

Dr hab. n. med. Joanna Smyczyńska, <https://orcid.org/0000-0002-2147-9503>  
Centrum Medycyny Spersonalizowanej  
CODE, Łódź

## Okres prekonceptyjny i ciąża jako czas troski o zdrowie prokreacyjne potomstwa – znaczenie mechanizmów epigenetycznych

Preconceptive period and pregnancy as a time of care  
for reproductive health of offspring – significance  
of epigenetic mechanisms

<https://doi.org/10.34766/fetr.v43i3.324>

**Abstrakt:** Zdrowie człowieka uwarunkowane jest współdziałaniem czynników genetycznych i środowiskowych. Obok chorób uwarunkowanych mutacjami genów czy aberracjami chromosomowymi, coraz więcej uwagi przywiązuje się obecnie do zaburzeń wzorców ekspresji genów, czyli modyfikacji epigenetycznych. Kluczowe momenty programowania epigenetycznego to okres gametogenezy i okres preimplantacyjny rozwoju zarodka. Zaburzenia epigenetyczne mogą być dziedziczone w kolejnych pokoleniach. W pracy omówiono wybrane sytuacje, w których zaburzenia mechanizmów epigenetycznych w okresie prekonceptyjnym i podczas ciąży mogą mieć niekorzystny wpływ na zdrowie prokreacyjne potomstwa: otyłość, niedożywienie i hiperandrogenizm u matki, hipotrofię wewnątrzmaciczną, narażenie na działanie związków chemicznych zaburzających gospodarkę hormonalną, a także modyfikacje epigenetyczne plemników oraz wpływ technik zapłodnienia *in vitro* na programowanie epigenetyczne.

**Słowa kluczowe:** zdrowie prokreacyjne, potomstwo, epigenetyka

**Abstract:** Human health is determined by the interaction of genetic and environmental factors. In addition to diseases caused by gene mutations or chromosomal aberrations, more and more attention is currently being paid to gene expression disorders, i.e. epigenetic modifications. The key moments of epigenetic programming are the period of gametogenesis and the preimplantation period of embryo development. Epigenetic disorders are not only the cause of offspring diseases but can also be inherited in next generations. The paper discusses selected situations in which disorders of epigenetic mechanisms during the preconceptive period and during pregnancy may have an adverse effect on the reproductive health of offspring: maternal obesity, malnutrition and hyperandrogenism, intrauterine hypotrophy, exposure to endocrine disrupting chemicals and epigenetic modifications of spermatozoa and the impact of *in vitro* fertilization techniques on epigenetic programming.

**Keywords:** procreative health, offspring, epigenetics

### Wprowadzenie

Zdrowie człowieka w każdym jego aspekcie uwarunkowane jest współdziałaniem czynników genetycznych i środowiskowych. Każdy człowiek w momencie poczęcia

otrzymuje niepowtarzalny, a zarazem odziedziczony w połowie od matki a w połowie od ojca zestaw genów. W ten sposób dziedziczymy nie tylko kolor oczu czy włosów, ale także skłonność do niektórych chorób, czy wręcz konkretne jednostki chorobowe. Możliwa jest sytuacja kiedy oboje zdrowi rodzice są nosicielami mutacji genów warunkujących wystąpienie choroby i dopiero „spotkanie” tych genów powoduje wystąpienie choroby u dziecka, co określane jest jako tzw. dziedziczenie recesywne. Dopóki w rodzinie nie urodzi się chore dziecko najczęściej nie zdajemy sobie sprawy z tego obciążenia genetycznego. Jeśli jednak wiadomo, że w rodzinie zdarzyły się już przypadki chorób dziedzicznych można określić ryzyko poczęcia kolejnego dziecka z tą chorobą, a także zidentyfikować wśród krewnych nosicieli tego samego zmutowanego genu. W wielu przypadkach świadomość możliwości wystąpienia choroby pozwala na podjęcie odpowiednich działań diagnostycznych i terapeutycznych u dziecka, poczynając od okresu płodowego, aby zminimalizować jej objawy i konsekwencje.

Stosunkowo często wrodzone choroby endokrynologiczne i metaboliczne są w okresie płodowym i w momencie urodzenia bezobjawowe. Ich wykrywaniu służą testy przesiewowe wykonywane w ramach programu powszechnych badań przesiewowych u wszystkich urodzonych w Polsce noworodków.

Niektóre choroby uwarunkowane genetycznie związane są aberracjami chromosomowymi, czyli z powstaniem zarodka o nieprawidłowej liczbie lub strukturze chromosomów, np. z tylko jednym prawidłowym chromosomem X w przypadku zespołu Turnera, dodatkowym chromosomem X w zespole Klinefeltera czy z dodatkowym chromosomem 21 w zespole Downa. Możliwe jest wykrycie tych chorób w okresie płodowym na podstawie badań genetycznych. Wiadomo, że ryzyko wystąpienia tych zespołów genetycznych rośnie z wiekiem matki.

Pomijając aspekty bioetyczne interwencji w materiał genetyczny człowieka, na obecnym etapie wiedzy medycznej nie ma możliwości podjęcia działań w celu zapobiegania wystąpieniu defektów genetycznych u dziecka (pomijam tu kwestię „selekcji” zarodków do implantacji przy procedurze *in vitro*, czy aborcje eugeniczne, ale w tych przypadkach obarczony chorobą zarodek czy płód podlega eliminacji, a nie leczeniu).

Od momentu kiedy zapłodniona komórka jajowa, czyli zygota, zaczyna się dzielić, wszystkie komórki powstające w wyniku podziałów mitotycznych mają ten sam materiał genetyczny (jedynie w przypadku gamet, czyli komórek rozrodczych jest on zredukowany o połowę wskutek podziału mejotycznego). Pomimo tego różne grupy komórek somatycznych formują różne narządy i tkanki. Jest to możliwe dzięki różnemu wykorzystaniu przez nie tej samej informacji genetycznej, czyli różnej ekspresji genów. Za utrzymanie stałych wzorców ekspresji genów, pozwalających na prawidłowe różnicowanie komórek i tkanek, odpowiadają mechanizmy epigenetyczne. Kluczowe znaczenie dla programowania epigenetycznego mają dwa momenty: okres gametogenezy (czyli

powstawania komórek jajowych i plemników) oraz okres przed implantacją zarodka (Le Bouc i in., 2010; Marcho i in., 2020). Nie ulega wątpliwości, że zakłócenie ich prawidłowego przebiegu może mieć nieodwracalne konsekwencje dla potomstwa.

W okresie życia płodowego środowiskiem dla rozwijającego się dziecka jest jama macicy, a w szerszym ujęciu organizm matki, który – za pośrednictwem łożyska – dostarcza tlenu i składników odżywczych, a odbiera szkodliwe produkty przemiany materii, zapewnia utrzymanie stałej temperatury i chroni płód przed działaniem niekorzystnych czynników zewnętrznych. Zarówno niedożywienie matki, jak i nadmiar niektórych substancji odżywczych, a w szczególności narażenie na czynniki szkodliwe, mogą niekorzystnie oddziaływać na rozwój płodu, w dużej mierze za pośrednictwem mechanizmów epigenetycznych. O ile w społeczeństwie istnieje świadomość konieczności powstrzymania się przez matkę od picia alkoholu czy palenia papierosów dla urodzenia zdrowego dziecka, o tyle kwestie dotyczące wpływu mechanizmów epigenetycznych na jakość komórek rozrodczych u obojga rodziców, a także na prawidłowy przebieg ciąży i zachodzące w tym okresie programowanie zdrowia (także prokreacyjnego) potomstwa, są w ostatnich latach przedmiotem intensywnych badań naukowych i wymagają szerszego omówienia.

### 1. Podstawowe mechanizmy epigenetyczne

Informacja genetyczna w komórce przechowywana jest w postaci łańcuchów kwasu dezoksyrybonukleinowego (DNA). Każdy gen ma swoje przyporządkowane miejsce w konkretnym chromosomie. Łańcuchy DNA w połączeniu z białkami zasadowymi histonowymi i niehistonowymi tworzą chromatynę. Geny, które znajdują się w gęściej upakowanych (skondensowanych) fragmentach chromatyny są zazwyczaj nieaktywne, natomiast geny w obszarach luźniej upakowanych mogą wykazywać swoją aktywność. Synteza cząsteczek białka wymaga najpierw „przepisania” (transkrypcji) DNA na łańcuch kwasu rybonukleinowego (RNA), a dokładniej – tzw. informacyjnego RNA (ang. messenger RNA, mRNA), a następnie „przetłumaczenia” (translacji) informacji genetycznej na sekwencję aminokwasów. Cząsteczki białka mogą podlegać dalej modyfikacjom potranslacyjnym. Modyfikacje te wpływają na ekspresję genów i aktywność szeregu enzymów (np. acetylacja histonów zmniejsza ich powinowactwo do DNA, powodując rozluźnienie chromatyny, co z kolei zwiększa ekspresję znajdujących się w tym miejscu genów) (Marcho i in., 2020).

Jednym z podstawowych mechanizmów epigenetycznych jest metylacja DNA, która zasadniczo związana jest z hamowaniem ekspresji genów (Marcho i in., 2020). Źródłem grup metylowych są aminokwasy – metionina i cholina, natomiast dla prawidłowego przebiegu metylacji konieczna jest obecność ko-faktorów – kwasu foliowego i witaminy B12. Dostarczenie prawidłowej ilości tych substancji w diecie ma szczególne znaczenie w okresie

cięży. Zaburzenia metylacji DNA odgrywają istotną rolę w patogenezie nowotworów złośliwych, zespołu metabolicznego, chorób układu sercowo-naczyniowego i chorób autoimmunologicznych (Şanlı i Kabaran, 2019).

Kolejnym istotnym regulatorem ekspresji genów są „zapisane” w genomie cząsteczki niekodującego RNA (Marcho i in., 2020). Wśród nich wiele uwagi poświęca się obecnie mikroRNA (miRNA), które łączą się z pasującym do nich (komplementarnym) mRNA, uniemożliwiając w ten sposób proces translacji. Ich rola polega zatem przede wszystkim na degradacji mRNA i hamowaniu syntezy białek (Neri i Edlow, 2016). Dla zobrazowania złożoności mechanizmów epigenetycznych warto jeszcze wspomnieć, że miRNA mogą wpływać na białka pełniące funkcję regulatorów epigenetycznych, a z drugiej strony same podlegają wpływowi metylacji czy acetylacji histonów. Ze względu na to, że niekodujące RNA mogą powodować zmiany ekspresji genów komórek linii zarodkowej, informacja ta może być przekazywana następnym pokoleniom (Marcho i in., 2020).

Szczegółowe omówienie wszystkich mechanizmów epigenetycznych wykracza poza ramy niniejszego opracowania. W dalszej części artykułu omówione zostaną wybrane sytuacje, w których w okresie prekonceptyjnym i podczas ciąży dochodzi do niekorzystnego działania mechanizmów epigenetycznych programujących wystąpienie problemów zdrowotnych u potomstwa, ze szczególnym uwzględnieniem zdrowia prokreacyjnego.

## 2. Otyłość u matki

Rozwój otyłości jest efektem współdziałania predyspozycji genetycznych i czynników środowiskowych. Zwiększone ryzyko nadwagi i otyłości u dzieci obserwuje się zarówno w przypadku otyłości lub nadwagi u matki przed ciążą, jak i nadmiernego przyrostu jej masy ciała w okresie ciąży (Gaillard, 2013; Valsamakis i in., 2015). Otyłość związana jest z występowaniem zaburzeń gospodarki węglowodanowej i lipidowej, które w okresie ciąży skutkują dostarczaniem nadmiernej ilości energii w postaci glukozy i tłuszczów do łożyska. Dieta bogata w cukry i tłuszcze w okresie ciąży prowadzi nie tylko do gwałtownego wzrostu masy ciała płodu, ale też do przeprogramowania metabolizmu i regulacji łaknienia. Dodatkowo hiperinsulinemia i obniżone stężenie leptyny (hormonu regulującego apetyt) wpływają na rozwój neuronów podwzgórza u płodu odpowiedzialnych za nawyki żywieniowe w późniejszych okresach życia. Otyłość jest również związana z aktywacją cytokin prozapalnych, co w połączeniu z hiperlipidemią, ma niekorzystny wpływ na rozwój wątroby, mózgu, mięśni szkieletowych i trzustki płodu (Şanlı i Kabaran, 2019).

Otyłość u matki powoduje szkodliwe zmiany ekspresji genów płodu w kluczowych okresach jego rozwoju za pośrednictwem mechanizmów epigenetycznych. Rzutują one nie tylko na cały okres życia potomstwa, ale mogą być przekazywane kolejnym pokoleniom (Elshenawy i Simmons, 2016). Ekspozycja płodu na działanie czynników hormonalnych

i metabolicznych związanych ze stanem odżywienia matki powoduje wzrost ekspresji genów związanych z adipogenezą (tworzeniem komórek tkanki tłuszczowej – adipocytów) i lipogenezą (syntezą związków lipidowych, przede wszystkim trójglicerydów) w tkance tłuszczowej płodu, co może prowadzić do rozwoju otyłości w późniejszych okresach życia (Muhlhausler i in., 2007).

Dieta bogatotłuszczowa w okresie ciąży powoduje zaburzenia metylacji DNA w wątrobie płodu, wpływa na ekspresję genu proopiomelanokortyny (POMC, neuropeptyd o kluczowym znaczeniu dla regulacji bilansu energetycznego) w podwzgórzu, a także genów receptorów POMC, leptyny i neuropeptydu Y (NPY, substancja biorąca udział w regulacji łaknienia) u potomstwa. W badaniach na zwierzętach stwierdzono również związek diety bogatotłuszczowej u matki w okresie ciąży z rozwojem insulinooporności u potomstwa (Şanlı i Kabaran, 2019).

Wykazano, że dieta matki może modyfikować ekspresję miRNA, co w konsekwencji wpływa na gospodarkę lipidową, rozwój insulinooporności oraz procesy zapalne. Zarówno w badaniach na zwierzętach, jak i prowadzonych u ludzi potwierdzono związek zmian ekspresji konkretnych miRNA u potomstwa (utrzymujących się także w wieku dorosłym) z dietą wysokotłuszczową u matki w ciąży i w okresie laktacji, a także z otyłością matki przed ciążą (Zhang i in., 2009; Benatti i in., 2014; Enquobahrie i in., 2017).

Poza zwiększonym ryzykiem cukrzycy ciążowej, nadciśnienia tętniczego i stanu przedrzucawkowego, otyłość u kobiety ciężarnej wiąże się ze wzrostem ryzyka wad rozwojowych płodu, zmniejszoną miogenezą (czyli gorszym rozwojem mięśni), a także uzyskaniem przez dziecko niższej oceny w skali Apgar po porodzie (co najczęściej świadczy o niedotlenieniu w okresie okołoporodowym), jest także czynnikiem predysponującym dziecko do rozwoju w przyszłości niealkoholowego stłuszczenia wątroby, nadciśnienia i chorób układu sercowo-naczyniowego (Valsamakis in., 2015; Şanlı i Kabaran, 2019). Insulinooporność u matki jest czynnikiem najsilniej korelującym z masą tłuszczową płodu w momencie porodu, zwiększa także ryzyko wystąpienia insulinooporności u potomstwa (Valsamakis i in., 2015).

Od dawna wiadomo, że u otyłych mężczyzn istnieje wyższe ryzyko niepłodności, a wyższa wartość wskaźnika masy ciała (BMI) koreluje z obniżeniem stężenia testosteronu, pogorszeniem parametrów nasienia (przede wszystkim z obniżeniem ruchliwości plemników) i obniżeniem płodności (Jensen i in., 2004; Baydilli i in., 2020). W badaniach eksperymentalnych wykazano, że u myszy dieta wysokotłuszczowa u matki w okresie ciąży powoduje obniżenie stężenia testosteronu i liczby plemników oraz zwiększone ryzyko niepłodności u męskiego potomstwa w wieku dorosłym, spotęgowane stosowaniem podobnej diety w okresie postnatalnym (Mao i in., 2018), a otyłość i cukrzyca u matki w ciąży zaburzają metylację DNA plemników u dorosłych samców (Ge i in., 2014). Wydaje się, że podobne mechanizmy mogą mieć istotne znaczenie także u ludzi.

### 3. Niedożywienie u matki i hipotrofia wewnątrzmaciczna płodu

Ciąża jest okresem, w którym organizm matki przygotowuje płód do funkcjonowania w środowisku zewnętrznym. W programowaniu mechanizmów radzenia sobie z działaniem niekorzystnych czynników odgrywają zmiany epigenetyczne: metylacja DNA, modyfikacja histonów oraz aktywacja bądź wyciszenie genów z udziałem niekodującego RNA (Goyal i in., 2019). Jednak te same procesy adaptacyjne mogą okazać się niekorzystne, jeśli potomstwo przygotowane w okresie płodowym na niedożywienie będzie funkcjonować w warunkach prawidłowej bądź zwiększonej podaży pożywienia.

W badaniach u owiec stwierdzono, że niedożywienie u matki w okresie perikonceptyjnym powoduje zaburzenia metylacji DNA u męskiego potomstwa prowadzące do zmniejszenia ruchliwości plemników, zwiększonej liczby komórek niedojrzałych oraz zwiększonej fragmentacji DNA. W procedurze *in vitro* plemniki te wykazywały zmniejszoną zdolność do zapłodnienia komórki jajowej, obserwowano także obniżenie odsetka powstałych embrionów, które osiągały stadium blastocysty (Toschi i in., 2020).

Należy mieć na uwadze, że obok niedoborów energetycznych niekorzystny wpływ na rozwój płodu mogą mieć także niedobory jakościowe dotyczące poszczególnych składników odżywczych, m. in. żelaza, wapnia, jodu, witamin D i B12 oraz kwasów omega-3. Stanowi to szczególne wyzwanie dla osób pozostających – z różnych powodów – na różnego typu dietach eliminacyjnych (Sebastiani i in., 2019).

Jedną z najczęstszych konsekwencji niedożywienia matki w okresie ciąży jest wewnątrzmaciczne zahamowanie wzrostu płodu (ang. *intrauterine growth restriction* – IUGR). Może ono być spowodowane czynnikami matczynymi, płodowymi bądź środowiskowymi. Wśród czynników matczynych obok niedożywienia istotną rolę w patogenezie IUGR odgrywają choroby przewlekłe matki, zbyt częste lub zbyt rzadkie porody, niekorzystne warunki socjo-ekonomiczne a także alkoholizm, palenie papierosów i używanie narkotyków przez ciężarną kobietę.

Na przełomie XX i XXI wieku, Ibáñez i in. (2000, 2002) stwierdzili u dziewczynek z IUGR mniejsze wymiary macicy i jajników w okresie pokwitania oraz zwiększoną częstość cykli bezowulacyjnych względem dziewcząt z prawidłową masą urodzeniową. Zaburzenia owulacji obserwowano nawet u dziewcząt regularnie miesiączkujących, przy czym były one związane z hiperinsulinemią, insulinoopornością, dyslipidemią i subklinicznym hiperandrogenizmem oraz deficytem beztłuszczowej masy ciała i nadmiarem tkanki tłuszczowej w obrębie tułowia i brzucha, stwierdzanymi także u dziewcząt nieotyłych.

Przegląd aktualnego piśmiennictwa dotyczącego endokrynologicznych aspektów IUGR przedstawili niedawno Korpysz i Szalecki (2019). W aspekcie zdrowia prokreacyjnego najbardziej istotne wydają się informacje dotyczące zwiększonego ryzyka insulinooporności u dzieci z IUGR. Zgodnie z klasyczną hipotezą „oszczędnego fenotypu” przedstawioną

przez Barkera (2002), insulinooporność tkanek obwodowych ma być mechanizmem adaptacyjnym zapewniającym redystrybucję glukozy do mózgu w przypadku niedożywienia płodu. W patogenezie tego zjawiska należy uwzględnić wpływ polimorfizmów szeregu genów, m. in. genu insuliny, zaburzenia dotyczące receptora insuliny, obniżone stężenia transporterów glukozy, wpływ stresu, czy zwiększoną ekspresję steroidogenezy nadnerczowej (Korpysz i Szalecki, 2019). Mechanizmy epigenetyczne związane z insulinoopornością, przebadane u myszy, obejmują zmienioną ekspresję niektórych miRNA prowadzącą do zmniejszonej utylizacji glukozy (Zhou i in., 2016), a także dysfunkcję komórek  $\beta$  trzustki i zmieniony metabolizm insuliny, stanowiące istotne czynniki ryzyka cukrzycy typu 2 (Vaiserman i Lushchak, 2019).

W badaniach u samic szczurów z IUGR spowodowanym przewlekłym stanem zapalnym u matki stwierdzono mniejszą liczbę pęcherzyków jajnikowych, prawdopodobnie w związku z ich przedwczesną apoptozą, a także niższe stężenia AMH niż w grupie kontrolnej (Shalom-Paz i in., 2017). Z kolei w badaniu samców dzików urodzonych z IUGR stwierdzono pogorszenie jakości nasienia (mniejszą objętość nasienia i liczbę plemników niż w grupie kontrolnej), związane z niekorzystnym działaniem mechanizmów epigenetycznych (Lin i in., 2017).

#### 4. Hiperandrogenizm i zespół policystycznych jajników u matki

Zespół policystycznych jajników (ang. *polycystic ovary syndrome*, PCOS) jest jednym z najczęstszych zaburzeń hormonalnych i metabolicznych u kobiet, jego częstość w okresie premenopauzalnym szacowana jest na 10-20%. W badaniach asocjacyjnych całego genomu (ang. *genome-wide association studies* - GWAS) wytypowano 17 genów związanych z ryzykiem PCOS, jednak pomimo wysokiej częstości dziedziczenia PCOS (około 70%) były one zidentyfikowane jedynie w 10% przypadków tej choroby. W tej sytuacji szczególną uwagę zwrócono na możliwe znaczenie w dziedziczeniu PCOS mechanizmów epigenetycznych, w szczególności związanych z ekspozycją na androgeny w życiu płodowym. Wiadomo, że testosteron jest hormonem odpowiedzialnym za różnicowanie płciowe wielu tkanek i narządów w okresie życia płodowego, którego działanie zachodzi za pośrednictwem regulacji metylacji DNA. Jednocześnie wykazano, że w PCOS zaburzenia metylacji dotyczą tych samych genów, które uznane zostały za związane z ryzykiem tego zespołu w badaniach z zastosowaniem techniki GWAS. Wśród potwierdzonych bądź postulowanych mechanizmów wymienia się hipometylację genów receptora LH/hCG, odpowiadającą za wzmożoną sekrecję androgenów pod wpływem pulsów LH oraz odrębności w zakresie metylacji genów AMH, receptora AMH i receptora insuliny. U córek matek z PCOS stwierdza się po urodzeniu podwyższone stężenia AMH, a hiperandrogenizm i insulinooporność należą do obrazu PCOS w późniejszych okresach

życia. Obecnie przyjmuje się, że w patogenezie PCOS mają udział czynniki genetyczne, epigenetyczne i środowiskowe, modyfikowane poprzez styl życia (Abbott i in., 2019).

### **5. Wpływ insulinooporności na płodność**

We wszystkich dotychczas omawianych sytuacjach wspólnym czynnikiem patogenetycznym istotnym dla zdrowia prokreacyjnego jest insulinooporność. Insulina obok regulacji metabolizmu glukozy jest hormonem bezpośrednio modulującym steroidogenezę jajnikową, przy czym wykazano, że u kobiet z PCOS regulacja ta jest zachowana nawet pomimo oporności receptorowej na działanie metaboliczne insuliny, a w tej sytuacji hiperinsulinemia powoduje zwiększone wydzielanie androgenów w jajnikach. Pomimo, że wpływ insuliny na sekrecję gonadotropin nie został jeszcze jednoznacznie wyjaśniony wiadomo, że poprawa wrażliwości na insulinę u kobiet z PCOS związana jest z powrotem owulacji (Diamanti-Kandarakis i Dunaif, 2012). U mężczyzn hiperinsulinemia i insulinooporność mogą być przyczyną zaburzeń reprodukcyjnych i metabolicznych prowadzących do oligozoospermii (Al-Daghri i in., 2012).

### **6. Narażenie na niekorzystne czynniki środowiskowe w okresie ciąży**

Od wielu lat ukazują się doniesienia o szkodliwym wpływie obecnych w środowisku substancji o działaniu antyandrogennym lub estrogenym na rozwój narządów płciowych płodów męskich w okresie życia wewnątrzmacicznego i późniejszą płodność mężczyzn oraz zwiększone ryzyko procesów nowotworowych. Wśród związków chemicznych zaburzających gospodarkę hormonalną (ang. endocrine disrupting chemicals, EDC) wymienić należy ftalany (estry kwasu ftalowego używane w produkcji tworzyw sztucznych, wykazujące działanie antyandrogenne), bisfenol A (związek z grupy fenoli, składnik żywic epoksydowych i tworzyw sztucznych), dioksyny (polichlorowane pochodne węglowodorów aromatycznych, powstające m. in. w procesie spalania śmieci, obecne w wyższych stężeniach w produktach pochodzenia zwierzęcego, kumulujące się w tkance tłuszczowej zwierząt i ludzi), pestycydy (składniki środków ochrony roślin, mogą blokować receptor testosteronu lub konwersję testosteronu do dihydrotestosteronu, która ma istotne znaczenie dla prawidłowego rozwoju narządów płciowych w kierunku męskim). Ekspozycja matki w okresie ciąży na działanie tych i szeregu innych EDC może powodować wystąpienie wad rozwojowych u płodów męskich – wnetrostwa i spodziectwa, a w życiu dorosłym obniżenie jakości nasienia prowadzące do obniżenia płodności lub niepłodności, a także zwiększone ryzyko nowotworów jądra, prostaty i gruczołu piersiowego (Beszterda i Frański, 2018; Kolasa-Wołoskiuk i Wiszniewska, 2018). W ośrodku łódzkim badania nad zagadnieniami dotyczącymi dysgenezy jąder i nowotworów wywodzących się z komórek płciowych



prowadzone są pod kierunkiem Prof. Słowikowskiej-Hilczer, do której publikacji powinny sięgnąć osoby zainteresowane szerzej tą tematyką (Słowikowska-Hilczer, 2014; Słowikowska-Hilczer i in., 2013, 2015).

Badania z ostatnich lat pokazały, że jednym z mechanizmów szkodliwego działania ekspozycji na alkohol w okresie ciąży jest zaburzenie wzorca metylacji co najmniej kilku genów (Kitsiou-Tzeli i Tzetis, 2017).

### **7. Modyfikacje epigenetyczne plemników a zdrowie i płodność potomstwa**

Wiadomo, że pełny cykl powstawania i dojrzewania plemnika trwa 72 dni. Wszystkie niekorzystne zdarzenia zdrowotne w tym okresie mogą zatem wpływać na jakość nasienia, nawet jeśli choroba była krótkotrwała. To samo dotyczy stosowania niektórych leków czy innych procedur medycznych (np. radioterapii). Z tego względu, przy generalnej zasadzie, że optymalne warunki do poczęcia są przywrócone po około 2,5 miesiącach, w przypadku wybranych procedur medycznych (np. chemioterapii, leczenia jodem radioaktywnym <sup>131</sup>I) istnieją ściśle zalecenia dotyczące konieczności odłożenia w czasie poczęcia na jeszcze dłuższy okres czasu. Również w przypadku podjęcia leczenia mającego poprawić parametry nasienia nie należy się spodziewać jego pełnej skuteczności wcześniej niż po uzyskaniu pełnej wymiany populacji plemników, tj. po około 3 miesiącach.

W ostatnich latach zwrócono szczególną uwagę na wpływ działania czynników środowiskowych w okresie prekonceptyjnym na płodność u mężczyzn, ale także na stan zdrowia ich potomstwa, a nawet kolejnych pokoleń. Ostatnio ukazała się obszerna praca Marcho i in. (2020) na temat wpływu środowiska na zjawiska epigenetyczne dotyczące plemników. W obecnym opracowaniu zostaną skrótkowo przedstawione tylko wybrane z omawianych tam zagadnień. Okres spermatogenezy uważany jest za „okno podatności” na spowodowane działaniem niekorzystnych czynników środowiskowych zaburzenia o podłożu epigenetycznym. W części przypadków nieprawidłowy profil epigenetyczny jest przyczyną niepłodności męskiej, prowadząc do oligozoospermii czy upośledzenia ruchomości plemników, ale jeśli dojdzie do poczęcia, to jest on przekazywany potomstwu. Nieprawidłowe wzorce metylacji DNA stwierdzane są częściej u mężczyzn z niepłodnością i gorszymi parametrami nasienia niż u mężczyzn z normozoospermia. U mężczyzn z obniżoną płodnością stwierdzono także nieprawidłowości dotyczące białek histonowych.

W świetle tych informacji zrozumiałe jest, że ekspozycja ojca na działanie EDC w okresie prekonceptyjnym może mieć niekorzystny wpływ nie tylko na płodność, ale także na zdrowie potomstwa. Narażenie na działanie ftalanów wpływa na pogorszenie jakości nasienia, wydłużenie czasu do uzyskania ciąży i pogorszenie jakości embrionów. Ftalany wpływają na metylację genów kluczowych dla wczesnej embriogenezy, bisfenol A oddziałuje na metylację histonów, dioksyny obok bezpośredniego niekorzystnego

wpływu na spermatogenezę i uszkodzenia najądrzy zaburzają także epigenom plemników. Pełne wyjaśnienie omawianych zjawisk wymaga jeszcze dalszych badań (Marcho in., 2020).

W badaniach na modelu mysim stwierdzono, że przewlekła ekspozycja na alkohol u samców w okresie prekonceptyjnym nie powoduje co prawda istotnych zaburzeń ich płodności, ale prowadzi do wydłużenia czasu trwania ciąży, zahamowania rozwoju płodów i niewydolności łożyska oraz zaburzeń gospodarki węglowodanowej pod postacią zwiększonej wrażliwości na insulinę u potomstwa płci męskiej, a wyższymi wartościami glikemii na czczo i w teście tolerancji glukozy u potomstwa płci żeńskiej (Chang i in., 2019). Wykazano, że przewlekła ekspozycja na alkohol powoduje u samców nawet 30% wzrost ekspresji niektórych miRNA, co wskazuje na udział mechanizmów epigenetycznych w patogenezie omawianych zaburzeń (Bedi i in., 2019). Palenie papierosów wiąże się z zaburzeniami metylacji DNA dotyczącymi zarówno tkanek somatycznych, jak i plemników, co może być przyczyną zaburzeń spermatogenezy. W modelu mysim wykazano związek zaburzeń zachowania i deficytów uczenia się w 2 kolejnych pokoleniach potomstwa z ojcowskim narażeniem na działanie dymu tytoniowego. Jeszcze poważniejsze konsekwencje związane są z używaniem substancji psychoaktywnych. Zaburzenia epigenetyczne spowodowane działaniem kanabinoidów są tak wyraźne, że profil metylacji DNA plemników może być wykorzystywany jako marker ekspozycji na tetrahydrokanabinol (główny związek psychoaktywny zawarty w konopiach) (Marcho i in., 2020).

Istotny jest także wpływ stanu odżywienia i diety ojca w okresie prekonceptyjnym na zdrowie potomstwa. W modelu mysim stosowanie diety niskobiałkowej u samców wykazuje jedynie niewielki wpływ na metylację DNA plemników i profil niekodujących RNA, ale może zaburzać rozwój embrionów w okresie preimplantacyjnym. Co ciekawe, u samic po zapłodnieniu nasieniem pochodzących od samców pozostających na diecie niskobiałkowej obserwowano zaburzenie „remodelingu” odpowiedzi immunologicznej i unaczynienia macicy. Z kolei dieta bogatotłuszczowa ojca powoduje zmiany profilu miRNA i innych niekodujących RNA plemników, które mogą być przyczyną zaburzeń metabolicznych dziedziczonych przez potomstwo. Rzuca to nowe światło na możliwości dziedziczenia chorób nabytych, określanej mianem „pamięci epigenetycznej”. W plemnikach mężczyzn z nadwagą i otyłością stwierdzono również zmieniony profil metylacji DNA i ekspresję niektórych RNA w porównaniu z plemnikami mężczyzn z prawidłową masą ciała. Zmiany te były odwracalne po redukcji masy ciała (co oczywiście nie ma wpływu na stan zdrowia potomstwa poczętego wcześniej). Ważnym czynnikiem jest także odpowiednia podaż mikroelementów, czego wymownym przykładem stanowi poprawa parametrów nasienia podczas suplementacji kwasu foliowego, przy czym odnosi się to przede wszystkim do młodych mężczyzn z polimorfizmem genu reduktazy metylenotetrahydrofolianowej (MTHFR). Uważa się, że wpływ zaburzeń profilu epigenetycznego plemników na zdrowie

potomstwa jest niezależny od wpływu czynników matczynych, ale mogą się one sumować (Marcho in., 2020).

## 8. Techniki wspomaganego rozrodu

Stosowanie procedury zapłodnienia *in vitro* (ang. *in vitro fertilization*, IVF) powoduje niewątpliwie duże zmiany środowiska, w którym przebywają komórki jajowe i plemniki oraz zarodki w kluczowych dla programowania epigenetycznego najwcześniejszych stadiach rozwoju. Badacze japońscy (Hattori i in., 2019) w materiale obejmującym ponad 900 dzieci z rzadkimi chorobami spowodowanymi zaburzeniami piętnowania genomowego (tj. z zespołami: Bekwitha-Wiedemanna, Angelmana, Pradera-Willeigo i Silver-Russell) stwierdzili kilkakrotny wzrost częstości tych chorób wśród dzieci poczętych z zastosowaniem IVF. U podłoża wszystkich czterech wymienionych zespołów chorobowych leżą zaburzenia metylacji DNA, a zatem – jak podkreślają autorzy cytowanej pracy – może to być związane z wpływem technik manipulacji wykorzystywanych podczas IVF, a także ze składem podłoża hodowlanego, w którym umieszczona jest zapłodniona komórka jajowa. Warto zacytować w tym miejscu pracę autorów polskich sprzed 10 lat (Olszewska i Kurpisz, 2010), dotyczącą tych samych zespołów chorobowych, w której już wtedy zwrócono uwagę na ryzyko zaburzeń piętnowania związane z takimi procedurami jak hipersytmulacja jajników, dojrzewanie oocytów *in vitro*, pozyskiwanie do rozrodu niedojrzałych plemników czy stosowanie docytoplazmatycznej iniekcji plemnika (ang. *intracytoplasmatic sperm injection*, ICSI).

Na początku 2020 roku ukazało się opracowanie dotyczące zdrowia dzieci poczętych z wykorzystaniem technologii *in vitro* (von Wolff i Haaf, 2020). Autorzy tej pracy na podstawie przeglądu wcześniejszych publikacji przedstawili dane świadczące o zwiększonej częstości wad wrodzonych serca, wad układu mięśniowo-szkieletowego i moczowopłciowego oraz porodów przedwczesnych i niskiej urodzeniowej masy ciała, zaburzeń rozwoju poznawczego, a także nadciśnienia tętniczego, zaburzeń gospodarki węglowodanowej i lipidowej w późniejszych okresach życia u osób poczętych z wykorzystaniem IVF. Ryzyko wystąpienia tych niekorzystnych sytuacji związane jest zarówno z czynnikami powodującymi niepłodność, jak i z samą technologią IVF. Wniosek z tej pracy, stanowiący swego rodzaju wezwanie do przyczynowego leczenia niepłodności, warto przytoczyć w oryginalnym brzmieniu: „*For the well-being of the children to be conceived, IVF therapy should only be carried in cases of infertility that cannot be treated by any other means, as the precise causes of the risks of IVF to child health are unclear*” (Dla dobra dzieci, które mają być poczęte, terapia IVF powinna być stosowana jedynie w tych przypadkach niepłodności, które nie mogą być leczone w żaden inny sposób, ponieważ dokładne przyczyny zagrożeń dla zdrowia dziecka związanych z IVF są niejasne) (von Wolff i Haaf, 2020, s. 23).

## Podsumowanie

Omówione zagadnienia wskazują na stały postęp w rozumieniu ludzkiej płodności i mechanizmów dziedziczenia. Wiedza ta powinna przyczynić się do jeszcze większej świadomej troski o zdrowie nie tylko matki w czasie ciąży, ale także obojga rodziców w okresie planowania poczęcia dziecka.

## Bibliografia:

- Abbott, D.H., Kraynak, M., Dumesic, D.A. & Levine, J.E. (2019). In utero Androgen Excess: A Developmental Commonality Preceding Polycystic Ovary Syndrome?, *Frontiers of Hormone Research*, 53, 1–17. <https://doi.org/10.1159/000494899>.
- Al-Daghri, N.M., Al-Attas, O.S., Alokail, M.S., Alkharfy, K.M., El-Kholie, E., Yousef, M., Al-Othman, A., Al-Saleh, Y., Sabico, S., Kumar, S. & Chrousos, G. P. (2012). Increased vitamin D supplementation recommended during summer season in the gulf region: a counterintuitive seasonal effect in vitamin D levels in adult, overweight and obese Middle Eastern residents, *Clinical Endocrinology*, 76, 346–350. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2011.04219.x>.
- Barker, D.J.P. (2002). Fetal programming of coronary heart disease, *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 13, 364–368. [https://doi.org/10.1016/s1043-2760\(02\)00689-6](https://doi.org/10.1016/s1043-2760(02)00689-6)
- Baydilli, N., Selvi, İ., Akınsal, E.C., Zararsız, G.E. & Ekmekçioğlu, O. (2020). How does body mass index affect semen parameters and reproductive hormones in infertile males?, *Turkish Journal of Urology*, 46, 101–107. <https://doi.org/10.5152/tud.2020.19243>.
- Bedi, Y., Chang, R.C., Gibbs, R., Clement, T.M. & Golding, M.C. (2019). Alterations in sperm-inherited noncoding RNAs associate with late-term fetal growth restriction induced by preconception paternal alcohol use, *Reproductive Toxicology*, 87, 11–20. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2019.04.006>.
- Benatti, R.O., Melo, A.M., Borges, F.O., Ignacio-Souza, L. M., Simino, L.A.P., Milanski, M., Velloso, L.A., Torsoni, M.A. & Torsoni, A.S. (2014). Maternal high-fat diet consumption modulates hepatic lipid metabolism and microRNA-122 (miR-122) and microRNA-370 (miR-370) expression in offspring, *The British Journal of Nutrition*, 111, 2112–2122. <https://doi.org/10.1017/S0007114514000579>.
- Beszterda, M., Frański, R. (2018). Endocrine disruptor compounds in environment: As a danger for children health, *Pediatric Endocrinology Diabetes and Metabolism*, 24, 88-95. <https://doi.org/10.18544/PEDM-24.02.0107>.
- Le Bouc, Y., Rossignol, S., Azzi, S., Steunou, V., Netchine, I. & Gicquel, C. (2010). Epigenetics, genomic imprinting and assisted reproductive technology, *Annales d'Endocrinologie*, 71, 237–238. <https://doi.org/10.1016/j.ando.2010.02.004>.
- Chang, R. C., Wang, H., Bedi, Y. & Golding, M. C. (2019). Preconception paternal alcohol

- exposure exerts sex - specific effects on offspring growth and long term metabolic programming, *Epigenetics & Chromatin*, 12: 9. <https://doi.org/10.1186/s13072-019-0254-0>.
- Diamanti-Kandarakis, E. & Dunaif, A. (2012). Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome revisited: An update on mechanisms and implications, *Endocrine Reviews*, 33, 981–1030. <https://doi.org/10.1210/er.2011-1034>.
- Elshenawy, S. & Simmons, R. (2016). Maternal obesity and prenatal programming, *Molecular and Cellular Endocrinology*, 435, 2–6. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2016.07.002>.
- Enquobahrie, D. A., Wander, P. L., Tadesse, M. G., Qiu, C., Holzman, C. & Williams, M. A. (2017). Maternal pre-pregnancy body mass index and circulating microRNAs in pregnancy, *Obesity Research & Clinical Practice*, 11, 464–474. <https://doi.org/10.1016/j.orcp.2016.10.287>.
- Gaillard, R. (2013). Risk Factors and Outcomes of Maternal Obesity and Excessive Weight Gain During Pregnancy, *Obesity*, 21, 046–1055. doi: 10.1002/oby.20088.
- Ge, Z. J., Liang, Q. X., Hou, Y., Han, Z. M., Schatten, H., Sun, Q. Y. & Zhang, C. L. (2014). Maternal obesity and diabetes may cause DNA methylation alteration in the spermatozoa of offspring in mice, *Reproductive Biology and Endocrinology*, 12, 1–8. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-12-29>.
- Goyal, D., Limesand, S. W. & Goyal, R. (2019). Epigenetic responses and the developmental origins of health and disease, *Journal of Endocrinology*, 242, T105–T119. <https://doi.org/10.1530/JOE-19-0009>.
- Hattori, H., Hiura, H., Kitamura, A., Miyauchi, N., Kobayashi, N., Takahashi, S., Okae, H., Kyono, K., Kagami, M., Ogata, T. & Arima, T. (2019). Association of four imprinting disorders and ART, *Clinical Epigenetics*, 11, 1–12. doi: 10.1186/s13148-019-0623-3
- Ibáñez, L., Potau, N., Enriquez, G. & de Zegher, F. (2000). Reduced uterine and ovarian size in adolescent girls born small for gestational age, *Pediatric Research*, 47, 575–577. <https://doi.org/10.1203/00006450-200005000-00003>.
- Ibáñez, L., Potau, N., Ferrer, A., Rodriguez-Hierro, F., Marcos, M. V. & De Zegher, F. (2002). Anovulation in eumenorrheic, nonobese adolescent girls born small for gestational age: insulin sensitization induces ovulation, increases lean body mass, and reduces abdominal fat excess, dyslipidemia, and subclinical hyperandrogenism, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 87, 5702–5705. <https://doi.org/10.1210/jc.2002-020926>.
- Jensen, T. K., Andersson, A.-M., Jørgensen, N., Andersen, A.-G., Carlsen, E., Petersen, J. H. & Skakkebaek, N. E. (2004). Body mass index in relation to semen quality and reproductive hormones among 1,558 Danish men, *Fertility and Sterility*, 82, 863–870. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2004.03.056>.
- Kitsiou-Tzeli, S. & Tzetis, M. (2017). Maternal epigenetics and fetal and neonatal growth,

- Current Opinion in Endocrinology, Diabetes, and Obesity*, 24, 43–46.  
<https://doi.org/10.1097/MED.0000000000000305>.
- Kolasa-Wołoskiuk, A., Wiszniewska, B. (2018). Substancje chemiczne zaburzające gospodarkę hormonalną a zdrowie reprodukcyjne mężczyzn, *Postępy Andrologii Online*, 5, 13–27.  
<https://doi.org/10.26404/PAO>.
- Korpysz, A. & Szalecki, M. (2019). What's new in IUGR from the endocrinological point of view? *Pediatric Endocrinology, Diabetes and Metabolism*, 25, 188–193.  
<https://doi.org/10.5114/pedm.2019.91547>.
- Lin, Y., Cheng, X., Sutovsky, P., Wu, D., Che, L.-Q., Fang, Z.-F., Xu, S.-Y., Ren, B. & Dong, H.J. (2017). Effect of intra-uterine growth restriction on long-term fertility in boars, *Reproduction, Fertility, and Development*, 29, 374–382.  
<https://doi.org/10.1071/RD15130>.
- Mao, J., Pennington, K. A., Talton, O.O., Schulz, L. C., Sutovsky, M., Lin, Y. & Sutovsky, P. (2018). In Utero and Postnatal Exposure to High Fat , High Sucrose Diet Suppressed Testis Apoptosis and Reduced Sperm Count, *Scientific Reports*, 8, 1–11.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-25950-3>.
- Marcho, C., Oluwayiose, O.A. & Pilsner, J. R. (2020). The preconception environment and sperm epigenetics, *Andrology* [ahead of print]. <https://doi.org/10.1111/andr.12753>.
- Muhlhausler, B.S., Duffield, J.A. & McMillen, I. C. (2007). Increased maternal nutrition stimulates peroxisome proliferator activated receptor-gamma, adiponectin, and leptin messenger ribonucleic acid expression in adipose tissue before birth, *Endocrinology*, 148, 878–885. <https://doi.org/10.1210/en.2006-1115>.
- Neri, C. & Edlow, A. G. (2016). Effects of Maternal Obesity on Fetal Programming: Molecular Approches, *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6 (2), a026591.  
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a026591>.
- Olszewska, M. & Kurpysz, M. (2010). Metylacja i jej rola regulacyjna wobec rodzicielskiego piętna genomowego, *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 64, 642–649.
- Şanlı, E. & Kabaran, S. (2019). Maternal Obesity, Maternal Overnutrition and Fetal Programming: Effects of Epigenetic Mechanisms on the Development of Metabolic Disorders, *Current Genomics*, 20, 419–427.  
<https://doi.org/10.2174/1389202920666191030092225>.
- Sebastiani, G., Barbero, A.H., Borr, C., Casanova, M.A., Aldecoa-Bilbao, V. & Andreu-Fern, V. (2019). The Effects of Vegetarian and Vegan Diet during Pregnancy on the Health of Mothers and Offspring, *Nutrients*, 11, 557. <https://doi.org/10.3390/nu11030557>.
- Shalom-Paz, E., Weill, S., Ginzberg, Y., Khatib, N., Anabusi, S., Klorin, G., Sabo, E. & Beloosesky, R. (2017). IUGR induced by maternal chronic inflammation: long-term effect on offspring's ovaries in rat model - a preliminary report, *Journal of Endocrinological Investigation*, 40, 125–1131. <https://doi.org/10.1007/s40618-017-0681->

3.

- Słowikowska-Hilczer, J. (2014). Dysgeneza jąder jako przyczyna męskiej niepłodności, *Postępy Andrologii Online*, 1, 5–13.
- Słowikowska-Hilczer, J., Szarras-Czapnik, M., Marchlewska, K., Filipiak, E., Oszukowska, E., Walczak-Jędrzejowska, R. & Kula, K. (2013). Zespół dysgenetycznych jąder : patogeneza i konsekwencje kliniczne, *Endokrynologia Pediatria*, 12, 67–76.
- Słowikowska-Hilczer, J., Szarras-Czapnik, M., Wolski, J. K., Oszukowska, E., Hilczer, M., Jakubowski, L., Walczak-Jędrzejowska, R., Marchlewska, K., Filipiak, E., Kałużewski, B., Baka-Ostrowska, M., Niedzielski, J. & Kula, K. (2015). The risk of neoplasm associated with dysgenetic testes in prepubertal and pubertal/adult patients, *Folia Histochemica et Cytobiologica*, 53, 218–226. <https://doi.org/10.5603/FHC.a2015.0021>.
- Toschi, P., Capra, E., Anzalone, D.A., Lazzari, B., Turri, F., Pizzi, F., Scapolo, P.A., Stella, A., Williams, J.L., Ajmone Marsan, P. & Loi, P. (2020). Maternal peri-conceptional undernourishment perturbs offspring sperm methylome, *Reproduction*, 159, 513–523. <https://doi.org/10.1530/REP-19-0549>.
- Vaiserman, A. & Lushchak, O. (2019). Prenatal malnutrition-induced epigenetic dysregulation as a risk factor for type 2 diabetes, *International Journal of Genomics*, 2019:3821409. <https://doi.org/10.1155/2019/3821409>.
- Valsamakis, G., Kyriazi, E. L., Mouslech, Z., Siristatidis, C. & Mastorakos, G. (2015). Effect of maternal obesity on pregnancy outcomes and long-term metabolic consequences, *Hormones*, 14, 345–357. <https://doi.org/10.14310/horm.2002.1590>.
- von Wolff, M. & Haaf, T. (2020). In Vitro Fertilization Technology and Child Health, *Deutsches Arzteblatt International*, 117, 23–30. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2020.0023>.
- Zhang, J., Zhang, F., Didelot, X., Bruce, K.D., Cagampang, F. R., Vatish, M., Hanson, M., Lehnert, H., Ceriello, A. & Byrne, C.D. (2009). 'Maternal high fat diet during pregnancy and lactation alters hepatic expression of insulin like growth factor-2 and key microRNAs in the adult offspring', *BMC Genomics*, 10:478. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-10-478>.
- Zhou, Y., Gu, P., Shi, W., Li, J., Hao, Q., Cao, X., Lu, Q. & Zeng, Y. (2016). MicroRNA-29a induces insulin resistance by targeting PPAR $\delta$  in skeletal muscle cells', *International Journal of Molecular Medicine*, 37 (4), 931–938. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2016.2499>.