

P R A C E P O G L Ą D O W E
położnictwo

Programowanie płodowe a etiologia osteoporozy

Fetal programming and the etiology of osteoporosis

Wojciech Pieńkowski¹, Hubert Wolski^{1,2}, Krzysztof Drewnowski^{1,3},
Agnieszka Seremak-Mrozikiewicz^{1,3,4}

¹ Klinika Perinatologii i Chorób Kobietych Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, Polska

² Oddział Ginekologiczno-Położniczy Podhalański Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II, Nowy Targ, Polska

³ Pracownia Biologii Molekularnej w Klinice Perinatologii i Chorób Kobietych Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, Polska

⁴ Zakład Farmakologii i Fitochemii Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu, Polska

Streszczenie

Osteoporoza jest uogólnioną chorobą metaboliczną kości, charakteryzującą się małą masą kostną, upośledzoną mikroarchitektoniką tkanki kostnej, a w konsekwencji zwiększoną podatnością na złamania. Osiągnięta szczytowa masa kostna jest głównym czynnikiem determinującym rozwój osteoporozy. Badania epidemiologiczne wykazały, że ryzyko rozwoju osteoporozy może być modyfikowane poprzez czynniki oddziałujące już w okresie życia płodowego i wczesnego okresu postnatalnego.

W pracy przedstawiono zagadnienie wpływu programowania płodowego na rozwój osteoporozy w oparciu o wyniki badań epidemiologicznych oraz mechanizmy związane regulacją epigenetyczną ekspresji genów.

Słowa kluczowe: **osteoporoza / programowanie płodowe / badania epidemiologiczne /
regulacja epigenetyczna /**

Abstract

Osteoporosis is a multifactorial skeletal disorder characterized by low bone mass and microarchitectural deterioration of bone tissue, resulting in increased risk of fracture. Peak bone mass is an important predictor of later risk of osteoporosis. Epidemiological studies revealed that the risk of osteoporosis might be modified by exposure to environmental factors during intrauterine life and early postnatal period.

This review summarizes the influence of fetal programming on the development of osteoporosis based on the epidemiological studies and potential mechanisms of epigenetic regulation of gene expression.

Key words: **osteoporosis / fetal programming / epidemiological studies /
epigenetic regulation /**

Adres do korespondencji:

Agnieszka Seremak-Mrozikiewicz
Klinika Perinatologii i Chorób Kobietych Uniwersytet Medyczny w Poznaniu
60-535 Poznań, ul. Polna 33, Polska
e-mail: asm@data.pl

Otrzymano: 26.02.2015
Zaakceptowano do druku: 25.03.2015

Wstęp

Osteoporoza jest uogólnioną chorobą metaboliczną kości, charakteryzującą się małą masą kostną, upośledzoną mikroarchitekturą tkanki kostnej, a w konsekwencji zwiększoną podatnością na złamania [1]. Współczesne formy prewencji osteoporozy koncentrują się głównie na ograniczeniu spadku masy kostnej. Coraz więcej badań podkreśla bezpośredni wpływ czynników środowiskowych działających już na etapie życia płodowego i/lub okresie wczesnego dzieciństwa na proces postnatalnego metabolizmu tkanki kostnej. W tym aspekcie znaczącą rolę odgrywają badania dotyczące genetycznych uwarunkowań osteoporozy i wpływu na proces kształtowania się tkanki kostnej czynników działających w okresie życia wewnątrzmacicznego [2, 3, 4].

Retrospektywne badania epidemiologiczne obejmujące duże populacje kobiet i mężczyzn, ujawniły istnienie silnej korelacji pomiędzy małą masą urodzeniową a zwiększonym ryzykiem zapadalności na chorobę niedokrwienną serca, nadciśnienie tętnicze, cukrzycę typu I oraz predyspozycję do rozwoju osteoporozy. Obserwowana zależność wiąże się z procesami określanymi mianem programowania płodowego lub wewnątrzmacicznego (*fetal, intrauterine programming*). Proces programowania polega na wpływie czynników środowiskowych na strukturę i funkcję komórek oraz zmianach funkcjonalnych i anatomicznych w tkankach i narządach płodu. Zmiany te ulegają utrwaleniu poprzez procesy regulacji epigenetycznej ekspresji genów. Najczęściej procesy te mają miejsce w tzw. okresach krytycznych życia wewnątrzmacicznego [5, 6].

Rozwój tkanki kostnej rozpoczyna się w 5 tc. migracją komórek mezenchymalnych w docelowe miejsca rozwoju szkieletu, gdzie ulegają one przekształceniu w chondrocyty wytwarzające chrząstkę. Podjęta przez chondrocyty synteza macierzy pozakomórkowej indukuje lokalną angiogenezę oraz ułatwia migrację osteoblastów z ochrzęstnej. Proliferacja chondrocytów jest regulowana działaniem hormonów, cytokin, witaminy D, insulinopodobnego czynnika wzrostu 1 (IGF-1 – *insulin growth factor 1*). Pierwotne ogniska osteofikacji pojawiają się pomiędzy 8 a 12 tc. początkowo w obrębie kręgów natomiast główny proces mineralizacji szkieletu ma miejsce w III trym. ciąży [7].

Proces mineralizacji tkanki kostnej jest uzależniony od odpowiedniego stężenia wapnia w krążeniu płodowym, co z kolei uwarunkowane jest prawidłową podażą w diecie ciężarnej, transferem łożyskowym oraz podlega modulacji poprzez działanie czynników calciotropowych. W życiu płodowym dochodzi do akumulacji około 25-30 g wapnia (około 80% w III trym., gdzie ma miejsce intensywna mineralizacja tkanki kostnej). Zdolność wchłaniania wapnia przez płód wzrasta z 50 mg na dobę w 20 tc. do 330 mg w 35 tc. Okresem krytycznym, dynamicznego rozwoju kości jest więc okres wczesnej ciąży, a następnie okres maksymalnego wzrostu kości długich w III trym. ciąży. W przypadku zadziałania w tym właśnie czasie życia prenatalnego niekorzystnych czynników środowiskowych, następuje indukcja szeregu procesów prowadząca do zmian na poziomie molekularnym, komórkowym, a następnie metabolicznym tkanki kostnej [4, 6].

Dowody na to, że ryzyko rozwoju osteoporozy może być modyfikowane na skutek działania czynników środowiskowych działających w okresie życia wewnątrzmacicznego są formułowane w oparciu o wyniki różnych rodzajów badań. Dotyczą one między innymi pomiarów parametrów tkanki kostnej, jak gęstość mineralna kości (BMD – *bone mineral density*) oraz za-

wartość mineralna kości (BMC – *bone mineral content*) w grupie dorosłych, u których dostępne są dane antropometryczne dotyczące okresu poporodowego i wczesnego dzieciństwa. Badania oceniają również korelację pomiędzy wybranymi układami hormonalnymi mogącymi podlegać procesowi programowania (podwzgórze-przysadka-nadnercza, gonady, oddziaływanie GH/IGF-1) oraz szczytową masą kostną i zależną od wieku utratą tkanki kostnej. Analizie poddaje się także wpływ czynników środowiskowych występujących podczas ciąży (dieta, styl życia) na parametry tkanki kostnej potomstwa. Ocenia się także związek pomiędzy parametrami antropologicznymi w okresie dzieciństwa (tempo wzrostu, przyrost masy ciała) a ryzykiem złamań kostnych w życiu dorosłym [4, 5, 8].

Badania epidemiologiczne a ryzyko rozwoju osteoporozy

Coraz więcej badań wskazuje, że akumulacja tkanki kostnej w okresie wczesnego dzieciństwa i szczytowa masa kostna mogą być programowane już w życiu płodowym. Jedną z pierwszych analiz epidemiologicznych wskazujących na wpływ programowania wewnątrzmacicznego na ryzyko rozwoju osteoporozy została przeprowadzona w grupie 153 brytyjskich kobiet urodzonych w latach 1968-1969 i poddanych obserwacji klinicznej przez okres 21 lat. Badanie wykazało statystycznie istotny związek pomiędzy masą ciała w pierwszym roku życia oraz średnią wartością BMC odcinka L2-L4 i szyjki kości udowej niezależnie od masy ciała i wskaźnika masy ciała (BMI – *body mass index*) [9]. Dalsze badanie obejmujące populację 201 kobiet i 238 mężczyzn w wieku od 60-75 lat potwierdziło powyższe obserwacje. Pokazano związek pomiędzy urodzeniową masą ciała a wartością BMC w odcinku L2-L4 i w szyjce kości udowej. Co istotne, obserwowana zależność pozostawała istotna statystycznie po uwzględnieniu wpływu czynników środowiskowych, takich jak aktywność fizyczna, palenie tytoniu, ilość spożywanego alkoholu oraz dzienna podaż wapnia w diecie [10].

Kolejne prace dobitnie wykazały, że masa urodzeniowa oraz masa w 1 roku życia w sposób istotny wpływa na wartość BMD oraz BMC w dorosłym życiu [11]. Analiza 10 badań pozwoliła wyliczyć średnie wartości współczynników korelacji pomiędzy masą urodzeniową a BMD i BMC odcinka L2-L4 u osób dorosłych wynoszących odpowiednio 0,15 i 0,12. W stosunku do masy ciała w 1 roku życia i tych samych parametrów tkanki kostnej współczynniki korelacji przyjmowały wartości 0,25 i 0,11 [12].

Analizy obejmujące duże badania epidemiologiczne również wykazały, że środowisko wewnątrzmaciczne może odgrywać znaczącą rolę w kształtowaniu tkanki kostnej oraz warunkować jej szczytową wartość [13, 14]. Metaanaliza Baird i wsp. (13 badań) potwierdziła bezpośrednią korelację pomiędzy większą masą urodzeniową a wyższymi wartościami BMC odcinka L2-L4 kręgosłupa. Wzrost masy urodzeniowej o 1 kg był związany ze wzrostem BMC odcinka L2-L4 i szyjki kości udowej odpowiednio o 1,49 g i 1,41 g [14]. Najnowsza metaanaliza z Brazylii oceniała wpływ masy urodzeniowej na parametry tkanki kostnej w wydzielonych wiekowo grupach dzieci, nastolatków, młodych dorosłych oraz osób dorosłych (powyżej 25 roku życia). Potwierdzono silny, pozytywny związek pomiędzy masą urodzeniową a parametrami tkanki kostnej, głównie BMC w grupie dzieci, natomiast w stosunku młodych

dorosłych i dorosłych korelacja miała odpowiednio charakter niejasny oraz słaby [15].

Suplementacja witaminy D i wapnia w ciąży a parametry tkanki kostnej

Liczne prace analizowały zależność pomiędzy podażą witaminy D w ciąży a parametrami tkanki kostnej [16, 17]. W badaniu populacji brytyjskiej (3960 par kobieta-dziecko) oceniano zależność pomiędzy stężeniem witaminy D u kobiet ciężarnych a wartością BMC L2-L4 u ich potomstwa. Ocenę densytometryczną (DEXA) przeprowadzono u dzieci w 9 i 10 roku życia. W pracy nie potwierdzono związku pomiędzy obserwowanymi stężeniami witaminy D a parametrami densytometrycznymi [18]. W kolejnym badaniu (314 par matka-dziecko) w populacji australijskiej analizowano związek pomiędzy stężeniem witaminy D oznaczanym w 18 tc. a wartościami BMD i BMC ocenianymi u 20-letniego potomstwa. Badanie potwierdziło, że ciążowy niedobór witaminy D powoduje znaczące obniżenie BMD i BMC o odpowiednio 1,7 % i 2,7 %. Zmniejszenie parametrów tkanki kostnej może również podwyższać ryzyko wystąpienia złamania w wieku dorosłym [19]. Najnowsza metaanaliza (76 badań) dotycząca suplementacji witaminy D w okresie ciąży potwierdziła bezpośredni związek pomiędzy stężeniem witaminy D w surowicy ciężarnych a masą urodzeniową noworodków, wartością BMD i stężeniem wapnia u noworodków [20].

Programowanie wewnątrzmaciczne a rozwój osteoporozy

Proces programowania wewnątrzmacicznego może zachodzić w oparciu o kilka mechanizmów. Jednym z nich jest bezpośredni wpływ ograniczenia podaży substancji odżywczych na zmniejszenie ilości komórek tkanek i narządów i związane z tym zmiany anatomiczne. Innym mechanizmem są zmiany w obrębie homeostazy hormonalnej wpływającej na proces kształtowania tkanki kostnej. Dotyczy to głównie zależności pomiędzy osią podwzgórze-przysadka-nadnercza-gonady [21, 22]. Przeprowadzone badania ujawniły korelację pomiędzy masą urodzeniową i masą w okresie dzieciństwa a stężeniami hormonu wzrostu oraz kortyzolu jako bezpośrednich czynników wpływających na szybkość spadku masy kostnej w życiu dorosłym [21]. Co więcej eksperymentalne badania na zwierzętach, u których w ciąży stosowano restrykcyjną dietę proteinową potwierdziły, że prowadzi ona u potomstwa do spadku mineralizacji tkanki kostnej oraz w sposób utrwalony zmienia tempo wzrostu kości [22]. Wszystkie powyższe zmiany zachodzą w oparciu o zmiany regulacji epigenetycznej ekspresji genów [23, 24].

Proces modyfikacji epigenetycznej genomu obejmuje kilka etapów, które dotyczą rozpoznawania czynników sprawczych, wprowadzenia zmian epigenetycznych, wpływu utrwalonych modyfikacji na procesy metaboliczne i anatomiczne modyfikowanych komórek. Samo pojęcie regulacji epigenetycznej dotyczy zmian w ekspresji genów, które nie są związane ze zmianami w sekwencji DNA. Epigenetyczny wpływ na ekspresję genów odbywa się poprzez regulację metylacji DNA, modyfikację białek histonowych oraz niekodującego RNA (smallRNA - scRNA, microRNAs – miRNA, long non-codingRNA - lncRNA) [23, 24].

Najnowsze badania potwierdziły, że procesy epigenetyczne odgrywają znaczącą rolę w procesie homeostazy tkanki kostnej [25]. Bezpośredni związek pomiędzy epigenetyczną modyfika-

cją genomu w życiu płodowym a stanem tkanki kostnej została wykazana w badaniu w populacji brytyjskiej. Analiza 66 par matka-dziecko potwierdziła związek pomiędzy badaną metylacją dwóch wysp CpG w regionie promotorowym genu syntazy tlenu azotu a wartościami BMC całego ciała i BMD u dzieci w 9 roku życia [26]. W innym badaniu metylacja w czterech spośród sześciu wysp CpG regionu promotorowego genu retinowego X receptora A (retinoid-X-receptor A) była odwrotnie skorelowana z wartościami BMC u 4-letniego potomstwa [27]. Dodatkowo w badaniach na szczurach potwierdzono, że wprowadzenie do diety ciężarnych samic kofeiny zmniejszało u potomstwa długość kości udowej oraz ograniczało syntezę macierzy pozakomórkowej w płycie wzrostu kości. Obserwowana zależność była spowodowana bezpośrednim wpływem kofeiny na zwiększoną produkcję matczynych glikokortykosteroidów oraz zmniejszoną metylację histonów w obrębie genu IGF-1 [28].

Prowadzenie badań epidemiologicznych dotyczących programowania wewnątrzmacicznego utrudnia fakt, że analizowana masa urodzeniowa i jej przyrost w okresie dzieciństwa mogą podlegać wpływom nie tylko środowiska wewnątrzmacicznego lecz także dziedzicznego profilu genetycznego. Badania wykazały, że w blisko 60% różnica dotycząca masy urodzeniowej pomiędzy poszczególnymi osobnikami jest spowodowana wpływem czynników występujących w życiu wewnątrzmacicznym, w 20% jest uwarunkowana profilem genetycznym matki a jedynie w około 18% zależy od genomu płodu. Wyniki te są w zgodności z pracą badaczy holenderskich, gdzie analiza masy urodzeniowej pomiędzy parami bliźniąt wykazała, że czynniki dziedziczne jedynie w 10% warunkują ich wartości.

Kolejnym dowodem świadczącym o istotnej roli jakości środowiska wewnątrzmacicznego w procesie wzrostu płodu mogą być rezultaty badań dotyczących dzieci urodzonych przez kobiety, które były biorcami komórek jajowych. Ujawniły one, że masa noworodków jest w większym stopniu skorelowana z masą urodzeniową kobiet-biorczyń komórek jajowych niż matek biologicznych [29].

W aspekcie etiopatogenezy osteoporozy szczególnie interesujące mogą wydawać się badania oceniające wzajemny wpływ czynników wewnątrzmacicznych oraz znanych genetycznych markerów związanych z ryzykiem rozwoju osteoporozy na parametry tkanki kostnej w życiu dorosłym. W badaniach własnych analizowano związek pomiędzy polimorfizmami genu receptora witaminy D (*Apal*, *BsmI*, *TaqI*) a wartościami BMD i skorygowanego BMD w grupie 63 kobiet w stosunku do ich masy urodzeniowej. Wykazano statystycznie istotną korelację pomiędzy masą urodzeniową badanych kobiet a wartością BMD ($r=0,43$, $p=0,0004$) i wartością skorygowanego BMD ($r=0,27$, $p=0,031$). Potwierdzono również, że w badanej grupie istnieją statystycznie istotne różnice pomiędzy średnimi wartościami BMD w zakresie wszystkich trzech polimorfizmów. Najwyższe wartości BMD stwierdzano u osobników heterozygotycznych *Bb* ($1,048$ g/cm²), *Aa* ($1,034$ g/cm²) i *Tt* ($1,040$ g/cm²). Wykonanie tych samych obliczeń w stosunku do skorygowanego BMD nie wykazano występowania różnic istotnych statystycznie. Ocena związku polimorfizmów genu *VDR* badanej populacji z uwzględnieniem podziału na podgrupy w stosunku do masy urodzeniowej (>3200 g i ≤ 3200 g) wykazała, że średnie wartości BMD i skorygowanego BMD pomiędzy wybranymi polimorfizmami różnią się w sposób istotny statystycznie [30].

Wojciech Pieńkowski et al. Programowanie płodowe a etiologia osteoporozy.

Wzajemny związek masy urodzeniowej i profilu genetycznego ze stanem tkanki kostnej w życiu dorosłym było analizowane w badaniu Dennisson i wsp. [2001]. Oceniano związek pomiędzy polimorfizmem *BsmI* genu *VDR* oraz *COL1A1* genu kolagenu typu Ia1 a masą urodzeniową i wartością BMD. W badanej grupie 125 mężczyzn i 126 kobiet pomiędzy 61 a 73 rokiem życia nie wykazano istotnego statystycznie związku pomiędzy masą urodzeniową, genotypami *VDR* i *COL1A1* oraz BMD odcinka L2-L4. Dalsza analiza statystyczna wykazała asocjację pomiędzy profilem genetycznym a wartością BMD. Podział badanej grupy w stosunku do wartości masy urodzeniowej pokazał, że w grupie z największą urodzeniową masą ciała, najwyższe wartości BMD stwierdzano u osobników z genotypem *BB*. Natomiast występowanie tego samego genotypu (*BB*) i przynależność do grupy osób z najniższą masą urodzeniową wiązało się z najniższymi wartościami BMD [31]. Wyniki te pokazują, że wpływ czynników genetycznych na stan tkanki kostnej w życiu dorosłym może podlegać modyfikacji na skutek oddziaływania środowiska wewnątrzmacicznego.

W ostatnich latach na skutek obserwowanych zmian demograficznych problem osteoporozy stał się zagadnieniem globalnym. Pomimo faktu, że coraz więcej badań podkreśla bezpośredni udział środowiska wewnątrzmacicznego i modyfikacji epigenetycznych na szczytową masę kostną dokładne mechanizmy związane z programowaniem metabolizmu tkanki kostnej nie są do końca poznane. Prowadzenie dalszych badań w tym zakresie pozwoli na identyfikację nowych markerów oraz wczesną interwencję mającą na celu zapewnienie optymalnego rozwoju tkanki kostnej już w życiu płodowym.

Oświadczenie autorów

1. Wojciech Pieńkowski – autor koncepcji i założeń pracy, przygotowanie manuskryptu i piśmiennictwa – autor zgłaszający i odpowiedzialny za manuskrypt.
2. Hubert Wolski – współautor tekstu pracy, przygotowanie manuskryptu i aktualizacja literatury.
3. Krzysztof Drews – współautor tekstu pracy, przygotowanie manuskryptu.
4. Agnieszka Seremak-Mrozikiewicz – ostateczna weryfikacja i akceptacja manuskryptu.

Źródło finansowania:

Praca nie była finansowana przez żadną instytucję naukowo-badawczą, stowarzyszenie ani inny podmiot, autorzy nie otrzymali żadnego grantu.

Konflikt interesów:

Autorzy nie zgłaszają konfliktu interesów oraz nie otrzymali żadnego wynagrodzenia związanego z powstawaniem pracy.

Piśmiennictwo

1. Sambrook P, Cooper C. Osteoporosis. *Lancet*. 2006, 367, 2010-2018.
2. Barker DJP. The fetal origins of adult disease. *Proc Royal Soc of Lond*. 1995, 262, 37-43.
3. Felsenberg D, Boonen S. The bone quality framework: determinants of bone strength and their interrelationships, and implications for osteoporosis management. *Clin Ther*. 2005, 27, 1-14.
4. Calkins K, Devaskar SU. Fetal origins of adult disease. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care*. 2011, 41, 158-176.
5. Barker DJ, Larsen G, Osmond C, [et al.]. The placental origins of sudden cardiac death. *Int J Epidemiol*. 2012, 41, 1394-1399.
6. Barker DJ, Thornburg KL. The obstetric origins of health for a lifetime. *Clin Obstet Gynecol*. 2013, 56, 511-519.
7. DeLise AM, Fischer L, Tuan RS. Cellular interactions and signaling in cartilage development. *Osteoarthritis Cartilage*. 2000, 8, 309-334.
8. Fowden AL, Forhead AJ. Endocrine mechanisms of intrauterine programming. *Reproduction*. 2004, 127, 515-526.
9. Cooper C, Cawley M, Bhalla A, [et al.]. Childhood growth, physical activity, and peak bone mass in women. *J Bone Miner Res*. 1995, 10, 940-947.
10. Cooper C, Fall C, Egger P, [et al.]. Growth in infancy and bone mass in later life. *Ann Rheum Dis*. 1997, 56, 17-21.
11. Yarbrough DE, Barrett-Connor E, Morton DJ. Birthweight as a predictor of adult bone mass in postmenopausal women: the Rancho Bernardo study. *Osteoporosis Int*. 2000, 11, 626-630.
12. Cooper C, Westlake S, Harvey N, [et al.]. Review: developmental origins of osteoporotic fracture. *Osteoporosis Int*. 2006, 17, 337-347.
13. Schlüssel M, Vaz JS, Kac G. Birth weight and adult bone mass: a systematic literature review. *Osteoporosis Int*. 2010, 21, 1981-1991.
14. Baird J, Kurshid MA, Kim M, [et al.]. Does birthweight predict bone mass in adulthood? A systematic review and meta-analysis. *Osteoporosis Int*. 2011, 22, 1323-1334.
15. Martinez-Mesa J, Restrepo-Mendez MA, Gonzalez DA, [et al.]. Life-course evidence of birth weight effects on bone mass: systematic review and meta-analysis. *Osteoporosis Int*. 2013, 24, 7-18.
16. Heppel DH, Medina-Gomez C, Hofman A, [et al.]. Maternal first-trimester diet and childhood bone. The generation R study. *Am J Clin Nutr*. 2013, 98, 224-232.
17. Tobias JH, Steer CD, Emmett PM, [et al.]. Bone mass in childhood is related to maternal diet in pregnancy. *Osteoporosis Int*. 2005, 16, 1731-1741.
18. Lawlor DA, Wills AK, Fraser A, [et al.]. Association of maternal vitamin D status during pregnancy with bone-mineral content in offspring: a prospective cohort study. *Lancet*. 2013, 381, 2176-2183.
19. Zhu K, Whitehouse AJ, Hart PH, [et al.]. Maternal vitamin D status during pregnancy and bone mass in offspring at 20 years of age: a prospective cohort study. *J Bone Miner Res*. 2014, 29, 1088-1095.
20. Harvey NC, Holroyd C, Ntani G, [et al.]. Vitamin D supplementation in pregnancy: a systematic review. *Health Technol Assess*. 2014, 18, 1-190.
21. Dennisson E, Hindmarsh P, Fall C, [et al.]. Profiles of endogenous circulating cortisol and bone mineral density in healthy elderly men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999, 84, 3058-3063.
22. Mehta G, Roach HI, Langley-Evans S, [et al.]. Intrauterine exposure to a maternal low protein diet reduces adult bone mass and alters growth plate morphology in rats. *Calcif Tissue Int*. 2002, 71, 493-498.
23. Harvey NC, Javaid K, Bishop N, [et al.]. MAVIDOS Maternal Vitamin D Osteoporosis Study: study protocol for a randomized controlled trial. *The MAVIDOS Study Group*. 2012, 13, 1-9.
24. Seremak-Mrozikiewicz A, Barik M, Drews K. Programowanie wewnątrzmaciczne jako przyczyna chorób przewlekłych wieku dorosłego *Ginekol Pol*. 2014, 85, 43-48.
25. Bocheva G, Boyadjieva N. Epigenetic regulation of fetal bone development and placental transfer of nutrients: progress for osteoporosis. *Interdiscip Toxicol*. 2011, 4, 167-172.
26. Harvey NC, Lillycrop KA, Garratt E, [et al.]. Evaluation of methylation status of the eNOS promoter at birth in relation to childhood bone mineral content. *Calcif Tissue Int*. 2012, 90, 120-127.
27. Harvey NC, Sheppard A, Godfrey KM, [et al.]. Childhood bone mineral content is associated with methylation status of the RXRA promoter at birth. *J Bone Miner Res*. 2014, 29, 600-607.
28. Tan Y, Liu J, Deng Y, [et al.]. Caffeine-induced fetal rat over-exposure to maternal glucocorticoid and histone methylation of liver IGF-1 might cause skeletal growth retardation. *Toxicol Lett*. 2012, 214, 279-287.
29. Gale CR, Martyn CN, Kellingray S, [et al.]. Intrauterine programming of adult body composition. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001, 86, 267-272.
30. Pieńkowski W. Wpływ wybranych polimorfizmów receptora witaminy D (*BsmI*, *Apal*, *TaqI*) na gęstość tkanki kostnej u kobiet po menopauzie. Rozprawa doktorska. Poznań, 2006.
31. Dennisson EM, Arden NK, Keen RW, [et al.]. Birthweight, vitamin D receptor genotype and the programming of osteoporosis. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2001, 15, 211-219.