

## Эпигенетические механизмы внутриутробного программирования заболеваний детей и взрослых

О.П. Ковтун, П.Б. Цывьян

### Epigenetic mechanisms of intrauterine disease programming in children and adults

O.P. Kovtun, P.B. Tsyvian

Уральская государственная медицинская академия;  
Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения РАН;  
Уральский НИИ охраны материнства и младенчества, Екатеринбург

В обзоре проанализированы данные современной литературы о влиянии особенностей внутриутробного развития на формирование соматической патологии детей и взрослых. Высказано предположение о том, что запуск механизмов адаптации, позволяющих плоду выжить в условиях плацентарной недостаточности и ограничения поступления кислорода и питательных веществ, увеличивает вероятность и программирует более раннее развитие гипертонической болезни и метаболического синдрома. Обсуждаются механизмы такого внутриутробного программирования патологии.

*Ключевые слова:* дети, внутриутробная адаптация, соматическая патология.

The review analyzes the data available in the current literature on the impact of intrauterine developmental features on the formation of somatic diseases in children and adults. It is suggested that the startup of adaptive mechanisms that permit the fetus to survive in placental insufficiency and inadequate delivery of oxygen and nutrients increases the probability of and programs the earlier development of hypertensive disease and metabolic syndrome. The mechanisms of this intrauterine programming of abnormalities are discussed.

*Key words:* children, intrauterine adaptation, somatic diseases.

В течение последних 30 лет в мировой литературе появилось более тысячи работ, демонстрирующих связь вероятности развития гипертонии, ишемической болезни сердца, метаболического синдрома, диабета II типа, инсульта, хронического бронхита с ростом и массой человека при рождении. В 80-х годах прошлого века профессор Д. Баркер сформулировал простую, но имеющую фундаментальное значение гипотезу внутриутробного программирования заболеваний, которая предполагает, что ограничения питания и роста плода в ходе внутриутробного развития воздействуют на экспрессию его генов таким образом, что меняют структуру и функцию некоторых органов (печени, почек, нейроэндокринной системы) и увеличивают вероятность развития упомянутых заболеваний после рождения [1–3]. Во внутриутробном периоде развития эти изменения являются адаптационными и обеспечивают выживание плода в условиях уменьшения питания. Однако после рождения (когда приток энергетических субстратов значительно увеличивается) эти же механизмы программируют формирование патологии [3].

Процессы внутриутробного программирования хорошо моделируются у экспериментальных живот-

ных — свиней, овец, мышей, крыс, морских свинок [4–6]. Обычно программирование патологии у потомства хорошо осуществляется за счет диеты матери: ограничения энергетической ценности пищи и/или ограничения потребления белка. У ряда животных (овцы) возникновение патологии потомства возможно при экспериментально вызванной плацентарной недостаточности (эмболизация спиральных артерий матки) или гипертермии [5]. У некоторых животных подобный результат достигается путем введения матери синтетических глюкокортикоидов [7]. Эксперименты на животных позволили сделать предположение, что феномен внутриутробного программирования есть важный биологический механизм, обеспечивающий выживание плода и приспособление, адаптацию его к будущим условиям внеутробной жизни [4].

#### Вероятные направления внутриутробного программирования

Так как внутриутробное развитие представляет собой реализацию генетической программы, определяющей скорость деления клеток, особенности дифференциации и регуляции их работы, то эпигенетические воздействия способны влиять на все три направления реализации генетической программы роста и развития клеток. Рассмотрим подробнее каждое из направлений.

© О.П. Ковтун, П.Б. Цывьян, 2009

*Ros Vestn Perinatol Pediat* 2009; 2:72-76

Адрес для корреспонденции: 620028 Екатеринбург, ул. Репина, д. 3

Первое направление — влияние на скорость пролиферации и количество клеток в органе. При внутриутробном программировании как у грызунов, так и у человека была отмечена стимуляция процесса апоптоза (невоспалительной программируемой гибели клеток)  $\beta$ -клеток островков поджелудочной железы у новорожденных крыс, матери которых получали диету с ограниченным содержанием белков [8]. У плодов человека с синдромом задержки развития при ультразвуковом исследовании показано уменьшение размеров почек с уменьшением общего количества нефронов [9]. При сохраненном почечном кровотоке это предполагает гиперперфузию каждого нефрона и увеличение в последующей жизни темпов гломерулосклероза. На фоне связанного с возрастом постепенного уменьшения числа функционирующих нефронов увеличение скорости гломерулосклероза означает более раннее наступление у таких людей почечной гипертензии [2, 10].

Еще один путь влияния ограничения внутриутробного питания может быть реализован через уменьшение объема клеток скелетной мускулатуры. У новорожденных детей с синдромом задержки развития и малой массой тела было показано снижение темпов деления клеток скелетных мышц [11]. Известно, что критический период для роста мышечной массы плода соответствует 30 нед гестации. Ограничение питания в этом сроке может привести к уменьшению пула стволовых клеток скелетных мышц и обусловить меньшую способность к наращиванию мышечной массы постнатально. После рождения и в первые 5 лет жизни эти дети в условиях нормального и часто повышенного питания быстро догоняют, а иногда обгоняют в массе своих здоровых сверстников. При этом увеличение массы тела у них идет преимущественно за счет увеличения количества жировой ткани, что создает условия для дальнейшего развития метаболического синдрома и инсулинорезистентности [4].

Второе направление — изменение клеточной и тканевой дифференциации подробно описано при внутриутробном программировании. Так, при ограничении питания матери показано уменьшение плотности капилляров в ряде органов плода, что может быть связано с изменением дифференциации клеток эндотелия и последующей эндотелиальной дисфункцией у животных, подвергнутых ограничению энергоснабжения в период пренатального развития [12].

Третье направление внутриутробного программирования может быть реализовано через изменение функции некоторых органов и систем плода. Отмечены значительные аномалии функции печени плодов после внутриутробного ограничения питания, связанные с изменением экспрессии генов, отвечающих за регуляцию активности ряда ферментов,

что ведет к увеличению глюкозосинтетической функции печени [13, 14].

При исследовании ультразвуковых индексов работы сердца плодов с синдромом задержки развития нами были обнаружены изменения, свидетельствующие об артериальной гипертензии плода. У этих же плодов оценка концентрации ренина и ангиотензина I в пуповинной крови, проведенная при рождении, показала увеличение показателей в 1,6 раза по сравнению с нормально развивающимися плодами [15—17].

Таким образом, артериальная гипертензия плода в условиях плацентарной недостаточности является адаптационным механизмом, направленным на увеличение перфузии каждой ворсины плаценты для максимального извлечения из крови матери кислорода и питательных веществ. По сути своей это является единственной стратегией выживания плода, поскольку он получает кислород и питание только через плаценту.

После рождения, когда оксигенация организма уже осуществляется через легкие, а питание — через желудочно-кишечный тракт, гипертензия разрешается в течение первых 10 дней жизни. Однако ренин-ангиотензиновая система уже активирована и в момент полового созревания и ускоренного роста способна проявить себя в виде вегетососудистой дистонии или гипертензии на белый халат.

Программирование патологии потомства зависит не только от степени и характера ограничения внутриутробного питания, но и от момента его возникновения во внутриутробном периоде. В опытах на беременных морских свинок (внутриутробное развитие которых напоминает развитие человека) было показано, что ограничение питания матерей в течение 90% продолжительности беременности приводит к рождению маловесного потомства с гипотрофией. Ограничение питания на более ранних сроках мало воздействует на потомство. У новорожденных морских свинок диспропорционально меньше были печень, скелетные мышцы, селезенка и вилочковая железа. В то же время легкие и мозг не отставали в объеме от таковых органов у нормально развивающихся животных, а процент жировых отложений в области спины и ретроперитонеального пространства относительно объема тела у них был даже выше [18]. Т.е., как ни парадоксально, эти животные рождались с гипотрофией, но с относительным ожирением. Впоследствии у них развивались истинное ожирение и инсулинорезистентность.

Сведения о физиологии ранней адаптации новорожденных к условиям окружающей среды частично отвечают на вопрос: почему при внутриутробном ограничении питания жировые запасы плода остаются в неприкосновенности, в то время как многие внутренние органы и скелетные мышцы не развива-

ются в нужной пропорции. Объясняется это тем, что жировые запасы и, в частности, запасы бурого жира необходимы для поддержания важнейшего гомеостатического параметра – температуры тела в первые минуты жизни. Внутриутробно температуру тела плода поддерживает мать, однако после рождения механизмы терморегуляции ребенка стремительно активируются. Поэтому запасы жира страдают в последнюю очередь, а метаболизм плода в условиях ограничения питания настраивается на максимальное накопление жира. Вероятно, это требование определяет внутриутробную экспрессию тех генов, которые отвечают за преимущественное накопление жировой ткани.

### Механизмы внутриутробного программирования

Какие механизмы должны лежать в основе реализации внутриутробного программирования? Результаты исследования природы этого явления свидетельствуют о возможности существования трех механизмов реализации программирования: так называемых «фенотипической пластичности», «компенсаторного роста» и изменения реакции организма на стрессорные воздействия окружающей среды [6, 19].

### Фенотипическая пластичность

Под фенотипической пластичностью понимают феномен, когда один и тот же генотип в зависимости от условий окружающей среды может сопровождаться экспрессией различных генных последовательностей, что приводит к реализации разных физиологических и морфологических состояний [20]. Эмбриогенез представляет собой тонко скоординированный во времени процесс экспрессии определенных генных последовательностей, синтеза белков, формирования органов и тканей. В результате из зиготы, обладающей к моменту имплантации в стенку матки набором из нескольких тысяч клеток, формируются ткани, представляющие более 200 дифференцированных клеточных типов. Завершенный международный проект «Геном» показал, что геном человека состоит примерно из 30 000 генов [21]. Однако для получения упомянутого количества клеточных типов тканей необходимо не более 6000. Именно такое количество генов экспрессируется в организме человека в нормальных условиях. Генетический контроль транскрипции генов зависит от доступности транскрипционных факторов, модулирующих генную экспрессию в определенные моменты эмбрионального развития. Одновременно на считывание генетической информации в ходе клеточного деления могут оказывать влияние факторы, формально не относящиеся к транскрипции ДНК [22, 23]. Эти факторы называются эпигенетическими, или «надгенетическими». Ими могут быть

физические или химические воздействия. В качестве таких факторов могут выступать изменения концентраций питательных веществ или кислорода в окружающей среде. Для большинства типов клеток эпигенетические факторы могут служить определенными поворотными пунктами в развитии или своеобразными «путевыми стрелками», меняющими ход экспрессии генов и синтеза новых белков. Меняя момент и характер влияния эпигенетических факторов, возможно осуществлять так называемое эпигенетическое репрограммирование, т.е. экспрессию тех генных последовательностей, которые никогда не бываю задействованы в условиях нормального развития, и, наоборот, ингибирование стандартных, штатных генных последовательностей [22, 24].

Наиболее известный и изученный механизм эпигенетического репрограммирования представлен процессом метилирования ДНК [25, 26]. Метилированию подвергается нуклеотид цитозин, а сам процесс осуществляет фермент ДНК-метилтрансфераза. Поскольку фрагменты, подвергающиеся метилированию, непосредственно связаны с активацией или экспрессией гена, то метилирование, как правило, блокирует данный ген [27].

Метилирование имеет большое значение не только для роста и развития эмбриональных тканей. Значительное изменение метилирования ДНК показано в случае ряда патологических состояний, начиная с системной красной волчанки до злокачественного опухолевого роста и шизофрении [21].

Метилирование ДНК также является инструментом генетического репрограммирования в ходе нормального развития. Первая фаза интенсивного метилирования наблюдается непосредственно после оплодотворения яйцеклетки. Активность метилирования уменьшается к моменту формирования бластоцисты [21]. Затем происходит разделение клеток бластоцисты на две группы клеток: линию соматических клеток, формирующих тело будущего эмбриона, и линию трофобластических клеток, дающих начало тканям плаценты. После этого разделения уровень метилирования ДНК начинает увеличиваться в соматических клетках, но остается относительно низким в трофобластических клетках [28].

Влияние условий внутриутробного существования и недостатка питания на реализацию генетической программы показано в случае формирования у экспериментальных животных гипертензии [29], а также ожирения, инсулинорезистентности и диабета II типа [30].

Компенсаторный рост является следующим феноменом, играющим большую роль в реализации программирования. Компенсаторный рост возникает в том случае, когда новорожденный после рождения из условий внутриутробного ограничения питания попадает в условия усиленного пита-

ния. Большинство экспериментальных животных, оказавшихся в подобной ситуации, демонстрируют существенное ускорение роста и увеличение массы тела. Этот усиленный, или как его называют «догонный» рост, нередко приводит к тому, что животное, родившееся с малой массой тела, не только догоняет, но и обгоняет своих сверстников, не страдавших внутриутробно [4]. Учитывая дефицит закладки пула стволовых клеток скелетных мышц и фенотипическую пластичность, набор массы тела при «догонном» росте идет по пути накопления жировой ткани.

Изменение реакции организма на стрессорные воздействия — третий механизм реализации внутриутробного программирования. Исследования на экспериментальных животных показывают, что условия внутриутробного развития влияют не только на структуру и функцию организма, но и на его реакции в ответ на изменения условий окружающей среды [6, 10]. Таким образом, обычные стрессовые воздействия окружения у животных с нормальной массой тела не вызывают у них значительного повышения артериального давления, в то время как у животных с малой массой это ведет к более быстрому развитию артериальной гипертензии. Типичный пример такой реакции — гипертензия «белого халата», являющаяся ранним признаком развития гипертонической болезни у подростков.

### **Пути профилактики развития внутриутробно программируемых заболеваний**

Поскольку в основе этих заболеваний лежат ограничения питания плода, то очевидно, что во внутриутробном периоде профилактические мероприятия должны быть направлены на поддержание функции плаценты и обеспечение адекватного питания матери.

Результаты широких эпидемиологических исследований у детей, проживающих в сельских и городских условиях Индии, дают некоторые представления о принципах такой профилактики после рождения ребенка. В этих исследованиях было показано, что в силу дефектов питания матерей средняя масса новорожденных в сельской местности Индии составляет около 2700 г, в то время как в городах — 2900 г (что тоже недостаточно, согласно европейским стандартам) [31]. Казалось бы, исходя из низкой массы новорожденных, можно ожидать серьезного увеличения процента взрослых, страдающих гипертензией, диабетом и ожирением, в сельской местности. Тем не менее реальная ситуация оказалась абсолютно

противоположной. Распространенность этой патологии в сельских районах в 4 раза меньше, чем в городских. При этом среднее значение индекса массы тела у жителей сельских районов составляет 19 кг/м<sup>2</sup>, а у городских жителей — 23 кг/м<sup>2</sup>. Оказалось, что во взрослом состоянии средняя масса тела горожан была на 30% больше, чем у жителей села, в то время как при рождении этот показатель у горожан был выше всего на 9% в сравнении с новорожденными детьми на селе. Другими словами, в силу более высокого уровня жизни в городе и большей доступности высококалорийной пищи у городских детей феномен «догонного» роста и раннего ожирения имеет возможность реализоваться скорее, чем у сельских детей, которые после рождения продолжают расти в условиях ограниченного питания. Этот вывод подтвержден и в экспериментальных работах. В исследованиях, проведенных на крысах с ограничением питания, было показано, что если это ограничение продолжается в период грудного вскармливания, то у крысят не развиваются феномен «догонного» роста, гипертензия и ожирение [30]. Таким образом, одним из профилактических мероприятий у детей, родившихся с малой массой тела, должна быть сбалансированная диета, содержащая достаточное количество белков и витаминов, но ограниченная по количеству углеводов и жиров.

Второе важное мероприятие — формирование необходимой мышечной массы тела. Так как у детей, страдавших внутриутробно от хронической гипоксии и недостатка питания, ограничен пул стволовых клеток скелетных мышц, то ранняя стимуляция этого пула может быть достаточна, чтобы довести через некоторое время количество скелетных миоцитов до более высокого уровня. Это предупредит нарастание массы тела преимущественно за счет жировой ткани. Таким образом, дети с малой массой тела при рождении должны с раннего возраста заниматься комплексной лечебной физкультурой для ликвидации дефицита мышечной массы.

Завершая обзор литературы, посвященный проблеме внутриутробного программирования, хотелось бы подчеркнуть, что, поскольку указанный феномен представляется важным адаптационным механизмом, использующим физиологические механизмы плода, то коррекция измененных функций организма после рождения должна, в первую очередь, проводиться с использованием естественных физиологических процессов, а не фармакологических воздействий.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Barker D.J., Winter P.D., Osmond C., Margetts B.* Weight in infancy and death from ischemic heart disease. *Lancet* 1989; 129: 577—580.
2. *Barker D.J., Osmond C., Simmonds S.J., Wield G.A.* The relation of small head circumference and thinness at birth to death from cardiovascular disease in adult life. *Br Med J* 1993; 306: 4: 422—426.
3. *Hales C.N., Barker D.J.* The thrifty phenotype hypothesis. *Br Med Bull* 2001; 60: 1: 5—20.
4. *Gluckman P.D., Hanson M.* Developmental origins of disease paradigm: a mechanistic and evolutionary perspective. *Pediatr Res* 2004; 56: 2: 311—317.
5. *Godfrey K.M.* The role of the placenta in fetal programming — a review. *Placenta* 2002; 16: 1: S20—S27.
6. *Schwartz J., Morrison J.L.* Impact and mechanisms of fetal physiological programming. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005; 288: 1: 11—15.
7. *Fowden A.L., Forhead A.J.* Endocrine mechanisms of intrauterine programming. *Reproduction* 2004; 127: 4: 515—526.
8. *Petrik J., Rausens B., Arany E.* A low protein diet alters the balance of islet cell replication and apoptosis in the fetal and neonatal rat and is associated with a reduced pancreatic expression of insulin-like growth factor-II. *Endocrinology* 1999; 140: 6: 4861—4873.
9. *Brenner B.M., Chertow G.M.* Congenital oligonephropathy and the etiology of adult hypertension and progressive renal injury. *Am J Kidney Dis* 1994; 23: 1: 171—175.
10. *Barker D.J.* Fetal programming of coronary heart disease. *Trends Endocrinol Metabol* 2002; 13: 2: 364—368.
11. *Widdowson E.M., McCance A.* A review: new thought on growth. *Pediatr Res* 1975; 9: 2: 154—156.
12. *Brawley L., Poston L., Hanson M.A.* Mechanisms underlying the programming of small artery dysfunction: review of the model using low protein diet in pregnancy in the rat. *Arch Physiol Biochem* 2003; 11: 1: 25—35.
13. *Burns S.P., Desai M., Cohen R.D. et al.* Gluconeogenesis, glucose handling and structural changes in livers of adult offspring of rats partially deprived of protein during pregnancy and lactation. *J Clin Invest* 1977; 100: 6: 1768—1774.
14. *Drake A.J., Walker B.R., Seckl J.R.* Intergenerational consequences of fetal programming by in utero exposure to glucocorticoids in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005; 288: 1: R34—R38.
15. *Цывьян П.Б.* Внутриутробная гипертензия и ремоделирование сердца плода. *Рос физиол журн им. И.М. Сеченова* 2004; 90: 8: 457—460.
16. *Цывьян П.Б., Маркова Т.В., Михайлова С.В.* Компенсаторная гипертензия и ремоделирование сердца плода. От адаптации к патологии. *Рос физиол журн им. И.М. Сеченова* 2004; 90: 12: 1500—1507.
17. *Tsyvian P., Malkin K.V., Wladimiroff J.W.* Assessment of fetal left cardiac isovolumic relaxation time in appropriate and small-for-gestation fetuses. *Ultrasound in Med Biol* 1995; 21: 4: 739—743.
18. *Kind K.L., Roberts C.T., Sohlstrom A.I., Katsman A.* Chronic maternal feed restriction impairs growth but increases adiposity of the fetal guinea pig. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005; 288: 1: R119—R126.
19. *Barker D.J.* Fetal programming of coronary heart disease. *Trends Endocrinol Metabol* 2002; 13: 3: 364—368.
20. *West-Eberhard M.J.* Phenotypic plasticity and the origins of diversity. *Annu Rev Ecol Syst* 1989; 20: 2: 249—278.
21. *Nafee T.M., Farrell W.E., Carroll W.D. et al.* Epigenetic control of fetal gene expression. *Br J Obstet Gynecol* 2008; 115: 1: 158—168.
22. *Reik W., Dean W., Walter J.* Epigenetic reprogramming in mammalian development. *Science* 2001; 293: 6: 1089—1093.
23. *Surani M.A.* Reprogramming of genome function through epigenetic inheritance. *Nature* 2001; 414: 1: 122—128.
24. *Robertson K.D.* DNA methylation and human disease. *Nat Rev Genet* 2005; 6: 597—610.
25. *Strachan T., Read A.* Human Molecular Genetics. 3d edn. London., Garland Science, Taylor and Francis Group 2003.
26. *Trasler J.M.* Gamete imprinting: setting epigenetic patterns for the next generation. *Rep Fert Dev* 2006; 18: 1: 63—69.
27. *Klose R.J., Bird A.P.* Genomic DNA methylation: the mark and its mediators. *Trends Biochem Sci* 2006; 31: 1: 89—97.
28. *Dean W., Ferguson-Smith A.* Genomic imprinting: mother maintains methylation marks. *Curr Biol* 2001; 11: R527—530.
29. *Kwong W.Y., Wild A.E., Roberts P.* Maternal undernutrition during the preimplantation period of rat development causes blastocyst abnormalities and programming postnatal hypertension. *Development* 2000; 127: 6: 4195—4202.
30. *Desai M., Hales C.N.* Role of infant and fetal growth in programming metabolism in later life. *Biol Rev Camb Philos Soc* 1997; 72: 2: 392—398.
31. *Yajnik C.* Interactions of perturbations in intrauterine growth and growth during childhood on the risk of adult-onset disease. *Proc Nutrition Soc* 2000; 59: 3: 257—265.

Поступила 20.11.08