintura/cadera: > 0.90m (hombres), >0.85m (mujeres), or IMM > 30 Kg/m ²	Relación cintura/cadera: > 102 cm (hombres), > 88 cm (mujeres), or IMM > 30 Kg/m ²
Hipertrigliceridemia	> ó = 150mg/dL (> ó = 1.7 mmol/L)	> ó = 150mg/dL (> ó = 1.7 mmol/L)
Colesterol HDL bajo	< 35 mg/dL (< 0.9 mmol/L) hombres < 39 mg/dL (1.0 mmol/L) mujeres	< 40 mg/dL (< 1.036 mmol/L) hombres < 50 mg/dL (1.295 mmol/L) mujeres
Presión sanguínea alta	> ó = 140/90 mmHg o estar sometido a terapia antihipertensiva	> ó = 130/85 mmHg o estar sometido a terapia antihipertensiva
Glucosa en ayuno alta	Intolerancia a la glucosa, glucosa en ayuno alterada, resistencia a la insulina o diabetes	> ó = 110 mg/dL (> ó = 6.1 mmol/L) ó > ó = 100 según la Asociación americana de Diabétes
Microalbuminuria	Relación albúmina:creatinina en orina: 30 mg/g o velocidad de excreción de albúmina 20 ug/minuto	N/A

* Entendida como diabetes mellitus tipo 2 o alteración de la glucosa en ayuno
IMM = Índice de masa corporal

La presencia de síndrome metabólico es la antesala a la instauración de diabetes mellitus en el individuo y por ende la serie de consecuencias que lleva ésta a nivel renal, neurológico, ocular, circulatorio, etc [89].

Dentro de los factores que llevan al síndrome metabólico se encuentran el factor genético por un lado y el factor ambiental por el otro (estrés, alimentación, sedentarismo, etc). Se ha visto que si bien el factor genético es de importancia, la aparición del síndrome podría ser retardada contrarrestando el factor genético con buenos hábitos de vida como son una correcta alimentación (equilibrada), disminuir el estrés de vida, hacer ejercicio regularmente, llevar un control médico periódico [89].

8. EL CONCEPTO TRANSGENERACIONAL

El concepto transgeneracional puede ser definido como la habilidad de transmitir un fenotipo fisiológico o enfermedad a las generaciones subsecuentes sin que éstas sean expuestas directamente al medio ambiente negativo pero si manifiestan la alteración [19, 20]. Hay estudios genéticos que demuestran que las modificaciones epigenéticas en el ADN pueden ser heredadas transgeneracionalmente [21].

Skinner estableció diferencias entre los conceptos multigeneracional y transgeneracional [20]; el primero involucra la exposición directa al factor ambiental, en el segundo la transmisión entre generaciones no involucra la exposición directa. Un ejemplo de esto sería una madre embarazada, generación F0, expuesta al reto o insulto ambiental, en éste caso, tanto el embrión de la generación F1 como la línea germinal de la generación F2 están directamente expuestos, de esta forma, la generación F3 es la primera generación que no fue expuesta de manera directa al insulto pero si presenta el mismo fenotipo de aquellas que fueron expuestas, siendo ésta la primera generación transgeneracional de manera inequívoca. En contraste, la exposición post natal o adulta (generación F0) trae como resultado la exposición de la línea germinal de la generación F1 únicamente, de forma tal que la generación F2 es la primera que no es expuesta directamente a la alteración ambiental como lo muestra la Figura No.1.

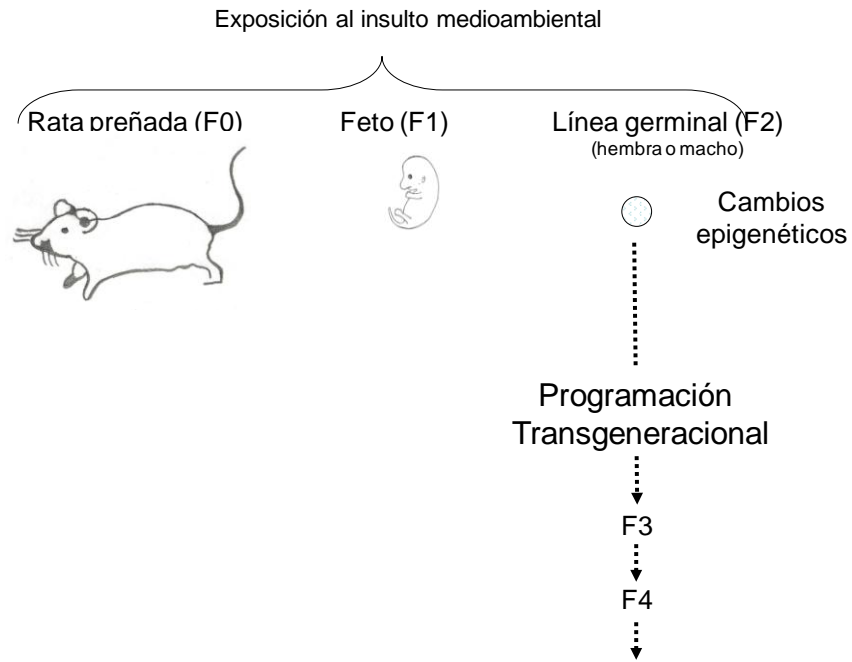


Figura No. 1 Mecanismos epigenéticos transgeneracionales

La herencia epigenética transgeneracional está relacionada con los estados epigenéticos que se dan a través de las divisiones meióticas [21].

Una explicación alterna a la herencia epigenética en línea germinal es que el reto prenatal induce cambios en las hembras F1 que condicionaron el medio ambiente intrauterino que experimentó la generación F2 (cambios epigenéticos que no involucran la línea germinal). Figura No. 2.

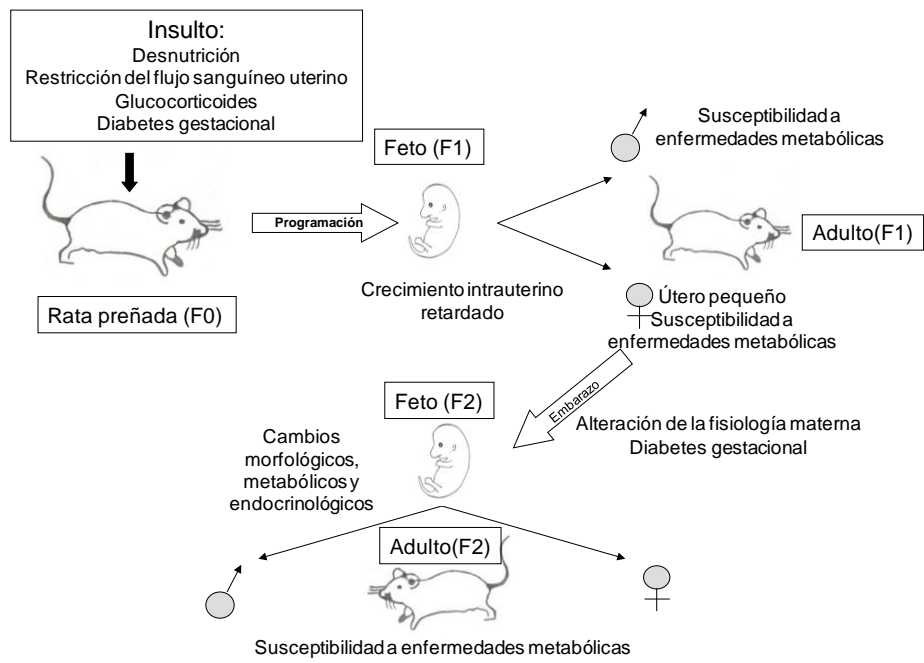


Figura No. 2 Efecto transgeneracional de un insulto materno durante el embarazo.

9. MECANISMOS EPIGENÉTICOS DE LOS PATRONES DE HERENCIA

El término epigenética fue acuñado por Conrad Waddington definiéndolo como “la rama de la Biología que estudia las interacciones causales entre los genes y sus productos, lo cual conlleva al desarrollo del fenotipo involucrado” [22]; algunos autores lo han definido como el estudio de cambios en la función del gen que son heredables mitóticamente o meióticamente y que no pueden ser explicados por cambios en la secuencia del ADN [23]; éste concepto hoy en día es interpretado como cambios en la función del gen que ocurren sin cambios en su secuencia [24]. Las modificaciones epigenéticas son responsables del mantenimiento de la diversidad de patrones de expresión del gen en grupos de células determinados [25]. De esta forma, “epigenética” son las diferentes formas en que un gen se puede expresar [26]. Los estados epigenéticos pueden ser modificados por factores ambientales que pueden contribuir al desarrollo de fenotipos anormales [27].

Si bien, los factores de transcripción son los responsables del establecimiento del patrón de expresión genética, el número de éstos en una célula no explican la diversidad de posibilidades de expresión de un gen dentro del genoma. El control de la expresión de genes está regulado además por marcas de diferenciación estables, es decir, por la información epigenética [28].

Hay dos clases de información epigenética que puede ser heredada con los cromosomas. La primera involucra la modificación del empaquetamiento de la cromatina por medio de cambios en las proteínas de ésta, usualmente las colas de histonas. La región amino terminal de las histonas puede ser modificada por acetilación, metilación, ubiquitinilación, fosforilación, glicosilación y ribosilación del ADP [29, 30]. La más común es la acetilación y metilación de residuos de lisina en H3 y H4 [29]. El incremento de la acetilación induce la activación de la transcripción debido a que remueve las cargas positivas, reduciendo la afinidad de las histonas por el ADN y el empaquetamiento de la cromatina está relajado lo que facilita el acceso de los factores de transcripción y ADN polimerasa a la región promotora [29, 31], mientras que la disminución de la acetilación induce la represión de la transcripción. La metilación está asociada tanto con la represión de la transcripción como con su activación y esto dependerá del número de residuos de lisina metilados en las histonas [29, 30]. La metilación de histonas provee una

marca genómica estable que puede servir para regular la expresión del gen así como otros fenómenos epigenéticos [32]. Se ha establecido que en el proceso de metilación está involucrado el complejo proteico Polycomb-trithorax. Las proteínas del grupo Polycomb (PcG) y el grupo Trithorax (trxG) se unen a sitios específicos del ADN conocidos como elementos de respuesta a PcG y a trxG (PRE y TRE), una vez unidas, estas proteínas regulan la transcripción modulando la estructura de la cromatina a través de dirigir la modificación post traduccional de las histonas (el complejo PcG tiene actividad intrínseca de metiltransferasa) y controlar la accesibilidad a la cromatina. Este complejo proteico es parte fundamental del mantenimiento de la memoria celular Figura No. 3 [33-35]

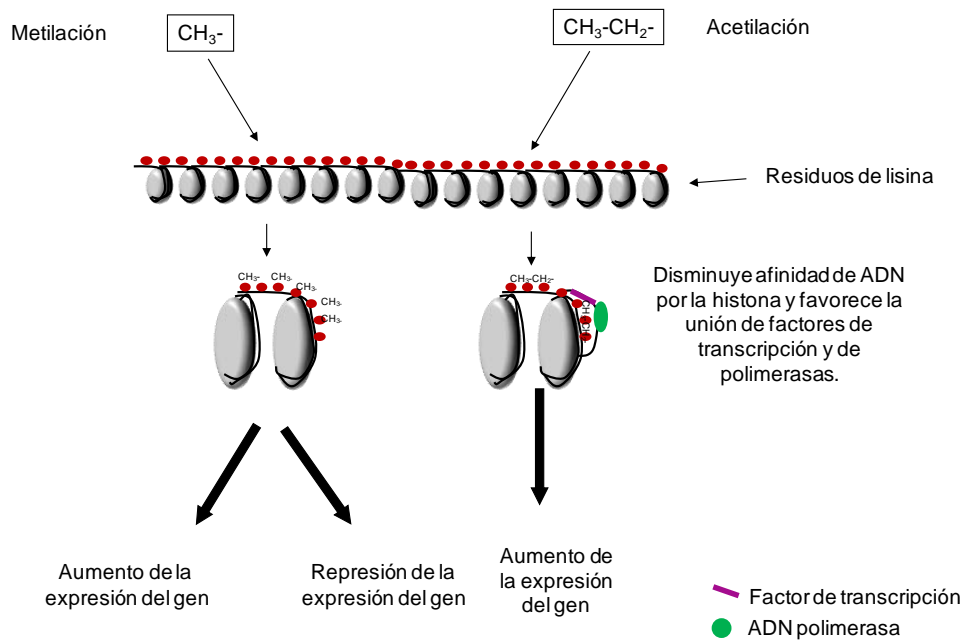


Figura No. 3 Efecto de la metilación y acetilación de histonas.

La segunda clase de información epigenética, con un papel central en la herencia no genómica [28] y la mejor caracterizada es la metilación de residuos de cisteína dentro de dinucleótidos CpG (p de fosfato) los cuales se asocian al silenciamiento del gen y contribuye a la inactivación del cromosoma X, a la impronta genómica y a la regulación transcripcional de genes tejido específicos durante la diferenciación celular [27]. El genoma humano contiene islas CpG que

son regiones ricas en GC no metiladas, poseen una alta densidad de CpG y están localizados en la terminación 5' de muchos genes humanos[36]. Aproximadamente el 60% de los genes humanos están asociados con islas CpG de las cuales la gran mayoría permanecen no metiladas en todas las etapas del desarrollo y en todos los tejidos [37]. Para la metilación de CpG un grupo metilo es transferido enzimáticamente a partir de S-adenosil metionina al carbono 5 del anillo de citocina por medio de enzimas llamadas ADN metiltransferasas (DNMT), existen 3 clases de ADN metiltransferasas, DNMT1, DNMT3a y DNMT3b, la primera está asociada a la conservación de la metilación en la replicación semiconservada del genoma y las otras dos en la metilación de novo. La estructura resultante interfiere con las proteínas de unión a factores transcripcionales [28, 30, 38]. En las células somáticas humanas las citocinas metiladas (m^5C) son aproximadamente un 1% de todos los dinucleótidos CpG en el genoma [39] Figura No 4.

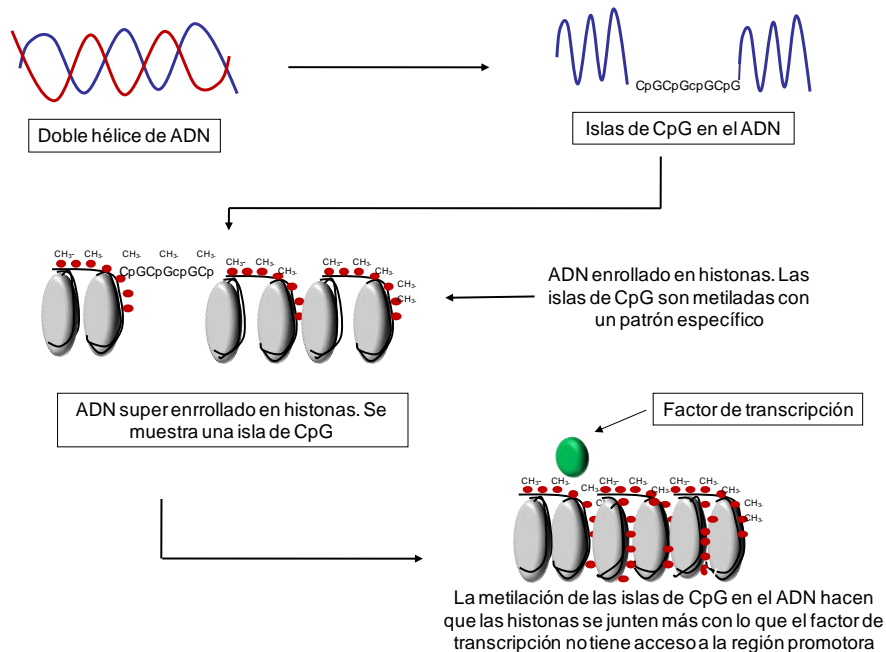


Figura No. 4 Islas de CpG que al ser metiladas originan que los espacios entre histonas se disminuyan y los factores de transcripción no puedan interactuar con el material genético y por lo tanto inhiben la expresión de genes.

La nutrición temprana influye en el establecimiento y mantenimiento de la metilación de citocinas [40]; micronutrientes como la vitamina B12 y el ácido fólico son donadores del grupo

metilo [24, 30]. Cambios ligeros en la nutrición materna durante la gestación determinan potencialmente un cambio epigenético [41].

La ventana de exposición a factores epigenéticos es de vital importancia. Las modificaciones epigenéticas pueden ocurrir durante la gestación, el desarrollo neonatal, la pubertad, la menopausia y la vejez. Esencialmente las modificaciones epigenéticas se inducen durante periodos críticos del desarrollo o etapas de cambios fisiológicos. La desmetilación del ADN ocurre durante la gametogénesis, seguida por remetilación antes de la fertilización [42]. Otro evento importante es la desmetilación completa del genoma en la fase temprana de la embriogénesis [43], después de la implantación la metilación comienza nuevamente. Todo indica que estas fases de desmetilación y remetilación post fertilización juegan un papel importante en la remoción de las modificaciones epigenéticas adquiridas, particularmente aquellas que se suman durante la gametogénesis [44], borrando las improntas paternas previas y re-estableciendo las improntas sexo específicas [45]. Consecuentemente, un subgrupo de genes que acarrean improntas de metilación parenteral parece escapar a la segunda ola de desmetilación [42]. Algunas veces los cambios epigenéticos no son borrados por completo durante estos periodos, resultando en algunas expresiones de memoria del estado epigenético que persisten hasta la siguiente generación [21], esto podría originar la herencia transgeneracional de “efectos programados” [46] Figura No 5.

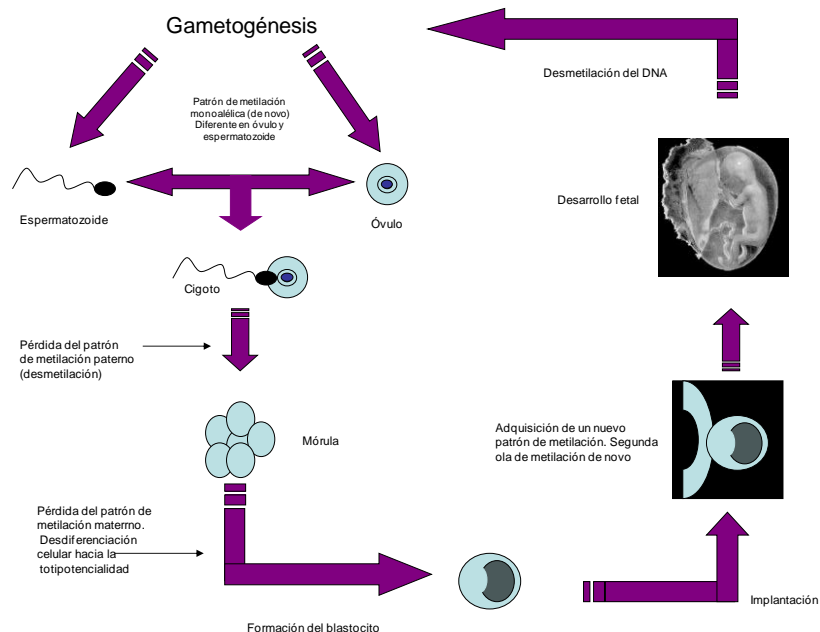


Figura No. 5 Cambios epigenéticos durante el desarrollo embrionario humano.

La generación y mantenimiento de los cambios epigenéticos en la regulación del gen en el desarrollo de la línea germinal proveerá señales sobre los mecanismos involucrados en la programación transgeneracional [29]. Hay modificaciones persistentes en la descendencia cuando se expone al ambiente sub-óptimo en el útero y en la vida post natal temprana. Los cambios deben involucrar cambios de la función celular y probablemente expresión alterada del gen, el medio ambiente fetal o neonatal es responsable de la modificación epigenética lo que impacta en el crecimiento e induce cambios metabólicos que se observan en la infancia.

Un buen ejemplo transgeneracional de efectos epigenéticos es la exposición embrionaria a dietilbestrol (estrógeno sintético utilizado en mujeres embarazadas para evitar abortos) lo que causa defectos en el tracto reproductivo y también contribuye al desarrollo de obesidad y enfermedades relacionadas en ratas macho y hembra F2 [19, 47]. La alteración de la metilación de promotores genéticos inducida en la generación F1 por restricción proteica materna durante el embarazo es transmitida a la generación F2. Esto puede representar un mecanismo para la transmisión de fenotipos entre generaciones [47].

La interacción entre alteraciones programadas en la fisiología materna y las modificaciones epigenéticas pueden explicar algunas de las diferencias entre efectos intergeneracionales.

10. ESTUDIOS CON ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Los estudios con animales nos han ayudado a vislumbrar los mecanismos involucrados en la herencia transgeneracional de las enfermedades. Los factores genéticos juegan un papel importante en la patogenia de la diabetes tipo 2. Los modelos animales son importantes en la determinación de los efectos metabólicos específicos después de una exposición a un medio intrauterino anormal con un fondo genético homogéneo. De esta manera, es posible establecer condiciones específicas y analizar sus efectos. Los modelos experimentales con ratas son frecuentemente utilizados en estudios transgeneracionales debido a que tienen un periodo de gestación corto, mejor control y un manejo más fácil comparado con los estudios en seres humanos [48].

Uno de los estudios transgeneracionales más importantes fue llevado a cabo hace 30 años por Stewart y su grupo quienes examinaron los efectos a corto y largo plazo de mantener ratas con una dieta alta en proteínas o una dieta marginalmente deficiente en proteínas durante 13 generaciones. Las crías que nacieron en la colonia mal nutrida presentaron un patrón de crecimiento retardado en un factor de 10 y sus cerebros fueron 5% más pequeños que los controles lo que dio como resultado deterioro en la capacidad de aprendizaje. Después de 12 generaciones de una dieta restringida en proteína, los investigadores llevaron a cabo un estudio para ver qué tan rápido las ratas con crecimiento retardado se podían rehabilitar. El efecto adverso pudo revertirse pero tomó al menos 3 generaciones de una nutrición normal para recuperarse de algunas de las consecuencias de la deficiencia proteínica [40].

Otros investigadores exploraron el efecto transgeneracional de disruptores endócrinos en machos estudiando el efecto de vinclozolina (compuesto antiandrogénico) en ratas preñadas expuestas en la etapa de diferenciación sexual del feto [49]. Una inyección intraperitoneal de vinclozolina en ratas preñadas entre los días 8 y 15 de gestación disminuyó el número y motilidad espermática en los adultos de la generación F1 [50, 51]. Sólo la generación F0 recibió el reto y el estudio progresó hacia trazar el efecto hasta la generación F4. Los efectos negativos no declinaron entre las generaciones F1 y F4. Con el objeto de encontrar el mecanismo epigenético transgeneracional que induce estas alteraciones, el mismo grupo científico

desarrolló técnicas específicas para elucidar las bases moleculares de estos cambios encontrando que hay al menos 25 secuencias de ADN diferentes con un alto potencial para tener un patrón de metilación alterado y en 15 de ellas se confirmaron cambios en éstos patrones que fueron heredados transgeneracionalmente. Los cambios estructurales en la cromatina también juegan un papel importante. Los genes que están asociados con sitios de metilación de ADN alterados van desde las moléculas de adhesión celular, canales iónicos, factores de señalización tales como proteínas de unión a GTP, factores de transcripción, factores de control traduccional y proteínas de membrana. La proliferación, maduración, movilidad y ensamblaje son afectados por los genes identificados [19, 51, 52].

10.1 Modelo Transgeneracional de nutrición.

La desnutrición durante el embarazo o lactancia puede causar una mala programación y alterar no sólo la generación F1 sino también el fenotipo de las generaciones futuras (57).

Utilizando el modelo animal experimental en ratas, una dieta materna (F0) baja en proteínas [53] y con restricción calórica global [54] puede resultar en la alteración del metabolismo de carbohidratos en la generación F1 así como en las generaciones F2 y F3 [55] derivadas de la línea materna. Se encontró bajo peso al nacimiento y desarrollo de resistencia a la insulina en la descendencia (F2) de la generación (F1) provenientes de una madre (F0) desnutrida que fue sobre alimentada post natalmente. Tanto la descendencia F2 de las que fueron sobre alimentadas pre y post natalmente como de las que tuvieron una adecuada nutrición post natal (F1) de madres F0 mal nutridas desarrollaron resistencia a la insulina en la vida adulta [56].

Nuestro grupo de trabajo demostró que los efectos en la descendencia son dependientes del periodo de mala nutrición, esto se hizo determinando el efecto de una dieta isocalórica restringida en proteína (50% de la ingesta proteica que el grupo control) durante la gestación y/o la lactancia [57]. Durante el embarazo, ratas Wistar fueron alimentadas con la dieta control (20% caseína; C) o con la dieta restringida (10% caseína; R). La restricción proteica materna durante el embarazo incrementa las concentraciones séricas de corticoesterona, estradiol, progesterona y testosterona en suero en el día 19 de gestación [58, 59]. Después de parir, las madres recibieron dieta C o R hasta el destete (día 21) de tal forma que se obtuvieron 4 grupos:

CC, RR, CR y RC (las primeras letras se refieren a la dieta en el embarazo y la segunda a la dieta durante la lactancia). Todas las crías (F1) fueron alimentadas *ad libitum* con la dieta C después del destete y por el resto del estudio. Conforme la descendencia creció, las hembras F1 de madres que fueron restringidas proteínicamente durante el periodo de lactancia (RR y CR) tuvieron peso bajo y mayor sensibilidad a la insulina durante la prueba de tolerancia a la glucosa. Las hembras F1 fueron cruzadas con machos control para obtener la descendencia F2, nietos de madres CR e hijas de madres RC mostraron evidencia de resistencia a la insulina, figura No. 6.

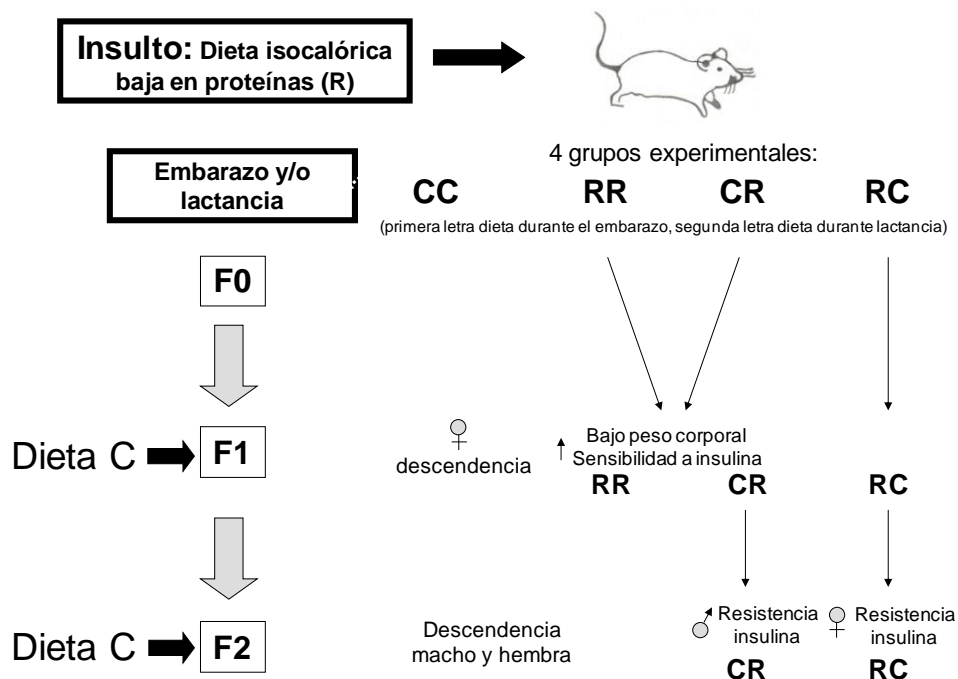


Figura No.6 Efecto transgeneracional de la restricción materna durante el embarazo y/o lactancia

Las diferencias específicas por género se observaron también en las concentraciones basales de insulina y glucosa y en la relación insulina:glucosa de la generación F2 [57], figura No. 7.

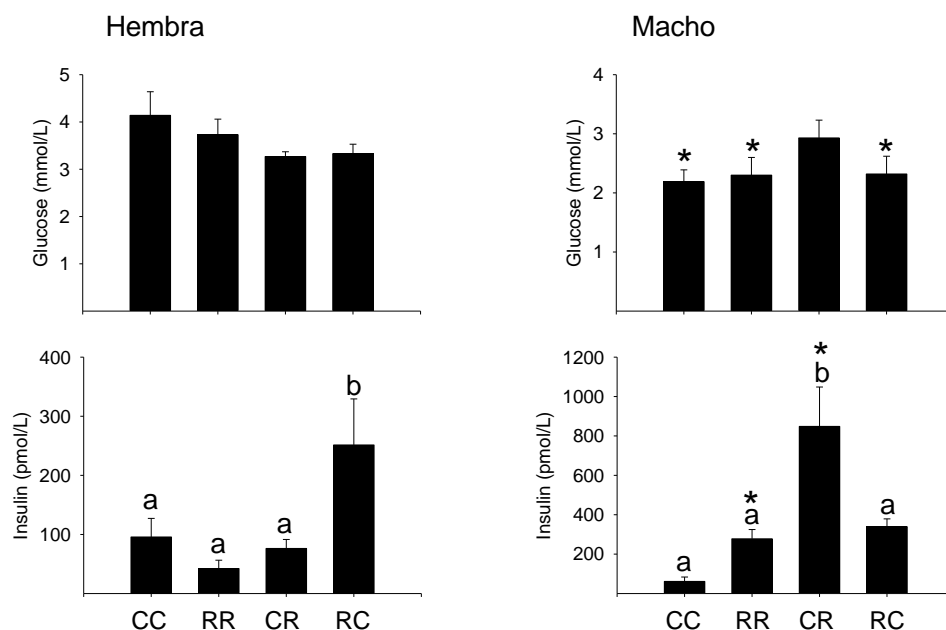


Figura No.7. Concentración de glucosa e insulina en las crías F2 hembra y macho. Los datos representan media+/- D.E; n=5 a 6 camadas. Las dietas de las madres F0 se representan como control (C) o restringida (R) durante el embarazo (primera letra) y en la lactancia (segunda letra) $p < 0.05$ para los grupos que no comparten letra. * $p < 0.05$ versus hembras. Figura modificada de Zambrano,E y cols. 2005, J Physiol., 566, 225.

El estudio demostró que la restricción proteínica materna afectó adversamente el metabolismo de glucosa e insulina en machos y hembras de la segunda generación de una forma género específica que es también dependiente del periodo del desarrollo en el que estuvo expuesto [3]. Si un periodo del desarrollo exhibe una mayor sensibilidad a un reto específico que a otro, puede ser que durante el experimento el mismo reto impuesto a dos grupos de ratas en etapas de desarrollo distintas origine características diferentes tanto cualitativa como cuantitativamente hablando debido a la divergencia histórica de cada grupo. La progenie F2 de ratas restringidas proteínicamente (F0) tuvieron menor peso al nacimiento [57] y datos similares se observaron en los hijos de las hijas del invierno hambriento holandés [60]. Una explicación podría ser que la madre detiene el crecimiento fetal como resultado de un desarrollo uterino alterado en hembras malnutridas. Además de las diferencias en el tamaño uterino, el crecimiento alterado de tejidos específicos podría ser resultado de la restricción nutricional

durante el desarrollo fetal. Estos datos son consistentes con un mecanismo no genético que da como resultado alteraciones fisiológicas a largo plazo en la mayoría de los órganos involucrados en sustentar un embarazo. Mecanismos no genéticos tales como un medio ambiente negativo durante un periodo crítico del desarrollo podrían ser responsables de las consecuencias en los embarazos subsiguientes y jugar un papel en el paso transgeneracional de éstas [3].

Recientemente ha cobrado fuerza la hipótesis de que la transmisión de fenotipos entre las generaciones F1 y F2 involucra una regulación epigenética alterada de genes específicos. Ratas hembra Wistar gestantes (F0) fueron mantenidas con dieta proteica restringida durante el embarazo. La descendencia femenina (F1) fue cruzada con machos control. Se estudiaron machos F1 y F2 a la edad de 80 días. La metilación del promotor del receptor de glucocorticoides (GR) y del promotor del receptor alfa activador (PPAR α) fueron significativamente menores en el hígado de la descendencia F1 y F2 de las madres restringidas F1. La metilación alterada de promotores de genes inducida en la generación F1 por restricción proteínica materna durante la lactancia fue transmitida a la generación F2 [47].

En otro estudio reciente, se diseñaron experimentos para determinar los diferentes mecanismos involucrados en la persistencia transgeneracional de las perturbaciones metabólicas en la descendencia con crecimiento intrauterino retardado. La hipótesis se probó utilizando una metodología de transferencia embrionica [61]. Las ratas preñadas (F0) estuvieron sujetas a restricción nutricional al 50% desde el día 11 y hasta el 21 de gestación. La progenie (F2) de una rata con crecimiento intrauterino retardado (F1) fue implantado en un medio ambiente intrauterino controlado metabólicamente, el peso al nacimiento de la progenie (F2) con crecimiento intrauterino retardado (IUGR) fue similar al de las ratas control, pero a los 15 meses de edad el peso hepático fue mayor comparado con la progenie F2 del control. Por otro lado, la progenie IUGR F2 fue hiperglicémico y tuvo un incremento significativo en la concentración de la proteína GLUT4 del músculo comparado con los controles F2 por sexo y edad. El estudio estableció diferencias entre la herencia y las consecuencias en la respuesta a un medio ambiente intrauterino metabólicamente adverso que se desarrolla en las hembras de la generación F1. Los autores concluyeron que la herencia juega un papel significativo independientemente del medio ambiente intrauterino de las madres de F1 [61].

10.2 Modelo de restricción del flujo sanguíneo uterino.

El crecimiento fetal es dependiente de la nutrición suplementada por la madre y de la capacidad única de la placenta para transferir nutrientes al feto. Se ha estudiado el efecto transgeneracional de la restricción del flujo sanguíneo materno [62] usando un experimento donde las dos arterias uterinas fueron ligadas en el día 19 de la gestación en ratas Sprague-Dawley (F0) que produce progenie (F1) con crecimiento intrauterino retardado. El peso de los animales con crecimiento intrauterino retardado fue significativamente menor al de los controles a las 7 semanas de edad. En el momento del apareamiento (2 meses de edad) no había diferencias en el peso entre las hembras con crecimiento intrauterino retardado y las control. Sin embargo, durante el embarazo, las hembras con crecimiento intrauterino retardado (F1) ganaron más peso que las hembras control y durante el embarazo desarrollaron progresivamente hiperglicemia e hiperinsulinemia acompañada con intolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina. Su descendencia (F2), designada por los autores como infantes de madre diabética tuvo mayor peso al nacimiento y mantuvo el sobrepeso durante toda la vida. La segunda generación fue resistente a la insulina desde edad temprana, se presentó intolerancia a la glucosa de manera progresiva y a las 26 semanas de edad, la generación F2 fue diabética [62], figura No. 8. Este fenotipo en la generación F2 fue resultado de la alteración de la secreción de insulina y de expresión disminuida de GLUT 4 en el músculo esquelético.

La insuficiencia uteroplacentaria inducida en ratas preñadas a los 19 días de gestación (F0), generó descendencia F1 con crecimiento intrauterino retardado que desarrolló diabetes gestacional. Como consecuencia, la progenie F2 desarrolló intolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina. Las células beta de la generación F2 expuesta a elevaciones de glucosa por corto tiempo responden con aumento de la proliferación [63].

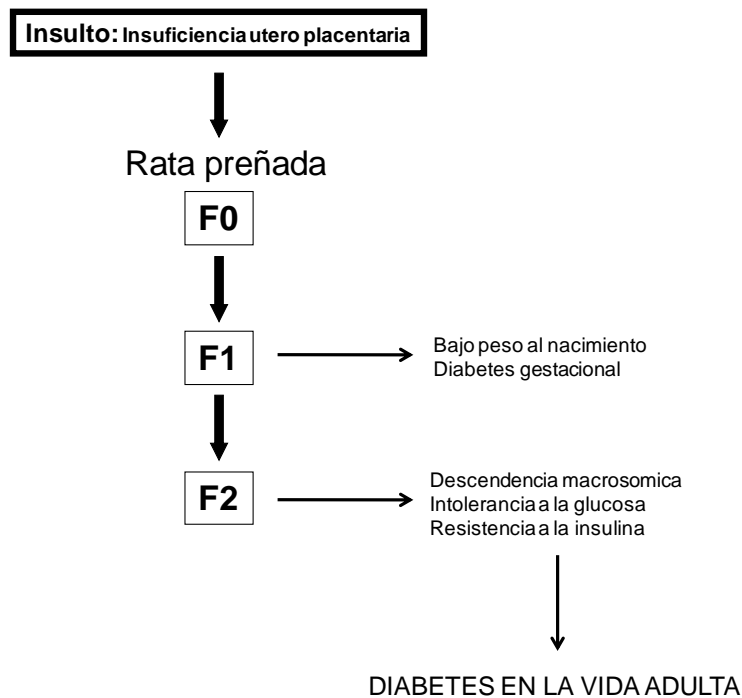


Figura No. 8. Efecto transgeneracional de la restricción del flujo sanguíneo materno uterino

10.3 Modelo de sobre exposición a glucocorticoides

Las hormonas esteroides, tales como glucocorticoides son importantes para la regulación del desarrollo y maduración de los órganos fetales. Es bien sabido que la exposición fetal a niveles de glucocorticoides inapropiadamente altos para el estado del desarrollo en que se encuentre el feto disminuye el peso al nacimiento [64] y es asociado con efectos a largo plazo como hipertensión [65, 66], elevación de enzimas gluconeogénicas hepáticas e intolerancia a la glucosa en la vida adulta de la descendencia [67, 68].

Drake y cols., desarrollaron experimentos para analizar las consecuencias intergeneracionales de la exposición fetal intrauterina a glucocorticoides [25, 46]. Ratas Wistar preñadas (F0) fueron inyectadas con dexametasona (100µg/Kg) entre el día 15 y 21 del embarazo. Las camadas fueron referidas como F1 Dex o F1 Veh (control). Las hembras F1 fueron cruzadas con machos F1 que pertenecían al mismo tratamiento para dar origen a F2 Dex/Dex y F2 Veh/Veh. Las hembras F2 fueron cruzadas para dar origen a la generación F3 Dex/Dex y F3 Veh/Veh. Con el

objeto de estudiar los efectos parentales en el fenotipo, se desarrollaron experimentos para generar F2 Dex mamá/Veh papá y F2 Veh mamá/Dex papá. La administración de dexametasona a las madres en la última etapa del embarazo se asoció tanto en la línea materna como en la línea paterna de manera independiente con un efecto intergeneracional de disminución de peso al nacimiento de la descendencia F1 y F2. Además, la exposición prenatal a dexametasona indujo aumento en la expresión del receptor de glucocorticoides y la actividad hepática de su gen blanco, aumento de la fosfoenolpiruvato carboxicinasa (PEPCK), enzima limitante de la velocidad de gluconeogénesis [68], tanto en la generación F1 y F2. Este efecto fue transmitido tanto a machos como hembras de la generación F1 y el efecto no fue aditivo, sugiriendo que puede haber una ruta común en ambos [46]. Los mecanismos pueden incluir efectos epigenéticos heredados. Los cuales se atenuaron para la tercera generación. Figura No. 9.

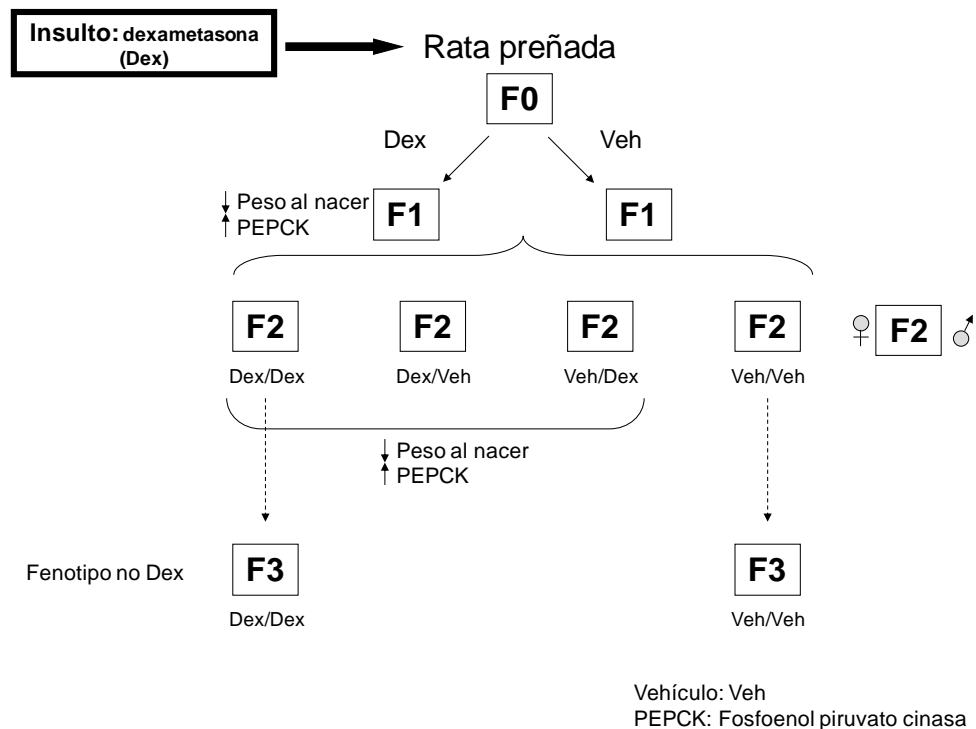


Figura No. 9. Efecto transgeneracional de la sobre exposición a glucocorticoides.

10.4 Modelo de diabetes gestacional.

La diabetes tiene un gran impacto global, alcanzando proporciones epidémicas en algunas regiones. [48]. La diabetes gestacional está caracterizada por un incremento en el transporte placentario de glucosa y otros nutrientes de la madre al feto. El resultado es que una cantidad indeseable de glucosa y aminoácidos pasa a través de la placenta al feto, estresando de esta forma el desarrollo del páncreas fetal y el crecimiento general, produciendo eventualmente condiciones a largo plazo que incluyen bebés anormalmente grandes (macrosomía) y una mayor incidencia de diabetes en la vida posterior [69].

En 1979, Aerts y Van Assche publicaron las consecuencias a largo plazo de un medio ambiente intrauterino anormal relacionadas con diabetes gestacional. Aunque muchos otros modelos animales experimentales han probado la influencia negativa de factores involucrados en el desarrollo y crecimiento fetal [70].

El método usado en ratas para inducir diabetes es por destrucción química de células beta con estreptozotocina (una sustancia tóxica para las células beta del páncreas productoras de insulina en mamíferos) [71, 72] o por una infusión continua de glucosa [73].

Dos grupos independientes de investigadores han demostrado que la descendencia femenina diabética (F1) de ratas tratadas con estreptozotocina durante el embarazo tiene descendencia (F2) con glucosa y metabolismo de carbohidratos alterados [72, 74-76].

Cuando ratas preñadas (F0) estuvieron sujetas a diabetes moderada (glicemia incrementada en un 20%) [77], se vio incrementado el desarrollo de islotes fetales de la descendencia F1, resultando en un aumento de células beta fetales y producción de insulina. La generación F1 de madres con diabetes moderada tuvo también masa pancreática normal pero fueron intolerantes a la glucosa en la vida adulta. Bajo condiciones basales, la descendencia de madres con diabetes moderada presentó normoglicemia [78, 79], pero durante el embarazo los niveles de insulina fueron más bajos y como consecuencia las concentraciones de glucosa más altas en comparación con las control. Esto indujo características diabéticas típicas en sus fetos (F2) como

son macrosomia, hipertrofia de islotes e hiperinsulinismo. Cuando la generación F2 alcanzó la vida adulta, mostraron intolerancia a la glucosa con las mismas características que la descendencia (F1) de madres con diabetes moderada [76, 77].

Se indujo diabetes gestacional severa en ratas (F0) inyectándoles estreptozotocina en el día 11 de gestación resultando en hiperglicemia e hipoinsulinemia pero con peso normal. Los fetos (F1) fueron expuestos a grandes concentraciones de glucosa las cuales indujeron hiperinsulinemia temprana resultando en células beta exhaustas. En el día 22 de embarazo (un día antes del nacimiento) se encontró que los fetos de algunas ratas diabéticas estaban severamente hipoinsulinémicas con disminución de la entrada de glucosa a las células y peso corporal bajo (20% menos que los controles). El crecimiento de la masa proteínica fetal fue suprimido y la síntesis de proteínas se redujo. En el grupo de ratas diabéticas que tuvieron parto espontáneo, el peso corporal de la descendencia microsómica se incrementó de manera paralela a las control pero no hubo la recuperación acelerada (catch up growth) [80], de tal manera que el retraso en el crecimiento perinatal tuvo efecto a largo plazo en el peso corporal [77]. Cuando la descendencia F1 de ratas severamente diabéticas fue preñada, mostraron intolerancia a la glucosa evidenciada por concentraciones de glucosa elevadas y disminuidas de insulina [77].

A pesar de tener mecanismos diferentes, tanto las madres F0 con diabetes gestacional moderada y aquellas con diabetes gestacional severa produjeron descendencia F1 que desarrollaron diabetes gestacional. La descendencia F1 dio origen a progenie macrosómica e hiperinsulinémica. Figura No. 10.

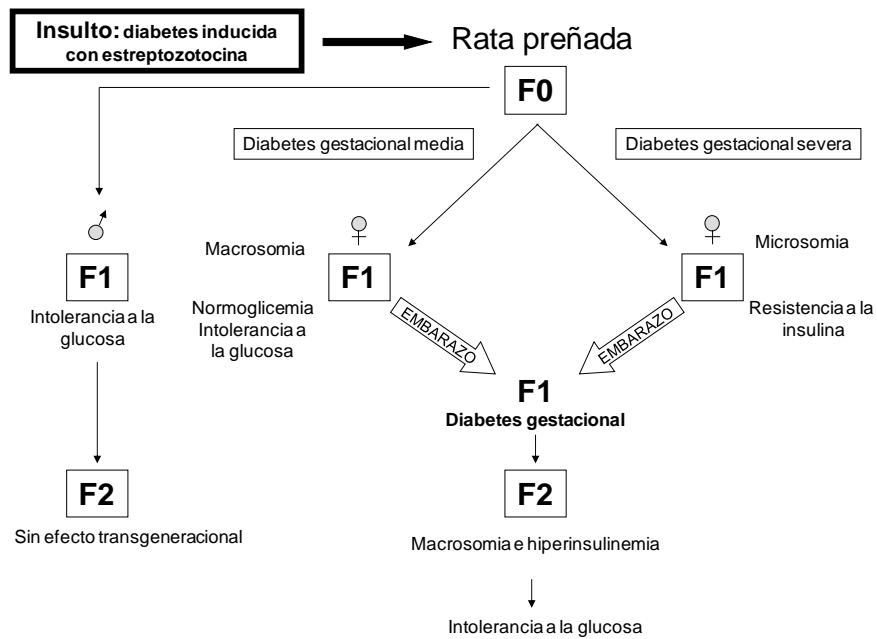


Figura No. 10. Efecto transgeneracional de la diabetes gestacional.

El efecto diabetogénico es transmitido de generación en generación. Los experimentos desarrollados por este equipo de investigadores mostró que este efecto de madres diabéticas en sus generaciones futuras es solamente transmitido por vía materna. La descendencia masculina de madres con diabetes gestacional tuvo intolerancia a la glucosa pero no transmitieron el efecto a su descendencia [72]. En contraste, otros investigadores [47, 49] exploraron el efecto transgeneracional en la línea paterna y encontraron evidencia de herencia epigenética. De tal manera que parece ser que ambas líneas paternas pueden transmitir cambios epigenéticos a su descendencia. La línea materna puede, sin embargo, tener mayor influencia dado que la madre es quien provee el medio ambiente uterino para el crecimiento y desarrollo fetal y puede de esta forma inducir mayores cambios epigenéticos en la descendencia.

11. PROGRAMACIÓN INTERGENERACIONAL HUMANA

El estudio de los efectos transgeneracionales en humanos es complicado dado que las implicaciones morales y éticas prohíben el uso de modelos humanos experimentales. De tal forma que se ha tenido que utilizar la historia clínica y los datos epidemiológicos obtenidos durante periodos de guerra y hambruna(81).

La desnutrición de las madres puede alterar negativamente el desarrollo fetal e inducir un desequilibrio en los mecanismos reguladores de la glucosa en la descendencia. Esta condición puede dar como resultado diabetes gestacional que puede inducir intolerancia a la glucosa y diabetes gestacional en la siguiente generación. De esta forma se ha iniciado una reacción en cadena en la transmisión de la diabetes gestacional de una generación a otra [48].

Uno de los mayores esfuerzos para obtener datos valiosos de desastres humanos son los estudios que se han hecho sobre el invierno hambriento holandés (Septiembre de 1944 a Marzo de 1945) durante la segunda guerra mundial. La población holandesa fue sujeta a raciones de alimento diario que fueron reducidas gradualmente de 1800 Kcal hasta 400Kcal en el punto máximo de la hambruna [81]. Durante este periodo, las mujeres embarazadas recibieron una ración adicional que consistía en vegetales y papas como un esfuerzo para compensar la pérdida de nutrientes [48, 82]. Bajo estas condiciones adversas, los adultos decidieron alimentar a sus hijos pequeños en lugar de utilizar la ración para la madre embarazada [48]. El peso al nacimiento de los bebés nacidos de madres expuestas a la hambruna en el tercer trimestre de gestación fue más bajo en comparación con aquellas expuestas en el primer y segundo trimestre de gestación [83]. Además, las hijas de mujeres embarazadas expuestas en el primer trimestre a la hambruna holandesa dieron vida a bebés (descendencia F2) que no alcanzaron el peso corporal promedio al nacimiento. Sorprendentemente, el peso al nacimiento de los hermanos subsiguientes fue más bajo [84].

El peso al nacer de las madres (F1) determinará el peso de los bebés (F2) y este efecto es básicamente a partir de la línea materna. Los bebés con peso bajo al nacimiento que no mostraron recuperación del crecimiento excesiva tienen mayor tendencia a tener bebés con

bajo peso al nacimiento. En contraste los bebés con bajo peso al nacimiento (F1) que mostraron recuperación de crecimiento exagerado tuvieron mayor riesgo de desarrollar diabetes gestacional tipo 2 y dieron vida a bebés macrosómicos (F2) y esta generación también esta predispuesta a diabetes en la vida adulta [25]. Toda esta evidencia mostró que el ambiente fetal que experimenta una mujer (F1) como embrión en las primeras etapas del embarazo es el factor principal que establecerá el medioambiente que ella a su vez proveerá a su descendencia (F2) [25].

Estudios en varias generaciones han demostrado predominancia de diabetes tipo 2 de aparición infantil en bisabuelas en la línea materna comparada con el lado paterno [77, 85]. El riesgo de diabetes es más alto cuando la madre más que el padre tiene diabetes tipo 2.

El grupo Indio Pima (Comunidad India en el río Gila en Arizona) es otro ejemplo de efecto transgeneracional relacionado con cambios en el estilo de vida. Esta comunidad tiene una de las incidencias más altas de diabetes tipo 2 en el mundo [60]. Los datos estadísticos indican que el 50% de la población Pima es diabética y el 95% de ellos tienen sobrepeso [48]. Petit y cols. [86] estudiaron la asociación entre diabetes gestacional y obesidad en la descendencia de esta comunidad. Ellos encontraron que el 58% de la descendencia con diabetes pesó 140% más que el grupo no diabético. La diabetes gestacional es el principal problema de salud en esta comunidad. Setenta y cinco por ciento de los indios Pima que fueron expuestos a un medio ambiente prenatal diabético fueron diabéticos a los 25-34 años de edad [87]. En contraste, los indios Pima rurales, residentes de la zona norte de México tienen un estilo de vida activo y tienen menor incidencia de diabetes tipo 2 comparado con los Indios Pima urbanizados en el sur de EUA que tienen un estilo de vida sedentario [48]. Es difícil entender los mecanismos de la herencia transgeneracional de la diabetes mellitus en su comunidad, además puede ser causada por factores medioambientales como nutrición, nivel de actividad física, un medio ambiente intrauterino adverso, el genotipo ahorrador (donde el gene ahorrador ayuda al cuerpo a almacenar energía confiriendo de esta manera una ventaja de supervivencia en condiciones adversas tales como hambruna, pero, puede predisponer a los individuos a desarrollar diabetes en situaciones de sobre alimentación) o posiblemente una combinación de todos estos factores.

La mayoría de los estudios transgeneracionales se enfocan en la línea materna, sin embargo, hay asociaciones históricas de longevidad con el suplemento alimenticio de los ancestros paternos en el periodo de crecimiento lento (antes del pico de la pubertad).

Estudios desarrollados en la comunidad Overkalix (una sociedad aislada en el norte de Suiza) han mostrado que los hábitos nutricionales de los abuelos tienen gran impacto a lo largo de la vida de los nietos [88].

12. DISCUSIÓN

Desde los trabajos de Neel (9) y Baker (10) con los que se vislumbró la vida fetal como el origen de la enfermedad adulta comenzó una línea de investigación muy importante porque nos permite trabajar en la prevención y no en la corrección de los problemas de salud, al menos los tratados en éste trabajo. La programación del desarrollo vino a englobar estos estudios (11) y dentro de los estímulos programadores se encuentran el estrés materno, la hipoxia y la manipulación de la dieta entre otros (15, 17).

A través de muchos estudios se han elucidado las consecuencias de la exposición a estos ambientes negativos como lo son hipertensión, resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa y/o diabetes gestacional entre otras enfermedades (17). Estudios que consideraron la transmisión de éstas características entre las generaciones han descubierto que esto es posible por medio de mecanismos epigenéticos que involucran una modificación en la expresión de un gen pero no una alteración estructural del mismo (19-23) y que los patrones de metilación (fundamentalmente) y acetilación de las islas CpG y/o histonas durante la etapa de embriogénesis son los que permiten perpetuar la alteración al menos durante 3 generaciones después de que es retirado el ambiente negativo (27, 29-31, 40, 42-46).

El uso de animales de laboratorio ha sido fundamental para el estudio de la programación transgeneracional del desarrollo porque se les ha podido exponer a ambientes negativos como alteración de condiciones alimentarias durante la gestación y después del nacimiento así como a restricción en el flujo sanguíneo intrauterino y a cargas hormonales inadecuadas durante el desarrollo fetal (40,46,49,53,54,57,62,70). Estos estudios han demostrado que los efectos son comunes, la alteración del metabolismo de carbohidratos, así como la hipertensión son una constante en estos animales. Por otra parte, se vio que el efecto transgeneracional es marcadamente (aunque no de manera exclusiva) heredado a través de la línea materna (72).

Estos estudios han permitido hacer inferencias con respecto a lo que sucede en los seres humanos expuestos a las mismas condiciones y correlacionarlos con estudios epidemiológicos

(81), los hallazgos han mostrado grandes similitudes con lo encontrado en las investigaciones en animales presentando un patrón de alteración del metabolismo de carbohidratos caracterizado por diversas manifestaciones que pueden ir desde obesidad, resistencia a la insulina hasta diabetes y diabetes gestacional encontrando que la línea de transmisión es fundamentalmente materna y que el grado de afección dependerá del trimestre de embarazo en que la madre estuvo expuesta al ambiente negativo (83, 85, 86,88).

13. CONCLUSIONES

La programación del desarrollo se perfila como una línea de investigación importante que nos permitirá ahondar en el origen de la enfermedad adulta y junto con el avance de la genética podremos elucidar los mecanismos exactos que ocasionan cada una de las afecciones del adulto y que han sido condicionadas desde la vida fetal.

Las teorías enmarcadas en éste trabajo permiten concluir que no toda enfermedad tendrá que estar relacionada con alguna mutación a nivel de DNA y nos abre el camino para buscar otro tipo de causas como lo es la metilación de nucleótidos durante la embriogénesis.

Se concluye que no tenemos aún suficiente información que clarifique con detalle los mecanismos involucrados en el paso transgeneracional de las enfermedades por lo que es necesario continuar con los estudios entre generaciones que permitan elucidar los detalles.

La programación del desarrollo tiene grandes perspectivas a futuro ya que nos da la posibilidad de establecer medidas preventivas a fin de evitar de enfermedades en la vida adulta tales como alteración del aprendizaje, esquizofrenia y otras además de las mencionadas en éste trabajo.

Los resultados de investigaciones subsiguientes impactarán en el sistema de salud al proporcionar el conocimiento necesario para modificar los factores ambientales en cuanto a la alimentación y exposición a tóxicos lo que contribuirá a alterar la historia natural de la enfermedad a favor de la salud del individuo.

14. REFERENCIAS

1. Ravelli, A.C., van Der Meulen JH, Osmond C, Barker DJ, and Bleker OP., Obesity at the age of 50 y in men and women exposed to famine prenatally. *Am J Clin Nutr*, 1999. 70(5): p. 811-6.
2. Strauss, R.S., Effects of the intrauterine environment on childhood growth. *Br Med Bull*, 1997. 53(1): p. 81-95.
3. Nathanielsz, P.W., Animal models that elucidate basic principles of the developmental origins of adult diseases. *ILAR J*, 2006. 47(1): p. 73-82.
4. Ozanne, S.E. and C.N. Hales, The long-term consequences of intra-uterine protein malnutrition for glucose metabolism. *Proc Nutr Soc*, 1999. 58(3): p. 615-9.
5. Zambrano, E., Bautista CJ, Deas M, Martinez-Samayoa PM, Gonzalez-Zamorano M, Ledesma H, Morales J, Larrea F, and Nathanielsz PW., A low maternal protein diet during pregnancy and lactation has sex- and window of exposure-specific effects on offspring growth and food intake, glucose metabolism and serum leptin in the rat. *J Physiol*, 2006. 571(Pt 1): p. 221-30.
6. Ozanne, S.E. and C.N. Hales, Lifespan: catch-up growth and obesity in male mice. *Nature*, 2004. 427(6973): p. 411-2.
7. Kermack, W.O., A.G. McKendrick, and P.L. McKinlay, Death rates in Great Britain and Sweden. Some general regularities and their significance. *Lancet*, 1934. i: p. 608-703.
8. Forsdahl, A., Are poor living conditions in childhood and adolescence an important risk factor for arteriosclerotic heart disease? *Br J Prev Soc Med*, 1977. 31(2): p. 91-5.
9. Neel, J.V., Diabetes mellitus: a "thrifty" genotype rendered detrimental by "progress"? *Am J Hum Genet*, 1962. 14: p. 353-62.
10. Barker, D.J., Eriksson JG, Forsen T, and Osmond C., et al., Fetal origins of adult disease: strength of effects and biological basis. *Int J Epidemiol*, 2002. 31(6): p. 1235-9.
11. Lucas, A., Programming by early nutrition in man. *Ciba Found Symp*, 1991. 156: p. 38-50; discussion 50-5.
12. Hales, C.N. and D.J. Barker, Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia*, 1992. 35(7): p. 595-601.
13. Waterland, R.A. and C. Garza, Potential mechanisms of metabolic imprinting that lead to chronic disease. *Am J Clin Nutr*, 1999. 69(2): p. 179-97.
14. Barker, D.J., Developmental origins of adult health and disease. *J Epidemiol Community Health*, 2004. 58(2): p. 114-5.
15. McMillen, I.C. and J.S. Robinson, Developmental origins of the metabolic syndrome: prediction, plasticity, and programming. *Physiol Rev*, 2005. 85(2): p. 571-633.
16. Fowden, A.L., D.A. Giussani, and A.J. Forhead, Endocrine and metabolic programming during intrauterine development. *Early Hum Dev*, 2005. 81(9): p. 723-34.
17. Kumarasamy, V., Mitchell MD, Bloomfield FH, Oliver MH, Campbell ME, Challis JR, and Harding JE., Effects of periconceptional undernutrition on the initiation of parturition in sheep. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2005. 288(1): p. R67-72.

18. Hattersley, A.T. and J.E. Tooke, The fetal insulin hypothesis: an alternative explanation of the association of low birthweight with diabetes and vascular disease. *Lancet*, 1999. 353(9166): p. 1789-92.
19. Skinner, M.K., Endocrine disruptors and epigenetic transgenerational disease etiology. *Pediatr Res*, 2007. 61(5 Pt 2): p. 48R-50R.
20. Skinner, M.K., What is an epigenetic transgenerational phenotype? F3 or F2. *Reprod Toxicol*, 2008. 25(1): p. 2-6.
21. Rakyan, V. and E. Whitelaw, Transgenerational epigenetic inheritance. *Curr Biol*, 2003. 13(1): p. R6.
22. Waddington, C.H., Gene regulation in higher cells. *Science*, 1969. 166(905): p. 639-40.
23. Russo, V.E.A., R.A. Martienssen, and A.D. Riggs, Epigenetic mechanisms of gene regulation. 1996: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
24. Devaskar, S.U. and S. Raychaudhuri, Epigenetics--a science of heritable biological adaptation. *Pediatr Res*, 2007. 61(5 Pt 2): p. 1R-4R.
25. Drake, A.J. and B.R. Walker, The intergenerational effects of fetal programming: non-genomic mechanisms for the inheritance of low birth weight and cardiovascular risk. *J Endocrinol*, 2004. 180(1): p. 1-16.
26. Crews, D. and J.A. McLachlan, Epigenetics, evolution, endocrine disruption, health, and disease. *Endocrinology*, 2006. 147(6 Suppl): p. S4-10.
27. Simmons, R.A., Developmental origins of beta-cell failure in type 2 diabetes: the role of epigenetic mechanisms. *Pediatr Res*, 2007. 61(5 Pt 2): p. 64R-67R.
28. Santos, K.F., T.N. Mazzola, and H.F. Carvalho, The prima donna of epigenetics: the regulation of gene expression by DNA methylation. *Braz J Med Biol Res*, 2005. 38(10): p. 1531-41.
29. Waterland, R.A. and R.L. Jirtle, Early nutrition, epigenetic changes at transposons and imprinted genes, and enhanced susceptibility to adult chronic diseases. *Nutrition*, 2004. 20(1): p. 63-8.
30. Dolinoy, D.C., J.R. Weidman, and R.L. Jirtle, Epigenetic gene regulation: linking early developmental environment to adult disease. *Reprod Toxicol*, 2007. 23(3): p. 297-307.
31. Sterner, D.E. and S.L. Berger, Acetylation of histones and transcription-related factors. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2000. 64(2): p. 435-59.
32. Rice, J.C. and C.D. Allis, Histone methylation versus histone acetylation: new insights into epigenetic regulation. *Curr Opin Cell Biol*, 2001. 13(3): p. 263-73.
33. Gibbons, R.J., Histone modifying and chromatin remodelling enzymes in cancer and dysplastic syndromes. *Hum Mol Genet*, 2005. 14 Spec No 1: p. R85-92.
34. Schuettengruber, B., Chourrout D, Vervoort M, Leblanc B, and Cavalli G., Genome regulation by polycomb and trithorax proteins. *Cell*, 2007. 128(4): p. 735-45.
35. Grimaud, C., N. Negre, and G. Cavalli, From genetics to epigenetics: the tale of Polycomb group and trithorax group genes. *Chromosome Res*, 2006. 14(4): p. 363-75.
36. Bird, A.P., Taggart MH, Nicholls RD, and Higgs DR., Non-methylated CpG-rich islands at the human alpha-globin locus: implications for evolution of the alpha-globin pseudogene. *EMBO J*, 1987. 6(4): p. 999-1004.
37. Antequera, F. and A. Bird, Number of CpG islands and genes in human and mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1993. 90(24): p. 11995-9.

38. Bird, A., DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev*, 2002. 16(1): p. 6-21.
39. Ehrlich, M., Gama-Sosa MA, Huang LH, Midgett RM, Kuo KC, McCune RA, and Gehrke C., Amount and distribution of 5-methylcytosine in human DNA from different types of tissues of cells. *Nucleic Acids Res*, 1982. 10(8): p. 2709-21.
40. Stewart, R.J., R.F. Preece, and H.G. Sheppard, Twelve generations of marginal protein deficiency. *Br J Nutr*, 1975. 33(2): p. 233-53.
41. Ulrey, C.L., Liu L, Andrews LG, and Tollefsbol TO., The impact of metabolism on DNA methylation. *Hum Mol Genet*, 2005. 14 Spec No 1: p. R139-47.
42. Cutfield, W.S., Hofman PL, Mitchell M, and Morison IM., Could epigenetics play a role in the developmental origins of health and disease? *Pediatr Res*, 2007. 61(5 Pt 2): p. 68R-75R.
43. Santos, F., Hendrich B, Reik W, and Dean W., Dynamic reprogramming of DNA methylation in the early mouse embryo. *Dev Biol*, 2002. 241(1): p. 172-82.
44. Reik, W., W. Dean, and J. Walter, Epigenetic reprogramming in mammalian development. *Science*, 2001. 293(5532): p. 1089-93.
45. Dolinoy, D.C., Epigenetic gene regulation: early environmental exposures. *Pharmacogenomics*, 2007. 8(1): p. 5-10.
46. Drake, A.J., Walker BR, and Seckl JR., B.R. Walker, and J.R. Seckl, Intergenerational consequences of fetal programming by in utero exposure to glucocorticoids in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2005. 288(1): p. R34-8.
47. Burdge, G.C., Slater-Jefferies J, Torrens C, Phillips ES, Hanson MA, and Lillycrop KA., Dietary protein restriction of pregnant rats in the F0 generation induces altered methylation of hepatic gene promoters in the adult male offspring in the F1 and F2 generations. *Br J Nutr*, 2007. 97(3): p. 435-9.
48. Nathanielsz, P.W., *Life in the womb: the origin of health and disease 1999*, Ithaca, NY: Prometheus Press.
49. Anway, M.D., Cupp AS, Uzumcu M, and Skinner MK., Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. *Science*, 2005. 308(5727): p. 1466-9.
50. Anway, M.D., C. Leathers, and M.K. Skinner, Endocrine disruptor vinclozolin induced epigenetic transgenerational adult-onset disease. *Endocrinology*, 2006. 147(12): p. 5515-23.
51. Anway, M.D., Memon MA, Uzumcu M, and Skinner MK., Transgenerational effect of the endocrine disruptor vinclozolin on male spermatogenesis. *J Androl*, 2006. 27(6): p. 868-79.
52. Anway, M.D. and M.K. Skinner, Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors. *Endocrinology*, 2006. 147(6 Suppl): p. S43-9.
53. Reusens, B. and C. Remacle, Intergenerational effect of an adverse intrauterine environment on perturbation of glucose metabolism. *Twin Res*, 2001. 4(5): p. 406-11.
54. Garofano, A., P. Czernichow, and B. Breant, In utero undernutrition impairs rat beta-cell development. *Diabetologia*, 1997. 40(10): p. 1231-4.
55. Benyshek, D.C., C.S. Johnston, and J.F. Martin, Glucose metabolism is altered in the adequately-nourished grand-offspring (F3 generation) of rats malnourished during gestation and perinatal life. *Diabetologia*, 2006. 49(5): p. 1117-9.

56. Benyshek, D.C., C.S. Johnston, and J.F. Martin, Post-natal diet determines insulin resistance in fetally malnourished, low birthweight rats (F1) but diet does not modify the insulin resistance of their offspring (F2). *Life Sci*, 2004. 74(24): p. 3033-41.
57. Zambrano, E., Martinez-Samayoa PM, Bautista CJ, Deas M, Guillen L, Rodriguez-Gonzalez GL, Guzman C, Larrea F, and Nathanielsz PW., Sex differences in transgenerational alterations of growth and metabolism in progeny (F2) of female offspring (F1) of rats fed a low protein diet during pregnancy and lactation. *J Physiol*, 2005. 566(Pt 1): p. 225-36.
58. Guzman, C., Cabrera R, Cardenas M, Larrea F, Nathanielsz PW, and Zambrano E., Protein restriction during fetal and neonatal development in the rat alters reproductive function and accelerates reproductive ageing in female progeny. *J Physiol*, 2006. 572(Pt 1): p. 97-108.
59. Zambrano, E., Rodriguez-Gonzalez GL, Guzman C, Garcia-Becerra R, Boeck L, Diaz L, Menjivar M, Larrea F, and Nathanielsz PW., A maternal low protein diet during pregnancy and lactation in the rat impairs male reproductive development. *J Physiol*, 2005. 563(Pt 1): p. 275-84.
60. Lumey, L.H., A.D. Stein, and A.C. Ravelli, Timing of prenatal starvation in women and birth weight in their first and second born offspring: the Dutch Famine Birth Cohort study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 1995. 61(1): p. 23-30.
61. Thamocharan, M., Garg M, Oak S, Rogers LM, Pan G, Sangiorgi F, Lee PW, and Devaskar SU. ., Transgenerational inheritance of the insulin-resistant phenotype in embryo-transferred intrauterine growth-restricted adult female rat offspring. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2007. 292(5): p. E1270-9.
62. Boloker, J., S.J. Gertz, and R.A. Simmons, Gestational diabetes leads to the development of diabetes in adulthood in the rat. *Diabetes*, 2002. 51(5): p. 1499-506.
63. Aerts, L. and F.A. van Assche, Rat foetal endocrine pancreas in experimental diabetes. *J Endocrinol*, 1977. 73(2): p. 339-46.
64. McDonald, T.J., Franko KL, Brown JM, Jenkins SL, Nathanielsz PW, and Nijland MJ. ., Betamethasone in the last week of pregnancy causes fetal growth retardation but not adult hypertension in rats. *J Soc Gynecol Investig*, 2003. 10(8): p. 469-73.
65. Benediktsson, R., Lindsay RS, Noble J, Seckl JR, and Edwards CR., Glucocorticoid exposure in utero: new model for adult hypertension. *Lancet*, 1993. 341(8841): p. 339-41.
66. Koenen, S.V., Mecnas CA, Smith GS, Jenkins S, and Nathanielsz PW., Effects of maternal betamethasone administration on fetal and maternal blood pressure and heart rate in the baboon at 0.7 of gestation. *Am J Obstet Gynecol*, 2002. 186(4): p. 812-7.
67. Cleasby, M.E., Kelly PA, Walker BR, and Seckl JR., Programming of rat muscle and fat metabolism by in utero overexposure to glucocorticoids. *Endocrinology*, 2003. 144(3): p. 999-1007.
68. Nyirenda, M.J., Lindsay RS, Kenyon CJ, Burchell A, and Seckl JR., 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(10): p. 2174-81.
69. Aerts, L. and F.A. Van Assche, Animal evidence for the transgenerational development of diabetes mellitus. *Int J Biochem Cell Biol*, 2006. 38(5-6): p. 894-903.

70. Aerts, L. and F.A. Van Assche, Is gestational diabetes an acquired condition? *J Dev Physiol*, 1979. 1(3): p. 219-25.
71. Kervran, A., M. Guillaume, and A. Jost, The endocrine pancreas of the fetus from diabetic pregnant rat. *Diabetologia*, 1978. 15(5): p. 387-93.
72. Aerts, L., K. Holemans, and F.A. Van Assche, Maternal diabetes during pregnancy: consequences for the offspring. *Diabetes Metab Rev*, 1990. 6(3): p. 147-67.
73. Ktorza, A., Girard JR, Kinebanyan MF, and Picon L., Hyperglycaemia induced by glucose infusion in the unrestrained pregnant rat during the last three days of gestation: metabolic and hormonal changes in the mother and the fetuses. *Diabetologia*, 1981. 21(6): p. 569-74.
74. Aerts, L. and F.A. Van Assche, Islet transplantation in diabetic pregnant rats normalizes glucose homeostasis in their offspring. *J Dev Physiol*, 1992. 17(6): p. 283-7.
75. Oh, W., N.L. Gelardi, and C.J. Cha, Maternal hyperglycemia in pregnant rats: its effect on growth and carbohydrate metabolism in the offspring. *Metabolism*, 1988. 37(12): p. 1146-51.
76. Oh, W., N.L. Gelardi, and C.J. Cha, The cross-generation effect of neonatal macrosomia in rat pups of streptozotocin-induced diabetes. *Pediatr Res*, 1991. 29(6): p. 606-10.
77. Van Assche, F.A., K. Holemans, and L. Aerts, Long-term consequences for offspring of diabetes during pregnancy. *Br Med Bull*, 2001. 60: p. 173-82.
78. Holemans, K., L. Aerts, and F.A. Van Assche, Evidence for an insulin resistance in the adult offspring of pregnant streptozotocin-diabetic rats. *Diabetologia*, 1991. 34(2): p. 81-5.
79. Holemans, K., Van Bree R, Verhaeghe J, Aerts L, and Van Assche FA., In vivo glucose utilization by individual tissues in virgin and pregnant offspring of severely diabetic rats. *Diabetes*, 1993. 42(4): p. 530-6.
80. Holemans, K., L. Aerts, and F.A. Van Assche, Absence of pregnancy-induced alterations in tissue insulin sensitivity in the offspring of diabetic rats. *J Endocrinol*, 1991. 131(3): p. 387-93.
81. Painter, R.C., T.J. Roseboom, and O.P. Bleker, Prenatal exposure to the Dutch famine and disease in later life: an overview. *Reprod Toxicol*, 2005. 20(3): p. 345-52.
82. Lumey, L.H. and A.D. Stein, In utero exposure to famine and subsequent fertility: The Dutch Famine Birth Cohort Study. *Am J Public Health*, 1997. 87(12): p. 1962-6.
83. Lumey, L.H., A.D. Stein, and A.C. Ravelli, Timing of prenatal starvation in women and offspring birth weight: an update. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 1995. 63(2): p. 197.
84. Lumey, L.H. and A.D. Stein, Offspring birth weights after maternal intrauterine undernutrition: a comparison within sibships. *Am J Epidemiol*, 1997. 146(10): p. 810-9.
85. Dorner, G., A. Plagemann, and H. Reinagel, Familial diabetes aggregation in type I diabetics: gestational diabetes an apparent risk factor for increased diabetes susceptibility in the offspring. *Exp Clin Endocrinol*, 1987. 89(1): p. 84-90.
86. Pettitt, D.J., Baird HR, Aleck KA, Bennett PH, and Knowler WC., Excessive obesity in offspring of Pima Indian women with diabetes during pregnancy. *N Engl J Med*, 1983. 308(5): p. 242-5.
87. Pettitt, D.J., Aleck KA, Baird HR, Carraher MJ, Bennett PH, and Knowler WC., Congenital susceptibility to NIDDM. Role of intrauterine environment. *Diabetes*, 1988. 37(5): p. 622-8.

88. Pembrey, M.E., Bygren LO, Kaati G, Edvinsson S, Northstone K, Sjöström M, and Golding J., Sex-specific, male-line transgenerational responses in humans. *Eur J Hum Genet*, 2006. 14(2): p. 159-66.
89. Darwin, D., Metabolic Syndrome: Time for Action., *Am Fam Physician.*, 2004., 69(12): p.2875-82
90. Stryer, L., Berg, J.M., Tymoczko, J.L., *Bioquímica.*, Reverté., 5a.ed., 425, 851.