

## ARTÍCULO DE REVISIÓN

# Mecanismos transgeneracionales en el desarrollo de enfermedades metabólicas

Elena Zambrano\*

\* Departamento de Biología de la Reproducción, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

*The transgenerational mechanisms in developmental programming of metabolic diseases*

### ABSTRACT

*Human epidemiological and experimental animal studies have shown that suboptimal environments in the womb and during early neonatal life alter growth and may program offspring susceptibility to lifelong health problems. One of the most interesting and significant feature of developmental programming is the evidence that adverse consequences of altered intrauterine environments can be passed from first generation to second generation offspring. To obtain the transgenerational phenotype, a negative environment is required during fetal or early neonatal life, the physiologic phenotype or disease can be transmitted through the germ line and the subsequent generations are not directly exposed to the environmental factor. The hypothesis has become well accepted by compelling animal studies that define the outcome of specific challenges such as: 1) nutrient restriction or overfeeding during pregnancy and lactation; 2) uterine blood flow restriction; 3) fetal exposure to inappropriately high levels of glucocorticoids, and 4) experimental maternal diabetes. Maternal protein restriction in the rat adversely affects glucose metabolism of male and female second generation offspring in a gender and developmental time window-specific manner. Other studies have proved transgenerational passage of effects resulting from treatment of pregnant rats with dexamethasone by either maternal or paternal lines. First generation female diabetic offspring of F0 rats treated with streptozotocin during pregnancy had F2 offspring with altered glucose and carbohydrate metabolism. The studies suggest that the mechanisms involved in developmental programming are likely epigenetic rather than due to DNA sequence mutations. Many individuals all over the world experience undernutrition, stress, hyperglycemia and other negative environmental factors during pregnancy and/or lactation. Insult during this critical period of development may induce malprogramming and adversely alter not only the F1 generation but also future generations. Preventing or treating these conditions will help to minimize the risk of transmission of metabolic diseases to future generations.*

### RESUMEN

Estudios epidemiológicos en humanos y con animales de experimentación han demostrado que el ambiente subóptimo intrauterino y durante la lactancia afecta el crecimiento y predispone al individuo al desarrollo de enfermedades en la vida adulta. Una de las características más interesantes de la programación del desarrollo es la evidencia de que las consecuencias adversas del ambiente intrauterino alterado pasa a través de las generaciones. Para obtener el fenotipo transgeneracional es necesario que el ambiente negativo esté en contacto en la vida fetal o neonatal, el fenotipo fisiológico o enfermedad puede ser transmitido a través de la línea germinal sin que las siguientes generaciones hayan sido expuestas directamente al factor ambiental. La hipótesis ha sido bien aceptada gracias a los estudios realizados con animales de experimentación: 1) restricción nutricional o sobrealimentación durante el embarazo y la lactancia; 2) restricción del flujo sanguíneo útero placentario; 3) exposición fetal a concentraciones altas de glucocorticoides, y 4) diabetes materna gestacional experimental. La restricción proteínica materna en la rata adversamente afecta el metabolismo de la glucosa de la segunda generación, los efectos varían de acuerdo al sexo y al periodo de desnutrición. Los estudios con dexametasona a ratas preñadas han demostrado los efectos metabólicos transgeneracionales tanto por la vía materna como la paterna. La primera generación de hembras diabéticas provenientes de ratas F0 tratadas con estreptozotocina durante el embarazo, tienen crías F2 con alteración en el metabolismo de carbohidratos. Los resultados obtenidos sugieren que los mecanismos involucrados en la programación del desarrollo son epigenéticos y no debido a mutaciones en la secuencia de DNA. Muchos individuos en todo el mundo han sufrido desnutrición, estrés, hiperglycemia y otros ambientes negativos durante el embarazo y/o la lactancia. El reto durante este periodo crítico del desarrollo puede inducir la programación inadecuada y adversamente alterar no sólo a la generación F1 sino a las siguientes generaciones. La prevención o tratamiento de estas condiciones ayudaría a minimizar el riesgo de la transmisión de enfermedades metabólicas a futuras generaciones.

**Key words.** Transgenerational programming. Epigenetic. Diabetes. Fetal.

**Palabras clave.** Programación transgeneracional. Epigenético. Diabetes. Feto.

## INTRODUCCIÓN

Actualmente se sabe gracias a los estudios con animales de experimentación<sup>1-3</sup> y a la epidemiología clínica<sup>4-5</sup> que el fenotipo de un individuo no está determinado exclusivamente por sus genes, existe además una fuerte influencia ambiental, teniendo mayor impacto en etapas tempranas del desarrollo. El ambiente subóptimo intrauterino y durante la lactancia modifica el crecimiento y predisponde al individuo al desarrollo de enfermedades en la vida adulta. El concepto de la “programación del desarrollo” describe cómo la vida intrauterina y neonatal genera cambios fisiológicos permanentes.<sup>6</sup> La desnutrición durante las diferentes etapas de la gestación altera la trayectoria de crecimiento del feto, comprometiendo el adecuado desarrollo de los diferentes órganos, por lo que probablemente tengan un mal funcionamiento posterior. Las personas que nacen pequeñas para su edad gestacional, si son alimentadas abundantemente con respecto a su peso y talla, presentan crecimiento acelerado en la vida postnatal.<sup>4-5</sup> Los estudios con animales de experimentación han mostrado que esta rápida recuperación puede ser beneficiosa a corto plazo; sin embargo, con el tiempo puede ser dañina, teniendo impacto negativo en la longevidad.<sup>7-8</sup>

Una de las características más interesantes y significativas de la programación del desarrollo, es la evidencia generada de diversos estudios de que las consecuencias adversas del ambiente intrauterino inadecuado pueden pasar a través de las generaciones, de madre a hija a nieta, por mecanismos que no involucran cambios genéticos sino la expresión alterada de los genes. Para obtener el fenotipo transgeneracional es necesario la exposición directa de la condición negativa durante la vida fetal y/o neonatal, de tal forma que el fenotipo fisiológico de alguna enfermedad puede ser transmitida a través de la línea germinal sin que las generaciones subsiguientes hayan estado directamente en contacto con el factor tóxico o adverso. La presente revisión se enfoca en las características y los mecanismos transgeneracionales involucrados en el ambiente desfavorable materno durante el embarazo y la lactancia que inciden negativamente en el desarrollo del síndrome metabólico.

## EL SÍNDROME METABÓLICO

El síndrome metabólico es considerado como uno de los problemas más importantes de salud pública en el siglo XXI. Este síndrome está caracterizado por

un conjunto de factores dentro de los que se incluye: obesidad abdominal, concentraciones altas de triglicéridos, concentraciones bajas de lipoproteínas de alta densidad (HDL-colesterol), presión arterial alta, concentraciones de glucosa en ayuno altas e hiperinsulinemia. Estos factores incrementan el riesgo del desarrollo de enfermedades cardiovasculares y/o de diabetes tipo 2.

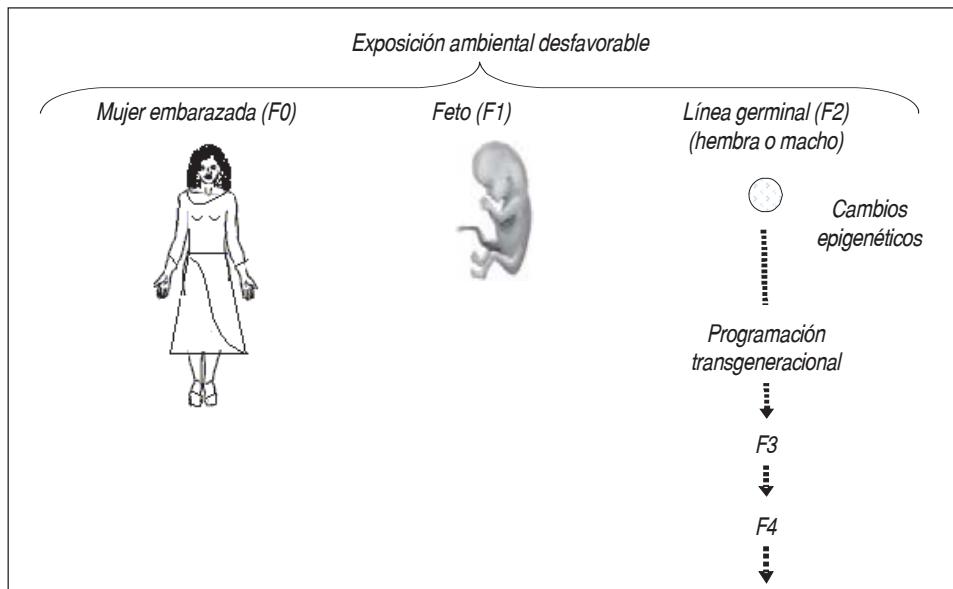
El concepto de síndrome metabólico fue descrito por primera vez por Hanefeld y Leonhardt en 1981.<sup>9</sup> Recientemente la Organización Mundial de la Salud (OMS) y posteriormente la Federación Internacional de Diabetes definieron que una persona padece de síndrome metabólico al presentar tres de las siguientes cinco características:<sup>10</sup>

- Hiperinsulinemia e hiperglicemia.
- Sobre peso u obesidad.
- Concentraciones altas de triglicéridos.
- Concentraciones bajas de lipoproteínas de baja densidad.
- Presión arterial alta.

El síndrome metabólico no se presenta uniformemente en toda la población mundial, existe una gran variabilidad de acuerdo al grupo étnico, siendo los hispano-americanos los que manifiestan la mayor incidencia de síntomas.<sup>11</sup> El tabaco, las dietas altas en carbohidratos y la actividad física baja, incrementan el riesgo de desarrollar el síndrome metabólico.<sup>12</sup> También afecta el estilo de vida de la persona,<sup>13</sup> la edad y el sexo.<sup>11</sup>

## EL CONCEPTO TRANSGENERACIONAL

El paso transgeneracional puede definirse como la habilidad de adquirir un fenotipo fisiológico o enfermedad y que ésta sea transmitida a las siguientes generaciones, las cuales no fueron expuestas directamente al ambiente negativo y, sin embargo, sí quedaron afectadas.<sup>14-15</sup> Diversos estudios genéticos demuestran que las modificaciones epigenéticas del DNA pueden ser heredadas transgeneracionalmente.<sup>16</sup> El Dr. Skinner de la Universidad de Washington State estableció las diferencias entre “Multigeneracional” y “Transgeneracional”.<sup>15</sup> Multigeneracional involucra la exposición directa del factor que incide en el desarrollo de la enfermedad, en contraste con Transgeneracional en el que la transmisión entre las generaciones no involucra la exposición directa. Tanto el embrión de la generación F1 como la línea germinal de la generación F2 están directamente expuestas al insulto cuando la generación inicial F0



*Figura 1. Herencia transgeneracional por cambios epigenéticos en la célula germinal.*

durante el embarazo está en contacto con el ambiente desfavorable (Figura 1), de tal forma que la generación F3 es la primera inequívoca en recibir el efecto transgeneracional. A diferencia de cuando la generación F0 es expuesta a un reto ambiental durante la etapa postnatal o en la vida adulta, en ese caso la línea germinal de la generación F1 también estuvo en contacto con el agente tóxico y, por lo tanto, la generación F2 es la primera en no ser expuesta directamente al ambiente negativo. La herencia epigenética transgeneracional está asociada a modificaciones en la expresión de los genes de las células meióticas y no a la división de células mitóticas.<sup>16</sup>

Una explicación alternativa de la herencia no asociada a alteraciones epigenéticas en la línea germinal es cuando el reto prenatal induce cambios en la fisiología de la hembra F1 que durante su propio embarazo modifica y altera el ambiente hormonal, químico y físico intrauterino experimentado por las crías de la generación F2.

#### MECANISMOS EPIGENÉTICOS EN LOS PATRONES DE HERENCIA

El término de epigenética fue descrito por primera vez por Conrad Waddington como la parte de la biología que estudia las interacciones causales entre los genes y sus productos, lo que genera un fenotipo específico.<sup>17</sup> Actualmente este concepto es interpretado como los cambios en las funciones de los genes que suceden sin cambios en la secuencia del DNA.<sup>18</sup> Las modificaciones epigenéticas son responsables de los diferentes patrones de la expresión de un gen en los

distintos tipos celulares.<sup>19</sup> De tal forma que “epigenética” es la diversidad o las múltiples formas en que un gen es expresado.<sup>20</sup> La expresión de un gen puede ser modificada por factores ambientales, lo que puede contribuir al desarrollo de fenotipos anormales.<sup>21</sup>

Existen dos clases de información epigenética que puede ser heredada a través de los cromosomas. La primera involucra modificaciones del empaquetamiento de la cromatina a través de cambios en las proteínas que se unen al DNA, siendo más afectadas las regiones terminales de las histonas, las cuales pueden ser modificadas por acetilación, metilación, ubiquinación, fosforilación, glicosilación y ribosilación del ADP.<sup>22 23</sup> Las modificaciones más comunes son la acetilación y la metilación de los residuos de lisina en las histonas H3 y H4.<sup>22</sup> El incremento de la acetilación induce a la activación de la transcripción dado que la afinidad de las histonas al DNA se reduce y, por tanto, se relaja el empaquetamiento de la cromatina,<sup>22</sup> mientras que la disminución de la acetilación induce la represión de la transcripción. La metilación, por otro lado, está asociada tanto con la represión como la activación de la transcripción y la función depende del número de histonas y residuos de lisina que sean metilados.<sup>22 23</sup>

La segunda clase de regulación epigenética y que inclusive está mejor caracterizada es la metilación de residuos de citosina en el dinucleótido CpG, lo cual está asociado con el silenciamiento del gen y que contribuye con la inactivación del cromosoma X y con la regulación transcripcional tejido-específica

durante la diferenciación celular.<sup>21</sup> Para la metilación del CpG, un grupo metilo es transferido enzimáticamente del S-adenosilmetionina al carbón 5 del anillo de citosina. La estructura resultante interfiere con el factor de transcripción que se une a las proteínas.<sup>23</sup> El tipo de nutrición en etapas tempranas del desarrollo puede influir en el establecimiento y mantenimiento de la metilación de citosinas;<sup>24</sup> algunos micronutrientes como la vitamina B12 y el ácido fólico son donadores del grupo metilo.<sup>18-23</sup> Los cambios sutiles de la nutrición materna durante la gestación determinan potencialmente los cambios epigenéticos.

La ventana de exposición a factores epigenéticos es crítica. Las modificaciones epigenéticas pueden ocurrir durante la gestación, el desarrollo neonatal, la pubertad, en la menopausia y en edades maduras, la respuesta dependerá de la intensidad y del momento a la exposición, variando en períodos críticos del desarrollo o condiciones específicas de cambios fisiológicos. La desmetilación del DNA sucede durante la gametogénesis, seguida de la remetilación durante la fertilización.<sup>25</sup> Otro evento importante es la desmetilación del genoma en el inicio del desarrollo embrionario.<sup>26</sup> Después de la implantación se reinicia la metilación de nuevo. Estas desmetilaciones postfertilización y la remetilación subsecuente juegan un papel importante en la remoción de las modificaciones epigenéticas adquiridas durante la gametogénesis<sup>27</sup> o previamente el borrado de marcas paternas y el restablecimiento de huellas sexo-específicas.<sup>28</sup> Sin embargo, al parecer un grupo de genes que acarrean la metilación paterna o materna se escapan a la segunda ronda de desmetilación.<sup>25</sup> Consecuentemente algunos cambios epigenéticos no fueron borrados completamente durante estos períodos, dando como resultado el mantenimiento de la memoria de la expresión epigenética y que persistirá en las siguientes generaciones.<sup>16</sup> Esto puede conllevar a la programación transmitida a través de la herencia transgeneracional.<sup>29</sup>

Existen alteraciones persistentes en las crías cuando fueron expuestas a un ambiente intrauterino y neonatal subóptimo. Estos cambios pueden involucrar modificaciones en la función celular y probablemente en la expresión de los genes. El ambiente tanto fetal como neonatal es responsable de las modificaciones epigenéticas que impactan el crecimiento e inducen cambios metabólicos observados desde la niñez.

Un buen ejemplo de los efectos epigenéticos transgeneracionales es la exposición embrionaria en la rata a dietil-etil-bestrol, lo que genera defectos en el

tracto reproductivo e inclusive contribuye al desarrollo de obesidad y enfermedades relacionadas en la generación F2 tanto de hembras como de machos.<sup>14-30</sup> La modificación en la metilación de genes promotores inducida por restricción proteínica materna durante el embarazo en la generación F1 es transmitida a la generación F2. Esto puede representar un mecanismo de la transmisión de un fenotipo inducido a través de las generaciones.<sup>30</sup>

Aunado a las modificaciones epigenéticas, se encuentra la interacción entre las alteraciones por la programación y la fisiología materna que pueden explicar algunas de las diferencias entre los efectos intergeneracionales.

## ESTUDIOS EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Los estudios en animales han sido de mucha utilidad para elucidar los mecanismos involucrados en la herencia transgeneracional de las enfermedades. Los factores genéticos juegan un papel importante en la patogénesis de la diabetes tipo 2. Los modelos con animales de experimentación son importantes para determinar efectos metabólicos específicos después de la exposición intrauterina anormal teniendo un fondo genético homogéneo. De tal forma que es posible establecer las condiciones específicas y analizar la causa-efecto. La rata es un modelo experimental utilizado ampliamente en esta rama dado su período gestacional relativamente corto y la fácil manipulación y manutención en comparación con los estudios en humanos.<sup>31</sup> Si bien la investigación con animales de experimentación, a diferencia de los estudios epidemiológicos y clínicos en humanos, no tiene la limitante de la manipulación intencional de condiciones adversas, presenta carencias de otra índole, como la dificultad de simular lo que sucede naturalmente (la vida en el bioterio por bien equipado que esté no es comparable a la vida silvestre) y en ocasiones no se puede extrapolar lo que sucede con los humanos por las diferencias fisiológicas entre especies. De tal forma que es importante la integración de la investigación de humanos clínica y epidemiológica con los estudios de animales de experimentación.

Uno de los estudios más importantes transgeneracionales se realizó aproximadamente hace 30 años.<sup>24</sup> Stewart, *et al.* examinaron los efectos a corto y largo plazo a través de 12 generaciones de ratas alimentadas con dieta adecuada en proteína, así como con restricción proteínica. Las crías provenientes de la colonia malnutrida tuvieron 10 veces

mayor predisposición al crecimiento retrasado y sus cerebros fueron aproximadamente 5% más pequeños, lo que afectó su habilidad de aprendizaje. Después de 12 generaciones de recibir dieta con restricción proteínica, se realizó un estudio que buscaba analizar qué tan rápido podían rehabilitar el crecimiento retrasado de las ratas. Se encontró que sí fue posible revertir los efectos adversos, pero se necesitó de al menos tres generaciones de nutrición normal para lograr la recuperación de algunas de las consecuencias de la deficiencia en proteína.

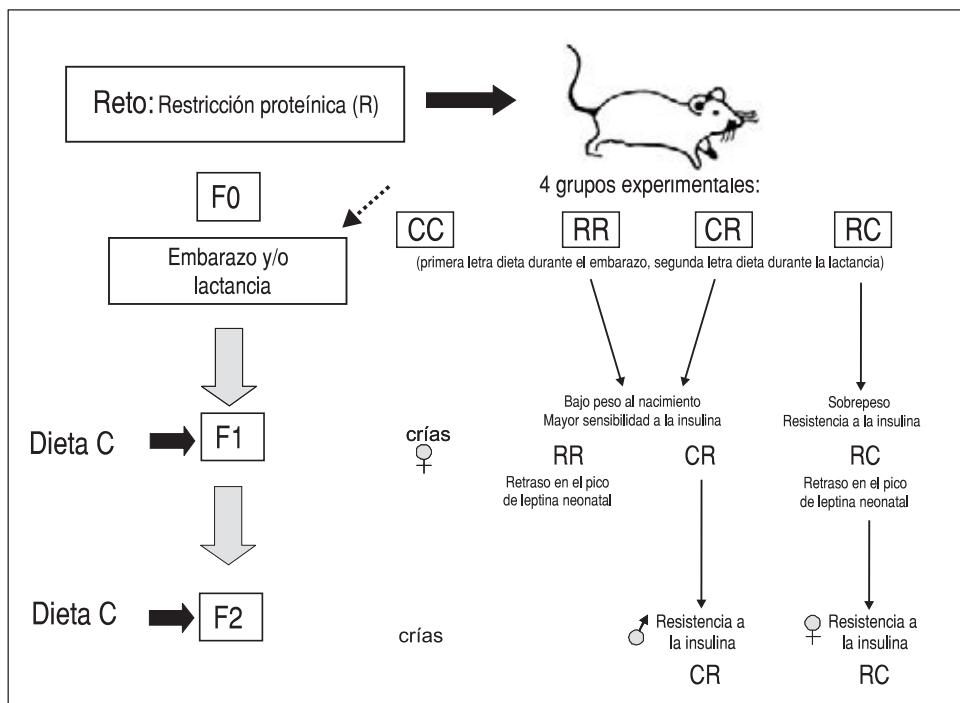
Otros investigadores exploraron los efectos transgeneracionales de disruptores endocrinos en el desarrollo sexual de ratas machos, utilizaron el vinclozolín (un compuesto con actividad antiandrogénica) en ratas preñadas; la exposición se realizó durante el tiempo de la diferenciación sexual.<sup>32</sup> Una inyección intraperitoneal de vinclozolín entre el día 8 y 15 de gestación disminuyó el número y motilidad de espermatozoides en la generación ya adulta F1.<sup>33 34</sup> Cabe aclarar que únicamente la generación F0 recibió el insulto (exposición al vinclozolín) y el estudio se diseñó para elucidar los efectos hasta la generación F4. Sorpresivamente los efectos no disminuyeron entre la generación F1 a la F4. Para poder establecer los mecanismos epigenéticos transgeneracionales que inducen las alteraciones fisiológicas, el mismo grupo de científicos<sup>14 34 35</sup> realizaron técnicas específicas para encontrar las bases moleculares de estos cambios epigenéticos. Los hallazgos mostraron que al menos hay 25 diferentes candidatos de secuencias de DNA con potencial a ser modificados y en 15 de ellos se confirmaron cambios en el patrón de la metilación del DNA que fueron transgeneracionales. Por otro lado, los cambios estructurales en la cromatina también pueden jugar un papel importante en estas modificaciones. Algunos de los genes asociados con alteraciones en la metilación de DNA afectan la adhesión de moléculas, canales iónicos, factores de señalización como las proteínas que se unen al GTP, factores de transcripción, factores que controlan la traducción y proteínas membranales, entre otros. La proliferación celular, maduración, movilidad y el ensamblaje de proteínas son afectados por los genes identificados.

### Modelos nutricionales transgeneracionales con animales de experimentación

La malnutrición durante el embarazo y/o la lactancia puede generar la mala programación del individuo, lo que alterará no únicamente a la generación F1, sino a las futuras generaciones.<sup>36 37</sup>

Ratas preñadas (F0) sometidas a dietas bajas en proteína<sup>38</sup> o a restricción calórica<sup>39</sup> tienen crías F1, así como las subsecuentes progenies F2 y F3 derivadas de la línea materna con alteración del metabolismo de carbohidratos.<sup>40</sup> Las crías F2 provenientes de progenie F1, cuyas madres F0 fueron desnutridas en el embarazo y que posteriormente fueron sobre alimentadas posnatalmente, presentan bajo peso al nacimiento y desarrollo de resistencia a insulina en la vida adulta. Tanto las crías F2 (mantenidas con sobrealimentación en ambas pre y posnatalmente) y las crías F1 (que fueron alimentadas adecuadamente posnatalmente) de madres F0 mal nutritas, desarrollaron resistencia a la insulina cuando fueron adultas.<sup>41</sup>

Nuestro grupo de trabajo demostró que los efectos transgeneracionales debido a la restricción proteínica dependen del sexo y el periodo en que se llevó a cabo la desnutrición materna.<sup>42</sup> Ratas preñadas fueron alimentadas con dieta control (C) o dieta hipoescalórica con restricción al 50% de proteína (R). La restricción proteínica en la rata durante el embarazo incrementó las concentraciones en suero de corticoesterona, estradiol, progesterona y testosterona materna a los 19 días de gestación.<sup>43 44</sup> Despues del nacimiento las madres recibieron dieta C o R hasta el destete de la progenie (día 21), de tal forma que quedaron cuatro grupos experimentales: CC, RR, CR y RC (la primera letra se refiere al tipo de dieta durante el embarazo y la segunda a la dieta durante la lactancia). Todas las crías (F1) fueron alimentadas *ad libitum* con dieta C después del destete y por el resto del estudio. Las crías hembras F1 provenientes de madres que fueron restringidas durante la lactancia (RR y CR) pesaron menos y tuvieron mayor sensibilidad a la insulina durante la prueba de tolerancia a la glucosa. Las crías F1 de los grupos restringidos durante la gestación (RR y RC) tuvieron retraso en el pico de leptina que se da naturalmente en el periodo neonatal, lo que impactó negativamente el adecuado desarrollo del centro del apetito.<sup>45</sup> Al llegar a la vida adulta, las crías hembras (F1) fueron apareadas con machos control para generar la progenie F2. Los nietos (F2) de las madres (F1) CR y las nietas (F2) de las madres (F1) RC mostraron evidencias de resistencia a la insulina (Figura 2). Las diferencias específicas en el sexo fueron también evidentes en las concentraciones basales de glucosa e insulina y en la relación insulina: glucosa.<sup>42</sup> El estudio demuestra que la restricción proteínica materna adversamente afecta el metabolismo de la glucosa y la insulina en la progenie de machos y hembras de la segunda generación de una forma sexo-específica, del mismo modo, el efecto tam-



**Figura 2.** Efectos transgeneracionales por la restricción proteínica materna durante el embarazo y/o la lactancia. Las dietas de la madre F0 se representan como control (C) o restringida (R) durante el embarazo (primera letra) y la lactancia (segunda letra).

bién depende del periodo de exposición.<sup>1</sup> Un estadio del desarrollo exhibe mayor sensibilidad a un reto específico que otro. Las diferencias cualitativas así como cuantitativas ante el mismo reto impuesto en dos diferentes grupos pueden deberse a las divergencias históricas en cada grupo.

Por otro lado, la progenie F2 de las ratas restringidas (F0) tienen menor peso al nacimiento,<sup>42</sup> datos similares provenientes de los hijos de las hijas expuestas al “Invierno hambriento holandés”.<sup>46</sup> Una posible explicación puede ser la restricción al crecimiento fetal como resultado del desarrollo alterado uterino en las hembras desnutridas. Además de las diferencias en el tamaño del útero, el crecimiento alterado de tejidos específicos en el útero puede resultar por la restricción nutricional durante el desarrollo. Este dato es consistente con los mecanismos no-genómicos que resultan como consecuencia de modificaciones fisiológicas a largo plazo, dado que la mayoría de los órganos están involucrados en el mantenimiento del embarazo.<sup>1</sup>

Recientemente se realizaron estudios para responder la hipótesis de que la transmisión de un cierto tipo de fenotipo entre la generación F1 y F2 involucra modificaciones de la regulación en genes específicos. Ratas preñadas de la cepa Wistar (F0) fueron alimentadas con restricción proteínica durante el embarazo. Las crías hembras de la F1 fueron apareadas con crías machos control. Tanto los machos de la ge-

neración F1 como los de la F2 fueron estudiados a la edad de 80 días. Se encontró disminución en la metilación del promotor del receptor de glucocorticoides (GR), así como de los receptores activados por proliferadores de peroxisomas alpha (PPAR $\alpha$ ) en los hígados de las crías F1 y F2 provenientes de madres F0 restringidas durante el embarazo. Por lo tanto se concluyó que la alteración en la metilación de los genes promotores en la generación F1 de madres con restricción proteínica materna F0 durante la gestación se transmitió a la progenie F2.<sup>30</sup>

En otro estudio también reciente, los experimentos se diseñaron para determinar las diferencias en los mecanismos que persisten en la herencia transgeneracional que generan problemas metabólicos por el crecimiento intrauterino retrasado (por sus siglas en inglés IUGR) de las crías. La hipótesis se basó en el uso de transferencia embrionaria.<sup>47</sup> Ratas preñadas (F0) fueron alimentadas con restricción nutricional al 50% del día 11 al 21 de gestación. La progenie F2 de ratas hembras F1 con IUGR fue implantada en un ambiente intrauterino metabólicamente controlado. El peso al nacimiento de la progenie F2 provenientes de F1 con IUGR fue similar; sin embargo, a los 15 meses de edad el peso de sus hígados fue mayor en comparación con la F2 control. Además, la progenie F2 proveniente de F1 con IUGR fue hiperglicémica y tuvo incremento significativo de las concentraciones de proteína GLUT4

en músculo al ser comparadas con sus compañeras F2 controles de la misma edad y sexo. Este estudio estableció las diferencias entre herencia *vs.* consecuencia en respuesta al ambiente intrauterino metabólicamente adverso. Los autores concluyeron que la herencia juega un papel importante independiente del ambiente metabólico de las madres F1.<sup>47</sup>

#### **Estudios en animales por restricción del flujo sanguíneo uterino**

El crecimiento fetal depende por completo del aporte nutricional materno y de la capacidad de la placenta para transferir al feto los nutrientes. Existe un estudio donde se observaron los efectos transgeneracionales para la diabetes por la restricción del flujo sanguíneo uterino de la primera generación.<sup>48</sup> A ratas preñadas Sprague-Dawley (F0) se les ligaron ambas arterias uterinas en el día 19 de gestación para obtener una progenie (F1) con IUGR. El peso corporal de los animales F1 con IUGR fue significativamente menor que el del grupo control hasta la semana séptima de edad. A los dos meses de edad las ratas fueron apareadas, edad en la que ya no había diferencia de peso entre las ratas IUGR y los controles. Sin embargo, durante el embarazo las ratas F1 con IUGR ganaron más peso que las controles y desarrollaron hiperglicemia e hiperinsulinemia progresivamente acompañado de intolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina. Su progenie (F2), designada por los autores como los infantes de madres diabéticas, tuvieron mayor peso al nacimiento y se mantuvieron con sobrepeso durante toda la vida. La segunda generación fue resistente a la insulina desde muy jóvenes, además de presentar progresivamente intolerancia a la glucosa y para la semana 26 de vida, ya habían desarrollado diabetes.<sup>48</sup> El fenotipo que presentó la segunda generación F2 es el resultado de la secreción alterada de insulina y de la disminución de la expresión en músculo esquelético de GLUT4. Con este trabajo se concluyó que la insuficiencia útero-placentaria inducida en ratas preñadas al día 19 de gestación (F0), generó crías con IUGR (F1), las cuales al ser adultas y quedar preñadas desarrollaron diabetes gestacional, como consecuencia la progenie F2 desarrolló intolerancia de glucosa y resistencia a la insulina.

#### **Efectos de la sobreexposición fetal a glucocorticoides**

Las hormonas esteroideas, como los glucocorticoides, son importantes para la regulación del desar-

rrollo y maduración de los órganos fetales. Es bien conocido que la exposición fetal a concentraciones altas de glucocorticoides, reduce el peso al nacimiento<sup>49</sup> además de que se asocia con efectos a largo plazo como la hipertensión,<sup>50 51</sup> así como la elevación de enzimas gluconeogénicas hepáticas e intolerancia a la glucosa en la progenie adulta.<sup>52 53</sup>

Drake, *et al.* desarrollaron experimentos para analizar las consecuencias intergeneracionales de la exposición fetal a glucocorticoides.<sup>19 29</sup> Se inyectó dexametasona (100 µg/kg) a ratas Wistar preñadas (F0) entre el día 15 y 21 de gestación. Las camadas fueron llamadas F1 Dex (cuyas madres fueron inyectadas con dexametasona) y F1 Veh (ratas control). Las crías hembras de la F1 fueron apareadas con machos del mismo grupo experimental de la F1 para generar la generación F2 Dex/Dex y F2 Veh/Veh. De la misma forma las hembras de la F2 fueron cruzadas con los machos de la misma generación y grupo experimental para dar lugar a la F3 Dex/Dex y F3 Veh/Veh. Para el estudio del efecto materno o paterno en el fenotipo, se realizaron experimentos en donde se cruzaron F2 Dex materno/Veh paterno y la crusa inversa F2 Veh materno/Dex paterno. Como resultado se obtuvo que la administración de dexametasona a madres (F0) al final del embarazo, conlleva a efectos intergeneracionales en el peso al nacimiento tanto de las crías F1 como de las F2. Además la dexametasona prenatal indujo el incremento en la expresión del receptor de glucocorticoides y de la actividad hepática de su gen blanco, el fosfoenol-pirúvico-carboxicinasa (PEPCK), enzima limitante de la gluconeogénesis,<sup>53</sup> tanto en la generación F1 como en la F2. Este efecto se transmitió tanto en la línea materna como paterna, aunque el efecto no fue aditivo, lo que sugiere que posiblemente estén reguladas por la misma ruta.<sup>29</sup> El mecanismo de transmisión transgeneracional probablemente incluye modificaciones epigenéticas. Finalmente ya no se observó ningún efecto en la tercera generación (F3).

#### **Diabetes materna experimental**

La diabetes es una enfermedad epidémica con grandes impactos a nivel global. Se llama diabetes gestacional cuando se presenta en una mujer embarazada.<sup>31</sup> La diabetes gestacional está caracterizada por el incremento en el transporte placentario de glucosa y otros nutrientes de la madre al feto. Como resultado una cantidad indeseable de azúcar y de amino ácidos llega al feto a través de la placenta, generando estrés en el desarrollo del páncreas y el crecimiento en general, produciendo eventualmente efectos a largo plazo dentro de los que se incluye

condiciones anormales como bebés grandes (macrosomia) y mayor predisposición al desarrollo posterior de diabetes.<sup>54</sup>

En 1979, Aerst y Van Assche<sup>55</sup> publicaron un artículo donde describían las consecuencias a largo plazo debidas al ambiente intrauterino anormal generado por la diabetes gestacional. Desde entonces, muchos otros investigadores utilizando modelos experimentales con animales, han probado la influencia negativa de un número de factores involucrados en el crecimiento y desarrollo fetal. Existen dos métodos para inducir diabetes experimental en la rata: por destrucción de las células beta con estreptozotocina<sup>56 57</sup> o por la infusión continua de glucosa.<sup>58</sup> Dos grupos independientes de científicos han demostrado que la cría hembra diabética (F1) de ratas previamente expuestas a estreptozotocina durante su vida fetal, procrean descendencia (F2) con alteraciones en el metabolismo de carbohidratos.<sup>57 59-61</sup> Cuando ratas preñadas (F0) fueron sometidas a diabetes moderada (en donde la glicemia aumenta aproximadamente 20%),<sup>62</sup> se incrementó el desarrollo de los islotes fetales de las crías F1, lo que ocasionó mayor número de células beta y por tanto producción de insulina. Estas crías F1 provenientes de madres con diabetes, a pesar de tener la masa pancreática normal, se vuelven intolerantes a la glucosa cuando son adultas. Bajo condiciones normales, las crías de madres con diabetes moderada son normoglicémicas,<sup>63 64</sup> sin embargo, al embarazarse las concentraciones de insulina en suero son menores y como consecuencia la

concentración de glucosa se incrementa en comparación con las ratas control. Esto induce el desarrollo de características típicas de la diabetes gestacional en sus fetos (F2) como macrosomia, hipertrofia de islotes e hiperinsulinemia. Cuando las crías F2 alcanzan la edad madura presentan intolerancia a la glucosa con las mismas características que la progenie F1 proveniente de madre con diabetes.<sup>61 62</sup>

A diferencia de la diabetes gestacional moderada, la severa se induce inyectando a ratas preñadas (F0) estreptozotocina a mayor concentración en el día 11 de embarazo, lo que ocasiona hiperglicemia e hipoinsulinemia, sin cambios en el peso corporal. Los fetos resultantes F1 fueron expuestos a concentraciones extremadamente elevadas de glucosa lo que genera desarrollo temprano de hiperinsulinemia y agotamiento de las células beta. Al día 22 de embarazo (un día previo al parto), los fetos (F1) provenientes de madres con diabetes severa tenían hipoinsulinemia severa con muy bajo ingreso de glucosa y por consiguiente nacían con peso bajo (aproximadamente 20% menos que los controles). El crecimiento fetal de la masa proteínica fue suprimido y la síntesis de proteína también fue menor. El grupo de ratas que nacieron espontáneamente, fueron crías pequeñas (microsómicas) y el crecimiento fue paralelo con respecto a las ratas control pero sin alcanzar el crecimiento adecuado,<sup>65</sup> el crecimiento perinatal retrasado tiene efecto a largo plazo en el peso corporal.<sup>62</sup> Cuando las crías F1 provenientes de madres con dia-

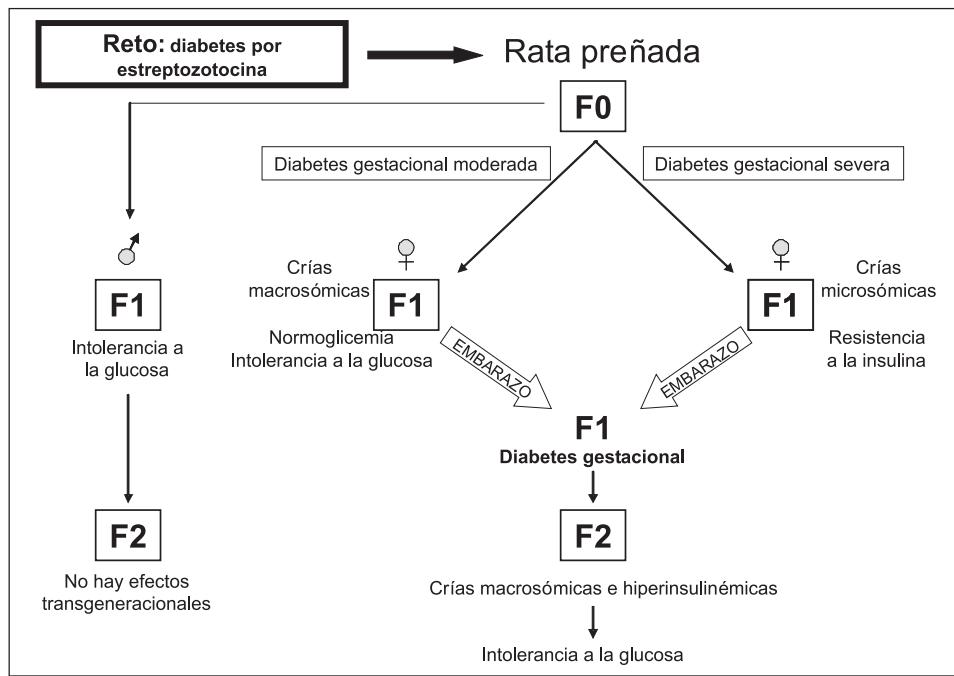


Figura 3. Efectos transgeneracionales por la diabetes gestacional materna inducida con estreptozotocina.

betes severa se preñaban, desarrollaban intolerancia a la glucosa, lo cual era evidente con concentraciones altas de glucosa y bajas de insulina.<sup>62</sup>

Independientemente de que los mecanismos de las madres F0 con diabetes gestacional moderada o severa son diferentes, en ambos casos se produce progenie F1 que desarrolla diabetes gestacional moderada y, por consecuencia, la progenie de estas crías serán hiperinsulinémicas y macrosómicas.

Los experimentos realizados por este grupo de investigadores han demostrado que la transmisión de los efectos de madres diabéticas a las siguientes generaciones sólo pasa a través de la vía materna. Los machos provenientes de madres con diabetes gestacional tienen intolerancia a la glucosa, pero no la transmiten a su descendencia.<sup>57</sup> En contraste, otros investigadores<sup>30 32 66</sup> que exploraron los efectos transgeneracionales por la vía paterna, encontraron evidencias de herencia epigenética. Lo cual permite concluir que ambas líneas, la paterna y la materna, pueden transmitir cambios epigenéticos en las crías; sin embargo, la línea materna probablemente tenga mayor impacto dado que la madre además provee del ambiente uterino para el desarrollo y crecimiento de la cría (Figura 3).

### PROGRAMACIÓN INTERGENERACIONAL EN HUMANOS

Los estudios de los efectos transgeneracionales en humanos es un tema complicado, dado las implicaciones morales y éticas que prohíben el uso de modelos humanos experimentales. De tal forma que los investigadores han utilizado datos epidemiológicos como historias clínicas obtenidas durante épocas de guerra o hambruna. La desnutrición materna puede generar desarrollo asimétrico del feto e inducir desequilibrio en los mecanismos involucrados en la regulación de la glucosa en la progenie. Esta condición puede generar diabetes gestacional, que a su vez conllevará a la intolerancia de la glucosa de la progenie y, por tanto, probable desarrollo de diabetes gestacional en las siguientes generaciones, con lo que se inicia una cadena de reacción de transmisión de diabetes gestacional.<sup>31</sup>

Uno de los esfuerzos más valiosos para obtener datos útiles después de un desastre humano son los estudios originados del “Invierno Hambriento Holandés” (septiembre de 1944 a marzo de 1945) durante la Segunda Guerra Mundial. La población holandesa estuvo sujeta a raciones de comida que gradualmente se fueron reduciendo de 1,800 Kcal a 400-800 Kcal en el peor momento de hambruna.<sup>67</sup> En un intento por compensar la falta de nutrientes, du-

rante este periodo, las mujeres embarazadas recibían una porción adicional, la cual consistía principalmente en vegetales, en su mayoría papas.<sup>31 68</sup> Bajo estas condiciones adversas, los adultos optaban por alimentar a los hijos ya existentes en lugar de los que todavía no nacían.<sup>31</sup> El peso al nacimiento de los bebés de las mujeres expuestas a la hambruna en el tercer trimestre de embarazo fue menor en comparación con los expuestos en el primer y segundo trimestre.<sup>69</sup> Además, las hijas de mujeres embarazadas expuestas a la hambruna en el primer trimestre de embarazo tuvieron hijos (progenie F2) que no alcanzaron el peso promedio al nacimiento. Sorpresivamente, el peso al nacimiento de los siguientes hermanos fue menor.<sup>37</sup>

El peso de las madres (F1) al nacimiento determinará en cierta medida el peso al nacimiento de la progenie F2, este efecto es esencialmente por la línea materna. Bebés con bajo peso al nacimiento que no tienen una recuperación rápida en crecimiento tienen mayor probabilidad de tener hijos con bajo peso al nacimiento. En contraste, los bebés con bajo peso al nacimiento (F1) que si tuvieron recuperación acelerada del crecimiento, tienen mayor riesgo de desarrollar diabetes gestacional y tener hijos grandes (macrosómicos) (F2), que también tendrán mayor predisposición de desarrollar diabetes en la vida adulta.<sup>19</sup> Todas estas evidencias muestran que lo vivido o experimentado por una mujer (F1) durante su desarrollo temprano, como embrión, es un factor determinante del ambiente fetal que ella proporcionará a su progenie (F2).<sup>19</sup>

Los estudios de varias generaciones han demostrado la predominancia de diabetes tipo 2 en bisabuelas por la vía materna más que por la paterna.<sup>62 70</sup> Existe mayor riesgo a tener diabetes cuando la mamá más que el papá tiene diabetes tipo 2. El grupo de Indios Pima (de la Comunidad de Arizona en el río Gila) es otro ejemplo de efectos transgeneracionales relacionados con los cambios en el estilo de vida. Esta comunidad tiene una de las incidencias más altas de diabetes tipo 2 en el mundo. Los datos estadísticos indican que 50% de la población de los Indios Pima es diabética y 95% de ellos tienen sobrepeso.<sup>31</sup> Pettitt, *et al.*<sup>71</sup> estudiaron la asociación entre diabetes gestacional y obesidad en la progenie de esta comunidad. Ellos encontraron que 58% de los hijos de diabéticos pesaban 140% más que el grupo de personas no diabéticas. La diabetes gestacional es el problema de salud más importante en esta comunidad. Setenta por ciento de los Indios Pima que fueron expuestos al ambiente prenatal de diabetes desarrollaron diabetes entre los 25 y 34 años de edad.<sup>72</sup> En contraste, la comunidad de Indios Pima que vive en el norte de México, con estilo

de vida mucho más activo, tiene menor incidencia de diabetes tipo 2 en comparación con los Indios Pima urbanizados del sur de los Estados Unidos.<sup>31</sup> Es difícil comprender los mecanismos transgeneracionales de la diabetes tipo 2 en esta comunidad, dado que probablemente puede ser causado por factores ambientales como la nutrición, el grado de actividad física, urbanización, factores adversos ambientales intrauterinos, el genotipo ahorrador (en donde genes considerados como ahorradores ayudan al cuerpo a guardar energía confiriéndole así una ventaja de sobrevida en condiciones duras, como el hambre o escasez, pero que desafortunadamente puede predisponer a los individuos a desarrollar diabetes en situaciones de abundancia o sobre-nutrición) o probablemente, la combinación de todos estos factores.

La mayoría de los estudios transgeneracionales se enfocan a la línea materna; sin embargo, hay asociaciones históricas de longevidad con la alimentación de los ancestros paternos durante el crecimiento antes de entrar a la pubertad. Estudios realizados en la comunidad de Överkalix (sociedad aislada en el norte de Suecia) han mostrado que los hábitos de nutrición de los abuelos impacta al periodo de vida de los nietos.<sup>73</sup>

## CONCLUSIONES

Muchas personas en todo el mundo viven bajo condiciones de desnutrición, alimentación alta en grasa, estrés, hiperglicemia y otros factores negati-

vos ambientales durante el embarazo y la lactancia. Diversos retos durante períodos críticos del desarrollo inducen la mala programación de muchos ejes endocrinos, lo que adversamente altera no solamente a la generación F1, sino a generaciones subsecuentes. Es por tanto muy importante el adecuado manejo nutricional durante toda la vida, pero especialmente durante el embarazo y la lactancia, así como el manejo adecuado de la diabetes gestacional. La malnutrición crónica de madres embarazadas es muy común en países en vías de desarrollo, con dietas hipocalóricas o altas en grasa/hipercalóricas, situación que prevalece en el mundo occidental. Ambas condiciones pueden afectar negativamente el desarrollo fetal e inducir desbalance en el metabolismo de la glucosa de los hijos y, por consiguiente, el desarrollo de diabetes gestacional de las hijas en sus embarazos. Si se trata de prevenir las condiciones adversas en estas mujeres, se ayudará a minimizar el riesgo de la transmisión de la diabetes gestacional a futuras generaciones. Se tiene ya información sobre los mecanismos para la transmisión de la diabetes y otros fenotipos inducidos; sin embargo, se requiere de más estudios para elucidar el fenómeno transgeneracional. Los datos epidemiológicos son de suma importancia para demostrar los efectos a largo plazo de la salud y la enfermedad humana. Los estudios con animales de experimentación bajo condiciones controladas son necesarios para definir los mecanismos involucrados (Figura 4).

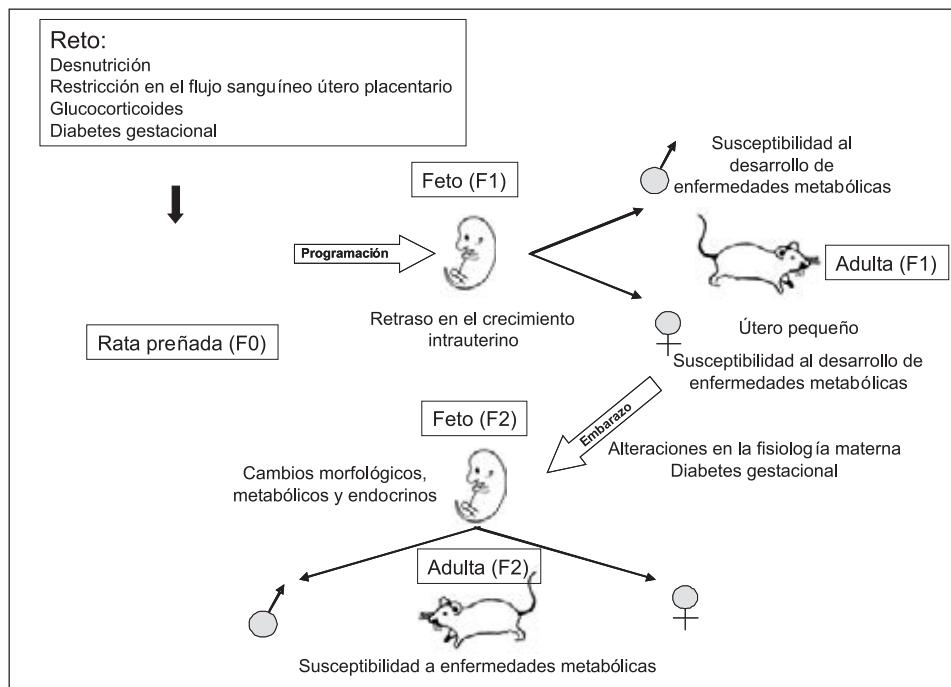


Figura 4. Mecanismos transgeneracionales por el ambiente desfavorable materno durante la gestación.

## AGRADECIMIENTOS

El trabajo experimental de la autora reportado en esta publicación fue financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT-48839), México.

## REFERENCIAS

1. Nathanielsz PW. Animal models that elucidate basic principles of the developmental origins of adult diseases. *Ilar J* 2006; 47: 73-82.
2. Ozanne SE, Hales CN. The long-term consequences of intrauterine protein malnutrition for glucose metabolism. *Proc Nutr Soc* 1999; 58: 615-19.
3. Zambrano E, Bautista CJ, Deas M, Martinez-Samayo PM, Gonzalez-Zamorano M, Ledesma H, et al. 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: 221-30.
4. Ravelli AC, van Der Meulen JH, Osmond C, Barker DJ, Bleker OP. Obesity at the age of 50 y in men and women exposed to famine prenatally. *Am J Clin Nutr* 1999; 70: 811-6.
5. Strauss RS. Effects of the intrauterine environment on childhood growth. *Br Med Bull* 1997; 53: 81-95.
6. Nijland MJ, Ford SP, Nathanielsz PW. Prenatal origins of adult disease. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2008; 20: 132-38.
7. Ozanne SE, Hales CN. Lifespan: catch-up growth and obesity in male mice. *Nature* 2004; 427: 411-12.
8. Martin-Gronert MS, Tarry-Adkins JL, Cripps RL, Chen JH, Ozanne SE. Maternal protein restriction leads to early life alterations in the expression of key molecules involved in the aging process in rat offspring. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008; 294: R494-R500.
9. Hanefeld M, Leonhardt W. Das metabolische syndrome. *Dtsch Gesundheitswes* 1981; 36: 545-51.
10. Traish AM, Guay AT, Feeley R, Saad F. The Dark Side of Testosterone Deficiency: I. Metabolic Syndrome & Erectile Dysfunction. *J Androl* 2008. DOI: 108.005215.
11. Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA* 2002; 287: 356-9.
12. Park YW, Zhu S, Palaniappan L, Heshka S, Carnethon MR, Heymsfield SB. The metabolic syndrome: prevalence and associated risk factor findings in the US population from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Arch Intern Med* 2003; 163: 427-36.
13. Esposito K, Marfella R, Ciotola M, Di Palo C, Giugliano F, Giugliano G, et al. Effect of a mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial. *JAMA* 2004; 292: 1440-6.
14. Skinner MK. Endocrine disruptors and epigenetic transgenerational disease etiology. *Pediatr Res* 2007; 61: 48R-50R.
15. Skinner M. What is an epigenetic transgenerational phenotype? F3 or F2. *Reproductive Toxicology* 2008; 25: 2-6.
16. Rakyan V, Whitelaw E. Transgenerational epigenetic inheritance. *Curr Biol* 2003; 13: R6.
17. Waddington CH. Gene regulation in higher cells. *Science* 1969; 166: 639-40.
18. Devaskar SU, Raychaudhuri S. Epigenetics—a science of heritable biological adaptation. *Pediatr Res* 2007; 61: 1R-4R.
19. Drake AJ, Walker BR. The intergenerational effects of fetal programming: non-genomic mechanisms for the inheritance of low birth weight and cardiovascular risk. *J Endocrinol* 2004; 180: 1-16.
20. Crews D, McLachlan JA. Epigenetics, evolution, endocrine disruption, health, and disease. *Endocrinology* 2006; 147: S4-S10.
21. Simmons RA. Developmental origins of beta-cell failure in type 2 diabetes: the role of epigenetic mechanisms. *Pediatr Res* 2007; 61: 64R-67R.
22. Waterland RA, Jirtle RL. Early nutrition, epigenetic changes at transposons and imprinted genes, and enhanced susceptibility to adult chronic diseases. *Nutrition* 2004; 20: 63-8.
23. Dolinoy DC, Weidman JR, Jirtle RL. Epigenetic gene regulation: linking early developmental environment to adult disease. *Reprod Toxicol* 2007; 23: 297-307.
24. Stewart RJ, Preece RF, Sheppard HG. Twelve generations of marginal protein deficiency. *Br J Nutr* 1975; 33: 233-53.
25. Cutfield WS, Hofman PL, Mitchell M, Morison IM. Could epigenetics play a role in the developmental origins of health and disease? *Pediatr Res* 2007; 61: 68R-75R.
26. Santos F, Hendrich B, Reik W, Dean W. Dynamic reprogramming of DNA methylation in the early mouse embryo. *Dev Biol* 2002; 241: 172-82.
27. Reik W, Dean W, Walter J. Epigenetic reprogramming in mammalian development. *Science* 2001; 293: 1089-93.
28. Dolinoy DC. Epigenetic gene regulation: early environmental exposures. *Pharmacogenomics* 2007; 8: 5-10.
29. Drake AJ, Walker BR, Seckl JR. Intergenerational consequences of fetal programming by in utero exposure to glucocorticoids in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005; 288: R34-R38.
30. Burdge GC, Slater-Jeffries J, Torrens C, Phillips ES, Hanson MA, 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: 435-9.
31. Nathanielsz PW. Life in the womb: the origin of health and disease. Promethean Press. Ithaca, N.Y. 1999; 75-91.
32. Anway MD, Cupp AS, Uzumcu M, Skinner MK. Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. *Science* 2005; 308: 1466-9.
33. Anway MD, Leathers C, Skinner MK. Endocrine disruptor vinclozolin induced epigenetic transgenerational adult-onset disease. *Endocrinology* 2006; 147: 5515-23.
34. Anway MD, Memon MA, Uzumcu M, Skinner MK. Transgenerational effect of the endocrine disruptor vinclozolin on male spermatogenesis. *J Androl* 2006; 27: 868-79.
35. Anway MD, Skinner MK. Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors. *Endocrinology* 2006; 147: S43-S49.
36. Pinheiro AR, Salvucci ID, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. Protein restriction during gestation and/or lactation causes adverse transgenerational effects on biometry and glucose metabolism in F1 and F2 progenies of rats. *Clin Sci (Lond)* 2008; 114: 381-92.
37. Lumey LH, Stein AD. Offspring birth weights after maternal intrauterine undernutrition: a comparison within sibships. *Am J Epidemiol* 1997; 146: 810-9.
38. Reusens B, Remacle C. Intergenerational effect of an adverse intrauterine environment on perturbation of glucose metabolism. *Twin Res* 2001; 4: 406-11.
39. Garofano A, Czernichow P, Breant B. In utero undernutrition impairs rat beta-cell development. *Diabetologia* 1997; 40: 1231-4.
40. Benyshek DC, Johnston CS, Martin JF. Glucose metabolism is altered in the adequately-nourished grand-offspring (F3 generation) of rats malnourished during gestation and perinatal life. *Diabetologia* 2006; 49: 1117-19.
41. Benyshek DC, Johnston CS, Martin JF. Post-natal diet determines insulin resistance in fatally malnourished, low birthweight

- rats (F1) but diet does not modify the insulin resistance of their offspring (F2). *Life Sci* 2004; 74: 3033-41.
42. Zambrano E, Martinez-Samayoa PM, Bautista CJ, Deas M, Guillen L, Rodriguez-Gonzalez GL, et al. 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: 225-36.
  43. Guzman C, Cabrera R, Cardenas M, Larrea F, Nathanielsz PW, 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: 97-108.
  44. Zambrano E, Rodriguez-Gonzalez GL, Guzman C, Garcia-Becerra R, Boeck L, Diaz L, et al. A maternal low protein diet during pregnancy and lactation in the rat impairs male reproductive development. *J Physiol* 2005; 563: 275-84.
  45. Bautista CJ, Boeck L, Larrea F, Nathanielsz PW, Zambrano E. Effects of a Maternal Low Protein Isocaloric Diet on Milk Leptin and Progeny Serum Leptin Concentration and Appetitive Behavior in the First 21 Days of Neonatal Life in the Rat. *Pediatr Res* 2008; 63: 358-63.
  46. Lumey LH, Stein AD, Ravelli AC. 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: 23-30.
  47. Thamotharan M, Garg M, Oak S, Rogers LM, Pan G, Sangiorgi F, et al. Transgenerational inheritance of the insulin-resistant phenotype in embryo-transferred intrauterine growth-restricted adult female rat offspring. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007; 292: E1270-E1279.
  48. Boloker J, Gertz SJ, Simmons RA. Gestational diabetes leads to the development of diabetes in adulthood in the rat. *Diabetes* 2002; 51: 1499-506.
  49. McDonald TJ, Franko KL, Brown JM, Jenkins SL, Nathanielsz PW, 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: 469-73.
  50. Benedictsson R, Lindsay RS, Noble J, Seckl JR, Edwards CR. Glucocorticoid exposure in utero: new model for adult hypertension. *Lancet* 1993; 341: 339-41.
  51. Koenen SV, Mecenas CA, Smith GS, Jenkins S, 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: 812-17.
  52. Cleasby ME, Kelly PA, Walker BR, Seckl JR. Programming of rat muscle and fat metabolism by in utero overexposure to glucocorticoids. *Endocrinology* 2003; 144: 999-1007.
  53. Nyirenda MJ, Lindsay RS, Kenyon CJ, Burchell A, 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: 2174-81.
  54. Aerts L, Van Assche FA. Animal evidence for the transgenerational development of diabetes mellitus. *Int J Biochem Cell Biol* 2006; 38: 894-903.
  55. Aerts L, Van Assche FA. Is gestational diabetes an acquired condition? *J Dev Physiol* 1979; 1: 219-25.
  56. Kervran A, Guillaume M, Jost A. The endocrine pancreas of the fetus from diabetic pregnant rat. *Diabetologia* 1978; 15: 387-93.
  57. Aerts L, Holemans K, Van Assche FA. Maternal diabetes during pregnancy: consequences for the offspring. *Diabetes Metab Rev* 1990; 6: 147-67.
  58. Ktorza A, Girard JR, Kinebanyan MF, Picon L. Hyperglycemia 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: 569-74.
  59. Aerts L, Van Assche FA. Islet transplantation in diabetic pregnant rats normalizes glucose homeostasis in their offspring. *J Dev Physiol* 1992; 17: 283-7.
  60. Oh W, Gelardi NL, Cha CJ. Maternal hyperglycemia in pregnant rats: its effect on growth and carbohydrate metabolism in the offspring. *Metabolism* 1988; 37: 1146-51.
  61. Oh W, Gelardi NL, Cha CJ. The cross-generation effect of neonatal macrosomia in rat pups of streptozotocin-induced diabetes. *Pediatr Res* 1991; 29: 606-10.
  62. Van Assche FA, Holemans K, Aerts L. Long-term consequences for offspring of diabetes during pregnancy. *Br Med Bull* 2001; 60: 173-82.
  63. Holemans K, Aerts L, Van Assche FA. Evidence for an insulin resistance in the adult offspring of pregnant streptozotocin-diabetic rats. *Diabetologia* 1991; 34: 81-5.
  64. Holemans K, Van Bree R, Verhaeghe J, Aerts L, Van Assche FA. In vivo glucose utilization by individual tissues in virgin and pregnant offspring of severely diabetic rats. *Diabetes* 1993; 42: 530-6.
  65. Holemans K, Aerts L, Van Assche FA. Absence of pregnancy-induced alterations in tissue insulin sensitivity in the offspring of diabetic rats. *J Endocrinol* 1991; 131: 387-93.
  66. Burdge GC, Lillycrop KA, Jackson AA, Gluckman PD, Hanson MA. The nature of the growth pattern and of the metabolic response to fasting in the rat are dependent upon the dietary protein and folic acid intakes of their pregnant dams and post-weaning fat consumption. *Br J Nutr* 2007; 1-10.
  67. Painter RC, Roseboom TJ, Bleker OP. Prenatal exposure to the Dutch famine and disease in later life: an overview. *Reprod Toxicol* 2005; 20: 345-52.
  68. Lumey LH, Stein AD. In utero exposure to famine and subsequent fertility: The Dutch Famine Birth Cohort Study. *Am J Public Health* 1997; 87: 1962-6.
  69. Lumey LH, Stein AD, Ravelli AC. Timing of prenatal starvation in women and offspring birth weight: an update. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1995; 63: 197.
  70. Dorner G, Plagemann A, Reinagel H. 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: 84-90.
  71. Pettitt DJ, Baird HR, Aleck KA, Bennett PH, Knowler WC. Excessive obesity in offspring of Pima Indian women with diabetes during pregnancy. *N Engl J Med* 1983; 308: 242-5.
  72. Pettitt DJ, Aleck KA, Baird HR, Carragher MJ, Bennett PH, Knowler WC. Congenital susceptibility to NIDDM. Role of intrauterine environment. *Diabetes* 1988; 37: 622-8.
  73. Pembrey ME, Bygren LO, Kaati G, Edvinsson S, Northstone K, Sjostrom M, Golding J. Sex-specific, male-line transgenerational responses in humans. *Eur J Hum Genet* 2006; 14: 159-66.

#### Reimpresos:

#### Dra. Elena Zambrano

Departamento de Biología de la Reproducción

Instituto Nacional de Ciencias Médicas

y Nutrición Salvador Zubirán

Vasco de Quiroga 15,

Col. Sección XVI, Tlalpan,

14080, México, D.F.

Tel.: (55) 5487-0900, Ext. 2417

Fax: (55) 5655-9859

Correo electrónico: zamgon@servidor.unam.mx

Recibido el 09 de mayo de 2008.

Aceptado el 23 de septiembre de 2008.