



UNIVERZITET U NOVOM SADU
MEDICINSKI FAKULTET

Milica Milojković

UTICAJ DARBEPOETINA ALFA NA BROJ GLOMERULA
NOVOROĐENIH MIŠEVA SA INTRAUTERUSNOM
RESTRIKCIJOM RASTA

Doktorska disertacija

Novi Sad, 2016.

UNIVERZITET U NOVOM SADU
MEDICINSKI FAKULTET

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Milica Milojković
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	Prof. dr Vesna Stojanović
Naslov rada: NR	Uticaj darbepoetina alfa na broj glomerula novorođenih miševa sa intrauterusnom restrikcijom rasta
Jezik publikacije: JP	Srpski
Jezik izvoda: JI	srp. / eng.
Zemlja publikovanja: ZP	Srbija
Uže geografsko područje: UGP	Vojvodina
Godina: GO	2016.
Izdavač: IZ	autorski reprint
Mesto i adresa: MA	21000 Novi Sad, Hajduk Veljkova 3

Fizički opis rada: FO	Teza ima 7 poglavlja, 90 stranica, 10 slika, 5 tabela, 3 grafikona, 276 literaturnih navoda
Naučna oblast: NO	Medicina
Naučna disciplina: ND	Eksperimentalna nefrologija
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	fetalna restrikcija rasta; fetalni razvoj; dabepoetin alfa; eritropoetin; glomeruli bubrega; životinjski modeli; novorođene životinje
UDK	612.64/.65.085.1:599.323.4
Čuva se: ČU	U biblioteci Medicinskog fakulteta u Novom Sadu, Hajduk Veljkova 3
Važna napomena: VN	
Izvod: IZ	<p>Intrauterusna restrikcija rasta (IUGR) se odnosi na stanje u kojem fetus nije u mogućnosti da ostvari svoj genetski potencijal za rast. IUGR je ozbiljan klinički problem i nedavno je povezan sa bolestima odraslog doba kao što su hipertenzija, insulin nezavistan diabetes melitus, dislipidemije i ishemijske bolesti srca. Eritropoetin je glavni regulator proliferacije i diferencijacije eritroidnih progenitorskih ćelija zahvaljujući svojoj antiapoptotičkoj aktivnosti.</p> <p>Cilj istraživanja je bio da se ispita uticaj IUGR na bubrege, kao i uticaj eritropotina na bubrege sa IUGR. Eksperimentalna studija je sprovedena u gajilištu Pasterovog zavoda u Novom Sadu na 60 miševa rase NMRI. IUGR je izazivana aplikacijom deksametazona gravidnim ženkama. Po rođenju su mladunci bili podeljeni u sedam grupa. Mladuncima je u 1. i 7. danu života davan darbepoetin alfa (DA) u dozama od 1, 4 i 10 µg/kg. Dve grupe su predstavljale potomke majki koje su tokom trudnoće dobile DA. Nakon 4 nedelje su uzimani uzorci bubrega i vršena je morfološka i stereološka analiza glomerula.</p> <p>Aplikacija deksametazona (100 µg/kg) trudnim mišicama dovodi do potomstva sa IUGR. Primena DA kod novorođenih miševa sa IUGR dovodi do bržeg porasta telesne mase u prvih 7 dana života („catch-up“ rasta). Miševi rođeni sa IUGR imaju manju površinu glomerula bubrega. Primena DA nakon rođenja i u 7. danu života (4 i 10 µg/kg) kod novorođenih miševa sa IUGR dovodi do hipertrofije glomerula bubrega. IUGR nema uticaja na broj glomerula bubrega miševa. Primena DA nema uticaja na broj glomerula bubrega miševa. Miševi rođeni sa IUGR imaju manju debljinu korteksa bubrega. Primena DA (4 i 10 µg/kg) kod miševa rođenih sa IUGR dovodi do povećanja debljine</p>

	<p>korteksa bubrega. Davanje DA kod IUGR značajno povećava površinu glomerula i debljinu korteksa bubrega.</p>
Datum prihvatanja teme od strane Senata: DP	06.12.2013.
Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO	predsednik: član: član:

University of Novi Sad
ACIMSI

Key word documentation

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	PhD thesis
Author: AU	Milica Milojković
Mentor: MN	Prof. dr Vesna Stojanović
Title: TI	The Effect of Darbepoetin Alfa on the Glomerular Number of Newborn Mice with Intrauterine Growth Restriction
Language of text: LT	Serbian
Language of abstract: LA	eng. / srp.
Country of publication: CP	Serbia
Locality of publication: LP	Vojvodina
Publication year: PY	2016.
Publisher: PU	Author's reprint
Publication place: PP	21000 Novi Sad, Hajduk Veljkova 3

Physical description: PD	Thesis has 7 chapters, 90 pages, 10 photos, 5 tables, 3 graphs, 276 citations
Scientific field SF	Medicine
Scientific discipline SD	Experimental nephrology
Subject, Key words SKW	Fetal Growth Retardation; Fetal Development; Darbepoetin alfa; Erythropoietin; Kidney Glomerulus; Models, Animal; Animal, Newborn
UC	612.64/.65.085.1:599.323.4
Holding data: HD	Library of Medical Faculty Novi Sad, Hajduk Veljkova 3, Novi Sad, Serbia
Note: N	
Abstract: AB	<p>Intrauterine growth restriction (IUGR) refers to a condition in which a foetus is not able to achieve its genetic potential for growth. IUGR is a serious clinical problem, and has recently been linked with diseases of adulthood, such as hypertension, insulin-independent diabetes mellitus, dyslipidemia, and ischemic heart disease. Erythropoietin is the major regulator of proliferation and differentiation of erythroid progenitor cells, thanks to its anti-apoptotic activities. The aim of this study was to investigate the effect of IUGR on the kidneys, and the impact of erythropoietin on the kidneys with IUGR. The experimental study was conducted in Pasteur Institute of Novi Sad on 60 mice of NMRI race. IUGR has been imposed with the application of dexamethasone to pregnant females. After birth, the pups were divided into seven groups. DA was administered to the pups on the 1st and 7th day of life (dose 1, 4 and 10 µg/kg). Two groups represented the offspring of the mothers who during pregnancy received DA. After 4 weeks, kidney samples were taken and morphological and stereological analysis of the glomeruli was performed. The application of dexamethasone (100 µg/kg) to pregnant mice leads to their offspring with IUGR. Application of DA to newborn mice with IUGR leads to faster weight gain in the first 7 days of life ("catch-up" growth). Mice born with IUGR have a reduced glomerular surface. Application of DA after birth and on the 7th day of life (4 and 10 µg/kg) in mice with IUGR leads to hypertrophy of the kidney glomeruli. IUGR has no effect on the number of kidney glomeruli. Application of DA has no effect on the number of kidney glomeruli. Mice born with IUGR have a reduced cortical thickness. Application of DA (4 and 10 µg/kg) in mice born with IUGR leads to</p>

	increased thickness of the kidney cortex. Application of DA to mice with IUGR significantly increases the surface area of the kidney glomeruli and cortical thickness.
Accepted on Senate on: AS	06.12.2013.
Defended: DE	
Thesis Defend Board: DB	president: member: member:

LISTA SKRAĆENICA:

- IUGR - intrauterine growth restriction - intrauterusna restrikcija rasta
- SGA - small for gestational age - mali za gestacijsku starost
- EFW - estimated fetal weight - procenjena telesna masa
- NST - nedeljni non-stress test
- BPS - biofizički profil skor
- ObRb - hipotalamusni leptin receptor
- PPAR γ 2 - faktor adipogene transkripcije
- ECM - extracellular matrix - ekstraćelijski matriks
- GLUT4 - transporter glukoze tip 4
- AGE - advanced glycation end products - krajni produkti glikolizacije
- EUGR - extrauterine growth restriction - ekstrauterusna restrikcija rasta
- 11- β -HSD - 11 β -hidroksisteroid dehidrogenaza
- EPO - eritropoetin
- EPOR - EPO receptor
- JAK - janus kinaza
- CFU-E - colony-forming units-erythroid - unipotentne matične ćelije eritroidne loze
- STAT - signal transducers and activators of transcription - provodnik signala i aktivator transkripcije
- SH2 - src homologni domen 2
- PI3K - fosfatidil-inozitol 3-kinaza
- HIF - hipoksijom-indukovani faktori
- VEGF - vascular endotel growth factor - vaskularni endotelni faktor rasta
- ARNT - aryl hydrocarbon nuclear receptor translocator - translokator nuklearnog receptora aril hidrokarbonata
- BFU-E - burst-forming unit-erythroid - progenitor opredeljen za eritroidnu lozu
- INF- γ - interferon gamma

- SCF - stem cell factor - faktor matične ćelije
- eNOS - endothelial nitric oxide synthase – endotelna azot oksid sintetaza
- I/R - ishemijsko/reperfuzijsko
- TNF- α - tumor necrosis factor - α - faktor tumorske nekroze - α
- rHU-EPO - rekombinantni humani EPO
- DA - darbepoetin alfa
- C.E.R.A. - kontinuirani eritropoetin receptor aktivator
- NMRI - Naval Medical Research Institute
- HE - hematoksilin - eozin
- LBW - low birth weight - mala porođajna masa
- AGA - appropriate for gestational age - odgovarajući za gestacijsku starost
- HBW - high birth weight - velika porođajna masa
- MRI - magnetic resonance imaging - magnetna rezonanca
- BMI - body mass index - indeks telesne mase
- VLBW - very low birth weight - veoma mala porođajna masa
- PGF - placental growth factor - placentarni faktor rasta
- VEGFR - VEGF receptor
- HSP-70 - heat shock protein - 70 - toplotni šok protein - 70

SADRŽAJ:

1.	UVOD.....	1
1.1.	RAZVOJ URINARNOG TRAKTA.....	1
1.2.	INTRAUTERUSNA RESTRIKCIJA RASTA (IUGR - INTRAUTERINE GROWTH RESTRICTION).....	3
1.2.1.	Definisanje IUGR.....	3
1.2.2.	Klasifikacija IUGR.....	6
1.2.3.	Uzroci IUGR.....	6
1.2.4.	Dijagnoza, praćenje i prevencija IUGR.....	8
1.2.5.	Barkerova hipoteza.....	10
1.2.5.1.	Dokazi o fetalnom programiranju.....	11
1.2.5.2.	Mehanizmi fetalnog programiranja.....	12
1.2.5.2.1.	Gojaznost.....	12
1.2.5.2.2.	Hipertenzija.....	13
1.2.5.2.3.	Dijabetes.....	13
1.2.6.	Brennerova hipoteza.....	14
1.2.7.	Uticaj IUGR i prevremenog porođaja na nefrogenezu.....	16
1.2.8.	Životinjski modeli IUGR.....	20
1.3.	ERITROPOETIN (EPO).....	21
1.3.1.	EPO receptor (EPOR).....	22
1.3.2.	Regulacija proizvodnje EPO.....	24
1.3.3.	Uloga EPO.....	25
1.3.3.1.	Uloga EPO u eritropoezi.....	25
1.3.3.2.	Uticaj EPO na bubrege.....	26
1.3.3.3.	Uticaj EPO na kardiovaskularni sistem.....	26
1.3.3.4.	Uticaj EPO na nervni sistem.....	27
1.3.3.5.	Uticaj EPO na gastrointestinalni trakt.....	27
1.3.4.	Vrste EPO.....	27
1.3.5.	Neželjeni efekti EPO.....	29
2.	CILJEVI ISTRAŽIVANJA I RADNE HIPOTEZE.....	30
2.1.	CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	30

2.2.	RADNE HIPOTEZE.....	30
3.	MATERIJAL I METODE RADA.....	31
4.	REZULTATI ISTRAŽIVANJA.....	36
4.2.	TELESNA MASA NOVOROĐENIH MIŠEVA.....	37
4.3.	TELESNA MASA MIŠEVA U 7. DANU ŽIVOTA.....	40
4.4.	POVRŠINA GLOMERULA BUBREGA.....	43
4.5.	NUMERIČKA GUSTINA GLOMERULA BUBREGA.....	46
4.6.	DEBLJINA KORTEKSA BUBREGA.....	48
5.	DISKUSIJA.....	51
6.	ZAKLJUČAK.....	65
7.	LITERATURA.....	66

ZAHVALNICA

Posebnu zahvalnost dugujem svom mentoru, prof. dr Vesni Stojanović, na velikoj pomoći, dragocenim savetima i podršci, kao i neiscrpnj energiji koju je uložila tokom izrade disertacije.

Zahvaljujem se prof. dr Biljani Srdić Galić na korisnim sugestijama i neprocenjivoj tehničkoj pomoći u izradi doktorske disertacije.

Zahvaljujem se ass. dr sci. med. Nenadu Barišiću na pomoći i saradnji u izvođenju eksperimentalnog dela doktorske teze.

Zahvaljujem se osoblju Pasterovog zavoda i direktoru prof. dr Dušanu Laloševiću na nesebičnoj saradnji.

Zahvaljujem se kolektivu Klinike za pedijatriju Instituta za zdravstvenu zaštitu dece i omladine Vojvodine na podršci.

Zahvaljujem se svojoj porodici na razumevanju, podršci i ljubavi.

Filipu, Marku i Ivanu

1. UVOD

1.1. RAZVOJ URINARNOG TRAKTA

Embrigeneza urinarnog trakta počinje u 4. nedelji gestacije, kondenzacijom mezoderma na dorzalnoj strani embriona, obostrano duž kičmenog stuba, od koga nastaje pronefros. Lateralni kraj pronefrosne vrpce se razvija u vezikule koje spajanjem formiraju pronefrosni kanal. Pronefros je afunkcionalna struktura koja regredira u 5. gestacijskoj nedelji, kada počinje da se kondenzuje i razvija mezonefros.^{1,2,3}

Mezonefros se sastoji od tubula formiranih spajanjem epitelnih vezikula koje su nastale diferencijacijom mezenhimalnih ćelija. Medijalni kraj mezonefroskog tubula zajedno sa kapilarima medijalne sakralne arterije formira glomerulus. Lateralni kraj mezonefroskog tubula formira mezonefroski duktus. Mezonefroski tubul je primitivni nefron. Mezonefros se sastoji od 30-40 tubula. Kako se novi tubuli stvaraju na kaudalnom delu mezonefrosa, tako oni prethodno nastali na kranijalnom delu nestaju. U desetoj gestacijskoj nedelji mezonefros regredira, a na mestu njega ostaju mezonefrosni Wolffovi kanali. U predelu njihove kaudalne angulacije, u sakralnoj regiji obostrano, formira se matanefros, ili metanefrogeni blastem, permanentna struktura iz koje definitivno nastaju bubrezi.^{1,2}

Parenhim bubrega nastaje od dve različite strukture mezenhima. Nefron se formira diferencijacijom progenitornih ćelija nefrotskog mezoderma. Sabirni kanali, kaliksi, bubrežna karlica i ureter nastaju od epitela mezonefroskog kanala. Prvi se formira ureter, potom sabirni kanali koji indukuju formiranje nefrona. Od epitelnog pupoljka nastaje divertikulum uretera. Divertikuli se granaju u osam generacija tubula koje se produžuju na primitivne bubrežne karlice i kalikse (major i minor). Mali kaliksi formiraju 12 do 14 generacija sabirnih kanala. Distalni deo sabirnih kanala potiskuje progenitorne mezenhimalne ćelije čijom diferencijacijom se formira nefrotski tubul. Distalni deo nefrotskog tubula se spaja sa sabirnim kanalima dok proksimalni kraj zajedno sa kapilarima formira Bowmanovu kapsulu.

Spajanjem nefrotskog tubula i kapilara razvija se primitivni nefron. Metanefrogeni blastem migrira cefalično, u lumbalnu regiju, elongirajući pri tome ureter.^{1,2}

Kaudalno od alantoisa i zadnjeg creva se formira kloaka, koja se tokom 4-6 nedelje gestacije deli uorektalnom pregradom na primitivni urogenitalni sinus sa prednje i rektum sa zadnje strane. Od gornjeg dela urogenitalnog sinusa nastaju bešika, membranozna, odnosno prostatična uretra, a od distalnog vestibulum vagine, odnosno penilna uretra.⁴

Mesto nastanka ureteralnog pupoljka iz mezonefrosnog kanala u direktnoj je vezi sa pravilnim razvojem bubrega, kao i pozicijom ureteralnog ušća. Ureteralni pupoljci sa srednjeg dela kaudalne angulacije mezonefrosnog kanala ulaze u središte metanefrogenog blastema i preduslov su za nastajanje normalnog bubrega, sa normalnim ureteralnim ušćem u predelu trigonuma mokraćne bešike.⁵

Ova serija kompleksnih razvojnih procesa završava se oko 10. nedelje gestacije kada su fetalni bubrezi formirani i započinju sa svojom funkcijom i produkcijom urina. Do 20. gestacijske nedelje sabirni sistem bubrega se potpuno razvija i oko jedne trećine nefrona je prisutno. Kompletna nefrogneza se završava oko 36. nedelje gestacije. Period najintenzivnijeg rasta i razvoja bubrega je od 18. do 32. gestacijske nedelje kada je bubreg i najosetljiviji na oštećenja.^{1,2}

Ureteri su inicijalno prolazni, širokog lumena, da bi u svom razvoju od 35. nedelje gestacije počeli sukcesivno da obliterišu zbog brzog rasta i elongacije. Ponovna rekanalizacija uretera počinje od sredine put kranijalno i kaudalno, tako da su poslednji segmenti rekanalizacije ureteropijelični i ureterovezikalni spoj, što objašnjava učestalost opstruktivnih anomalija upravo na ovim nivoima.^{1,2}

Bešika se razvija od urogenitalnog sinusa, dok regija trigonuma potiče od kaudalnih krajeva mezonefrosnih kanala koji se u nju inkorporiraju kao vezivno tkivo. Za to vreme ureteri se odvojeno ulivaju u bešiku ulazeći koso u njenu bazu.^{1,2}

Uretra se razvija od endoderma urogenitalnog sinusa, osim distalnog dela, koji se od ektoderma sa glandularnog platoa, razvija u suprotnom pravcu ka penilnoj uretri.¹

1.2. INTRAUTERUSNA RESTRIKCIJA RASTA (IUGR - INTRAUTERINE GROWTH RESTRICTION)

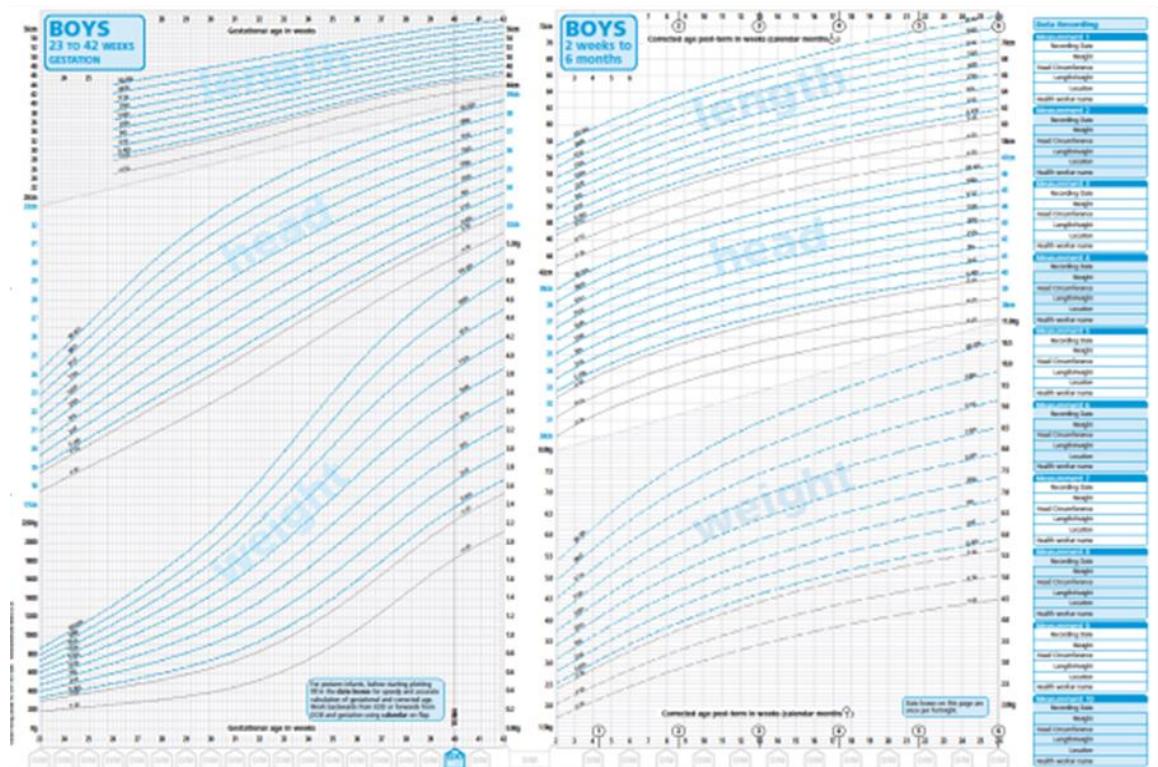
1.2.1. Definisanje IUGR

IUGR se odnosi na stanje u kojem fetus nije u mogućnosti da ostvari svoj genetski potencijal za rast.⁶

IUGR se definiše kao fetus, a zatim i novorođenče čija je porođajna masa ispod 10. percentila za gestacijsku starost (Slika 1), (Slika 2). Mali broj autora smatra da je granična vrednost na 5. ili na 3. percentilu. Postoje mnogi dokazi koji ukazuju da je loš perinatalni ishod uglavnom ograničen na novorođenčad ispod 5. ili 3. percentila.⁷ Novorođenčad rođena u terminu sa telesnom masom između 1500 i 2500g (<10 percentila) imaju 5-30 puta veći perinatalni morbiditet i mortalitet u odnosu na novorođenčad sa telesnom masom između 10. i 90. percentila, dok je kod novorođenčadi sa porođajnom masom manjom od 1500g (<3 percentila) taj rizik još veći (70-100x).⁸

Termin IUGR se koristi samo za one fetuse kod kojih je poznat tj. prisutan etiološki faktor koji je uzrokovao intrauterusnu restrikciju rasta. Ova definicija namerno isključuje fetuse koji su mali za gestacijsku starost (SGA - small for gestational age), ali nisu patološki mali. SGA se definiše kao rast na 10. ili nižem percentilu za težinu svih fetusa te gestacijske starosti. Nisu svi fetusi koji su SGA patološki ograničeni u rastu, oni mogu biti konstitucionalno mali. Isto tako, ne nalaze se svi fetusi koji nisu postigli predviđeni genetski potencijal rasta u manje od 10. percentila za procenjenu fetalnu težinu (EFW - estimated fetal weight).⁹

Od svih fetusa na ili ispod 10. percentila za rast, samo oko 40% su u visokom riziku od perinatalne smrti koja se potencijalno može sprečiti. Drugih 40% fetusa su konstitucionalno mali. Budući da ova dijagnoza može biti postavljena sa sigurnošću samo u novorođenčadi, značajan broj fetusa koji su zdravi, ali SGA, će biti podvrgnuti visokorizičnim protokolima i, potencijalno, jatrogenoj nedonošenosti.¹⁰



Instructions
How to convert date of delivery (DOD) to the calendar date and week number in the same column as that for weeks shown. For the calendar date, use the date on the calendar. For the week number, use the week number on the calendar. For the gestational age, use the gestational age calculator on the calendar.

When you get to the top of calendar week, the week number will be the same as the week number on the calendar.

BOYS UK-WHO Neonatal and Infant Close Monitoring Growth Chart

23 weeks gestation to 2 years corrected age

RCPCH (Royal College of Paediatrics and Child Health) and Health Scotland

Plotting instructions

From birth until 2 weeks after the expected date of delivery (EOD) plot measurements on the 23-42 weeks gestation chart. From EOD to 2 weeks after EOD use gestational age measurements on the 2 weeks to 6 months chart.

Gestational correction is always required when plotting babies born preterm (before 37 completed weeks of gestation). Do not apply any gestational correction for term babies (37-42 completed weeks of gestation). If desired the chart may also be used to track up reverse care for gestation but always plot birth data for babies born between 37-42 completed weeks at 40 weeks.

Calculating gestational, post-menstrual and corrected age from dates is difficult and mistakes are common. Although the chart can be plotted in the conventional way, this chart provides **date boxes** which will allow you to move directly from dates to gestational age and reduce the risk of error. To do this effectively, when first used the chart needs to be prepared as below.

Before starting plotting use the calendar to fill in date boxes. Then use the date boxes for speedy and accurate calculation of age.

For preterm infants:
1. If expected date of delivery (EOD) is not known, plot birthweight at the next completed week e.g. for date of birth (DOB) 24/03/08 at 27 weeks 0 days gestation, date at 28 weeks gestation will be 28/03/08. Then write in the date box and month only at each completed week of gestation, using the calendar left as a guide, until EOD is reached.

For all infants:
after 40 weeks post-menstrual age use the 2 weeks to 6 months chart. Mark the expected date of each completed fortnight after EOD or 28th for term infants at the bottom of the chart, using the calendar date as a guide, and use these to identify the gestational corrected age.

The date boxes are usable on page 1 (23-42 weeks gestation) or page 2 (2 weeks to 6 months) for calendar months on page 3 (0-24 months).

On the 6 months to 2 years chart the date boxes are per calendar month (at 13 weeks). These dates can be calculated using the date at the EOD line. If a child (DOB) was 23/03/08 then mark 23/07/08 in the 6 months box, 23/08 in the 7 months box, 23/09 in the 8 months box, etc. By age 6 months the date box date may be up to 2 days different from the calendar month date. This is not a problem, but the calendar month date should be used from 6 months. If day error is >2 days then a mistake has been made in filling the boxes.

Please print (or photocopy) reference units in space provided

Name: _____

NHS/CMH No: _____

Hospital No: _____

Date of Birth: _____

EOD: _____

Gestation: _____ weeks _____ days

For preterm infants this chart is wholly gestationally corrected, using the date box method. Unlike the UK-WHO 0-4 chart the wrong dates back method should not be used. New users need to be taught how to use this chart. A fact sheet and poster can be downloaded from www.growthcharts.npsf.hk.au

Which children is this chart suitable for?

This chart has been designed for plotting measurements of preterm infants from birth to the age of 2 years post-menstrual age. The chart is also suitable for term, neonates or young infants requiring close monitoring. After this the UK-WHO 0-4 years charts can be used. For healthy preterm babies born at or after 32 weeks gestation the UK-WHO 0-4 years charts can be used from birth, unless there is a need for detailed growth assessment.

A specialist growth chart for low birthweight

The special features of this chart include:

- A 'date box' system to avoid accurate calculation of gestational age
- Large scale for detailed monitoring
- Use reading (SD) lines to allow assessment of very small infants

The three charts display data from two sources:

1. **23-42 weeks gestation:** This chart is based on national UK-WHO data and illustrates the size of both UK infants born at 23-42 weeks gestation around 1990. The 23-42 weeks gestation chart does not describe how preterm infants grow after birth because it shows only birth measurements of infants born at different gestational ages. The weight of many babies born before 32 weeks, particularly the lowest and most premature, may fall by more than two centile spaces in the early days.

2. **2 weeks to 6 months corrected age and 6 months to 2 years corrected age charts:** These charts are derived from the UK-WHO 0-4 years growth charts and use WHO's mean (50th centile) data on healthy, non-debilitated breastfed children of mothers who did not smoke. These charts do not reflect the usual growth of the preterm infant population. However, individual infants who have remained well should follow the trajectory indicated by the centile lines at their corrected age.

Measuring

Remove all clothing, including caps or bonnets, footwear and nappies.

Weight: Use class 0 electronic scales.

Length: Use length board or mat. Do not use measuring tape.

Head circumference: Use non-elasticable tape.

Anyone who takes measurements should be suitably trained or supervised by someone competent. For further information and training material see www.growthcharts.npsf.hk.au

This is a new chart which is still being evaluated and any feedback will be appreciated. For the feedback form see www.growthcharts.npsf.hk.au

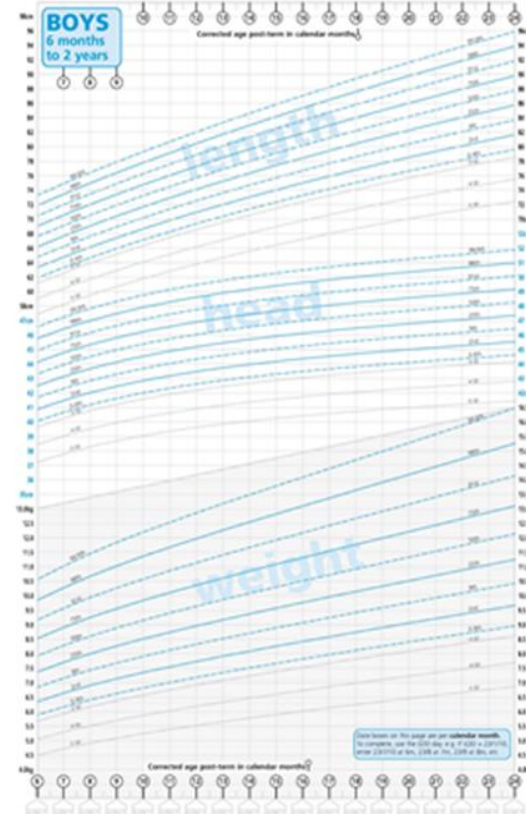
References:

1. World Health Organization. *WHO Child Growth Standards: Length, Weight, and Head Circumference*. Geneva: WHO, 2006.

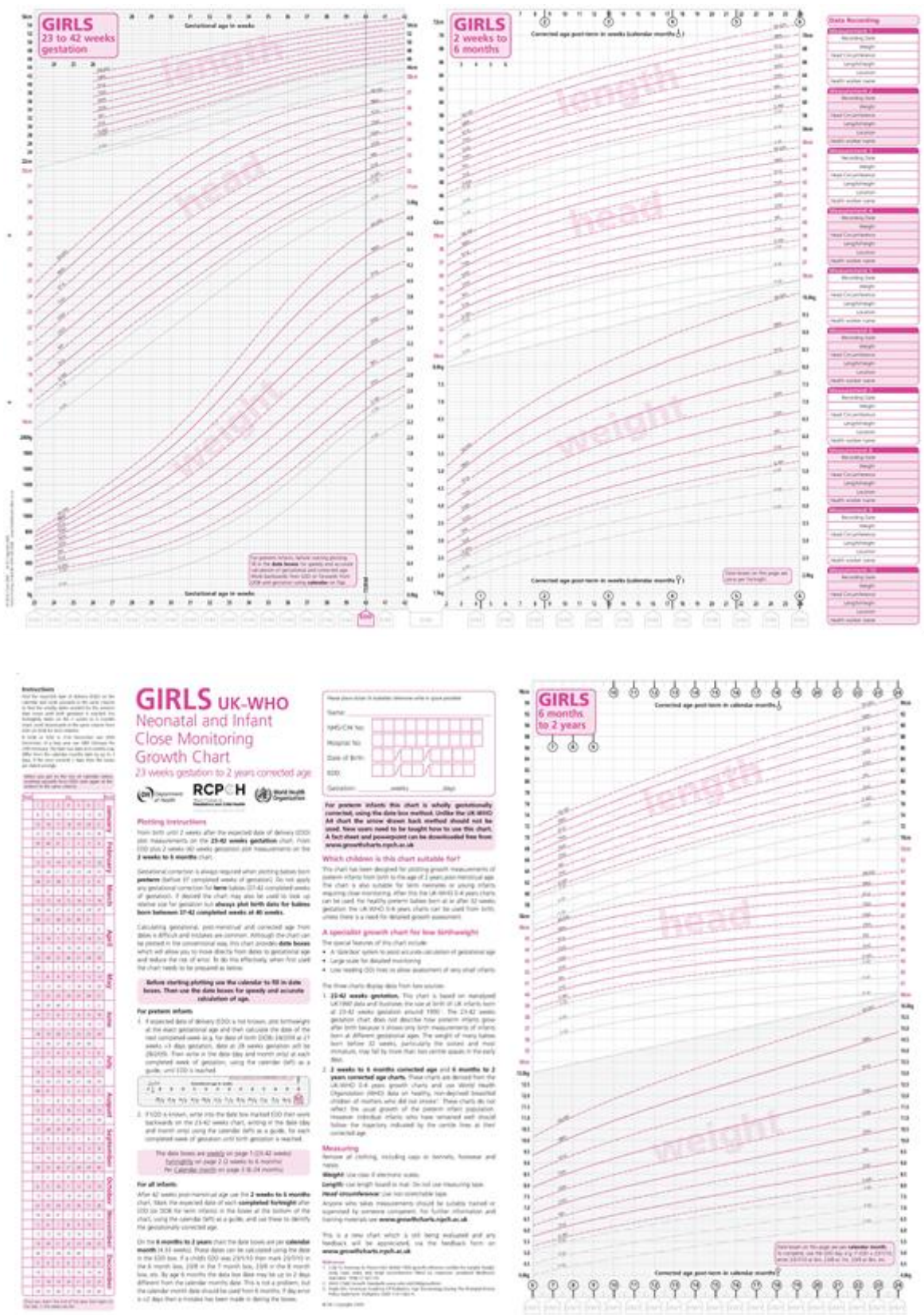
2. *UK-WHO 0-4 years growth charts*. London: Health Protection Agency, 2007.

3. *UK-WHO 0-4 years growth charts*. London: Health Protection Agency, 2007.

4. *UK-WHO 0-4 years growth charts*. London: Health Protection Agency, 2007.



Slika 1. Percentili za novorođenčad muškog pola (Preuzeto sa: www.rcpch.ac.uk/child-health/research-projects/uk-who-growth-charts/uk-who-growth-chart-resources-0-4-years/uk-who-0)



Slika 2. Percentili za novorođenčad ženskog pola (Preuzeto sa www.rcpch.ac.uk/child-health/research-projects/uk-who-growth-charts/uk-who-growth-chart-resources-0-4-years/uk-who-0)

Preostalih 20% fetusa, koji su SGA, su mali kao posledica hromozomskih poremećaja ili kao posledica uticaja okoline (trisomija 18, infekcija citomegalovirusom, fetalni alkoholni sindrom). Ovi fetusi će manje verovatno imati koristi od prenatalne intervencije, a njihova prognoza je najuže povezana sa etiologijom.¹¹

Kod novorođenčeta sa IUGR rizik za mortalitet je veliki, kako pre, tako i nakon porođaja.^{12,13,14} Izazov kliničara je da identifikuje IUGR fetuse čije je zdravlje ugroženo u materici zbog nepovoljnog intrauterusnog uticaja i da prati i interveniše na odgovarajući način. To je izazov koji takođe uključuje identifikaciju malih, ali zdravih fetusa i izbegavanje jatrogenog oštećenja njih ili njihovih majki.¹⁵

1.2.2. Klasifikacija IUGR

Postoje dve osnovne grupe IUGR, simetrična i asimetrična. Do simetrične dolazi ukoliko je fetalni rast kompromitovan u prvom ili drugom trimestru trudnoće. Ona je uzrokovana smanjenjem fetalne ćelijske proliferacije svih organa, što dovodi do proporcionalnog zastoja u rastu, a javlja se u oko 20% do 30% IUGR novorođenčadi. Za razliku od toga, do asimetričnog rasta, u kojoj novorođenče ima manji obim abdomena u odnosu na obim glave, će doći ukoliko zastoj u rastu nastupi u trećem trimestru trudnoće. To je najčešći oblik IUGR (70%-80%) i karakteriše se sposobnošću fetusa da se prilagodi, preraspodelom sopstvenog srčanog izbačaja ka slezini, nadbubregu, koronarnoj i cerebralnoj cirkulaciji.¹⁶

1.2.3. Uzroci IUGR

Intrauterusna restrikcija rasta je jedan od najčešćih i najsloženijih problema u modernoj opstetriciji. Postoje dva osnovna uzroka koja determinišu IUGR: konstitucionalno mala veličina i patološka restrikcija rasta. Mortalitet i morbiditet konstitucionalno male novorođenčadi je znatno manji od novorođenčadi sa patološkom restrikcijom rasta.¹⁷

Fetalni rast zavisi od dve široke i preklapajuće faze trudnoće. Tokom prvog perioda rast se karakteriše kao germinalni i embrionalni, dok u drugom razdoblju diferencijacija pretežno zavisi od genetskih karakteristika. To je razlog manje biološke varijabilnosti rasta tokom prvog razdoblja trudnoće. Sa druge strane, postoji povećanje varijabilnosti kako trudnoća napreduje.¹⁸

IUGR nastaje kada dopremanje gasova i hranljivih materija ka fetusu nisu dovoljni za intrauterusno napredovanje. Ovaj proces se može dogoditi primarno zbog bolesti majke koja uzrokuje smanjenje snabdevanja kiseonikom (npr. cijanogena srčana bolest, pušenje, hemoglobinopatije), disfunkciju sistema za snabdevanje kiseonikom kao posledicu vaskularne bolesti majke (npr. dijabetes sa vaskularnom bolešću, hipertenzija, autoimuna bolest koja zahvata krvne sudove ka placenti), ili oštećenje posteljice kao rezultat bolesti majke (npr. pušenje, trombofilije, razne autoimune bolesti).^{19,12}

Uzroci IUGR od strane majke uključuju sledeće:¹²

- Hronična hipertenzija
- Trudnoća udružena sa hipertenzijom
- Cijanogena bolest srca
- Dijabetes
- Hemoglobinopatije
- Autoimune bolesti
- Proteinsko-kalorijski deficit
- Pušenje
- Narkomanija
- Malformacije materice
- Trombofilije
- Dugotrajna izloženost visokoj nadmorskoj visini

Uzroci IUGR od strane placentе ili pupčane vrpce uključuju sledeće:

- „Twin-to-twin“ transfuzija sindrom

- Placentarne anomalije
- Hronična abrupcija placente
- Placenta previa
- Abnormalana insercija pupčanika
- Anomalije pupčane vrpce
- Multiple gestacije

1.2.4. Dijagnoza, praćenje i prevencija IUGR

Najčešće se EFW na ili ispod 10. percentila koristi za prepoznavanje fetusa u riziku. Međutim, to nije definitivna granica za uteroplacentnu insuficijenciju. Određeni broj fetusa na ili ispod 10. percentila mogu biti konstitucionalno mali. Kako bi se poboljšala senzitivnost i specifičnost za postavljanje dijagnoze IUGR, potrebne su krivulje rasta prilagođene etničkoj pripadnosti, visini roditelja i polu.^{20,21}

Postupci za dijagnozu i praćenje fetusa sa IUGR su sledeći :

- Skrining fetusa na intrauterusni zastoj rasta²²
- Biometrija i volumen amnionske tečnosti^{23,24}
- Doppler uterine arterije²⁵
- Doppler umbilikalne arterije²⁶
- Doppler srednje cerebralne arterije²⁷
- Talasni venski Doppler²⁸
- Trodimenzionalna ultrasonografija²⁹
- Terapijske opcije^{30,31,32,33,34}

Nakon što je otkrivena IUGR, vođenje trudnoće bi trebalo da zavisi od plana nadzora koji maksimalizuje gestacijsku starost, a minimalizuje rizik od neonatalnog morbiditeta i mortaliteta. Ovo bi trebalo da podrazumeva davanje kortikosteroida kada je to moguće, zasnovano na praćenju i strategiji porođaja. Ispitivanja zrelosti fetalnih pluća pomoću amniocenteze kod fetusa iznad 34. gestacijske nedelje, dodatno mogu uticati na termin porođaja.³⁵

Kako nije poznat efektivni tretman, cilj vođenja trudnoće sa IUGR fetusom je da se porodi najzreliji fetus u najboljem mogućem fiziološkom stanju, a umanjiti rizik za majku. Takav cilj zahteva upotrebu antenatalnog skrininga. Od velike važnosti je napraviti šemu testiranja, pratiti je, i utvrditi visinu rizika na IUGR ako su rezultati ispitivanja patološki. Pozitivna prediktivna vrednost patološkog antenatalnog testa kod fetusa sa IUGR je relativno visoka, jer je prevalencija acidemije i hronične hipoksemije relativno visoka.³⁶

Predloženi su brojni protokoli za antenatalno praćenje IUGR fetusa. Najvažniji je nedeljni non-stress test (NST), koji podrazumeva praćenje srčane akcije fetusa. Dodatni modaliteti mogu uključivati određivanje volumena amniotske tečnosti, biofizičke profile, i / ili Doppler ispitivanja.³⁷ Takođe, postoje i drugi složeniji protokoli. Protokol za antenatalno testiranje koji su predložili Kramer i Weiner se oslanja na korišćenje Dopplera umbilikalne arterije zbog toga što teške abnormalnosti Doppler nalaza (odsutni ili obrnuti end-dijastolni protok) mogu da prethode patološkim otkucanjima srca fetusa za nekoliko nedelja.³⁸ Harman i Baschat su sugerisali protokol koji integriše višestruka venska i arterijska Doppler merenja i biofizički profil skor (BPS).³⁹

Načinjeni su pokušaji prevencije IUGR. Naučnici su posmatrali odnos izmene tromboksana u prostaciklin primenjujući aspirin sa ili bez dipiridamola kod majki sa IUGR fetusom. Studije koje su ispitivale ove agense za prevenciju IUGR je teško uporediti. Različite doze aspirina, različiti intervali primene u trudnoći, različite indikacije za upotrebu čine komparaciju teškom. Uprkos teoretski dokazanoj koristi aspirina u brojnim studijama, uloga aspirina, ako ih ima, u prevenciji IUGR je još uvek nejasna.^{40,41,42}

IUGR ostaje izazovan problem za kliničare. Većina slučajeva IUGR se javlja u trudnoćama kod kojih ne postoje faktori rizika, te je oprez neophodan zbog mogućnosti pojave poremećaja rasta u svim trudnoćama. Ni jedno ispitivanje ne može sa sigurnošću da potvrdi dijagnozu, zbog čega je neophodna kompleksna strategija za dijagnostiku i procenu. Sposobnost da se dijagnostikuje poremećaj i razume njegova patofiziologija ubrzava

mogućnost prevencije ili tretmana komplikacija. Trenutni terapijski ciljevi su da se optimizuje termin porođaja u cilju smanjenja hipoksemije, povećanja gestacijske starosti i poboljšanja ishoda.¹⁵

1.2.5. Barkerova hipoteza

Pre nekoliko desetina godina, zabrinutost zbog abnormalnog rasta fetusa uglavnom je bila usmerena prema preživljavanju u neposrednom neonatalnom periodu. Sada je akcent stavljen na dugoročne posledice abnormalnog fetalnog rasta, posebno u slučaju IUGR. Evidentno je da su pojedinci koji pokazuju smanjen intrauterusni rast u znatno većem riziku za dijabetes tip 2, gojaznost, hipertenziju, dislipidemije, i insulinsku rezistenciju (metabolički sindrom), što konačno vodi do prevremenog razvoja kardiovaskularnih bolesti.⁴³ Hipoteza „razvojnog porekla bolesti odraslog doba“, često nazivana i Barkerovom hipotezom po jednom od njenih vodećih zagovornika, navodi da štetni uticaji u ranom razvoju, a naročito tokom intrauterusnog života, mogu dovesti do trajnih fizioloških i metaboličkih promena, što rezultira povećanim rizikom oboljevanja u odraslom dobu. Ova hipoteza potiče iz posmatranja Barkera i saradnika da su regije u Engleskoj koje su imale najveću stopu smrtnosti novorođenčadi početkom dvadesetog veka, takođe imale najveću stopu smrtnosti od koronarne bolesti decenijama kasnije.^{44,45,46}

Koncept razvojne plastičnosti se može definisati kao fenomen u kojem jedan genotip može izazvati niz različitih fizioloških i morfoloških stanja kao odgovor na različite uslove okoline tokom razvoja. Ovaj koncept se zasniva na ideji da postoji kritično razdoblje kada je sistem plastičan i osetljiv na okolinu, nakon čega sledi gubitak plastičnosti i dolazi do fiksne funkcionalne sposobnosti.⁴⁷ Posebno su relevantni efekti fetalne pothranjenosti. Smanjenje hranljivih supstanci ispod nivoa koji je potreban za optimalni fetalni rast "reprogramira" potomstvo putem trajnih strukturnih i funkcionalnih promena koje, u kontekstu postnatalne zasićenosti hranjivim materijama, dovode do predisponiranosti bolestima. To podrazumeva insulinsku rezistenciju, ključnu za diabetes melitus tip 2, i smanjenje broja nefrona što verovatno vodi do povišenog krvnog pritiska, koji oboje doprinose razvoju metaboličkog sindroma.⁴⁸

Po Barkerovoj hipotezi pothranjeni fetus je programiran da ispolji "štedljiv" fenotip sa povećanim unosom hrane uz povećane naslage masti i eventualno smanjenje proizvodnje energije. Suočeni s dovoljno raspoloživih kalorija, takvi pojedinci razvijaju gojaznost i druge manifestacije metaboličkog sindroma kao odrasle osobe zbog promena u homeostatskim regulatornim mehanizmima.^{49,50,51}

Pitanje fetalnog programiranja nije samo od intelektualnog interesa. Gojaznost i bolesti koje su za nju vezene su vodeći uzrok smrti u zapadnom društvu, zajedno sa hipertenzijom, koronarnom bolesti srca, moždanim udarom, dijabetes melitusom i rakom dojke, prostate i debelog creva.⁵² Dokazi upućuju da se 25-63% dijabetes melitusa odraslog doba, hipertenzije i koronarne bolesti srca može pripisati uticaju niske porođajne težine sa ubrzanim dobijanjem na težini od novorođenačkog do adolescentnog perioda. U zapadnim društvima, incidencija male porođajne težine se povećala od sredine dvadesetog veka. Zahvaljujući tehnologiji potpomognute oplodnje kod žena sa hroničnim bolestima i smanjenom reproduktivnom sposobnošću, došlo je do povećanja broja multiplih gestacija koje dovode i do prevremenog porođaja, kao i do male porođajne težine novorođenčadi. Kombinacija povećanog neonatalnog preživljavanja i izloženost ishrani karakterističnoj za zapadne zemlje, dovodi do povećanja broja programiranih potomaka sa predispozicijom za gojaznost u odraslom dobu. Takve gojazne žene kasnije mogu rađati makrosomatsku novorođenčad, i tako nastaviti gojaznost u populaciji.⁵³

1.2.5.1. Dokazi o fetalnom programiranju

Postoje brojni dokazi koji sugerišu da je IUGR kod ljudi povezan sa gojaznošću u odraslom dobu. Barker je sa kolegama sproveo studiju na grupi muškaraca i žena rođenih u Herfordširu u Engleskoj između 1911. i 1930. godine, koja je otkrila da su mala porođajna težina, kao i mala težina u prvoj godini života, povezani sa povećanim rizikom od smrti uzrokovanom kardiovaskularnim bolestima i moždanim udarom.⁵⁴ Epidemiološke studije ljudi rođenih tokom holandske „gladne zime“ u periodu 1944-1945. godine, otkrile su da je izgladnjivanje majki povezano sa smanjenom porođajnom težinom novorođenčadi i povećanom incidencom gojaznosti, insulinske rezistencije, hipertenzije i koronarne bolesti u

odraslom dobu.^{55,56,57,58,59} Jedna švedska studija je dokazala da je povišen dijastolni pritisak povezan sa malom porođajnom težinom.⁶⁰

1.2.5.2. Mehanizmi fetalnog programiranja

IUGR dovodi do promena u brojnim organima fetusa. Gojaznost je potencirana promenom u regulaciji apetita i povećanom adipogenezom. Hipertenzija je posledica promena u razvoju bubrega i krvnih sudova. Dijabetes je povezan sa promenama u ćelijskoj osetljivosti na insulin i smanjenju funkcije beta ćelija. Ove promene u programiranju mogu, zajedno, izazvati metabolički sindrom u odraslom dobu. Pojednost fetalnog programiranja se verovatno razlikuju zavisno od uzroka IUGR.⁵³

1.2.5.2.1. Gojaznost

Poznato je da restrikcija unosa hrane majke dovodi do IUGR i naknadno, zajedno sa povećanim apetitom, do gojaznosti. Leptin, kao primarni faktor sitosti, uzrokuje smanjenje unosa hrane. Kod IUGR fetusa, nivo leptina je snižen. U uzrastu od 2 meseca mRNA leptina potkožnog masnog tkiva je u negativnoj korelaciji sa porođajnom težinom. U odraslom dobu, nivoi leptina i insulina su u vezi sa porođajnom težinom, nezavisno od gojaznosti. IUGR u odraslom dobu, međutim, pokazuju otpornost na anoreksogene efekte leptina, sugerišući izmenjenu kontrolu apetita kao uzrok gojaznosti povezane sa IUGR.^{61,62,63}

Hipotalamus vrši centralnu kontrolu apetita. Hipotalamusna rezistencija leptina je odgovorna za promene leptin - transportera, hipotalamusnog leptin receptora (ObRb), i/ili signalizacije leptina, iako se ne zna koji je od ovih mehanizama odgovoran za gestacijsko programiranje rezistencije leptina i gojaznosti. IUGR indukovani smanjenim unosom hrane majke rezultira potomstvom sa povećanom ekspresijom ObRb i narušavanjem međućelijske signalizacije leptina. IUGR imaju snižene vrednosti leptina na rođenju, dok se u odraslom dobu nivo leptina povećava, a anoreksogeni odgovor na leptin opada, verovatno zbog promena u intracelularnoj signalizaciji.^{64,65,66,67,68} Osim promena u signalizaciji, IUGR može biti povezan sa trajnim anatomskim promenama u centru za apetit u mozgu.⁶⁹

Razvoj gojaznost je povezan sa povećanom diferencijacijom adipocita, hipertrofijom adipocita i/ili dodatnom regulacijom lipogenih gena. PPAR γ 2, faktor adipogene transkripcije, učestvuje u diferencijaciji adipocita i skladištenju lipida. Ekspresija adipogenih faktora transkripcije koji regulišu PPAR γ , je takođe dodatno regulisan. Zbog toga, osim centralne disregulacije apetita, IUGR pojedinci mogu pokazati abnormalnu aktivaciju adipocita, što doprinosi razvoju gojaznosti.^{70,71}

1.2.5.2.2. Hipertenzija

Smanjeni broj nefrona je povezan sa povišenim arterijskim krvnim pritiskom i promenama u postnatalnoj funkciji bubrega. Različite studije su dokazale da je intrauterusna restrikcija rasta u korelaciji sa smanjenim brojem nefrona. Istraživanja pokazuju da je period od 26. do 34. nedelje gestacije kod ljudi razdoblje kada promene u razvoju bubrega mogu dovesti do hipertenzije.^{72,73,74}

Nekoliko studija je pokazalo da je endotel zavisna i nezavisna vazodilatacija, kao i dilatacija uzrokovana protokom, smanjena kod pojedinaca sa malom porođajnom težinom u uzrastu od 3 meseca, u kasnijem detinjstvu i ranom odraslom dobu.^{75,76,77}

Glavna determinanta arterijskog krvnog pritiska je arterijska komplijansa, što je funkcija ekstraćelijskog matriksa (ECM – extracellular matrix). ECM je načinjen od kolagena, elastina i glatke muskulature i može se menjati ishranom u odraslom dobu.^{78,79}

1.2.5.2.3. Dijabetes

Epidemiološke studije su pokazale da je mala porođajna težina povezana sa rizikom za razvoj dijabetesa tip 2. Kod IUGR može postojati smanjena sposobnost sekrecije insulina zbog smanjenog broja pankresnih ostrvaca. Odrasli ljudi rođeni sa IUGR imaju smanjen odgovor insulina na glukozu. Smanjenje kapaciteta ekskrecije insulina može biti povezano sa povećanjem potrebe za insulinom. Kada potreba za insulinom premašuje kapacitet pankreasa, razvija se dijabetes.⁸⁰

Jedan od razloga za povećanje potreba za insulinom kod IUGR je povećana glukoneogeneza. Ekspresija PPAR γ koaktivatora - 1, regulatora mRNA ekspresije glukoza-6-fosfataze i drugih enzima glukoneogeneze, povećava se u jetri kod IUGR i upućuje na to da

promena jetrene proizvodnje glukoze može biti posledica promena u intraćelijskog signalizaciji.⁸¹

Razvoj intolerancije na glukozu kod IUGR takođe može biti povezan sa drugim promenama insulinske signalizacije. Na primer, ulazak glukoze u skeletne mišiće se odvija preko transportera glukoze tip 4 (GLUT4), proces koji je potstaknut insulinom. Osobe rođene sa IUGR u odraslom dobu pored insulinske rezistencije takođe pokazuju neuspeh u regulisanju mišićnog GLUT4 nakon stimulacije insulinom. Kako su skeletni mišići primarno mesto za insulin indukovano korišćenje glukoze, ovaj nedostatak odgovora može biti povezan sa intolerancijom glukoze.⁸²

1.2.6. Brennerova hipoteza

U kasnim 1980-im godinama, Brenner i autori su izneli hipotezu da je fundamentalna bubrežna abnormalnost koja dovodi do povišenog krvnog pritiska smanjena površina filtracije. Ovo bi moglo biti uzrokovano smanjenjem broja nefrona u bubregu i / ili smanjenjem bubrežne površine filtracije po nefronu.⁸³ Sproveden je niz eksperimentalnih studija koje se tiču Brenner-ove hipoteze. Rezultati studija sprovedenih na životinjama su bili daleko od univerzalnih.^{84,85,86} Stereološkom tehnikom su brojani nefroni i merena je renalna površina filtracije. U svim slučajevima gde je bio smanjen broj nefrona, zapažen je kompenzatorni porast veličine glomerula sa istovremenim povećanjem površine glomerularne filtracije po glomerulu, tako da površina bubrežne filtracije nije bila ugrožena. Na opisanom IUGR modelu, budući da renalna površina filtracija nije bila kompromitovana, ne čudi (na temelju Brennerove hipoteze) da krvni pritisak nije bio promenjen. Sprovedenim ispitivanjem ukrštanja spontano hipertenzivnih pacova i normotenzivnih pacova Wistar Kyoto soja, nije dokazana značajna korelacija između visine krvnog pritiska i broja nefrona ili površine filtracije bubrega.^{87,88}

Ukupni eksperimentalni dokazi jasno pokazuju da smanjenje broja nefrona na početku života ne mora nužno dovesti do povišenog krvnog pritiska. Međutim, kada se funkcionalna rezerva nefrona jako smanji, glomeruli će doći do granice fiziološke kompenzatorne hipertrofije i pokrenuće se patološki mehanizmi, što može dovesti do hipertenzije.

Prolongirana hiperfiltracija hipertrofičnih glomerula na kraju može dovesti do glomerulske skleroze i eventualnog gubitka glomerula.⁸⁹ Budući da gubitak glomerula tokom života ubrzava rizik i na kraju dovodi do krajnjeg stadijuma bubrežne bolesti, verovatno je da će se sklonost ka bolesti povećati kada se funkcionalna rezerva smanji pre početka bolesti. U tom smislu se pretpostavlja da kongenitalni deficit nefrona deluje kao inicijalni događaj u bubregu koji u kombinaciji sa daljim postnatalnim događajima dovodi do pogoršanja bubrežne funkcije. Postoji nekoliko eksperimentalnih studija koje podržavaju tu ideju, dok druge studije to nisu dokazale. Na primer, dokazano je da IUGR sa istovremenim smanjenjem broja nefrona dovodi do teže glomeruloskleroze na modelu mezangioproliferativnog glomerulonefritisa kod pacova.⁹⁰ Osim toga dokazano je da su bubrezi kod IUGR pacova, sa smanjenim brojem nefrona, osetljiviji na AGE (advanced glycation end products – krajnji produkti glikolizacije) infuziju. To podrazumeva da IUGR bubrezi sa kongenitalnim deficitom nefrona mogu imati veću predispoziciju za indukciju dijabetesa, s obzirom da je formiranje AGE znatno povišeno sa hiperglikemijom i njegovo nakupljanje u tkivima je povezano sa patogenezom oštećenja nervnih završetaka kod bolesnika sa dijabetesom.⁹¹ U skladu s tom idejom, napredovanje bubrežne bolesti je brže kod bolesnika sa jednim bubregom.⁹² Ispitivan je uticaj streptozotocina na indukciju dijabetesa u odrasloj dobi na IUGR modelu pacova sa ograničenim unosom proteina majke. Otkriveno je da znatno smanjenje hiperglikemije ne dovodi do pogoršanja funkcije bubrega kod pacova sa IUGR.⁹³ To je verovatno zbog kompenzatorne glomerularne hipertrofije u IUGR potomstva. Jones i saradnici su ispitali efekat indukcije dijabetesa streptozotocinom na bubrežne strukture kod IUGR pacova. Oni su dokazali da IUGR pacovi imaju proporcionalno veći bubreg u odnosu na pacove bez IUGR. Na tretman insulinom je došlo do smanjenja hipertrofije bubrega, ali su glomeruli ostali hipertrofični kod IUGR pacova.⁹⁴ Brojna eksperimentalna istraživanja su ispitala uticaj ishrane bogate solju kod pacova sa IUGR. Rezultati su pokazali da ne postoje dokazi o hipertenziji osetljivoj na so kod IUGR pacova koji su hranjeni ishranom bogatom solju u odrasloj dobi. Analiza bubrega je pokazala kompenzatornu hipertrofiju glomerula kod IUGR pacova sa kongenitalnim deficitom nefrona tako da se površina filtracije bubrega nije razlikovala od one u kontrolnoj grupi. Primena ishrane bogate solju kod IUGR pacova sa jednim bubregom dovodi do značajnog smanjenja brzine glomerularne filtracije i porasta krvnog pritiska.⁹⁵

Keller i saradnici su sprovedli studiju na ljudima, gde je na obdukcijama dokazano smanjenje broja nefrona po bubregu kod belih osoba srednjih godina iz Nemačke, koji su

patili od primarne hipertenzije u odnosu na normotenzivne pojedince. Važno je imati na umu pri tumačenju nalaza takve studije da hipertenzija može dovesti do oštećenja bubrega, tako da smanjenje broja nefrona može biti rezultat povišenog krvnog pritiska, a ne uzrok. Međutim, to se ne čini da je slučaj u Keller-ovoj studiji, jer je udeo sklerotičnih glomerula u bubregu hipertenzivnih osoba bio mali (<5-6%).⁹⁶

1.2.7. Uticaj IUGR i prevremenog porođaja na nefrogenezu

Nefrogeneza se normalno završava između 32. i 36. nedelje gestacije, nakon čega se ne formiraju novi nefroni.⁹⁷ Nefroni su funkcionalne jedinice bubrega, stoga, broj nefrona nastalih unutar bubrega po završetku nefrogeneze direktno utiče na funkcionalnu sposobnost i rezervu bubrega za ceo život pojedinca. Veoma je bitno da je adekvatna nefrogeneza postignuta na samom početku života. Istraživanja sprovedena na nalazima obdukcija u protekle dve decenije su pokazala da postoji širok raspon u broju nefrona u ljudskom bubregu.^{98,99,100,101} Dokazano je da se broj nefrona kreće u rasponu od oko 200.000 do preko 2 miliona po bubregu.¹⁰² Širok raspon u broju nefrona među pojedincima se verovatno može pripisati razlikama koje mogu biti posledica genetskih i / ili uslova sredine, kao i razlikama u izloženosti sekundarnim uticajima tokom života, što može da dovede do gubitka nefrona. Izloženost IUGR i / ili prevremenom porođaju može negativno uticati na nefrogenezu i time negativno uticati na broj nefrona na početku života.¹⁰³

Brojne studije na autopsijama su dokazale značajno smanjenje broja nefrona kao rezultat IUGR. Utvrđeno je da je broj nefrona mrtvorodne dece sa IUGR značajno manji u odnosu na novorođenčad koja su rođena sa telesnom težinom u skladu sa gestacijskom starošću. U drugoj studiji, linearni odnos je dokazan između broja glomerula (a time i nefrona) i porođajne težine u terminske novorođenčadi. Novorođenčad ispod 10. percentila porođajne težine su imala 30% manje glomerula u odnosu na novorođenčad sa porođajnom težinom iznad 10. percentila.^{104,105} Osim toga, mnoga eksperimentalna istraživanja na različitim modelima životinja su pokazala da IUGR dovodi do smanjenja broja nefrona na rođenju. Dokazano je da nizak broj nefrona na rođenju prati i eksperimentalno izazvan IUGR potomstva, nastao kao rezultat deprivacije ishrane majke, ograničenja unosa proteina majke,

ligature arterije uterine te embolizacije placente.^{106,107,108,109} U principu, u trenutku rođenja, veličina bubrega je proporcionalna veličini tela i broj nefrona je direktno proporcionalan veličini bubrega. Međutim, u slučaju da dođe do restrikcije rasta kasno u trudnoći, kada je nefrogeneza završena (ili pred završetkom), taj odnos ne postoji.¹¹⁰

U prethodnim istraživanjima je dokazano da prevremeni porođaj dovodi do smanjenja broja nefrona na rođenju. Rodriguez i saradnici su otkrili da su prevremeno rođena novorođenčad (posebno ona sa akutnom bubrežnom insuficijencijom) imala značajno manji broj glomerula u odnosu na terminsku novorođenčad.¹¹¹ Osim toga, nedavno objavljeno eksperimentalno istraživanje na mišjem modelu je pokazalo da prevremen porođaj za 1-2 dana dovodi do smanjenja broja nefrona za 20%.¹¹²

Do prevremenog porođaja dolazi u vreme dok je nefrogeneza u toku. U eksperimentalnom istraživanju demonstrirano je da se kako kod babuna tako i kod čoveka, nefrogeneza nastavlja nakon prevremenog porođaja. Opservacija delova bubrega ove prevremeno rođene novorođenčadi jasno pokazuje aktivnu nefrogenetsku zonu. Stereološkom tehnikom je dokazano da je broj generacija glomerula i ukupan broj nefrona povećan u postnatalnom razdoblju nakon prevremenog porođaja, time ukazujući da se nefrogeneza nastavlja u vanmaterničnoj sredini. Ukupan broj nefrona je u referentnim vrednostima, iako na donjoj granici. Mnogi glomeruli u spoljašnjem korteksu u bubregu prevremeno rođenog deteta su abnormalni. Broj abnormalnih glomerula veoma varira, od manje od 1% do 13% glomerula u bubregu deteta koje je prevremeno rođeno i 22% u bubregu prevremeno rođenog babuna. Abnormalni glomeruli pokazuju cističnu morfologiju sa grubo proširenim Bowmanovim prostorom. Oni se nalaze unutar spoljašnjeg bubrežnog korteksa i mogu se zapaziti u nezrelom stadijumu razvoja. Glomerularna resa se sastoji od nediferenciranih prekursorskih ćelija okruženih slojem podocita sa oskudnom, ili nikakvom, kapilarizacijom.^{113,114}

Glomeruli formirani u vanmaterničnoj sredini nakon rođenja imaju predispoziciju za razvoj malformacija. Ukoliko je abnormalni glomerul morfološki atubularan, on nikada neće biti funkcionalan. To znatno utiče na broj funkcionalnih nefrona na početku života novorođenčadi kod koje je prisutan visok procenat abnormalnih glomerula.¹¹⁵ Nepoznat je razlog zbog koga neki bubrezi pokazuju mnogo glomerulskih abnormalnosti, dok su drugi relativno nepromenjeni. Dokazano je da kod ekstremno nezrele prevremeno rođene novorođenčadi dolazi do ekstrauterusne restrikcije rasta (extrauterine growth restriction -

EUGR), jer oni uglavnom ne postignu normalnu stopu rasta van materice kao onu u materici. To verovatno ima značajne implikacije za tekuću nefrogenezu i posledično na bubrežnu funkciju u odraslom dobu.¹¹⁶

Kod prevremeno rođene dece u neonatalnom periodu dolazi do značajnog povećanja veličine bubrega, koje nije proporcionalno veličini tela. Kvantitativno ispitivanje bubrežnog tkiva kod prevremeno rođene dece koje je prikupljeno na obdukcijama, naknadno je potvrdilo da je bilo i glomerularne hipertrofije i ubrzanog sazrevanja bubrega u nedonoščadi nakon rođenja. Na primer, dokazano je značajno smanjenje u širini nefrogene zone u odnosu na bubrege kod mrtvorodenčadi iste gestacijske starosti. Iako je nefrogeneza u toku u bubregu nedonoščeta, smanjenje širine nefrogene zone podrazumeva da postoji smanjena sposobnost za formiranje novih nefrona, verovatno zbog ubrzanog sazrevanja bubrega. U prilog ovoj ideji ide smanjenje u udelu najnezrelijih glomerula (vezikula), u okviru nefrogene zone, što ukazuje na smanjeno formiranje novih glomerula u vanmaterničnoj sredini.¹¹⁴

Uz ubrzano sazrevanje, postoji i dokaz o glomerularnoj hipertrofiji, verovatno zbog povećanih funkcionalnih zahteva bubrega nakon rođenja i / ili povećanja bubrežnog krvotoka. Ukoliko ova hipertrofija postoji i u kasnijem životu, verovatno će dovesti do štetnog uticaja na bubrežne funkcije s obzirom da je glomerularna hipertrofija povezana sa bubrežnom patologijom odraslog doba. Dugoročna hiperfiltracija hipertrofičnih glomerula će dovesti do razvoja glomerulske skleroze i naknadnog gubitka glomerula, čime se dodatno smanjuje funkcionalna sposobnost bubrega.^{117,118}

Glomerularna hipertrofija i ubrzano sazrevanje bubrega kod nedonoščadi nisu iznenađujuće, s obzirom na znatnu promenu hemodinamike u trenutku rođenja i povećanih funkcionalnih zahteva bubrega van materice. Hemodinamska adaptacija fetalnog bubrega na vanmaternični život uključuje transformaciju od fetalnog organa visokog vaskularnog otpora sa niskim protokom krvi (primarno protoka krvi kroz unutrašnji korteks), do organa niskog vaskularnog otpora, visokog protoka krvi, sa primarnim snabdevanjem krvi kroz spoljašnji korteks. Protok krvi u bubrezima je vrlo nizak tokom fetalnog života. Fetalni bubreg između 10. i 20. nedelje gestacije dobija svega 5% srčanog izbačaja. Nakon rođenja, protok krvi kroz bubreg se gotovo udvostručuje, rastući na oko 9% srčanog izbačaja.^{119,120}

Studije na životinjskim modelima sa postnatalnom nefrogenezom u toku, su pokazale da nakon rođenja inicijalno postoji nizak protok krvi kroz spoljašnji korteks bubrega što je verovatno zaštitni mehanizam u cilju zaštite razvoja nezrelog glomerula u ovoj regiji

bubrega.¹²¹ Nije poznato, međutim, da li je zaštitni obrazac raspodele krvi takođe prisutan u bubregu prevremeno rođenog deteta, što je posebno važno s obzirom da su ti bubrezi strukturno vrlo nezreli i nefrogeneza je još uvek u toku u spoljašnjem korteksu bubrega nakon rođenja.¹²⁰

Postoje brojne studije, i na ljudima i na eksperimentalnim modelima, koje pokazuju vezu između male porođajne težine i dugoročnog povećanja krvnog pritiska i opasnosti od razvoja bolesti bubrega. Sistematskim pregledom osamdeset studija sprovedenih kod dece, adolescenata i odraslih osoba u periodu između 1996. do 2000. godine, koje su ispitivale vezu između nivoa krvnog pritiska i porođajne težine, je uočeno smanjenje vrednosti krvnog pritiska sa povećanjem porođajne težine (uočeno je smanjenje krvnog pritiska od oko 2mmHg za svaki kilogram više porođajne težine).¹²² Iako ovi efekti na krvni pritisak deluju relativno skromno, oni sigurno imaju potencijal da povećaju rizik od kardiovaskularnih bolesti, pogotovo kada postoje i drugi faktori rizika. Relativan porast krvnog pritiska od 2mmHg je povezan sa 6% većim rizikom za bolest koronarnih arterija, i 15% većim rizikom za moždani udar.¹²³ Uz dugoročne efekte na krvni pritisak, postoje epidemiološki podaci koji povezuju malu porođajnu težinu sa hroničnom bolešću bubrega. White i saradnici su 2009. godine objavili meta - analizu 31 relevantne studije i zaključili da osobe rođene sa malom porođajnom težinom imaju 70% veći rizik za razvoj bolesti bubrega.¹²⁴ Većina studija korišćenih u navedenoj meta-analizi nisu pravile razliku između male porođajne težine zbog IUGR i onu zbog prevremenog porođaja. Epidemiološki dokazi povezuju prevremeni porođaj sa indukcijom hipertenzije u odraslom dobu, pa čak i kod dece.^{125,126}

Postoji inverzni odnos između gestacijske starosti na rođenju i nivoa krvnog pritiska. Na primer, nedavno sprovedena studija je pokazala smanjenje sistolnog krvnog pritiska za 0,53mmHg za svaku nedelju više gestacijske starosti na rođenju.¹²⁷ Postoje brojni radovi o štetnim uticajima na bubrežnu funkciju u kasnijem životu osoba koje su prevremeno rođene. Bubrežna oštećenja nisu univerzalni nalaz u studijama sprovedenim na prevremeno rođenoj novorođenčadi, što može biti povezano sa lošim ishodom novorođenčadi ekstremno male porođajne težine (extremely low birth weight – ELBW, što se definiše kao novorođenče sa porođajnom težinom manjom od 1000 grama). Keizer–Veen i saradnici su dokazali nižu stopu glomerularne filtracije i veću ekskreciju urinarnog albumina kod odraslih osoba, koje su rođene kao novorođenčad ELBW, koji su takođe bili mali za datum, u odnosu na one rođene prevremeno i somatometrijskih parametara u skladu sa gestacijskom starošću.¹²⁸

Kwinta i saradnici su objavili da deca koja su rođena kao ELBW u uzrastu od 6-7 godina imaju oslabljenu bubrežnu funkciju i smanjen volumen bubrega.¹²⁹ Zaffanello i saradnici su dokazali povećanu ekskreciju proteina kod dece rođene kao ELBW novorođenčad u odnosu na decu rođenu sa veoma malom porođajnom težinom (VLBW - very low birth weight, definiše se kao novorođenče sa porođajnom težinom 1000-1500 grama).¹³⁰ Postporođajna ishrana i dobijanje na telesnoj težini može negativno uticati na nefrogenezu koja je u toku i dugoročnu bubrežnu funkciju. Bacchetta i saradnici su dokazali nižu stopu glomerularne filtracije (iako u granicama referentnih vrednosti) kod dece rođene prevremeno (<30 nedelja gestacije) koja su bila IUGR ili EUGR, u odnosu na decu sa odgovarajućim prenatalnim i postnatalnim rastom.¹³¹

1.2.8. Životinjski modeli IUGR

Naučni i epidemiološki podaci objašnjavaju zašto postoji kontinuirano zanimanje za razvoj životinjskih modela radi istraživanja ovog važnog kliničkog problema. IUGR modeli indukovani glukokortikoidima su vrlo relevantni, budući da se administracija glukokortikoida ženama kojima preči prevremeni porođaj široko koristi u kliničkoj praksi. Dobro je poznato da takav tretman značajno smanjuje incidencu i stepen respiratornog distres sindroma kod prevremeno rođene dece tako što indukuje maturaciju fetalnih pluća. Fetus je normalno placentom zaštićen od izloženosti kortikosteroidima majke, dejstvom 11 β -hidroksisteroid dehidrogenaze (11- β -HSD), koja pretvara fiziološke glukokortikoide u neaktivne produkte. Davanje deksametazona trudnim pacovima, koji ne može da se metaboliše putem 11- β -HSD, smanjuje porođajnu težinu i dovodi do povišenog krvnog pritiska u postnatalnom životu. Price i autori su ženama pacova davali deksametazon 100 μ g na dan od 15.-19. dana gestacije i tada je fetalna telesna masa bila značajno smanjena (za 32%). IUGR kod životinja se takođe može izazvati davanjem inhibitora 11- β -HSD - karbenoksolon i dihidroergotamina gravidnim životinjama. Pored navedenih animalnih modela IUGR indukovanih lekovima, postoje i nutritivni (produženo gladovanje i malnutricija, restrikcija proteina), hirurški (ligatura arterije uterine, toplotna povreda placente izazvana strujom) i hipoksijski modeli.¹³²

1.3. ERITROPOETIN (EPO)

EPO je 165-aminokiselinski peptid sa molekulskom masom od 34kDa. EPO je prvi hematopoetski faktor rasta koji je kloniran (1985. god.). Uloga EPO je da kontroliše proizvodnju crvenih krvnih zrnaca preko preživljavanja, proliferacije i diferencijacije eritroidnih progenitorskih ćelija u koštanoj srži. Budući da je glavna funkcija crvenih krvnih zrnaca transport kiseonika iz pluća u periferna tkiva, regulacija EPO proizvodnje ima važnu ulogu u kontroli oksigenacije tkiva. EPO je jedini hematopoetski faktor rasta čija proizvodnja je regulisana hipoksijom.^{133,134,135}

EPO se sintetiše uglavnom u bubrezima i jetri, a sekvence potrebne za tkivno specifičnu ekspresiju su lokalizovane u EPO genu. Humani EPO gen je lokalizovan na hromozomu 7 i sastoji se od 5 egzona i 4 introna.^{136,137} U fetalnoj fazi, jetra je glavno mesto sinteze EPO, međutim, čini se da je EPO gen takođe jako izražen u mezonefroskom bubregu u ranoj gestaciji sisara.^{138,139}

Jacobson i saradnici su prvi demonstrirali bubrežnu sintezu EPO.¹⁴⁰ Istraživanja na miševima su pokazala da je transkripcija EPO gena stimulisana hipoksijom ili aplikacijom kobalta, kao i da postoji jasna korelacija između indukcije anemije i porasta EPO mRNK u bubregu.^{141,142} Nadalje je dokazano, na ogledima in situ hibridizacije, da je EPO mRNK proizvedena od strane intersticijalnih ćelija kore bubrega.¹⁴³ EPO mRNK je takođe otkriven u intersticijalnim ćelijama zida ciste policističnih bubrega. Ova specijalizovana populacija intersticijalnih ćelija pripada populaciji ćelija nalik na fibroblaste bubrežnog intersticijuma.¹⁴⁴

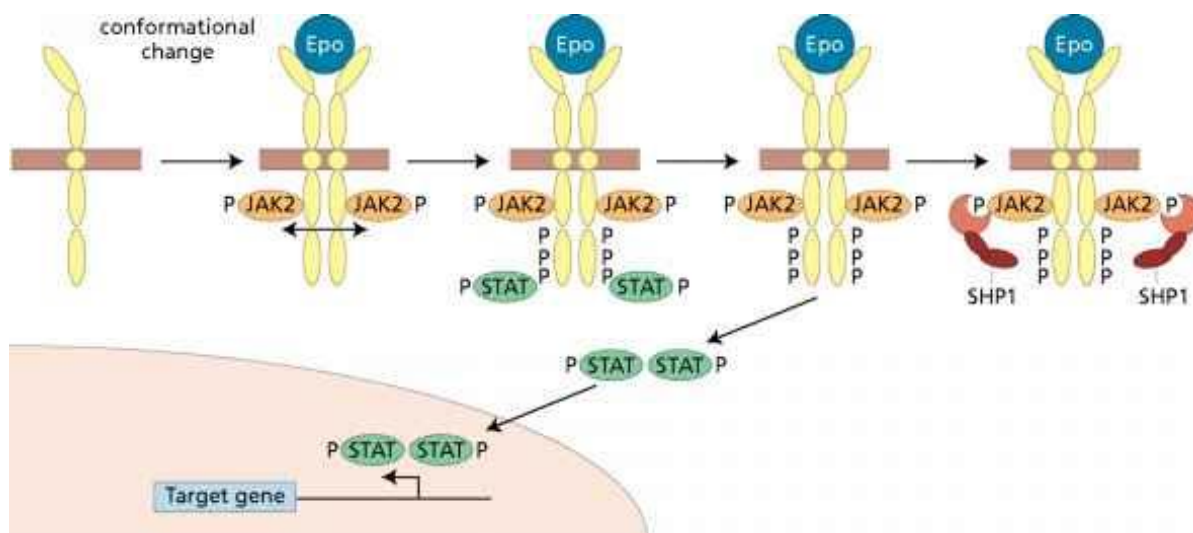
Jetra proizvodi 20% EPO. Hepatociti koji se nalaze oko centralnih vena su odgovorni za većinu produkcije EPO u jetri, dok ostale ćelije koje proizvode EPO pripadaju Ito ćelijama koje imaju mnogo sličnosti sa ćelijama intersticijuma bubrega nalik na fibroblaste.^{145,146}

Uz ova dva glavna mesta sekrecije, nizak nivo EPO mRNK je otkriven u plućima, testisima i slezini, kad su životinje bile izložene hipoksiji.^{147,148} EPO se takođe proizvodi u astrocitima mozga, shodno tome EPO receptori su otkriveni u mozgu miša i u ćelijskim lozama sa odlikama neurona.^{149,150,151} Ovi podaci sugerišu da bi EPO mogao igrati neurotrofičnu ulogu u mozgu i da EPO, indukovano hipoksijom mozga, može zaštititi neurone od ishemije indukovane ćelijskom smrću.¹⁵²

1.3.1. EPO receptor (EPOR)

EPOR je 66kDa peptid koji se sastoji od dva peptidna lanca. Pripada porodici citokin receptora, tip I citokin receptori – povezani sa Janus kinazom (JAK) iz porodice tirozin kinaza. EPOR (p66) je u najvećoj meri izražen na eritroidnim ćelijama, između opredeljene unipotentne matične ćelije eritroidne loze (CFU-E - coloni-forming units-erythroid) i proeritroblastne faze razvoja eritroidnih ćelija. Broj EPOR na površini normalnih i transformisanih eritroidnih ćelija je nizak: oko hiljadu i po ćeliji. Receptori su uglavnom u fazi CFU-E, a ekspresija receptora se zatim smanjuje sa maturacijom eritroidnih ćelija.¹⁵³ EPOR su detektovani na megakariocitnim ćelijama, placenti miševa, endotelnim i neuralnim ćelijama, Leydigovim ćelijama testisa i gastričnim epitelnim ćelijama.¹⁵⁴ Iako su kod odraslih peritubularni fibroblasti glavno mesto produkcije EPO-a, dokazano je prisustvo EPOR i na epitelnim ćelijama proksimalnih i distalnih tubula, mezengijalnim ćelijama, endotelnim ćelijama i glomerulima.^{155,156}

EPO i EPOR sprečavaju apoptozu i ćelijsku inflamaciju preko kaskade događaja. Kao i svi receptori familije hematopoetskih receptora, EPOR ne poseduje aktivnost endogene tirozin kinaze. Uprkos toj činjenici, EPO stimuliše brzu fosforilaciju tirozina brojnih proteina. Prvi korak intracelularne signalizacije je aktivacija JAK2 tirozin kinaze koji je konstitutivno povezan sa EPOR.¹⁵⁷ Nakon što se fosforiliše, JAK2 fosforiliše i aktivira druge proteine koji su značajni za prenos signala. Autofosforilacija JAK na prvom mestu dovodi do aktivacije transkripcionog faktora – STAT (signal transducers and activators of transcription).¹⁵⁸ (Slika 3.)



Slika 3. Intracelularna signalizacija preko EPOR (Preuzeto sa: www.europeanmedical.info/haemolytic-anaemia/erythropoietin-and-the-erythropoietin-receptor.html)

Među proteinima fosforilanim na reziduama tirozina kao odgovor na EPO se nalazi i EPOR. Većina, ako ne i svi, od osam tirozina koji se nalaze u citoplazmatskoj regiji EPOR, se fosforilišu nakon stimulacije EPO. Ovi fosforilisani tirozini su vezna mesta za razne intracelularne proteine koji sadrže Src homologni domen 2 (SH2). Nakon vezivanja, ovi proteini mogu naknadno biti fosforilisani tirozinom i aktivirani. Stimulacija sa EPO dovodi do lokalizacije različitih aktiviranih molekula koji učestvuju u nishodnom prenosu signala, blizu receptora i plazmatske membrane.^{159,160} Fosforilacija aktivira i Ras/MAP kinaza put koji je uključen u ćelijsku proliferaciju u odgovoru na EPO.^{161,162}

Aktivacija JAK2 pomoću EPO vodi aktivaciji PI3K (fosfatidil-inozitol 3-kinaza) što uslovljava fosforilaciju Akt (protein kinaza B). Jednom aktiviran Akt, aktivira mnoge supstance sa antiapoptičnim efektom.¹⁶³

Dve tirozin fosfataze, SHP-1 i SHP-2, takođe igraju ulogu u signalizaciji indukovanoj EPO. Čini se da SHP-2 igra pozitivnu ulogu u stimulaciji ćelijske proliferacije. Nasuprot tome, SHP-1 igra negativnu ulogu u prenosu signala indukovanoj EPO.¹⁶⁴

1.3.2. Regulacija proizvodnje EPO

Proizvodnja EPO je regulisana hipoksijom koja vodi do povećanja nivoa transkripcije gena. Ne postoje prethodno formirani depoi EPO. Kontrola ekspresije EPO gena uključuje složene interakcije između DNK i nuklearnih proteina.¹⁶⁵ Adaptacija na hipoksiju je posredovana hipoksijom-indukovanim faktorima (HIF). HIF su faktori transkripcije koji se sastoje od osnovne β subjedinice i jednom od najmanje dve različite kiseonik-zavisne α subjedinice.¹⁶⁶ Kiseonik zavisna proteoliza α subjedinica reguliše HIF. Funkcije HIF-1 i HIF-2 se samo delimično preklapaju. Glikolitički geni su dominantno regulisani od strane HIF-1. HIF-2 je glavni regulator hipoksičkog vaskularnog endotelnog faktora rasta (VEGF – vascular endotel growth factor) i indukcije EPO u tkivima.¹⁶⁷

HIF-1 α se predominantno ispoljava na tubulskim ćelijama (sabirni tubuli i sabirni kanali), dok se HIF-2 α ispoljava na ćelijama peritubularnog intersticijuma (glomerulske i peritubularne endotelne ćelije i peritubularni fibroblasti).¹⁶⁸ Iako je inicijalno HIF-1 identifikovan kao faktor koji indukuje EPO tokom hipoksije, danas se misli da je HIF-2 mnogo važniji regulator hipoksične indukcije EPO.¹⁶⁹

Hipoksija indukuje formiranje velikih kompleksa proteina i dovodi do transkripcije gena. C-terminalni deo HIF-1 se specifično vezuje za P300 i ekspresijom izaziva hipoksičnu indukciju.¹⁷⁰ Semenja i saradnici su molekularnim kloniranjem HIF-1 pokazali da je kompleks vezivanja DNK sastavljen od dva PAS proteina (HIF-1 α i HIF-1 β).¹⁷¹

HIF-1 β je prethodno bio identifikovan kao ARNT (aryl hydrocarbon nuclear receptor translocator), molekul koji je uključen u ksenobiotički odgovor. Nasuprot tome, HIF-1 α je novi član familije PAS proteina. U hipoksičnim uslovima, nivo mRNK kodiranja bilo HIF-1 α ili HIF-1 β nije promenjen, što sugeriše da je aktivnost HIF-1 α - ARNT kompleksa regulisana posttranskripcijskim mehanizmom i konformacijskim promenama nakon jačanja ARNT faktora transkripcije. Sledeći korak regulacije HIF-1 α uključuje sistem ubikvitin- proteaza u svojoj proteolitičkoj destrukciji u normoksiji, dok se rapidno akumulira nakon izloženosti hipoksiji.^{172,173,174}

Mehanizam regulacije hipoksije je prvi put proučavan u ćelijama hepatoma Hep3B ili HepG2 koji proizvode EPO. Nadalje je dokazano da se identični odgovori mogu dobiti u

velikom broju ćelija koje ne proizvode EPO, kao i da je sistem regulacije gena kiseonikom rasprostranjen od ćelija sisara do ćelija insekata. Mnogi geni su sada identifikovani kao mete funkcije HIF-1; pored EPO uključuju VEGF, nekoliko enzima glikolize, glukoza-transporter1, inducibilni azot oksid sintazu, hem oksigenazu i transferin. Ovi skorašnji podaci podržavaju ideju da je ćelijski odgovor na hipoksiju važan fiziološki proces i da slični mehanizmi osetljivi na kiseonik kao i prenos signala moraju biti podeljeni po mnogim tkivima i ćelijama. Međutim, mehanizmi osetljivi na kiseonik nisu u potpunosti shvaćeni. Prema modelu Hep3B ćelije, jedna ćelija može osetiti hipoksiju i odgovoriti povećanjem nivoa EPO RNK. Postoji mišljenje da je senzor kiseonika hem protein koji menja svoj oblik zavisno od vezivanja kiseonika za polovinu molekula hema. Atom gvožđa hema može biti zamenjen kobaltom, čime oponaša stanje hipoksije.^{175,176,177,178}

1.3.3. Uloga EPO

1.3.3.1. Uloga EPO u eritropoezi

Kulture hematopoetskih progenitorskih ćelija u polučvrstom medijumu su pokazale da su glavna meta EPO kasne eritroidne progenitorske ćelije, pogotovo CFU-E. Studije sprovedene na „knock out“ miševima kojima nedostaje EPO ili EPOR su pokazale da je in vivo EPO presudan za proliferaciju i opstanak CFU-E i njihovu ireverzibilnu terminalnu diferencijaciju, dok nije potreban za diferencijaciju BFU-E (burst-forming unit-erythroid) u CFU-E. Dakle, ne deluje da je EPO uključen u opredeljenju eritroidne loze, ali se čini da deluje uglavnom kao faktor preživljavanja, koji omogućuje i održavanje proliferacije ćelija i indukovanje ekspresije specifičnih eritroidnih proteina.^{179,180,181,182}

Osnovna indikacija za lečenje EPO je anemija kod bubrežne insuficijencije. U nekim slučajevima, ovaj tretman se sprovodi i kod anemije hroničnih bolesnika. U tim poremećajima, citokini uključeni u inflamatorni odgovor inhibišu i sintezu EPO i formiranje eritroidnih kolonija in vitro. Nedavno je dokazano da INF- γ (interferon gamma) nishodno reguliše SCF (stem cell factor) i EPOR na površini eritroidnih progenitorskih ćelija, čime dovodi do smanjenja preživljavanja i rasta ovih ćelija i na kraju do apoptoze progenitorskih ćelija. Studije su takođe dokazale da INF- γ indukuje istovremenu ekspresiju FAS i FAS

liganda na površini eritroidnih progenitorskih ćelija, što vodi do apoptotične ćelijske smrti.^{183,184,185}

1.3.3.2. Uticaj EPO na bubrege

Disfunkcija endotela pospešuje i produbljuje akutnu bubrežnu insuficijenciju. Na intraluminalnoj površini endotelnih ćelija kapilara se nalaze EPOR. EPO antagonizuje apoptozu endotelnih ćelija koje su bile in vivo izložene hipoksiji. EPO povećava osetljivost endotelnih ćelija i aktivnost eNOS (endothelial nitric oxide synthase) i tako održava normalnu vaskularnu autoregulaciju i prevenira produbljivanje tubulske hipoksije tokom akutne bubrežne insuficijencije. EPO stimuliše mitogenezu i angiogenezu endotelnih ćelija i tako poboljšava tkivnu oksigenaciju. Jedan od mehanizama kojim EPO štiti bubrege od ishemijsko/reperfuzijskog (I/R) oštećenja je povećanje renalnog protoka. EPO ima veliki efekat na inflamatorne procese koji bivaju stimulisani nakon oštećenja. Antiinflamatorni efekti podrazumevaju smanjenje produkcije proinflamatornih citokina, kao što je TNF- α (tumor necrosis factor - α). Dejstvo lokalno proizvedenog TNF- α je glavni faktor u patofiziologiji renalnog I/R oštećenja. EPO inhibira apoptotičku smrt epitelnih ćelija proksimalnih tubula i u visokim dozama uzrokuje njihovu značajnu proliferaciju.^{186,187,188}

1.3.3.3. Uticaj EPO na kardiovaskularni sistem

Efekat EPO na endotelne ćelije podrazumeva povećanje ćelijske migracije i proliferacije, otpuštanje ET-1, vaskularne senzitivnosti na norepinefrin i indukovanje angiogeneze. EPOR se nalazi na kardijalnim miocitima novorođenčeta i odraslog čoveka. EPO je kardioprotektivan. EPO ispoljava antiapoptotično dejstvo na vaskularne endotelne ćelije, mobilise endotelne progenitorske ćelije i deluje kao proangiogeni faktor. Povećava kontraktilnost miocita, i stimuliše i razvoj i mobilizaciju nezrelih nediferentovanih stem ćelija u ishemičnoj zoni miokarda. Dokazano je da pretretman sa EPO inhibira I/R indukovani miokardijalni inflamatorni odgovor, tako što prevenira dejstvo proinflamatornih supstanci na miocite. EPO može da poboljša srčanu funkciju direktnom promenom srčane Na/K pumpe ili stimulišući stvaranje natriuretskog peptida u srčanoj pretkomori.^{189,190}

1.3.3.4. Uticaj EPO na nervni sistem

EPO prelazi hemato-encefalnu barijeru. Nakon hipoksije je povećana osetljivost na EPO u mozgu i kičmenoj moždini. EPO deluje neuroprotektivno tako što smanjuje vazospazam, ima protektivno dejstvo na endotelne ćelije, smanjuje inflamaciju i obnavlja endotelne stem ćelije. EPO deluje na neurone, smanjujući stepen apoptoze. EPO takođe indukuje angiogenezu. EPO mRNK se takođe nalazi na retini odraslog čoveka. Intraokularna produkcija EPO je stimulisana hipoksijom. Visok nivo EPO na retini se nalazi kod dijabetične retinopatije.^{191,192}

1.3.3.5. Uticaj EPO na gastrointestinalni trakt

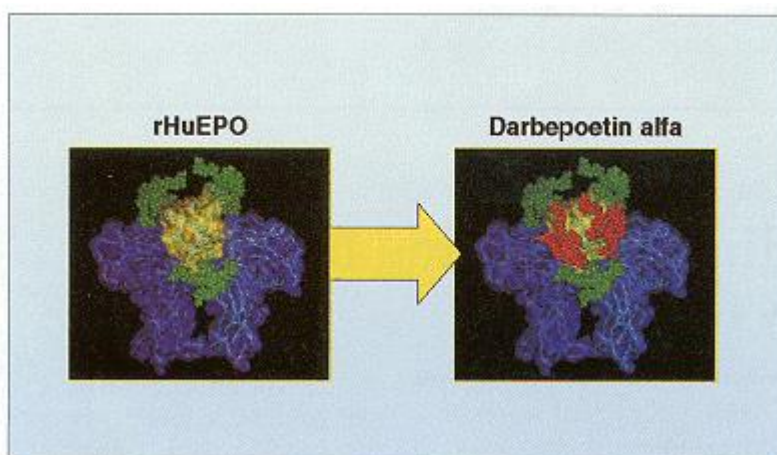
EPO stimuliše enterocite tako što povećava ćelijsku migraciju, smanjuje apoptozu ćelija nakon oštećenja i deluje trofički na гастриčne mukozne ćelije. EPO poboljšava rast creva, zarastanje rana i ima mogući protektivni efekat kod nekrotizirajućeg enterokolitisa.¹⁹³

1.3.4. Vrste EPO

Rekombinantni humani EPO (rHU-EPO) je proizveden rekombinantnom DNK tehnologijom u ćelijama ovarijuma kineskog hrčka. rHU-EPO je glikolizirani proteinski hormon molekulske mase 30,400Da. Šezdeset procenata molekulske mase čini 165-aminokiselinski polipeptidni lanac sa dve disulfidne veze. Preostalih četrdeset procenata molekulske mase čine ugljeni hidrati, jedan O-vezujući ili 3 N-vezujuća oligosaharidna lanca. Ovi lanci se završavaju negativno naelektrisanim molekulima šećera, sijaličnom kiselinom, dok su ostali molekuli šećera neutralni. Kako O-vezujući oligosaharidni lanac može sadržati 2 ostatka sijalične kiseline, a svaki od 3 N-vezujuća oligosaharidna lanca do 4 ostatka sijalične kiseline, rHU-EPO može sadržati ukupno 14 rezidua sijalične kiseline. Broj rezidua sijalične kiseline određuje negativno naelektrisanje molekula. Poluvreme eliminacije kod ljudi je 8.5h.¹⁸⁸

Darbepoetin alfa (DA) je proizveden rekombinantnom DNK tehnologijom u ćelijama ovarijuma kineskog hrčka. DA je dugodelujući rekombinantni EPO analog koji sadrži 5 N-

vezujućih oligosaharidnih lanaca. U odnosu na rHU-EPO ima veću molekulsku masu, veći sadržaj rezidua sijalične kiseline i veće negativno naelektrisanje (Slika 4). Svaki od dva dodatna N-vezujuća oligosaharidna lanca povećava molekularnu masu proteina za oko 3300Da i vezuje do 4 dodatna ostatka sijalične kiseline. Stoga, DA ima molekulsku masu 37,100Da i nosi maksimalno 22 rezidue sijalične kiseline. Zbog dodatna dva N-vezujuća oligosaharidna lanca ima veću metaboličku stabilnost in vivo. DA se vezuje za isti receptor kao i rHU-EPO, mada ima nešto slabiji afinitet. Poluvreme eliminacije kod ljudi je 25.3h.^{194,195}



Slika 4. Molekularna struktura rHuEPO i Darbepoetin alfa (Preuzeto sa www.cancernetwork.com/articles/investigator-outlines-stumbling-blocks-optimal-therapy-anemia)

Kontinuirani eritropoetin receptor aktivator (C.E.R.A.) je hemijski sintetisana supstanca stimulanja eritropoeze. C.E.R.A. je dobijena integracijom amino grupa EPO i velikog metoksi-polietilenglikol polimernog lanca preko amidnih veza. Molekulska masa C.E.R.A. je oko 60kDa. Afinitet vezivanja za EPOR je slabiji od prirodnog i rekombinantnog, ali C.E.R.A. ima veću stabilnost in vivo. Poluvreme eliminacije kod ljudi je 130h.¹⁹⁶

1.3.5. Neželjeni efekti EPO

EPO se u kliničkoj medicini najviše koristi u terapiji anemije pacijenata sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom. U 20-30% bubrežnih bolesnika koji su bili na terapiji rHU-EPO se razvija ili pogoršava hipertenzija. Mehanizmi koji dovode do toga uključuju povećanu viskoznost krvi i povećanu vaskularnu reaktivnost. Postoje dokazi da rHU-EPO dovodi do oslobađanja kateholamina i aktivacije renin-angiotenzin sistema. Takođe, postoji značajna veza između vrednosti hematokrita i pojave hipertenzije. Terapija rHU-EPO može dovesti do pojave hipertenzije zbog povećanja koncentracije citoplazmatskog kalcijuma u vaskularnim glatkim mišićnim ćelijama, povećanja produkcije endotelina i zbog neravnoteže u lokalnim vazoaktivnim supstancama. Pored hipertenzije, terapija EPO dovodi do povećane aktivnosti trombocita i povećanog oksidativnog stresa.¹⁹⁷

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA I RADNE HIPOTEZE

2.1. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Na eksperimentalnom modelu intrauterusne restrikcije rasta ispitati:

- 1.** Da li intrauterusna restrikcija rasta utiče na smanjenje broja glomerula bubrega miševa
- 2.** Da li primena darbepoetina alfa tokom trudnoće i nakon rođenja miševa sa intrauterusnom restrikcijom rasta povećava broj glomerula bubrega.

2.2. RADNE HIPOTEZE

- 1.** Broj glomerula bubrega novorođenih miševa sa intrauterusnom restrikcijom rasta je značajno manji u odnosu na broj glomerula novorođenih miševa bez intrauterusne restrikcije rasta.
- 2.** Broj glomerula bubrega novorođenih miševa sa intrauterusnom restrikcijom rasta koji su nakon rođenja dobili darbepoetin alfa je značajno veći u odnosu na broj glomerula bubrega novorođenih miševa koji nakon rođenja nisu dobili darbepoetin alfa.
- 3.** Broj glomerula bubrega novorođenih miševa sa intrauterusnom restrikcijom rasta čije su majke tokom trudnoće dobile darbepoetin alfa je značajno veći u odnosu na broj glomerula bubrega novorođenih miševa čije majke tokom trudnoće nisu dobile darbepoetin alfa.
- 4.** Broj glomerula bubrega novorođenih miševa sa intrauterusnom restrikcijom rasta čije su majke tokom trudnoće dobile darbepoetin alfa, kao i miševi po rođenju je značajno veći u odnosu na broj glomerula bubrega novorođenih miševa čije su samo majke tokom trudnoće dobile darbepoetin alfa.

3. MATERIJAL I METODE RADA

U eksperimentu su korištene ženke i mladunci miševa rase NMRI (NMRI - Naval Medical Research Institute). Odrasle ženke su uzgajane u gajilištu Pasterovog zavoda u Novom Sadu. Životinje su gajene u kavezima namenjenim za uzgoj sitnih laboratorijskih životinja, u standardnim laboratorijskim uslovima sa hranom i vodom ad libitum.

Korišten je eksperimentalni model IUGR. Ženke miševa su tokom 24 sata bile spojene sa polno zrelim mužjacima. Dan začeća se određivao serijskim posmatranjem vaginalnih briseva svetlosnom mikroskopijom. Kada je utvrđena prisutnost spermatozoida, to se vodilo kao nulti dan gestacije. Gestacija kod miševa rase NMRI traje 19-21 dan.

Od 15. do 21. dana gestacije gravidnim ženkama je davan deksametazon (razređen u 0,9% NaCl), subkutano, u dozi 100 µg/kg na dan (0,2 ml). Nakon spontanog porođaja, svim mladuncima je izmerena telesna masa i ostavljeni su na prirodnoj ishrani (sisanje) (Slika 5). U eksperiment su ulazili samo novorođeni miševi koji su rođeni iz trudnoće sa 6-10 fetusa (novorođenčeta).

Kriterijumi za isključenje iz studije su - miševi rođeni iz trudnoće sa manje od 6 fetusa i miševi rođeni iz trudnoće sa više od 10 fetusa.



Slika 5. Novorođeni miševi

Milojković, M. (2013). Novi Sad (fotografija-privatna kolekcija)

Po metodi slučajnog izbora mladunci su klasifikovani u jednu od sledećih grupa (Slika 6), (Slika 7):

1. grupa - Kontrolna grupa 1 - 10 miševa sa IUGR kojima je intraperitonealno aplikovano 0,1 ml 0,9% NaCl
2. grupa - 8 miševa sa IUGR kojima je po rođenju i u 7. danu života intraperitonealno aplikovan DA - 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$
3. grupa - 8 miševa sa IUGR kojima je po rođenju i u 7. danu života intraperitonealno aplikovan DA - 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$

4. grupa - 8 miševa sa IUGR kojima je po rođenju i u 7. danu života intraperitonealno aplikovan DA - 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$

5. grupa - 8 miševa sa IUGR čija je majka u 15. danu trudnoće jednokratno dobila subkutano DA - 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$

6. grupa - 8 miševa sa IUGR čija je majka u 15. danu trudnoće jednokratno dobila subkutano DA - 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$, a nakon rođenja mladuncima je intraperitonealno aplikovan DA - 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$

7. grupa –Kontrolna grupa 2 - 10 miševa koji su se spontano okotili bez prethodne intervencije na majci i bez intervencije na njima nakon rođenja



Slika 6. Miševi podeljeni po grupama

Milojković, M. (2013). Novi Sad (fotografija-privatna kolekcija)



Slika 7. Miševi podeljeni po grupama

Milojković, M. (2013). Novi Sad (fotografija-privatna kolekcija)

Nakon 4 nedelje eksperimentalni mladunci miševa su žrtvovani dekapitacijom. Žrtvovanim životinjama su vađeni bubrezi i uzorci tkiva fiksirani u rastvoru 10% pufetisanog formalina, dehidrirani i kalupljeni u parafin. Nakon rehidracije uzorci su sečeni na debljinu od 5 μm i bojani metodom hematoksilin - eozin (HE), a zatim je pod svetlosnim mikroskopom, pod uvećanjem od 400, odnosno 100 puta, vršena morfološka i stereološka analiza glomerula u površinskoj, intermedijalnoj i juktamedularnoj zoni kore bubrega.

Morfometrijska i stereološka analiza obuhvatila je merenje površine glomerula i debljine korteksa bubrega, kao i određivanje numeričke gustine glomerularnih profila primenom komercijalnog softvera za analizu slike ImageJ (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA). Merena je površina 821-1109 glomerularnih profila po grupi. Debljina korteksa merena je kao dužina linije postavljene pod pravim uglom između paralelnih tangenčnih linija na površini bubrega i granici kore i srži bubrega na 41-83 polja. Numerička

gustina (N_A) je određena kao broj glomerularnih profila u prostoru i to na 113-191 polja po grupi. Uzimani su obzir samo dobro očuvane strukture koje ne seku „zabranjene“ linije testnog sistema.

Statistička obrada podataka je vršena pomoću programskih paketa StatSoft, Inc. (2007). STATISTICA (data analysis software system), version 8.0. i Glantz, Stanton A. Primer of Biostatistics, 5th Edition, McGraw-Hill, 2002. Statistička značajnost je testirana pomoću granice verovatnoće 95% ($p < 0,05$) i 99% ($p < 0,01$).

4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

Eksperimentalne životinje su metodom slučajnog uzorka podeljene u 7 grupa:

1. grupa - Kontrolna grupa 1 - 10 miševa sa IUGR kojima je intraperitonealno aplikovano 0,1 ml 0,9% NaCl
2. grupa - 8 miševa sa IUGR kojima je po rođenju i u 7. danu života intraperitonealno aplikovan DA - 10 µg/kg
3. grupa - 8 miševa sa IUGR kojima je po rođenju i u 7. danu života intraperitonealno aplikovan DA - 4 µg/kg
4. grupa - 8 miševa sa IUGR kojima je po rođenju i u 7. danu života intraperitonealno aplikovan DA - 1 µg/kg
5. grupa - 8 miševa sa IUGR čija je majka u 15. danu trudnoće jednokratno dobila subkutano DA - 10 µg/kg
6. grupa - 8 miševa sa IUGR čija je majka u 15. danu trudnoće jednokratno dobila subkutano DA - 10 µg/kg, a nakon rođenja mladuncima je intraperitonealno aplikovan DA - 10 µg/kg
7. grupa - Kontrolna grupa 2 - 10 miševa koji su se spontano okotili bez prethodne intervencije na majci i bez intervencije na njima nakon rođenja

4.2. TELESNA MASA NOVOROĐENIH MIŠEVA

Mladunci miševa su mereni odmah po rođenju (Slika 8).



Slika 8. Merenje novorođenih miševa

Milojković, M. (2013). Novi Sad (fotografija-privatna kolekcija)

Poređena je telesna masa novorođenih miševa među grupama (Tabela 1.):

Tabela 1. Poređenje telesne mase novorođenih miševa po grupama

Grupe	Telesna masa (g)	P
7 vs 3	1,675 vs 1,089	0,000
6 vs 3	1,75 vs 1,089	0,000
7 vs 4	1,675 vs 1,156	0,000
7 vs 1	1,675 vs 1,253	0,000
6 vs 4	1,75 vs 1,156	0,000
6 vs 1	1,75 vs 1,253	0,000
6 vs 2	1,75 vs 1,2	0,000
7 vs 2	1,675 vs 1,2	0,000
6 vs 5	1,75 vs 1,35	0,000
7 vs 5	1,675 vs 1,35	0,000
5 vs 3	1,35 vs 1,089	0,004
1 vs 3	1,253 vs 1,089	0,018
5 vs 4	1,35 vs 1,156	0,057
5 vs 2	1,35 vs 1,2	0,151
2 vs 3	1,2 vs 1,089	0,210
1 vs 4	1,253 vs 1,156	0,249
5 vs 1	1,35 vs 1,253	0,267
6 vs 7	1,75 vs 1,675	0,405
4 vs 3	1,156 vs 1,089	0,432
1 vs 2	1,253 vs 1,2	0,548
2 vs 4	1,2 vs 1,156	0,659

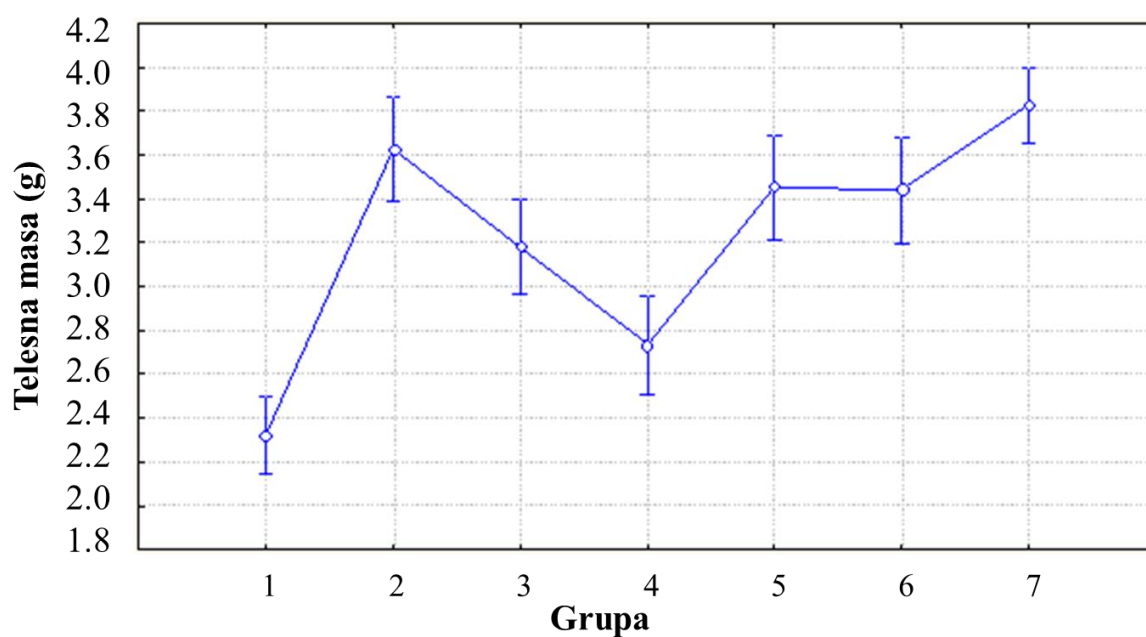
Utvrđeno je da je telesna masa novorođenih miševa 7. grupe (miševi koji su se spontano okotili bez prethodne intervencije na majci) statistički značajno veća u odnosu na 1. (IUGR) (1,675 g vs 1,253 g; $p < 0,05$), 2. (IUGR) (1,675 g vs 1,2 g; $p < 0,05$), 3. (IUGR) (1,675 g vs 1,089 g; $p < 0,05$), 4. (IUGR) (1,675 g vs 1,156 g; $p < 0,05$) i 5. grupu (IUGR i DA u 15. danu trudnoće) (1,675 g vs 1,35 g; $p < 0,05$). Poređenjem telesne mase novorođenih miševa 6. (IUGR i DA u 15. danu trudnoće) i 7. grupe (miševi koji su se spontano okotili bez prethodne intervencije na majci) (1,75 g vs 1,675 g; $p > 0,05$) nije utvrđena statistička značajnost.

Telesna masa novorođenih miševa 6. grupe (IUGR i DA u 15. danu trudnoće) je statistički značajno veća u odnosu na 1. (IUGR) (1,75 g vs 1,253 g; $p < 0,05$), 2. (IUGR) (1,75 g vs 1,2 g; $p < 0,05$), 3. (IUGR) (1,75 g vs 1,35 g; $p < 0,05$), 4. (IUGR) (1,75 g vs 1,156 g; $p < 0,05$) i 5. grupu (IUGR i DA u 15. danu života) (1,75 g vs 1,35 g; $p < 0,05$).

Rezultati ukazuju da je telesna masa novorođenih miševa sa IUGR (1. grupa – srednja vrednost 1,253 g) 25,2% manja u odnosu na novorođene miševe majki koje su spontano okotile bez prethodne intervencije na njima (7. grupa – srednja vrednost 1,675 g).

4.3. TELESNA MASA MIŠEVA U 7. DANU ŽIVOTA

Telesna masa mladunaca miševa je merena u 7. danu života. Prosečne vrednosti po grupama su prikazane u grafikonu 1:



Grafikon 1. Prosečne telesne mase mladunaca miševa u 7. danu života

Poređena je telesna masa mladunaca miševa u 7. danu života među grupama (Tabela 2.):

Tabela 2. Poređenje prosečne telesne mase mladunaca miševa po grupama u 7. danu života

Grupe	Telesna masa (g)	P
7 vs 1	3,825 vs 2,32	0,000
2 vs 1	3,625 vs 2,32	0,000
7 vs 4	3,825 vs 2,733	0,000
5 vs 1	3,45 vs 2,32	0,000
6 vs 1	3,438 vs 2,32	0,000
3 vs 1	3,18 vs 2,32	0,000
2 vs 4	3,625 vs 2,733	0,000
7 vs 3	3,825 vs 3,18	0,000
5 vs 4	3,45 vs 2,733	0,000
6 vs 4	3,438 vs 2,733	0,000
4 vs 1	2,733 vs 2,32	0,005
3 vs 4	3,18 vs 2,733	0,005
2 vs 3	3,625 vs 3,18	0,007
7 vs 6	3,825 vs 3,438	0,010
7 vs 5	3,825 vs 3,45	0,013
5 vs 3	3,45 vs 3,18	0,097
6 vs 3	3,438 vs 3,18	0,114
7 vs 2	3,825 vs 3,625	0,177
2 vs 6	3,625 vs 3,438	0,272
2 vs 5	3,625 vs 3,45	0,305
5 vs 6	3,45 vs 3,438	0,941

Prosečna telesna masa mladunaca eksperimentalnih životinja 7. grupe (miševi koji su se spontano okotili bez prethodne intervencije na majci i bez intervencije na njima nakon rođenja) u 7. danu života je bila statistički značajno veća u odnosu na mladunce miševa 1. (IUGR) (3,825 g vs 2,32 g; $p < 0,05$), 3. (IUGR i DA 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$) (3,825 g vs 3,18 g; $p < 0,05$), 4. (IUGR i DA 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$) (3,825 g vs 2,733 g; $p < 0,05$), 5. (IUGR i DA u 15. danu trudnoće) (3,825 g vs 3,45 g; $p < 0,05$) i 6. grupe (IUGR i DA u 15. danu trudnoće i po rođenju 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$) (3,825 g vs 3,438 g; $p < 0,05$).

Mladunci miševa 2. grupe (IUGR i DA 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$) su imali statistički značajno veću telesnu masu u 7. danu života u odnosu na mladunce iz 1. (IUGR) (3,625 g vs 2,32 g; $p < 0,05$), 3. (IUGR i DA 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$) (3,625 g vs 3,18 g; $p < 0,05$) i 4. grupe (IUGR i DA 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$) (3,625 g vs 2,733 g; $p < 0,05$).

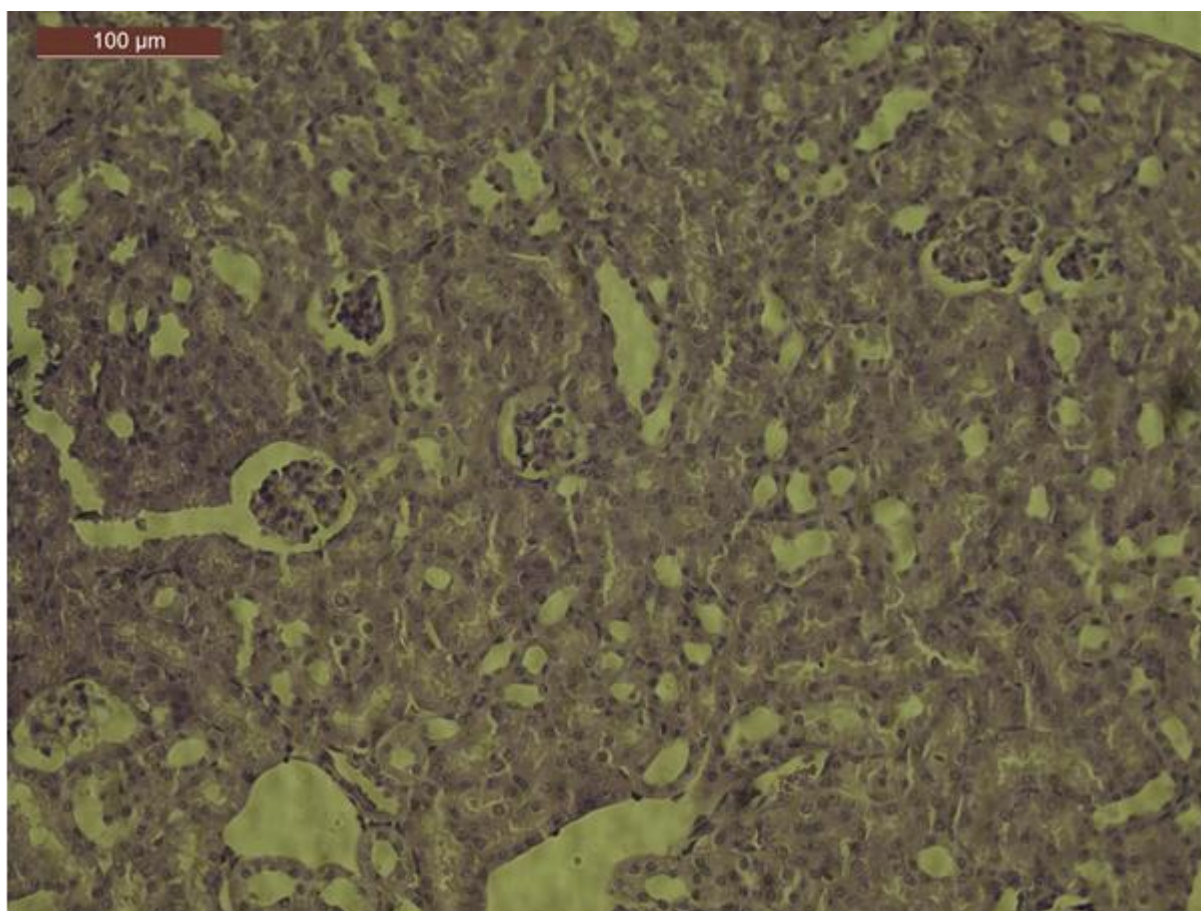
Telesna masa mladunaca miševa u 7. danu života 5. grupe (IUGR i DA u 15. danu trudnoće) je bila statistički značajno veća u odnosu na mladunce iz 1. (IUGR) (3,45 g vs 2,32 g; $p < 0,05$) i 4. grupe (IUGR i DA 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$) (3,45 g vs 2,733 g; $p < 0,05$).

Mladunci miševa 6. grupe (IUGR i DA u 15. danu trudnoće i po rođenju 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$) su imali statistički značajno veću telesnu masu u 7. danu života u odnosu na mladunce iz 1. (IUGR) (3,438 g vs 2,32 g; $p < 0,05$) i 4. grupe (IUGR i DA 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$) (3,438 g vs 2,733 g; $p < 0,05$).

Prosečna telesna masa mladunaca miševa u 7. danu života u 1. grupi (IUGR) je bila statistički značajno manja u odnosu na sve druge grupe (2. (IUGR i DA 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$) (2,32 g vs 3,625 g; $p < 0,05$), 3. (IUGR i DA 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$) (2,32 g vs 3,18 g; $p < 0,05$), 4. (IUGR i DA 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$) (2,32 g vs 2,733 g; $p < 0,05$), 5. (IUGR i DA u 15. danu trudnoće) (2,32 g vs 3,45 g; $p < 0,05$), 6. (IUGR i DA u 15. danu trudnoće i po rođenju 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$) (2,32 g vs 3,438 g; $p < 0,05$), 7. grupa (miševi koji su se spontano okotili bez prethodne intervencije na majci i bez intervencije na njima nakon rođenja) (2,32 g vs 3,825 g; $p < 0,05$)).

4.4. POVRŠINA GLOMERULA BUBREGA

Pod svetlosnim mikroskopom je vršena morfološka i stereološka analiza glomerula (Slika 8.).



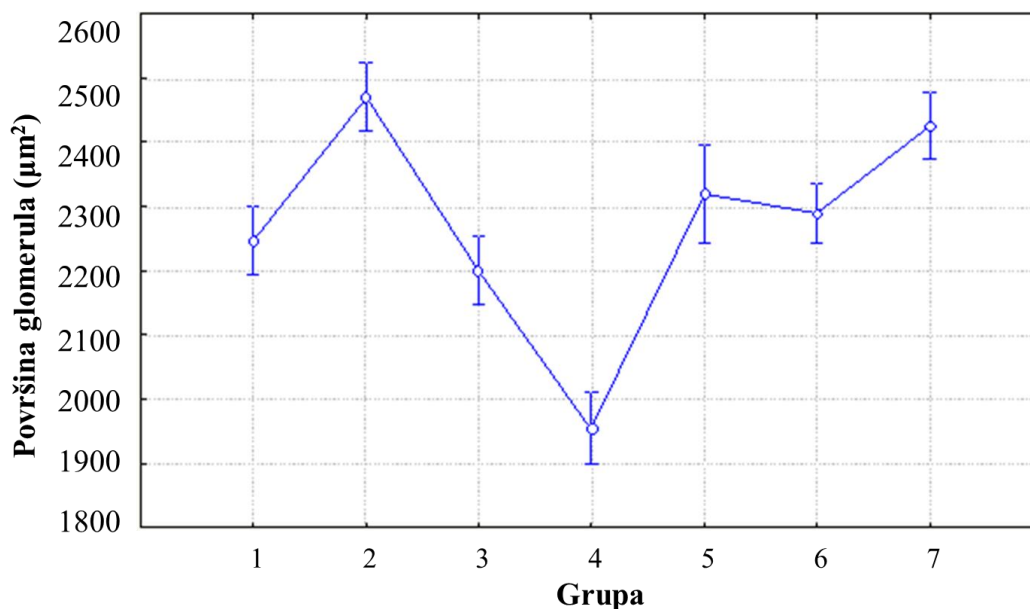
Slika 8. Glomeruli bubrega mladunaca miševa

U tabeli 3. je prikazano poređenje površine glomerula bubrega miševa po grupama:

Tabela 3. Poređenje površine glomerula po grupama

Grupe	Površina glomerula (μm^2)	P
2 vs 4	2471 vs 1954	0,000
7 vs 4	2425 vs 1954	0,000
6 vs 4	2289 vs 1954	0,000
5 vs 4	2319 vs 1954	0,000
1 vs 4	2247 vs 1954	0,000
2 vs 3	2471 vs 2201	0,000
3 vs 4	2201 vs 1954	0,000
2 vs 1	2471 vs 2247	0,000
7 vs 3	2425 vs 2201	0,000
2 vs 6	2471 vs 2289	0,000
7 vs 1	2425 vs 2247	0,000
7 vs 6	2425 vs 2289	0,000
2 vs 5	2471 vs 2319	0,001
5 vs 3	2319 vs 2201	0,013
6 vs 3	2289 vs 2201	0,015
7 vs 5	2425 vs 2319	0,025
5 vs 1	2319 vs 2247	0,128
2 vs 7	2471 vs 2425	0,224
1 vs 3	2247 vs 2201	0,225
6 vs 1	2289 vs 2247	0,244
5 vs 6	2319 vs 2289	0,504

Prosečne površine glomerula mladunaca miševa po grupama su prikazane u grafikonu 2:



Grafikon 2. Prosečne površine glomerula po grupama

Poređenjem površine glomerula bubrega utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika između 2. (IUGR i DA 10 µg/kg) i 7. grupe (miševi koji su se spontano okotili bez prethodne intervencije na majci), (2471 µm² vs 2425 µm²; p>0,05).

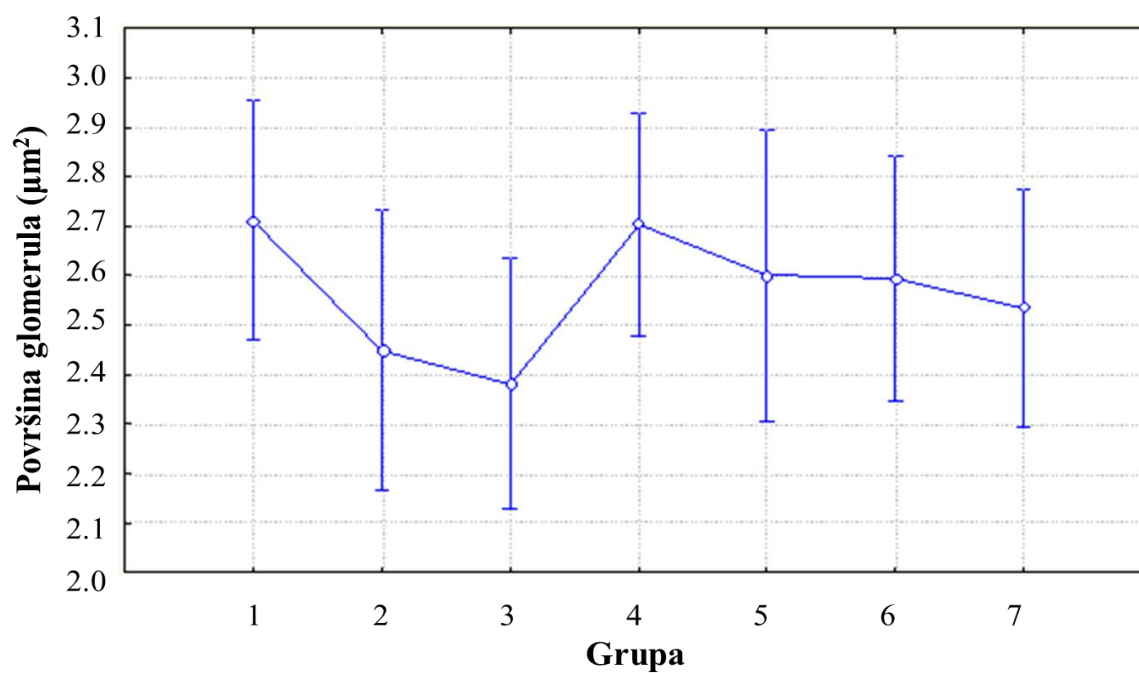
Mladunci miševa 5. grupe (IUGR i DA u 15. danu trudnoće) su imali statistički značajno veću površinu glomerula bubrega u odnosu na površinu glomerula miševa iz 3. (IUGR i DA 4 µg/kg) (2319 µm² vs 2201 µm²; p<0,05) i 4. grupe (IUGR i DA 1 µg/kg) (2319 µm² vs 1954 µm²; p<0,05).

Površina glomerula bubrega miševa 6. grupe (IUGR i DA u 15. danu trudnoće i po rođenju 10 µg/kg) je bila statistički značajno veća u odnosu na površinu glomerula miševa iz 3. (IUGR i DA 4 µg/kg) (2289 µm² vs 2201 µm²; p<0,05) i 4. grupe (IUGR i DA 1 µg/kg) (2289 µm² vs 1954 µm²; p<0,05).

Utvrđeno je da je površina glomerula bubrega miševa u 3. grupi (IUGR i DA 4 µg/kg) statistički značajno veća u odnosu na površinu glomerula miševa 4. grupe (IUGR i DA 1 µg/kg), (2201 µm² vs 1954 µm²; p<0,05).

4.5. NUMERIČKA GUSTINA GLOMERULA BUBREGA

Prosečne vrednosti gustine glomerula miševa po grupama su bile (Grafikon 3.):



Grafikon 3. Numerička gustina glomerula po grupama

U tabeli 4. je prikazano poređenje numeričke gustine glomerula bubrega mladunaca miševa po grupama:

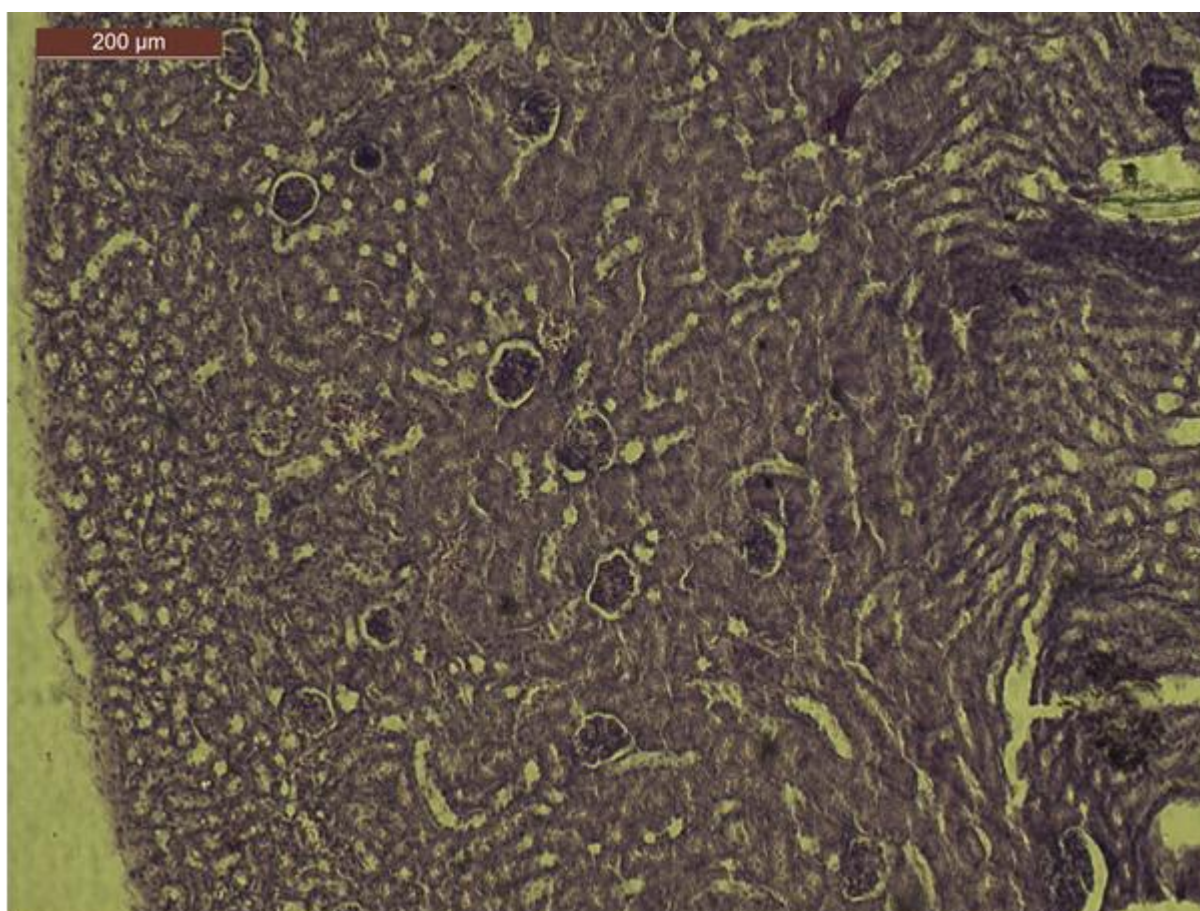
Tabela 4. Poređenje numeričke gustine glomerula po grupama

Grupe	Numerička gustina glomerula (mm⁻²)	P
4 vs 3	2,705 vs 2,381	0,061
1 vs 3	2,712 vs 2,381	0,064
4 vs 2	2,705 vs 2,449	0,166
1 vs 2	2,712 vs 2,449	0,167
6 vs 3	2,594 vs 2,381	0,237
5 vs 3	2,6 vs 2,381	0,267
1 vs 7	2,712 vs 2,534	0,306
4 vs 7	2,705 vs 2,534	0,308
7 vs 3	2,534 vs 2,381	0,388
6 vs 2	2,594 vs 2,449	0,448
5 vs 2	2,6 vs 2,449	0,467
1 vs 6	2,712 vs 2,594	0,504
4 vs 6	2,705 vs 2,594	0,515
1 vs 5	2,712 vs 2,6	0,565
4 vs 5	2,705 vs 2,6	0,576
7 vs 2	2,534 vs 2,449	0,652
2 vs 3	2,449 vs 2,381	0,725
5 vs 7	2,6 vs 2,534	0,732
6 vs 7	2,594 vs 2,534	0,732
1 vs 4	2,712 vs 2,705	0,967
5 vs 6	2,6 vs 2,594	0,975

Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u numeričkoj gustini glomerula između svih eksperimentalnih grupa, $p > 0,05$.

4.6. DEBLJINA KORTEKSA BUBREGA

Korteks bubrega mladunaca miševa je posmatran pod svetlosnim mikroskopom i merena je njegova debljina (Slika 9.).



Slika 9. Debljina korteksa bubrega mladunaca miševa

Određene su debljine korteksa bubrega po grupama.

- U grupi 1. (IUGR) srednja vrednost korteksa bubrega miševa je bila $862,4 \pm 156,2 \mu\text{m}$.
- U grupi 2. (IUGR i DA $10 \mu\text{g/kg}$) srednja vrednost korteksa bubrega miševa je bila $1086 \pm 171,5 \mu\text{m}$.
- U grupi 3. (IUGR i DA $4 \mu\text{g/kg}$) srednja vrednost korteksa bubrega miševa je bila $988,2 \pm 165,3 \mu\text{m}$.
- U grupi 4. (IUGR i DA $1 \mu\text{g/kg}$) srednja vrednost korteksa bubrega miševa je bila $931,5 \pm 172,6 \mu\text{m}$.
- U grupi 5. (IUGR i DA u 15. danu trudnoće) srednja vrednost korteksa bubrega miševa je bila $922,6 \pm 182,1 \mu\text{m}$.
- U grupi 6. (IUGR i DA u 15. danu trudnoće i po rođenju $10 \mu\text{g/kg}$) srednja vrednost korteksa bubrega miševa je bila $924,5 \pm 176,6 \mu\text{m}$.
- U grupi 7. (miševi koji su spontano okotili bez prethodne intervencije na majci i bez intervencije na njima nakon rođenja) srednja vrednost korteksa bubrega miševa je bila $958,7 \pm 147,3 \mu\text{m}$.

U tabeli 5. je prikazano poređenje debljine korteksa bubrega kod mladunaca miševa:

Tabela 5. Poređenje debljine korteksa bubrega po grupama

Grupe	1 (862,42µm)	2 (1086,3 µm)	3 (988,21µm)	4 (931,54µm)	5 (922,62µm)	6 (924,49µm)	7 (958,73µm)
1		0,000000	0,000417	0,748833	1,000000	0,596013	0,027405
2	0,000000		0,039828	0,000237	0,000143	0,000004	0,001626
3	0,000417	0,039828		1,000000	0,997114	0,398601	1,000000
4	0,748833	0,000237	1,000000		1,000000	1,000000	1,000000
5	1,000000	0,000143	0,997114	1,000000		1,000000	1,000000
6	0,596013	0,000004	0,398601	1,000000	1,000000		1,000000
7	0,027405	0,001626	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	

Dobijeni rezultati ukazuju da je debljina korteksa bubrega bila statistički značajno veća kod miševa iz 2. grupe (IUGR i DA 10 µg/kg) u odnosu na sve druge grupe (1. (IUGR) (1086,3 µm vs 842,42 µm; $p < 0,05$), 3. (IUGR i DA 4 µg/kg) (1086,3 µm vs 988,21 µm; $p < 0,05$), 4. (IUGR i DA 1 µg/kg) (1086,3 µm vs 931,54 µm; $p < 0,05$), 5. (IUGR i DA u 15. danu trudnoće) (1086,3 µm vs 922,62 µm; $p < 0,05$), 6. (IUGR i DA u 15. danu trudnoće i po rođenju 10 µg/kg) (1086,3 µm vs 924,49 µm; $p < 0,05$) i 7. grupa (miševi koji su spontano okotili bez prethodne intervencije na majci i bez intervencije na njima nakon rođenja) (1086,3 µm vs 958,73 µm; $p < 0,05$).

Međusobnim poređenjem debljine korteksa bubrega miševa između grupa 4. (IUGR i DA 1 µg/kg) (931,54 µm), 5. (IUGR i DA u 15. danu trudnoće) (922,62 µm), 6. (IUGR i DA u 15. danu trudnoće i po rođenju 10 µg/kg) (924,49 µm) i 7. (miševi koji su spontano okotili bez prethodne intervencije na majci i bez intervencije na njima nakon rođenja) (958,73 µm) nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike, $p > 0,05$.

5. DISKUSIJA

Više nije iznenađujuća činjenica da nepovoljni uslovi okoline rano u životu, in utero ili u ranom postnatalnom periodu, povećavaju podložnost oboljevanju od hroničnih bolesti u kasnijem životu. Brenner i saradnici su 1988. godine istakli da mali broj nefrona, stečen in utero, može biti zajednički činilac u populaciji sklonoj hipertenziji i bolestima bubrega.¹⁹⁸ Bubrež sa manje nefrona, a samim tim i male površine filtracije, ima smanjenu sposobnost ekskrecije natrijuma, što dovodi do hipervolemije, čime se doprinosi razvoju hipertenzije. Eksperimenti na životinjama i epidemiološki podaci govore u prilog „hipoteze broja nefrona“.¹⁹⁹ Među pojedincima se broj nefrona razlikuje i do deset puta. Broj nefrona je određen kompleksnom interakcijom genetskih faktora i uslova okoline koja se odigrava tokom celog života.²⁰⁰ Nakon što je Barker sa saradnicima postavio hipotezu u kasnim osamdesetim godinama prošlog veka, objavljen je veliki broj radova koji povezuju rizik od hipertenzije, dijabetes melitusa, koronarne bolesti i gojaznosti, sa malom telesnom masom na rođenju, odnosno usporenim intrauterusnim rastom.^{201,202,203,204}

Kritični period u razvoju bubrega je od 9.-35. gestacijske nedelje, iako momenat završetka razvoja može varirati (od 32.-35. gestacijske nedelje). Nefrogeneza podrazumeva sukcesivno grananje ureteralnog pupoljka sa stvaranjem novih nefrona. Ovaj proces se ponavlja u koncentričnim slojevima, tako da se novoformirani nefroni nalaze u spoljnom sloju, dok se zreliji nefroni nalaze u dubljim slojevima. Kada postoji usporen rast tokom ovog fiksnog razvojnog perioda, fetalni bubrež formira manje slojeva normalnih nefrona. Kako se novi nefroni ne formiraju nakon 35. gestacijske nedelje, od tog momenta je broj nefrona određen za ceo život. Usporen intrauterusni razvoj tokom nefrogeneze može dovesti do deficita nefrona kao permanentnog strukturalnog nasleđa.²⁰⁵

Fetalni bubrež u razvoju je zavisan od veličine tela, tako da se telesna masa fetusa odražava na masu fetalnog bubrega. Temeljeno na studijama sprovedenim na ljudima i primatima, masa fetalnog bubrega se povećava stvaranjem novih nefrona.^{206,207} Stereološke studije na bubrezima koji su uzorkovani na autopsijama su pokazale da je kod osoba rođenih

u terminu broj nefrona proporcionalan telesnoj masi.⁹⁹ Za razliku od fetalnog bubrega, postnatalni bubreg se povećava hipertrofijom postojećih nefrona da bi odgovarao veličini tela. To znači da veličina bubrega ne daje informaciju o broju nefrona osim u uznapredovanim stadijumima bolesti.²⁰⁵ Ne postoje dokazi za postnatalnu nefrogenezu kod ljudi, osim kod prevremeno rođene novorođenčadi kod kojih je abnormalna nefrogeneza opservirana do 40. postnatalnog dana.²⁰⁸ Slično tome, kod prevremeno rođenih babuna koji su posmatrani 21 dan nakon rođenja, nefrogeneza se nastavila, ali je broj nezrelih, slabije vaskularizovanih i abnormalnih glomerula bio veći u odnosu na kontrolnu grupu.²⁰⁹ Kod mladih odraslih pacova koji su in utero bili izloženi nisko-proteinskom ishranom, glomerulogeneza je bila usporena sa većim brojem nezrelih nefrona, što je vezano za promene na bazalnoj membrani glomerula i strukturi podocita. Pretpostavlja se da takve rano nastale suptilne strukturalne abnormalnosti mogu povećati podložnost bolestima bubrega.²¹⁰

Brojne studije su istraživale promene i događaje koji se dešavaju u trudnoći, a koji dovode do smanjenja broja nefrona, uključujući deficit ishrane majke u proteinima, gvožđu, vitaminu A, ligiranje arterije uterine, hiperglikemiju majke, prenatalna ekspozicija glukokortikosteroidima i drugim lekovima (gentamicin, ciklosporin, β -laktamski antibiotici, etanol, cox2 inhibitori). Mnogi od navedenih intervencija mogu dovesti i do niske porođajne mase potomstva (LBW - low birth weight).²¹¹

Svetska zdravstvena organizacija definiše LBW kao novorođenče porođajne mase ispod 2500g. Takvo novorođenče može biti prevremeno rođeno (pre 37. gestacijske nedelje) ali odgovarajuće telesne mase za gestacijsku starost (AGA - appropriate for gestational age), ili rođeno u terminu, ali sa IUGR. IUGR se definiše kao telesna masa ispod 10. percentila za gestacijsku starost. Faktori rizika za LBW u nerazvijenim zemljama su uglavnom povezani sa pothranjenošću majke, neodgovarajućom prenatalnom negom i infekcijama, dok su u razvijenim zemljama vezani za visokorizične trudnoće, prematuritet i stariji uzrast majke.²¹² Majke koje su i same rođene kao LBW su takođe faktor rizika za LBW potomstvo, prevremeni porođaj, kao i IUGR, bez obzira na ekonomski status, što pokazuje uticaj razvojnog programiranja kroz generacije.²¹³

Poznato je da IUGR kod ljudi može dovesti do smanjenja broja nefrona.²⁰⁶ Kod novorođenčadi sa IUGR bubreg je izmenjenog oblika (tanak, kobasičast) što je posledica manjeg broja koncentričnih slojeva.²¹⁴ Brenner i saradnici su prvi istakli potencijalne posledice smanjenog broja nefrona na rođenju na bubrežnu bolest u kasnijem životu. Oni su

takođe istakli da nefropenija kao posledica IUGR može da stvori nesrazmeru između veličine tela i ekskretornog kapaciteta što dovodi do vazodilatacije, glomerularne hipertenzije i progresivnog gubitka nefrona zbog glomeruloskleroze.²¹⁵ Hoy i saradnici su 1999. godine objavili rezultate studije sprovedene na australijskim Aboridžinima. Oni su dokazali vezu između male porođajne telesne mase i povećanog rizika od mikroalbuminurije.²¹⁶

Gestacijska starost takođe koreliše sa brojem nefrona, prematuritet dovodi do njihovog smanjenja. Kod odraslih ljudi je dokazana jaka korelacija između porođajne telesne mase i broja nefrona.²¹⁷ Izračunato je da po kilogramu povećanja telesne mase na rođenju, postoji porast od 257 426 glomerula.²¹⁸

Sa druge strane, velika porođajna masa (HBW - high birth weight), koja se definiše kao porođajna masa veća od 4000g, je takođe povezana sa dugoročnim nepovoljnim efektom na bubrege, iako nije poznata veza sa brojem nefrona.²¹⁹ HBW je često rezultat majčine hiperglikemije, a kod životinja, potomaka majki dijabetičara, je pronađen smanjen broj nefrona.²²⁰

Osim grube procene broja nefrona MRI snimanjem ili biopsijom bubrega, tačan broj se može odrediti samo post mortem.²²¹ Kod ljudi, LBW i prevremeno rođenje su najjači klinički korelati malog broja nefrona. Međutim, kod životinja je sa jedne strane registrovan mali broj nefrona u odsutnosti LBW, a sa druge strane, nisu sve LBW životinje imale smanjen broj nefrona. Stoga, porođajna masa sama po sebi ne može biti univerzalni marker za broj nefrona.^{222,223}

Procenjuje se da osobe ženskog pola imaju 12% manje glomerula od osoba muškog pola. Starenje dovodi do smanjenja od 3 676 glomerula po bubregu godišnje nakon uzrasta od 18 godina. Telesna visina pozitivno korelira sa brojem nefrona, procenjuje se porast od 28 000 glomerula po centimetaru porasta u visinu.²²¹

Iako se broj nefrona ne povećava nakon rođenja, bubreg odgovara kapacitetu filtracije telesnih zahteva povećanjem veličine glomerula do hipertrofije.²²⁴ Srednji glomerularni volumen obrnuto koreliše sa brojem glomerula i direktno sa trenutnom veličinom tela.²²¹ U studiji koju su sprovedeli Keller i saradnici, registrovano je povećanje srednjeg glomerularnog volumena za 133% i smanjenje broja glomerula za 46.6% kod hipertenzivnih pojedinaca u poređenju sa kontrolnom grupom.²²⁵ Manji broj nefrona, crna rasa, hipertenzija i veličina tela, su svi u korelaciji sa povećanjem volumena glomerula unutar jednog bubrega.²²¹ Veći glomeruli sugerišu manji broj nefrona, mada, kod Afroamerikanaca postoji globalno

povećanje glomerularnog volumena, ali i dalje u obrnutoj proporciji sa brojem nefrona, što sugeriše da postoje dodatni faktori koji utiču na veličinu glomerula u ovoj populaciji.²²⁶

Masa bubrega se može meriti samo *ex vivo*. Obdukcionim studijama je dokazana direktna korelacija broja nefrona sa masom bubrega dece i odraslih osoba. Zhang i saradnici su objavili da postoji porast od 23 459 glomerula po gramu mase bubrega (95% interval pouzdanosti 4 590 - 42 238) kod odojčadi uzrasta 3 meseca i mlađe. Masa bubrega živih ispitanika se može dobiti merenjem bubrega pre transplantacije, te je dokazano je da ima klinički značaj kako preoperativno, tako i postoperativno.²²⁷

Volumen bubrega se može meriti ultrazvukom. Spencer i saradnici su dokazali da postoji relativno manji volumen bubrega u LBW kod Aboridžinske dece iz Australije u uzrastu od 5 do 18 godina u poređenju sa veličinom tela.²²⁸ Nasuprot tome, Rakow i saradnici nisu pronašli značajnu razliku između volumena bubrega pojedinaca koji su bili ročni AGA, ročni SGA ili prevremeno rođeni u odnosu na površinu tela, pol i uzrast.²²⁹ Veličina bubrega zavisi od broja nefrona i stepena hipertrofije nefrona i u direktnoj je korelaciji sa trenutnom veličinom tela.⁹⁸ Kod fetusa, kao i na rođenju, volumen bubrega je proporcionalan broju nefrona. Međutim, nakon toga, normalan rast bubrega (pod uticajem površine tela, uzrasta i pola), glomerulomegalija (hipertrofija zbog niskog broja nefrona, gojaznost) i gubitak nefrona zbog oštećenja bubrega će uticati na volumen bubrega disproporcionalno, te je direktan odnos manje jasan.²²⁸ Kod mladih odraslih osoba koje su prevremeno rođene (AGA ili SGA) u poređenju sa kontrolnom grupom pojedinaca iste starosti, prematuritet je vezan za manje bubrege u uzrastu od 20 godina. Kod IUGR postoji mali, beznačajni efekat na volumen bubrega.²³⁰

IUGR je ozbiljan klinički problem i nedavno je povezan sa bolestima odraslog doba kao što su hipertenzija, insulin nezavistan diabetes melitus, dislipidemije i ishemijske bolesti srca. Mehanizmi na kojima se temelje epidemiološka zapažanja su nepoznati, ali se pretpostavlja da su adaptacije kardiovaskularnog sistema koje dovode do hipertenzije pokrenute tokom fetalnog života i progresivno se pojačavaju nakon rođenja i u odraslom dobu. Budući da je funkcija bubrega uključena u dugoročnu regulaciju arterijskog pritiska, postavilo se pitanje da li ugroženi prenatalni rast ima određeni uticaj na bubrežnu funkciju u novorođenačnom periodu.²³¹

IUGR se najčešće definiše kao fetus ili novorođenče čija je masa ispod 10 percentila za gestacijsku starost.²³²

Sprovedeni su brojni eksperimenti gde je na životinjskom modelu izazivan IUGR. Kind i saradnici su ispitivali uticaj maternalne malnutricije na potomke zamorčeta. Telesna masa mladunaca je bila smanjena za 13% u odnosu na potomke majke koja je hranjena ad libitum.²³³ Lafeber i saradnici su ligiranjem arterije uterine trudnim ženka zamorčeta izazivali IUGR potomcima. Kod njih je registrovano smanjenje telesne mase od 50% u odnosu na kontrolnu grupu, kao i odsustvo „catch-up“ rasta.²³⁴ Na eksperimentalnom modelu zeca, Rosati i saradnici su ispitivali uticaj toplotne povrede placente strujom. Smanjenje telesne mase od 31% je uočeno kod 71% mladunaca koji su bili izloženi jednosmernoj struji (15mA) tokom 40 sekundi (incidenca abortusa je bila 21%).²³⁵ Tapanainen i saradnici su dobili 24% manju telesnu masu mladunaca pacova čije su majke bile izložene hipoksiji tokom trudnoće.²³⁶ Davanje karbonoksolona, inhibitora 11-β-hidroksisteroid dehidrogenaze, trudnim pacovima takođe može da dovede do smanjenja porođajne mase potomaka.²³⁷ Hohmann i Kunzel su dokazali da administracija dihidroergotamina trudnim zamorcima rezultuje intrauterusnom restrikcijom rasta. Rezultati pokazuju da su mladunci imali 21% manju telesnu masu u odnosu na mladunce zamorčeta majke koja nije dobijala lek.²³⁸

U sprovedenom eksperimentu je korišćen IUGR animalni model indukovano glukokortikoidima. Trudnim ženka miševa je davan deksametazon u dozi od 100 µg/kg na dan subkutano tokom 7 dana, od 15.-21. dana gestacije. Mladunci su imali statistički značajno manju porođajnu telesnu masu u odnosu na kontrolnu grupu, potomke majki koje su se spontano okotile bez prethodne intervencije. Rezultati ukazuju na smanjenje telesne mase od 25,2%.

Slične rezultate su dobili Price i autori. Oni su davali trudnim pacovima deksametazon u dozi od 100 µg/dan intraperitonealno od 15.-19 dana gestacije (gestacija kod pacova traje 21-22 dana). Porođajna masa potomaka je bila za 32% manja u porođenju sa kontrolnom grupom. Takođe, oni su dokazali da postoji smanjenje u masi jetre i pluća.²³⁹

Kombinacija LBW sa naglim porastom telesne mase nakon rođenja povećava rizik za hipertenziju i kardiovaskularne bolesti u kasnijem životu. Brzo povećanje mase već od druge nedelje života povezano je sa disfunkcijom endotela istih osoba u uzrastu od 16 godina.²⁴⁰ Hipoteza „štedljivog fenotipa“ govori u prilog tome da u slučaju suboptimalne intrauterusne okoline, embrionalni i fetalni adaptivni odgovori ograničavaju fetalni rast, rezultujući fenotipom koji je bolje prilagođen za opstanak u nepovoljnim uslovima. Te adaptivne promene mogu postati neprikladne kada postnatalna okolina nudi bolje uslove za rast, čime se

povećava rizik od hipertenzije i bolesti bubrega.²⁴¹ Tokom prve i druge godine života postoji najveći porast telesne mase. Kod dece sa IUGR, porast može biti toliko izražen, da u potpunosti kompenzuje zastoje u rastu *in utero* i nakon druge godine rast uglavnom prati genetski određenu liniju rasta. Termin koji se koristi u literaturi, a govori o dostizanju rasta je „catch-up“.

Životinjski modeli LBW kod kojih postoji ubrzan postnatalni rast pokazuju povećan oksidacioni stres, skraćivanje telomera i ubrzano starenje bubrega, srca i aorte što je povezano sa preranom smrću.²⁴² Postoje dokazi koji upućuju na ubrzano starenje i povećan oksidativni stres kod ljudi rođenih sa LBW.²⁴³ Velika kohortna studija ALSPAC (Avon longitudinal study of pregnancy and childhood), je ispitala vezu između postnatalnog „catch-up“ rasta i gojaznosti u detinjstvu. Dokazano je da 30,7% dece ima „catch-up“ rast u periodu između rođenja i druge godine života. Uočeno je i da je ubrzan postnatalni rast bio izražen kod dece očeva veće visine. Ovo može biti objašnjeno postnatalnim efektom očevih gena na rast deteta, ali i povećanim intrauterusnim zastojem rasta koji je uzrokavan od strane majke uz povećan potencijal za rast nakon rođenja. Tačan mehanizam kako dolazi do „catch-up“ rasta nije poznat. Registrovan je povećan unos hrane kod dece sa IUGR, u odnosu na drugu decu. Takođe, dokazana je pozitivna korelacija između koncentracije leptina u krvi pupčane vrpce sa ponderalnim indeksom (masa/dužina³) na rođenju, kao i negativna korelacija sa porastom telesne mase postnatalno. Stoga, niske koncentracije ovog hormona na rođenju, zbog smanjene inhibicije sitosti, mogu biti uzrok „catch-up“ rasta. Uočeno je da deca sa „catch-up“-om rasta između rođenja i druge godine života, u uzrastu od pet godina imaju veću masu i višlja su u odnosu na drugu decu, ali nije poznato da li će oni dostići genetski predodređenu visinu ili je povećana visina u dečjem uzrastu samo posledica ubranog sazrevanja. Takođe, ta deca imaju i veći indeks telesne mase (BMI - body mass index), veći procenat masnog tkiva i centralnu distribuciju masti, što uz uslove života u modernom dobu može dovesti do bolesti odraslog doba (gojaznost, hipertenzija, dijabetes melitus, dislipidemije, kardiovaskularne bolesti).²⁴⁴

U sprovedenom eksperimentu su mladunci miševa mereni u sedmom danu života. Potomci majke koja se spontano okotila bez prethodne intervencije na majci i bez intervencija na njima nakon rođenja su imali statistički značajno veću telesnu masu u odnosu na sve druge potomke, sem onih koji su bili na visokim dozama DA (10 µg/kg). Potomci miševa sa IUGR koji su dobijali visoke doze DA (10 µg/kg), su pored veće telesne mase u 7.

danu života istovremeno imali i veće glomerule. Potrebna su dalja ispitivanja kao i praćenje u dužem vremenskom periodu da bi se dokazale koristi ili štetni uticaji ovog brzog prirasta u telesnoj masi.

IUGR ima veliki uticaj na fetus i placentu sa posledicama na kardiovaskularni, metabolički i neurološki razvoj. Efekti na kardiovaskularni sistem podrazumevaju srčanu hipertrofiju i inicijalno povećanje izbačaja leve komore. Postoji povećana recirkulacija deoksigenisane krvi u fetusima sa IUGR. Količina krvi koja prolazi kroz ductus venosus je veća kod IUGR fetusa, u teškim slučajevima hemodinamske kompromitovanosti čak 57% u odnosu na 30% kod normalnih trudnoća.²⁴⁵ Takođe, kod IUGR fetusa postoji ubrzana maturacija pluća što je posledica povećanog nivoa adrenokortikalnog hormona i smanjenog klirensa placentne. Ovo može biti mehanizam adaptacije koji priprema fetus za rano ekstrauterusno preživljavanje. Na eksperimentalnom modelu jagnjeta sa malom porođajnom masom, dokazano je da ne postoji nedostatak plućnog surfaktanta, kao i da postoji smanjena komplijansa pluća koja je verovatno posledica strukturnih promena.²⁴⁶ Prolongirana placentarna insuficijencija u trudnoći može da utiče na razvojne procese nervnog sistema, kao što su mijelinizacija i rast cerebeluma. Promene srčane akcije fetusa su jedan od dokaza abnormalnog neurološkog razvoja, kao odgovor na hroničnu hipoksemiju. Fetalna srčana akcija je regulisana autonomnim nervnim sistemom preko promena koje su posredovane korteksom centralnog nervnog sistema.²⁴⁷

Bauer i saradnici su fetalnom malnutricijom na prasićima izazivali asimetrični IUGR. Oni su dokazali da IUGR dovodi do smanjenog broja nefrona, do promena u renin-angiotenzin-aldosteron osovini, hipertenzije, ubrzane nefroskleroze i smanjenja životnog veka.²⁴⁸ Hemodinamski poremećaji koji se dešavaju kod IUGR, menjaju protok krvi kroz mezenterijalnu arteriju. Ove promene se vezuju za probleme sa intestinalnim motilitetom i tolerancijom enteralnog unosa.²⁴⁹ Lane i saradnici su sproveli ekperiment na skeletnim mišićima pacova i dokazali da postoji fetalno i postnatalno izmenjena mišićna mRNA ekspresija kao i postnatalno izmenjena mitohondrijalna funkcija.²⁵⁰

Hodgin i saradnici su prvi dokazali postojanje veze između histopatološke dijagnoze fokalne segmentne glomerularne skleroze i prematuriteta i veoma male porođajne mase (VLBW - very low birth weight). Hoy i saradnici su ispitivanjem broja nefrona i glomerularnog volumena u tri populacije (Amerikanci bele rase i crne rase, australijski Aboridžini) dokazali da povećan srednji glomerularni volumen zajedno sa većom

raznolikošću u veličini glomerula ukazuju na glomerularni stres. Najveći glomeruli će prvi izgubiti integritet podocita, sklerozirati i eventualno nestati.²⁵¹

Zbog brojnih posledica koje IUGR ima, postoji veliko interesovanje za dalja ispitivanja ovog problema. Do sada je bilo više pokušaja da se utiče na plod kod koga je registrovan IUGR. Leitich i saradnici su objavili rezultate meta-analize koja je obuhvatila 13 objavljenih randomiziranih kliničkih ispitivanja o učinkovitosti niskih doza aspirina u prevenciji IUGR. Rezultati sugerišu da profilaktičko davanje aspirina majkama tokom trudnoće u dozama između 50 i 80 mg dnevno značajno smanjuje rizik od IUGR, bez povećanja perinatalnog mortaliteta. Daljom analizom je pokazano da je preventivno dejstvo aspirina veće u dozama između 100 i 150 mg/dan, kao i kada je preventivna terapija započeta u ranoj fazi trudnoće. Davanje dipiridamola uz aspirin nije dovelo do veće kliničke koristi u odnosu na davanje samog aspirina. Dakle, rezultati meta-analize jasno govore u korist pozitivnog dejstva ranog započinjanja davanja aspirina majkama (od 12.-16. nedelje gestacije do porođaja), radi poboljšanja ishoda i prevencije IUGR.⁴⁰ Harrington i saradnici su ispitivali uticaj aspirina sa sporim oslobađanjem na plod majki koje su bile identifikovane kao visoko rizične za trudnoću sa IUGR. Oni su trudnim ženama davali 100 mg aspirina sa sporim otpuštanjem od 20. gestacijske nedelje. Rezultati su pokazali da ne postoji značajna razlika u incidenciji IUGR, ali je ishod bio poboljšan smanjenjem ukupne učestalosti komplikacija povezanih sa uteroplacentarnom insuficijencijom.⁴¹

Analiza fetalne krvi uzete kordocentezom pokazuje da su neki IUGR fetusi u hroničnoj hipoksiji, čak i pre porođaja. Kako primena oksigenoterapije kod majke neposredno pred porođaj dovodi do porasta parcijalnog pritiska kiseonika fetusa, a kiseonička terapija se široko koristi u zbrinjavanju ugroženog novorođenčeta, Nicolaides i saradnici su ispitivali dejstvo hiperoksigenacije majke hipoksičnih IUGR fetusa. Oni su majkama davali vlažan 55% kiseonik preko maske 15-18h dnevno, odnosno 24h dnevno (od 23.-30. nedelje gestacije do porođaja). Rezultati ukazuju da oksigenoterapija majke može dovesti do porasta parcijalnog pritiska kiseonika kod fetusa do normalnih vrednosti, što može smanjiti incidenciju intrauterusne smrti ili odložiti prevremeni porođaj.²⁵²

Nicolini i saradnici su ispitivali efekte intravenskog davanja glukoze IUGR fetusima. Ekperiment je izvođen između 26. i 33. gestacijske nedelje, ordinirana je glukoza u dozi od 0,75 g/kg računata u odnosu na EFW. Dobijeni rezultati ne ukazuju na pozitivne efekte

fetalne suplementacije glukozom, naprotiv, izgleda da dovode do produbljivanja acidoze fetusa.²⁵³

Promene na placenti koje se nalaze kod IUGR su slične promenama kod preeklampsije. Patofiziologija govori u prilog abnormalnog plitkog usađivanja trofoblasta spiralnih arterija materice u ranoj trudnoći. To dovodi do smanjenja utero-placentarnog protoka krvi zbog perzistentne placentarne hipoksije tokom trudnoće. Kao odgovor na hipoksiju, placenta oslobađa veći broj anti-angiogenetskih faktora u maternalnu cirkulaciju koja rezultuje endotelijalnom disfunkcijom.²⁵⁴ Nekoliko faktora rasta, kao što su VEGF i placentarni faktor rasta (PGF - placental growth factor), su uključeni u razvoj placentarne vaskularizacije. Sprovedene su studije koje su ispitivale da li promene u regulaciji ovih hormona mogu biti povezane sa pojavom IUGR i preeklampsije. VEGF, PGF i VEGF receptor (VEGFR) se stvaraju u trofoblastnim ćelijama i oni su značajno ushodno regulisani u placentama žena sa preeklampsijom i trudnoćom sa IUGR. Tokom trudnoće većina cirkulišućeg VEGF je vezana za VEGFR koji se u velikim količinama stvara u placenti. U preeklampsiji, placentarna produkcija VEGFR je povećana zbog niskog nivoa kiseonika u placenti, što rezultuje niskim nivoom slobodno cirkulišućih VEGF i PGF.²⁵⁵ Maynard i saradnici su na ekperimentalnom modelu pacova dokazali da VEGF, PGF i VEGFR igraju važnu ulogu u patogenezi preeklampsije. Oni su istakli da velika placentarna proizvodnja VEGFR doprinosi razvoju hipertenzije, proteinurije i glomerularne endotelioze.²⁵⁶

Dokazi upućuju na to da klinički izvodljive intervencije, u kritičnom periodu razvoja nefrona, mogu sačuvati njihov broj i time uticati na krvni pritisak kasnije u životu. Kod pacova je utvrđeno da odgovarajuća postnatalna ishrana, koja se postiže stavljanjem IUGR mladunaca po rođenju na prirodnu ishranu ženki pacova sa normalnom laktacijom, utiče na vraćanje broja nefrona i prekida razvoj posledične hipertenzije.²⁵⁷ Isto tako, suplementacija maternalne niskoproteinske dijeta sa glicinom, ureom ili alaninom tokom trudnoće, normalizuje broj nefrona kod svih potomaka pacova, iako je krvni pritisak bio normalizovan samo kod onih koji su dobijali glicin.²⁵⁸ Postnatalna hipernutricija kod normalnih pacova je utvrđeno da povećava broj nefrona za 20%, ali su ovi pacovi razvili hipertenziju, verovatno kao posledicu gojaznosti.²⁵⁹ Nedostatak vitamina A dokazano smanjuje broj nefrona u dozno-zavisnom maniru. Ohrabrujuća je činjenica da je jedna doza retinoične kiseline, koja se daje tokom rane nefrogeneze, bila dovoljna za povratak broja nefrona na nivo koji su imali pacovi

pre izlaganja niskoproteinskoj ishrani in utero.²⁶⁰ Primena ouabaina takođe poništava efekte izgladnjivanja i ishrane siromašne proteinima na razvoj nefrona in vitro i in vivo kod pacova.²⁶¹

EPO je hematopoetski faktor rasta čija produkcija zavisi od hipoksije. On je plejotropni citokin koji ispoljava različite biološke efekte u mnogim nehematopoetskim tkivima. Neki od organa na koje EPO ima efekat su mozak, srce, pluća, bubrezi i jetra. Unazad par godina objavljeni su rezultati istraživanja koji ukazuju da EPO smanjuje glomerulska i tubulska oštećenja i disfunkciju uzrokovanu teškom ishemijom i reperfuzijom, kako kod eksperimentalnih životinja, tako i kod novorođenčeta. Mehanizmi kojima EPO ispoljava protektivno dejstvo na bubrege u toku I/R oštećenja su: povećanje renalnog krvnog pritiska, povećanje diureze zbog povećanja kortikalne perfuzije i intraglomerulskog pritiska. EPO, takođe, štiti proksimalne tubulske epitelne ćelije od ćelijskog oštećenja i smrti svojim antiapoptotičnim, antioksidativnim, antiinflamatornim, kao i pro - angiogenim dejstvom.²⁶²

Yang i saradnici su prvi dokazali da EPO može zaštititi bubrege od ishemičnog oštećenja. Oni su pacovima davali EPO u dozi od 3000 i.j./kg intraperitonealno 24h pre I/R oštećenja. Životinje koje su dobile EPO su imale manji nivo kreatinina u serumu, manju apoptozu i nekrozu tubularnih ćelija i smanjenu proliferaciju tubularnih ćelija. Takođe je ustanovljeno da EPO uzrokuje povećanje ekspresije Bcl-2 (antiapoptotični protein koji prevenira depolarizaciju mitohondrija), kao i HSP-70 (heat shock protein – 70).²⁶³ Eksperimentalnom studijom koju su sprovedeli Spandou i saradnici je dokazano protektivno dejstvo EPO-a u smislu inhibicije apoptotičke smrti proksimalnih i distalnih tubulskih ćelija. Rezultati su takođe pokazali da I/R oštećenje bubrega dovodi do povećane ekspresije Bax proteina u distalnim i proksimalnim tubulskim ćelijama 48h od reperfuzije, što ukazuje na to da regulacija Bax proteina ima ulogu u apoptotičkoj smrti.²⁶⁴ U eksperimentu sprovedenom na svinjama, Forman i saradnici su ustanovili da davanje EPO-a u vreme renalne I/R značajno smanjuje oštećenje ćelijske funkcije i štiti od ćelijske smrti.²⁶⁵

DA je dugodelujući hiperglikolizirani derivat EPO-a, koji se takođe koristi u terapiji anemije. DA je eritropoetski agens sa poluživotom oko 3 puta dužim od rHuEPO-a i sličnim efektima kao rHuEPO. Fishbane i saradnici su sprovedli ekperimentalno ispitivanje uticaja DA na tubulske ćelije svinja i mezengijalne ćelije miševa. Oni su dokazali da DA ima antiapoptotički efekat i kod toksičnog i hipoksičnog oštećenja bubrega.²⁶⁶ Stojanović i saradnici su 2011. godine objavili rezultate ispitivanja uticaja EPO i hipotermije na bubrege

pacova nakon perinatalne asfiksije. U eksperimentu je mladuncima pacova koji su bili izloženi asfiksiji po rođenju aplikovan DA u dozi od 2,5 mg intraperitonealno. Dokazan je protektivni efekat tretmana sa DA, kao i smanjenje intersticijalnog edema. Ispitan je i efekat DA u kombinaciji sa hipotermijom. Rezultati ukazuju na značajno smanjenje stepena oštećenja proksimalnih i distalnih tubula. Takođe je utvrđeno da DA poboljšava maturaciju nezrelih glomerula bubrega.²⁶⁷

EPO se u novorođenačkom uzrastu daje samo u terapiji anemije. Sprovedene studije su pokazale da davanje rHuEpo povećava broj retikulocita i smanjuje potrebe za transfuzijama eritrocita. Sprovedene studije su ispitivale efekte DA koji je davan neonatusima u različitim dozama i različitim intervalima. U farmakokinetičkoj studiji koju su 2006. godine objavili Ohls i saradnici, ustanovljeno je da je nakon jednokratnog davanja DA novorođenčadima u dozi od 1-4 µg/kg subkutano poluživot DA bio 26h. Ispitivanje je ponovljeno jednokratnim davanjem DA u dozi od 4 µg/kg intravenski tokom 4h. Rezultati su pokazali da je tada poluživot DA bio 10,1h. Zbog razlika u farmakokinetici između neonatusa i odraslih osoba, veće doze DA su potrebne da bi se izazvao hematopoetski odgovor. Prevremeno rođena novorođenčad imaju veći volumen distribucije i klirens, te stoga zahtevaju 3-4 puta veće doze od onih koje se preporučuju starijoj deci i odraslima. Takođe, rezultati ukazuju na to da davanje DA u novorođenačkom uzrastu zahteva kraće vremenske intervale.²⁶⁸ Ohls i saradnici su nedavno objavili rezultate randomizirane, slepe, placebo kontrolisane studije o primeni DA kod prevremeno rođene novorođenčadi. Ovo je prva studija koja je evaluirala dejstvo multiplih doza DA davanih neonatusima. Oni su prevremeno rođenoj novorođenčadi porođajne mase između 500 i 1250g davali DA u dozi od 10 µg/kg jednom nedeljno subkutano. Takođe su ispitivali dejstvo EPO koji je bio ordiniran u dozi od 400 U/kg tri puta nedeljno. U obe grupe je registrovano smanjenje potrebe za transfuzijama eritrocita (59% neonatusa koji su primali DA nisu imali indikacije za tranfuziju, 52% u grupi koja je dobijala EPO, dok je u placebo grupi taj procenat iznosio 38%).²⁶⁹

Brenner i saradnici su izneli hipotezu da je fundamentalna bubrežna abnormalnost koja dovodi do povišenog krvnog pritiska, smanjena površina filtracije. Ovo može biti uzrokovano smanjenjem broja nefrona u bubregu, kao i smanjenjem bubrežne površine filtracije po nefronu.⁸³ U sprovedenom istraživanju u eksperimentalnim uslovima je ispitivan potencijalni efekat DA na broj glomerula novorođenih miševa sa IUGR. Morfološkom i stereološkom analizom glomerula utvrđeno je da tretman sa DA ima značajan efekat na

povećanje njihove površine, ali ne i broja. Naime, kod eksperimentalnih životinja koje su po rođenju i u 7. danu života dobile DA u dozi od 1 µg/kg i 4 µg/kg registrovano je statistički značajno povećanje površine glomerula u odnosu na IUGR potomke koji nisu dobili lek. Ipak, životinje koje su se spontano okotile, bez ikakve intervencije, su imale veću površinu glomerula u odnosu na sve tri gore navedene grupe (1. grupa (IUGR), 3. grupa (IUGR i DA 4 µg/kg) i 4. grupa (IUGR i DA 1 µg/kg)). Međutim, kod eksperimentalnih životinja koje su po rođenju i u 7. danu života dobile DA u dozi od 10 µg/kg registrovano je povećanje površine glomerula u toj meri da nije bilo statistički značajne razlike u površini između njih i grupe zdravih potomaka. Potrebno je istaći i podatak da su potomci čije su majke tokom trudnoće jednokratno primile DA u dozi od 10 µg/kg, imali statistički značajno veću površinu glomerula u odnosu na životinje koje su bile na tretmanu nižim dozama DA (1 i 4 µg/kg), ali i statistički značajno manju površinu od onih na visokim dozama (10 µg/kg). Ispitivana je i numerička gustina glomerula kod eksperimentalnih životinja. Iako postoje razlike između posmatranih grupe, one nisu statistički značajne. Po našim saznanjima niko do sada nije radio slično ispitivanje.

Na osnovu rezultata možemo pretpostaviti da veće doze EPO i istovremeno davanje EPO majci u vreme započinjanja dejstva patološke nokse imaju pozitivno dejstvo na rast glomerula. Potrebne su dodatne studije koje bi utvrdile benefit ovog efekta kasnije na život dece koja su rođena sa IUGR, kao i na komorbiditet, sa akcentom na krvni pritisak.

Glomeruli se nalaze u renalnom korteksu i Bertinijevim stubovima, a renalni tubuli u medularnim piramidama. Progresivno smanjenje bubrežne funkcije utiče na glomerule što često dovodi do suženja renalnog korteksa i Bertinijevih stubova. Bubrež je tada lobuliran i ima povećanu količinu masti u renalnom sinusu, što ukazuje na hroničnu nefropatiju. Međutim, čak i sa ovim promenama, bipolarna dužina i parenhimska debljina još uvek mogu biti u granicama referentnih vrednosti. Iz tog razloga je kortikalna debljina mogući prediktor hronične bubrežne bolesti. Beland i saradnici su ultrazvučnom metodom merili debljinu korteksa bubrega pacijenata sa hroničnom bubrežnom bolešću. Oni su dokazali statistički značajnu vezu i korelaciju između kortikalne debljine i renalne funkcije, i istakli da bi debljina bubrežnog korteksa bila dobar indikator smanjenja bubrežne funkcije.²⁷⁰ Yamashita i saradnici su ponovili ispitivanje na većem uzorku i dokazali umerenu linearnu korelaciju između procenjene stope glomerulske filtracije i debljine renalnog korteksa, kao i slabu korelaciju između smanjenja bubrežne funkcije i bipolarne dužine i debljine parenhima.²⁷¹

U sprovedenom eksperimentu je određivana debljina korteksa bubrega. Utvrđeno je da je debljina kore bubrega bila statistički značajno veća kod mladunaca miševa sa IUGR koji su bili na terapiji visokim dozama DA (10 µg/kg), u odnosu na sve druge potomke. To se može objasniti time što su ovi miševi imali i veće glomerule. Pored hematopoezne funkcije, EPO stimuliše proliferaciju i migraciju vaskularnih endotelnih ćelija i indukuje angiogenezu. Funkcionalni EPOR su nađeni u tubulskim epitelnim, glomerulskim endotelnim i mezangijalnim ćelijama, kao i na podocitima.

Prenatalna nefrogeneza kod SGA sa ili bez prematuriteta nije jedini krivac za razvoj bubrežne bolesti. Pored ireverzibilnih promena koje se dešavaju in utero pažnju treba posvetiti faktorima na koje se može uticati postnatalno. Postoje najmanje tri postnatalna stadijuma koja zahtevaju pažnju u smislu razvoja nefroprotektivnih tretmana kod novorođenčadi male telesne mase. Prvo, na odeljenju intenzivne nege i terapije, Rodriquez i saradnici su dokazali da prevremeno rođena novorođenčad (ispod 35. gestacijske nedelje), nefrogeneza se može, mada ne uvek, nastaviti postnatalno do 40. postnatalnog dana, iako tada broj nefrona ne dostiže normalne vrednosti. U uslovima intenzivne nege i terapije se koriste standardne farmakološke procedure od kojih su mnoge razvijene pre saznanja o postnatalnoj nefrogenezi. Neke od tih terapijskih mera (nesteroidni antiinflamatorni lekovi, gentamicin) mogu delovati nefrotoksično i dovesti do smanjenja broja nefrona. Kod prevremeno rođene novorođenčadi sa bubrežnom insuficijencijom postnatalna nefrogeneza je prekinuta.²¹⁷ Drugo, Schmidt i saradnici su otkrili da SGA ne samo da imaju male bubrege na rođenju, nego i slabiji apsolutni i relativni rast bubrega u odnosu na telesnu masu do 18. meseca života. Nije poznato da li je slab postnatalni rast bubrega kod novorođenčadi male telesne mase posledica naknadnog gubitka postojećih nefrona ili nemogućnost postojećih nefrona da hipertrofišu u skladu sa telesnim rastom.²⁷² I treće, u kasnijem detinjstvu gde postoji ubrzani rast (telesna masa ili BMI na većem percentilu) konstantno se povećava rizik od kardiovaskularnih bolesti kod SGA.²⁰⁵

Očito je da osim smanjenog broja nefrona postoje i drugi mehanizmi koji doprinose bubrežnim bolestima kod IUGR i/ili prematuriteta.²⁷³ Dokazano je da postoji povećan vaskularni odgovor na angiotenzin II kod životinjskih modela sa nutritivnom restrikcijom majki.²⁷⁴ Proinflamatorni molekuli su dodatno regulisani u bubregu nakon restrikcije unosa proteina majkama.²⁷⁵

Ideja da nizak broj nefrona može imati dugoročni uticaj na rizik pojedinca od hipertenzije i bubrežne bolesti kasnije u životu je sada od velikog interesovanja. Dok se ne sazna više o razvojnom programiranju u nefrologiji, LBW se može koristiti kao najbolja klinička zamena za smanjen broj nefrona i urođeni rizik za hipertenziju i bolesti bubrega. Pored broja nefrona i LBW i drugi faktori doprinose razvoju bolesti (veličina glomerula, ekspresija transportera natrijuma, vaskularna reaktivnost, velika porođajna masa). Na eksperimentalnim modelima je dokazano da se broj nefrona može povratiti sa pravovremenom intervencijom što ukazuje na plastičnost sistema i čini identifikaciju pojedinaca u riziku i razvoj terapijskih opcija još hitnijom i potrebnijom. Dok se ne razvije takva terapija, sadašnja saznanja govore u prilog optimizacije perinatalne nege i ishrane u ranom detinjstvu kao važne startegije kako bi se zaustavila rastuća epidemija bubrežnih i kardiovaskularnih bolesti u budućih generacija.²⁷⁶

Dakle, prematuritet i/ili mala porođajna telesna masa predstavljaju faktor rizika za nastanak bubrežne bolesti u odraslom dobu.²⁰⁵

6. ZAKLJUČAK

Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti sledeće:

1. Aplikacija deksametazona (100 $\mu\text{g}/\text{kg}$) trudnim mišicama dovodi do potomstva sa IUGR.
2. Primena DA kod novorođenih miševa sa IUGR dovodi do bržeg porasta telesne mase u prvih 7 dana života („catch-up“ rasta).
3. Miševi rođeni sa IUGR imaju manju površinu glomerula bubrega.
4. Primena DA nakon rođenja i u 7. danu života (4 i 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$) kod novorođenih miševa sa IUGR dovodi do hipertrofije glomerula bubrega.
5. IUGR nema uticaja na broj glomerula bubrega miševa.
6. Primena DA nema uticaja na broj glomerula bubrega miševa.
7. Miševi rođeni sa IUGR imaju manju debljinu korteksa bubrega.
8. Primena DA (4 i 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$) kod miševa rođenih sa IUGR dovodi do povećanja debljine korteksa bubrega.

7. LITERATURA

- ¹ Sindić-Antunović S. Perinatalni tretman urođenih anomalija urinarnog trakta. Beograd: Zadužbina Andrejević; 2009.
- ² Milin J, Dobanovački D, Mihić N, Mikać G. Embryology an developmental disorders. Novi Sad: Ortomedics; 2001.
- ³ Horster MF, Braun GS, Huber SM. Embryonic renal epithelia: induction, nephrogenesis, and cell differentiation. *Physiol Rev.* 1999;79(4):1157-91.
- ⁴ Saxen L, Sariola H. Early organogenesis of the kidney. *Pediatr Nephrol.* 1987;1(3):385-92.
- ⁵ Fouser L, Avner ED. Normal and abnormal nephrogenesis. *Am J Kidney Dis.* 1993;21(1):64-70.
- ⁶ Rennie JM. Rennie & Robertson's Textbook of Neonatology. 5th ed. Churchill, Livingstone: Elsevier Health Sciences; 2012.
- ⁷ Faraci M, Renda E, Monte S, Di Prima FAF, Valenti O, De Domenico R et al. Fetal growth restriction: current perspectives. *J Perinat Med.* 2011;5(2):31-3.
- ⁸ Platz E, Newman R. Diagnosis of IUGR: traditional biometry. *Semin Perinatol.* 2008;32(3):140-7.
- ⁹ Monk D, Moore GE. Intrauterine growth restriction – genetic causes and consequences. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2004;9(5):371-8.
- ¹⁰ Gardosi J, Mul T, Mongelli M, Fagan D. Analysis of birthweight and gestational age in antepartum stillbirths. *Br J Obstet Gynaecol.* 1998;105(5):524-30.
- ¹¹ Sankaran S, Kyle PM. Aetiology and pathogenesis of IUGR. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2009;23(6):765-77.
-

-
- ¹² Severi FM, Rizzo G, Bocchi C et al. Intrauterine growth retardation and fetal cardiac function. *Fetal Diagn Ther.* 2000;15(1):8-19.
- ¹³ Bernstein IM, Horbar JD, Badger GJ, Ohlsson A, Golan A. Morbidity and mortality among very-low-birth-weight neonates with intrauterine growth restriction. The Vermont Oxford Network. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;182(1 Pt 1):198-206
- ¹⁴ Giuliano N, Annunziata ML, Tagliaferri S, Esposito FG, Imperato OCM, Campanile M, et al. IUGR Management: New Perspectives. *J Pregnancy.* 2014;2014:620976. doi:10.1155/2014/620976.
- ¹⁵ Figueras F, Gardosi J. Intrauterine growth restriction: new concepts in antenatal surveillance, diagnosis, and management. *Am J Obstet Gynecol.* 2011;204(4):288-300.
- ¹⁶ Lin CC, Su SJ, River LP. Comparison of associated highrisk factors and perinatal outcome between symmetric and asymmetric fetal intrauterine growth retardation. *Am J Obstet Gynecol.* 1991;164:1535-41.
- ¹⁷ Alberry M, Soothill P. Management of fetal growth restriction. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2007;92(1):F62-F67.
- ¹⁸ Harkness UF, Mari G. Diagnosis and management of intrauterine growth restriction. *Clin Perinatol.* 2004;31(4):743-64.
- ¹⁹ Baschat AA, Hecher K. Fetal growth restriction due to placental disease. *Semin Perinatol.* 2004;28(1):67-80.
- ²⁰ Gardosi J. New definition of small for gestational age based on fetal growth potential. *Horm Res.* 2006;65(3):15-8.
- ²¹ Groom KM, Poppe KK, North RA, McCowan LM. Small-for-gestational-age infants classified by customized or population birthweight centiles: impact of gestational age at delivery. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;197(3):239.e1-5.
- ²² Yoshida S, Unno N, Kagawa H, Shinozuka N, Kozuma S, Taketani Y. Prenatal detection of a high-risk group for intrauterine growth restriction based on sonographic fetal biometry. *Int J Gynaecol Obstet.* 2000;68(3):225-32.
- ²³ Baschat AA, Weiner CP. Umbilical artery Doppler screening for detection of the small fetus in need of antepartum surveillance. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;182(1 Pt 1):154-8.
-

-
- ²⁴ Banks EH, Miller DA. Perinatal risks associated with borderline amniotic fluid index. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;180(6 Pt 1):1461-3.
- ²⁵ Chien PF, Arnott N, Gordon A, Owen P, Khan KS. How useful is uterine artery Doppler flow velocimetry in the prediction of pre-eclampsia, intrauterine growth retardation and perinatal death? An overview. *BJOG.* 2000;107(2):196-208.
- ²⁶ Berkley E, Chauhan SP, Abuhamad A. Doppler assessment of the fetus with intrauterine growth restriction. *AJOG.* 2012;206(4):300-8.
- ²⁷ Mari G, Hanif F, Kruger M, Cosmi E, Santolaya-Forgas J, Treadwell MC. Middle cerebral artery peak systolic velocity: a new Doppler parameter in the assessment of growth-restricted fetuses. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2007;29(3):310-6.
- ²⁸ Bilardo CM, Wolf H, Stigter RH, Ville Y, Baez E, Visser GH, et al. Relationship between monitoring parameters and perinatal outcome in severe, early intrauterine growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2004;23(2):119-25.
- ²⁹ Chang CH, Tsai PY, Yu CH, Ko HC, Chang FM. Prenatal detection of fetal growth restriction by fetal femur volume: efficacy assessment using three-dimensional ultrasound. *Ultrasound Med Biol.* 2007;33(3):335-41.
- ³⁰ Gulmezoglu M, de Onis M, Villar J. Effectiveness of interventions to prevent or treat impaired fetal growth. *Obstet Gynecol Surv.* 1997;52(2):139-49.
- ³¹ Newnham JP, Godfrey M, Walters BJ, Phillips J, Evans SF. Low dose aspirin for the treatment of fetal growth restriction: a randomized controlled trial. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 1995;35(4):370-4.
- ³² Say L, Gulmezoglu AM, Hofmeyr GJ. Hormones for suspected impaired fetal growth. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003. CD000109.
- ³³ Say L, Gulmezoglu AM, Hofmeyr GJ. Maternal nutrient supplementation for suspected impaired fetal growth. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003. CD000148.
- ³⁴ Say L, Gulmezoglu AM, Hofmeyr GJ. Maternal oxygen administration for suspected impaired fetal growth. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003. CD000137.
- ³⁵ Militello M, Pappalardo EM, Ermito S, Dinatale A, Cavaliere A, Carrara S. Obstetric management of IUGR. *J Prenat Med.* 2009;3(1):6-9.
-

-
- ³⁶ Alberry M, Soothill P. Management of fetal growth restriction. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2007;92(1):F62-F67.
- ³⁷ Yelikar KA, Prabhu A, Thakre GG. Role of Fetal Doppler and Non-Stress Test in Preeclampsia and Intrauterine Growth Restriction. *J Obstet Gynaecol India.* 2013;63(3):168-72.
- ³⁸ Kramer WB, Weiner CP. Management of intrauterine growth restriction. *Clin Obstet Gynecol.* 1997;40(4):814-23.
- ³⁹ Baschat AA, Harman CR. Antenatal assessment of the growth restricted fetus. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2001;13(2):161-8.
- ⁴⁰ Leitich H, Egarter C, Husslein P, Kaidler A, Schemper M. A meta-analysis of low dose aspirin for the prevention of intrauterine growth retardation. *Br J Obstet Gynaecol.* 1997;104(4):450-9.
- ⁴¹ Harrington K, Kurdi W, Aquilina J, England P, Campbell S. A prospective management study of slow-release aspirin in the palliation of uteroplacental insufficiency predicted by uterine artery Doppler at 20 weeks. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2000;15(1):13-8.
- ⁴² Uzan S, Beaufils M, Breart G, Bazin B, Capitant C, Paris J. Prevention of fetal growth retardation with low-dose aspirin: findings of the EPREDA trial. *Lancet.* 1991;337(8755):1427-31.
- ⁴³ Barker DJ. Adult consequences of fetal growth restriction. *Clin Obstet Gynecol.* 2006;49(2):270-83.
- ⁴⁴ Barker DJ, Osmond C. Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. *Lancet.* 1986;1:1077-81.
- ⁴⁵ Barker DJ, Osmond C, Simmonds SJ, Wield GA. The relation of small head circumference and thinness at birth to death from cardiovascular disease in adult life. *Br Med J.* 1993;306(6875):422-6.
- ⁴⁶ Barker DJ, Winter PD, Osmond C, Margetts B, Simmonds SJ. Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. *Lancet.* 1989;2(8663):577-80.
- ⁴⁷ Barker DJ. The origins of the developmental origins theory. *J Intern Med.* 2007;261(5):412-7.
-

-
- ⁴⁸ Chernausk S. Update: Consequences of abnormal fetal growth. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(3):689-95.
- ⁴⁹ Barker DJ, Eriksson JG, Forsen T, Osmond C. Fetal origins of adult disease: strength of effects and biological basis. *Int J epidemiol.* 2002;31(6):1235-9.
- ⁵⁰ Forsen T, Osmond C, Eriksson JG, Barker DJ. Growth of girls who later develop coronary heart disease. *Heart.* 2004;90(1):20-4.
- ⁵¹ Eriksson JG, Forsen T, Tuomilehto J, Osmond C, Barker DJ. Early adiposity rebound in childhood and risk of Type 2 diabetes in adult life. *Diabetologia.* 2003;46(2):190-4.
- ⁵² Flegal KM, Carroll MD, Ogden CL, Johnson CL. Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999-2000. *JAMA.* 2002;288(14):1723-7.
- ⁵³ Ross MG, Beall MH. Adult sequelae of intrauterine growth restriction. *Semin Perinatol.* 2008;32(3):213-8.
- ⁵⁴ Barker DJ, Osmond C, Golding J, Kuh D, Wadsworth ME. Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease. *BMJ.* 1989;298(6673):564-7.
- ⁵⁵ De Rooij SR, Painter RC, Roseboom TJ, Phillips DI, Osmond C, Barker DJ, et al. Glucose tolerance at age 58 and the decline of glucose tolerance in comparison with age 50 in people prenatally exposed to the Dutch famine. *Diabetologia.* 2006;49(4):637-43.
- ⁵⁶ De Rooij SR, Painter RC, Phillips DI, Osmond C, Michels RP, Godsland IF, et al. Impaired insulin secretion after prenatal exposure to the Dutch famine. *Diabetes care.* 2006;29(8):1897-901.
- ⁵⁷ Painter RC, de Rooij SR, Bossuyt PM, Phillips DI, Osmond C, Barker DJ, et al. Blood pressure response to psychological stressors in adults after prenatal exposure to Dutch famine. *J Hypertens.* 2006;24(9):1771-8.
- ⁵⁸ Stein AD, Zybert PA, van der Pal-de Bruin K, Lumey LH. Exposure to famine during gestation, size at birth, and blood pressure at age 59y: evidence from Dutch famine. *Eur J Epidemiol.* 2006;21(10):759-65.

-
- ⁵⁹ Painter RC, de Rooij SR, Bossuyt PM, Simmers TA, Osmond C, Barker DJ, et al. Early onset of coronary artery disease after prenatal exposure to the Dutch famine. *Am J Clin Nutr.* 2006;84(2):322-7.
- ⁶⁰ Gensser G, Rymark P, Isberg PE. Low birth weight and risk of high blood pressure in adulthood. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1988;296(6635):1498-500.
- ⁶¹ Vickers MH, Breier BH, Cutfield WS, Hofman PL, Gluckman PD. Fetal origins of hyperphagia, obesity, and hypertension and postnatal amplification by hypercaloric nutrition. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2000;279(1):E83-7.
- ⁶² Eckert JE, Gatford KL, Luxford BG, Campbell RG, Owens PC. Leptin expression in offspring is programmed by nutrition in pregnancy. *J Endocrinol.* 2000;165(3):R1-6.
- ⁶³ Anguita RM, Sigulem DM, Sawaya AL. Intrauterine food restriction is associated with obesity in young rats. *J Nutr.* 1993;123(8):1421-8.
- ⁶⁴ Jequier E. Leptin signaling, adiposity, and energy balance. *Ann N Y Acad Sci.* 2002;967:379-88.
- ⁶⁵ Caro JF, Kolaczynski JW, Nyce MR, Ohannesian JP, Opentanova I, Goldman WH, et al. Decreased cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance. *Lancet.* 1996;348(9021):159-61.
- ⁶⁶ Clement K, Vaisse C, Lahlou N, Cabrol S, Pelloux V, Cassuto D, et al. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature.* 1998;392(6674):398-401.
- ⁶⁷ Bjorbaek C, Buchholz RM, Davis SM, Bates SH, Pierroz DD, Gu H, et al. Divergent roles of SHP-2 in ERK activation by leptin receptors. *J Biol Chem.* 2001;276(7):4747-55.
- ⁶⁸ Bjorbaek C, Lavery HJ, Bates SH, Olson RK, Davis SM, Flier JS, et al. SOCS3 mediates feedback inhibition of the leptin receptor via Tyr985. *J Biol Chem.* 2000;275(51):40649-57.
- ⁶⁹ Bouret SG, Draper SJ, Simerly RB. Trophic action of leptin on hypothalamic neurons that regulate feeding. *Science.* 2004;304(5667):108-10.
- ⁷⁰ Spiegelman BM, Choy L, Hotamisligil GS, Graves RA, Tontonoz P. Regulation of adipocyte gene expression in differentiation and syndromes of obesity/diabetes. *J Biol Chem.* 1993;268(10):6823-6.
-

-
- ⁷¹ Spiegelman BM, Flier JS. Adipogenesis and obesity: rounding out the big picture. *Cell*. 1996;87(3):377-89.
- ⁷² Brenner BM, Mackenzie HS. Nephron mass as a risk factor for progression of renal disease. *Kidney Int Suppl*. 1997;63:S124-7.
- ⁷³ Manalich R, Reyes L, Herrera M, Melendi C, Fundora I. Relationship between weight at birth and the number and size of renal glomeruli in humans: a histomorphometric study. *Kidney Int*. 2000;58(2):770-3.
- ⁷⁴ Konje JC, Bell SC, Morton JJ, de Chazal R, Taylor DJ. Human fetal kidney morphometry during gestation and the relationship between weight, kidney morphometry and plasma active renin concentration at birth. *Clin Sci (Lond)*. 1996;91(2):169-75.
- ⁷⁵ Goh KL, Shore AC, Quinn M, Tooke JE. Impaired microvascular vasodilatory function in 3-month-old infants of low birth weight. *Diabetes Care*. 2001;24(6):1102-7.
- ⁷⁶ Martin H, Hu J, Gennser G, Norman M. Impaired endothelial function and increased carotid stiffness in 9-year-old children with low birthweight. *Circulation*. 2000;102(22):2739-44.
- ⁷⁷ Goodfellow J, Bellamy MF, Gorman ST, Brownlee M, Ramsey MW, Lewis MJ, et al. Endothelial function is impaired in fit young adults of low birth weight. *Cardiovasc Res*. 1998;40(3):600-6.
- ⁷⁸ Shadwick RE. Mechanical design in arteries. *J Exp Biol*. 1999;202(23):3305-13.
- ⁷⁹ Khorram O, Momeni M, Desai M, Ross MG. Nutrient restriction in utero induces remodeling of the vascular extracellular matrix in rat offspring. *Reprod Sci*. 2007;14(1):73-80.
- ⁸⁰ Hales CN, Barker DJ, Clark PM, Cox LJ, Fall C, Osmond C. Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64. *BMJ*. 1991;303(6809):1019-22.
- ⁸¹ Lane RH, MacLennan NK, Hsu JL, Janke SM, Pham TD. Increased hepatic peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1 gene expression in a rat model of intrauterine growth retardation and subsequent insulin resistance. *Endocrinology*. 2002;143(7):2486-90.
-

-
- ⁸² Jaquet D, Vidal H, Hankard R, Czernichow P, Levy-Marchal C. Impaired regulation of glucose transporter 4 gene expression in insulin resistance associated with in utero undernutrition. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(7):3266-71.
- ⁸³ Brenner BM, Garcia DL, Anderson S. Glomeruli and blood pressure. Less of one, more the other? *Am J Hypertens.* 1988;1(4 Pt 1):335-47.
- ⁸⁴ Sahajpal V, Ashton N. Increased glomerular angiotensin II binding in rats exposed to a maternal low protein diet in utero. *J Physiol.* 2005;563(1):193-201.
- ⁸⁵ Woods LL, Weeks DA, Rasch R. Programming of adult blood pressure by maternal protein restriction: role of nephrogenesis. *Kidney Int.* 2004;65(4):1339-48.
- ⁸⁶ Hoppe CC, Evans RG, Moritz KM, Cullen-McEwan LA, Fitzgerald SM, Dowling J, et al. Combined prenatal and postnatal protein restriction influences adult kidney structure, function, and arterial pressure. *Am J Physiol Regul Integr Comp, Physiol.* 2007;292(1):R462-9.
- ⁸⁷ Black MJ, Briscoe TA, Constantinou M, Kett MM, Bertram JF. Is there an association between level of adult blood pressure and nephron number or renal filtration surface area? *Kidney Int.* 2004;65(2):582-8.
- ⁸⁸ Black MJ, Wnag Y, Bertram JF. Nephron endowment and renal filtration surface area in young spontaneously hypertensive rats. *Kidney Blood Press Res.* 2002;25(1):20-6.
- ⁸⁹ Hostetter TH. Hyperfiltration and glomerulosclerosis. *Semin Nephrol.* 2003;23(2):194-9.
- ⁹⁰ Plank C, Nusken KD, Menendez-Castro C, Hartner A, Ostreicher I, Amann K, et al. Intrauterine growth restriction following ligation of the uterine arteries leads to more severe glomerulosclerosis after mesangiolipomatous glomerulonephritis in the offspring. *Am J Nephrol.* 2010;32(4):287-95.
- ⁹¹ Vlasara H, Palace MR. Diabetes and advanced glycation endproducts. *J Intern Med.* 2002;251(2):87-101.
- ⁹² Silveiro SP, da Costa LA, Beck MO, Gross JL. Urinary albumin excretion rate and glomerular filtration rate in single-kidney type 2 diabetic patients. *Diabetes Care.* 1998;21(9):1521-4.
-

-
- ⁹³ Lim K, Lombardo P, Schneider-Kolosky M, Hilliard L, Denton KM, Black MJ. Induction of hyperglycaemia in adult intrauterine growth-restricted rats: effects on renal function. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2011;301(2):F288-94.
- ⁹⁴ Jones SE, Bilous RW, Flyvberg A, Marshall SM. Intra-uterine environment influences glomerular number and the acute renal adaptation to experimental diabetes. *Diabetologia*. 2001;44(6):721-8.
- ⁹⁵ Augustyniak RA, Singh K, Zeldes D, Singh M, Rossi NF. Maternal protein restriction leads to hyperresponsiveness to stress and salt-sensitive hypertension in male offspring. *Am J Physiol Regul Comp Physiol*. 2010;298(5):R1375-82.
- ⁹⁶ Keller G, Zimmer G, Mall G, Ritz E, Amann K. Nephron number in patients with primary hypertension. *N Engl J Med*. 2003;348:101-8.
- ⁹⁷ Hinchliffe SA, Sargent PH, Howard CV, Chan YF, van Velzen D. Human intrauterine renal growth expressed in absolute number of glomeruli assessed by the disector method and Cavalieri principle. *Lab Invest*. 1991;64(6):777-84.
- ⁹⁸ Nyengaard JR, Bendtsen TF. Glomerular number and size in relation to age, kidney weight, and body surface in normal man. *Anat Rec*. 1992;232(2):194-201.
- ⁹⁹ Hughson M, Farris AB 3rd, Douglas-Denton R, Hoy WE, Bertram JF. Glomerular number and size in autopsy kidneys: the relationship to birth weight. *Kidney Int*. 2003;63(6):2113-22.
- ¹⁰⁰ Manalich R, Reyes L, Herrera M, Melendi C, Fundora I. Relationship between weight at birth and the number and size of renal glomeruli in humans: a histomorphometric study. *Kidney Int*. 2000;58(2):770-3.
- ¹⁰¹ Hoy WE, Douglas-Denton RN, Hughson MD, Cass A, Johnson K, Bertram JF. A stereological study of glomerular number and volume: preliminary findings in a multiracial study of kidneys at autopsy. *Kidney Int Suppl*. 2003;83:S31-7.
- ¹⁰² Puelles VG, Hoy WE, Hughson MD, Diouf B, Douglas-Denton RN, Bertram JF. Glomerular number and size variability and risk for kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2011;20(1):7-15.
- ¹⁰³ Tsuboi N, Kanzaki G, Koike K, Kawamura T, Ogura M, Yokoo T. Clinicopathological assessment of the nephron number. *Clin Kidney J*. 2014;7(2):107-14.
-

-
- ¹⁰⁴ Hinchliffe SA, Lynch MR, Sargent PH, Howard CV, Van Velzen D. The effect of intrauterine growth retardation on the development of renal nephrons. *Br J Obstet Gynaecol.* 1992;99(4):296-301.
- ¹⁰⁵ Holland P. Placental insufficiency and its effect on the fetus and adult disease. *Lancet.* 1993;341(8848):827.
- ¹⁰⁶ Lucas SR, Costa Silva VL, Miraglia SM, Zaladek Gil F. Functional and morphometric evaluation of offspring kidney after intrauterine undernutrition. *Pediatr Nephrol.* 1997;11(6):719-23.
- ¹⁰⁷ Langley-Evans SC, Welham SJ, Jackson AA. Fetal Exposure to a maternal low protein diet impairs nephrogenesis and promotes hypertension in the rat. *Life Sci.* 1999;64(11):965-74.
- ¹⁰⁸ Moritz KM, Mazzuca MQ, Siebel AL, Mibus A, Arena D, Tare M, et al. Uteroplacental insufficiency causes a nephron deficit, modest renal insufficiency but no hypertension with ageing in female rats. *J Physiol.* 2009;587(11):2635-46.
- ¹⁰⁹ Mitchell EK, Louey S, Cock ML, Harding R, Black MJ. Nephron endowment and filtration surface area in the kidney after growth restriction of fetal sheep. *Pediatr Res.* 2004;55(5):769-73.
- ¹¹⁰ Zohdi V, Moritz KM, Bubb KJ, Cock ML, Harding R, Black MJ. Nephrogenesis and the renal renin-angiotensin system in fetal sheep: effects of intrauterine growth restriction during late gestation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2007;293(3):R1267-73.
- ¹¹¹ Rodriguez MM, Gomez AH, Abitbol CL, Chander JJ, Duara S, Zilleruelo GE. Histomorphometric analysis of postnatal glomerulogenesis in extremely preterm infants. *Pediatr Dev Pathol.* 2004;7(1):17-25.
- ¹¹² Stelloh C, Allen KP, Mattson DL, Lerch-Gaggl A, Reddy S, El-Meanawy A. Prematurity in mice leads to reduction in nephron number, hypertension, and proteinuria. *Transl Res.* 2012;159(2):80-9.
- ¹¹³ Gubhaju L, Sutherland MR, Yoder BA, Zulli A, Bertram JF, Black MJ. Is nephrogenesis affected by preterm birth? Studies in a non-human primate model. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2009;297(6):1668-77.
-

-
- ¹¹⁴ Sutherland MR, Gubhaju L, Moore L, Kent AL, Dahlstrom JE, Horne RS, et al. Accelerated maturation and abnormal morphology in the preterm neonatal kidney. *J Am Soc Nephrol*. 2011;22(7):1365-74.
- ¹¹⁵ Gibson IW, Downie TT, More IA, Lindop GB. Atubular glomeruli and glomerular cysts— a possible pathway for nephron loss in the human kidney? *J Pathol*. 1996;179(4):421-6.
- ¹¹⁶ Clark RH, Thomas P, Peabody J. Extrauterine growth restriction remains a serious problem in prematurely born neonates. *Pediatrics*. 2003;111(5 Pt 1):986-90.
- ¹¹⁷ Hoy WE, Hughson MD, Zimanyi M, Samuel T, Douglas-Denton R, Holden L, et al. Distribution of volumes of individual glomeruli in kidneys at autopsy: association with age, nephron number, birth weight and body mass index. *Clin Nephrol*. 2010;74(1):S105-12.
- ¹¹⁸ D'Agati VD, Fogo AB, Brujin JA, Jennette JC. Pathologic classification of focal segmental glomerulosclerosis: a working proposal. *Am J Kidney Dis*. 2004;43(2):368-82.
- ¹¹⁹ Rudolph AM. The changes in the circulation after birth. Their importance in congenital heart disease. *Circulation*. 1970;41(2):343-59.
- ¹²⁰ Zohdi V, Sutherland MR, Lim K, Gubhaju L, Zimanyi MA, Black J. Low birth weight due to intrauterine growth restriction and/or preterm birth: effects on nephron number and long term renal health. *Int J Nephrol*. 2012;2012:136942.
- ¹²¹ Ratliff B, Rodebaugh J, Sekulic M, Solhaug M. Glomerular eNOS gene expression during postnatal maturation and AT1 receptor inhibition. *Pediatr Nephrol*. 2007;22(8):1135-42
- ¹²² Huxley RR, Shiell AW, Law CM. The role of size at birth and postnatal catch-up growth in determining systolic blood pressure: a systematic review of the literature. *J Hypertens*. 2000;18(7):815-31.
- ¹²³ Cook NR, Cohen J, Hebert PR, Taylor JO, Hennekens CH. Implications of small reductions in diastolic blood pressure for primary prevention. *Arch Intern Med*. 1995;155(7):701-9.
- ¹²⁴ White SL, Perkovic V, Cass A, Chang CL, Poulter NR, Spector T, et al. Is low birth weight an antecedent of CKD in later life? A systematic review of observational studies. *Am J Kidney Dis*. 2009;54(2):248-61.
-

-
- ¹²⁵ Siewert-Delle A, Ljungman S. The impact of birth weight and gestational age on blood pressure in adult life: a population-based study of 49-year-old men. *Am J Hypertens.* 1998;11(8 Pt 1):946-53.
- ¹²⁶ Bonamy AK, Martin H, Jorreskog G, Norman M. Lower skin capillary density, normal endothelial function and higher pressure in children born preterm. *J Intern Med.* 2007;262(6):635-42.
- ¹²⁷ Cooper R, Atherton K, Power C. Gestational age an risk for cardiovascular disease: evidence from the 1958 British birth cohort followed to mid-life. *Int J Epidemiol.* 2009;38(1):235-44.
- ¹²⁸ Keizer-Veen MG, Schrevel M, Finken MJJ, Dekker FW, Nauta J, Hille ETM, et al. Microalbuminuria and lower glomerular filtration rate at young adult age in subjects born very premature and after intrauterine growth retardation. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16:2762-8.
- ¹²⁹ Kwinta P, Klimek M, Drozd D, Grudzien A, Jagla M, Zasada M, et al. Assessment of long term renal complications in extremely low birth weight children. *Pediatr Nephrol.* 2011;26(7):1095-105.
- ¹³⁰ Zaffanello M, Brugnara M, Bruno C, Franchi B, Talamini G, Guidi L, et al. Renal function and volume of infants born with a low birth weight:a preliminary cross-sectional study. *Acta Peadiatr.* 2010;99(8):1192-8.
- ¹³¹ Bacchetta J, Harambat J, Dubourg L, Guy B, Liutkus A, Canterino I, et al. Both extrauterine and intrauterine growth restriction impair renal function in children born very preterm. *Kidney Int.* 2009;76(4):445-52.
- ¹³² Haugaard CT, Bauer MK. Rodent models of intrauterine growth restriction. *Scand J Lab Anim Sci.* 2001;28:10-22.
- ¹³³ Fried W. Erythropoietin. *Annu Rev Nutr.* 1995;15:353-77.
- ¹³⁴ Fisher JW. Erythropoietin: physiology and pharmacology update. *Exp Biol Med (Maywood).* 2003;228(1):1-14.
- ¹³⁵ Jacobs K, Shoemaker C, Rudersdorf R, Neill SD, Kaufman RJ, Mufson A, et al. Isolation and characterization of genomic and cDNA clones of human erythropoietin. *Nature.* 1985;313(6005):806-10.
-

-
- ¹³⁶ Lacombe C, Mayeux P. Biology of erythropoietin. *Haematologica*. 1998;83(8):724-32.
- ¹³⁷ Lin FK, Suggs S, Lin CH, Browne JK, Smalling R, Egrie JC, et al. Cloning and expression of the human erythropoietin gene. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1985;82(22):7580-4.
- ¹³⁸ Zenjani ED, Ascensao JL, McGlave PB, Banisadre M, Ash RC. Studies on the liver to kidney switch of erythropoietin production. *J Clin Invest*. 1981;67(4):1183-8.
- ¹³⁹ Wintour EM, Butkus A, Earnest L, Pompolo S. The erythropoietin gene is expressed strongly in the mammalian mesonephric kidney. *Blood*. 1996;88(9):3349-53.
- ¹⁴⁰ Jacobson LO, Goldwasser E, Fried W, Plzak L. Role of the kidney in erythropoiesis. *Nature*. 1957;179(4560):633-4.
- ¹⁴¹ Beru N, McDonald J, Lacombe C, Goldwasser E. Expression of the erythropoietin gene. *Mol Cell Biol*. 1986;6(7):2571-5.
- ¹⁴² Bondurant MC, Koury MJ. Anaemia induces accumulation of erythropoietin mRNA in the kidney and liver. *Mol Cell Biol*. 1986;6(7):2731-3.
- ¹⁴³ Koury ST, Bondurant MC, Koury MJ. Localisation of erythropoietin synthesizing cells in murine kidneys by in situ hybridization. *Blood*. 1988;71(2):524-7.
- ¹⁴⁴ Eckardt KU, Mollmann M, Neumann R, Brunkhorst R, Burger HU, Lonnemann G, et al. Erythropoietin in polycystic kidneys. *J Clin Invest*. 1989;84(4):1160-6.
- ¹⁴⁵ Koury ST, Bondurant MC, Koury MJ, Semenza GL. Localization of cells producing erythropoietin in murine liver in situ hybridization. *Blood*. 1991;77(11):2497-503.
- ¹⁴⁶ Maxwell PH, Ferguson DJ, Osmond MK, Pugh CW, Heryet A, Doe BG, et al. *Blood*. 1994;84(6):1823-30.
- ¹⁴⁷ Fandrey J, Bunn HF. In vivo and in vitro regulation of erythropoietin mRNA: measurement by competitive polymerase chain reaction. *Blood*. 1993;81(3):617-23.
- ¹⁴⁸ Tan CC, Eckardt KU. Organ distribution of erythropoietin messenger RNA in normal and uremic rats. *Kidney Int*. 1991;40(1):69-76.
- ¹⁴⁹ Masuda S, Okano M, Yamagishi K, Nagao M, Ueda M, Sasaki R. A novel site of erythropoietin production. Oxygen-dependent production in cultured rat astrocytes. *J Biol Chem*. 1994;269(30):19488-93.
-

-
- ¹⁵⁰ Digicaylioglu M, Bichet S, Marti HH, Wenger RH, Rivas LA, Bauer C, et al. Localization of specific erythropoietin binding sites in defined areas of the mouse brain. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1995; 92(9):3717-20.
- ¹⁵¹ Masuda S, Nagao M, Takahata K, Konishi Y, Gallyas F Jr, Tabira T, et al. Functional erythropoietin receptor of the cells with neural characteristics. Comparison with receptor properties of erythroid cells. *J Biol Chem*. 1993;268(15):11208-16.
- ¹⁵² Morishita E, Masuda S, Nagao M, Yaasada Y, Sasaki R. Erythropoietin receptor is expressed in rat hippocampal and cerebral cortical neurons, and erythropoietin prevents in vitro glutamate-induced neuronal death. *Neuroscience*. 1997;76(1):105-16.
- ¹⁵³ D'Andrea AD, Zon LI. Erythropoietin receptor. Subunit structure and activation. *J Clin Invest*. 1990;86(3):681-7.
- ¹⁵⁴ Lacombe C, Mayeux P. The molecular biology of erythropoietin. *Nephrol Dial Transplant*. 1999;14(2):22-8.
- ¹⁵⁵ Mujais SK, Beru N, Pullman TN, Goldwasser E. Erythropoietin is produced by tubular cells of the rat kidney. *Cell Biochem Biophys*. 1999;30(1):153-66.
- ¹⁵⁶ Fisher JW. Erythropoietin: physiology and pharmacology update. *Exp Biol Med* (Maywood). 2003;228(1):1-14.
- ¹⁵⁷ Witthuhn BA, Quelle FW, Silvennoinen O, Yi T, Tang B, Miura O, et al. JAK2 associates with the erythropoietin receptor and is tyrosine phosphorylated and activated following stimulation with erythropoietin. *Cell*. 1993;74(2):227-36.
- ¹⁵⁸ Ihle JN. Cytokine receptor signalling. *Nature*. 1995;377(6550):591-4.
- ¹⁵⁹ Damen J, Mui ALF, Hughes P, Humphries K, Krystal G. Erythropoietin-induced tyrosine phosphorylations in a high erythropoietin receptor-expressing lymphoid cell line. *Blood*. 1992;80(8):1923-32.
- ¹⁶⁰ Yoshimura A, Lodish HF. In vitro phosphorylation of the erythropoietin receptor and an associated protein, pp130. *Mol Cell Biol*. 1992;12(2):706-15.
- ¹⁶¹ Gobert S, Duprez V, Lacombe C, Gisselbrecht S, Mayeux P. The signal transduction pathway of erythropoietin involves three forms of mitogen-activated protein (MAP)kinase in UT7 erythroleukemia cells. *Eur J Biochem*. 1995;234(1):75-83.
-

-
- ¹⁶² Miura Y, Miura O, Ihle JN, Aoki N. Activation of the mitogen-activated protein kinase pathway by the erythropoietin receptor. *J Biol Chem*. 1994;269(47):29962-9.
- ¹⁶³ Cantley LC. The phosphoinositide 3-kinase pathway. *Science*. 2002;296(5573):1655-7.
- ¹⁶⁴ Klingmuller U, Lorenz U, Cantley LC, Neel BG, Lodish HF. Specific recruitment of SH-PTP1 to the erythropoietin receptor causes inactivation of JAK2 and termination of proliferative signals. *Cell*. 1995;80(5):729-38.
- ¹⁶⁵ Schuster SJ, Badiavas EV, Costa-Giomi P, Weinmann R, Erslev AJ, Caro J. Stimulation of erythropoietin gene transcription during hypoxia and cobalt exposure. *Blood*. 1989;73(1):13-6.
- ¹⁶⁶ Rosenberg C, Rosen C, Shina A, Frei U, Eckardt KU, Flippin LA, et al. Activation of hypoxia-inducible factors ameliorates hypoxic distal tubular injury in the isolated perfused kidney. *Nephrol Dial Transplant*. 2008;23(11):3472-8.
- ¹⁶⁷ Warnecke C, Zaborowska Z, Kurreck J, Ermann VA, Frei U, Wiesener M, et al. Differentiating the functional role of hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α and HIF-2 α (EPAS-1) by the use of RNA interference: erythropoietin is a HIF-2 α target gene in Hep3B and Kelly cells. *FASEB J*. 2004;18(12):1462-4.
- ¹⁶⁸ Haase VH. Hypoxia-inducible factors in the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2006;291(2):F271-81.
- ¹⁶⁹ Scortegagna M, Ding K, Zhang Q, Oktay Y, Bennett MJ, Bennett M, et al. HIF-2 α regulates murine hematopoietic development in an erythropoietin-dependent manner. *Blood*. 2005;105(8):3133-40.
- ¹⁷⁰ Arany Z, Huang LE, Eckner R, Bhattacharya S, Jiang C, Goldberg MA, et al. An essential role for p300/CBP in the cellular response to hypoxia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996;93(23):12969-73.
- ¹⁷¹ Wang GL, Jiang BH, Rue EA, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1995;92(12):5510-4.
- ¹⁷² Hoffman EC, Reyes H, Chu FF, Sander F, Conley LH, Brooks BA, et al. Cloning of a factor required for activity of the Ah (dioxin) receptor. *Science*. 1991;252(5008):954-8.
-

-
- ¹⁷³ Kallio PJ, Pongratz I, Gradin K, McGuire J, Poellinger L. Activation of hypoxia-inducible factor 1alpha: posttranscriptional regulation and conformational change by recruitment of the Arnt transcription factor. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997;94(11):5667-72.
- ¹⁷⁴ Salceda S, Caro J. Hypoxia-inducible factor 1alpha (HIF-1alpha) protein is rapidly degraded by the ubiquitin-proteasome system under normoxic conditions. Its stabilization by hypoxia depends on redox-induced changes. *J Biol Chem*. 1997;272(36):22642-7.
- ¹⁷⁵ Wang GL, Semenza GL. General involvement of hypoxia-inducible factor 1 in transcriptional response to hypoxia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993;90(9):4304-8.
- ¹⁷⁶ Wenger RH, Gassmann M. Oxygen(es) and the hypoxia-inducible factor-1. *Biol Chem*. 1997;378(7):609-16.
- ¹⁷⁷ Bunn HF, Poyton RO. Oxygen sensing and molecular adaptation to hypoxia. *Physiol Rev*. 1996;76(3):839-85.
- ¹⁷⁸ Goldberg MA, Dunning SP, Bunn HF. Regulation of the erythropoietin gene: evidence that the oxygen sensor is a heme protein. *Science*. 1988;242(4884):1412-5.
- ¹⁷⁹ Kieran MW, Perkins AC, Orkin SH, Zon LI. Thrombopoietin rescues in vitro erythroid colony formation from mouse embryos lacking the erythropoietin receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996;93(17):9126-31.
- ¹⁸⁰ Lin CS, Lim SK, D'Agati V, Costantini F. Differential effects of an erythropoietin receptor gene disruption on primitive and definitive erythropoiesis. *Genes Dev*. 1996;10(2):154-64.
- ¹⁸¹ Wu H, Liu X, Jaenisch R, Lodish HF. Generation of committed erythroid BFU-E and CFU-E progenitors does not require erythropoietin or the erythropoietin receptor. *Cell*. 1995;83(1):59-67.
- ¹⁸² Koury MJ, Bondurant MC. Erythropoietin retards DNA breakdown and prevents programmed death in erythroid progenitor cells. *Science*. 1990;248(4953):378-81.
- ¹⁸³ Means RT Jr, Krantz SB. Progress in understanding the pathogenesis of the anaemia of chronic disease. *Blood*. 1992;80(7):1639-47.

-
- ¹⁸⁴ Taniguchi S, Dai CH, Price JO, Krantz SB. Interferon gamma downregulates stem cell factor and erythropoietin receptors but not insulin-like growth factor-I receptors in human erythroid colony-forming cells. *Blood*. 1997;90(6):2244-52.
- ¹⁸⁵ Dai CH, Price JO, Brunner T, Krantz SB. Fas ligand is present in human erythroid colony-forming cells and interacts with Fas induced by interferon gamma to produce erythroid cell apoptosis. *Blood*. 1998;91(4):1235-42.
- ¹⁸⁶ Brodsky SV, Yamamoto T, Tada T, Kim B, Chen J, Kajiya F, et al. Endothelial dysfunction in ischemic acute renal failure: rescue by transplanted endothelial cells. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2002;282(6):F1140-9.
- ¹⁸⁷ Beleslin-Cokic BB, Cokic VP, Yu X, Weksler BB, Schechter AN, Noguchi CT. Erythropoietin and hypoxia stimulate erythropoietin receptor and nitric oxide production by endothelial cells. *Blood*. 2004;104(7):2073-80.
- ¹⁸⁸ Brines M, Cerami A. Discovering erythropoietin's extra-hematopoietic functions: biology and clinical promise. *Kidney Int*. 2006;70(2):246-50.
- ¹⁸⁹ Bogoyevitch MA. An update on the cardiac effects of erythropoietin cardioprotection by erythropoietin and the lessons learnt from studies in neuroprotection. *Cardiovasc Res*. 2004;63(2):208-16.
- ¹⁹⁰ Lipsic E, Schoemaker RG, van der Meer P, Voors AA, van Veldhuisen DJ, van Gilst WH. Protective effects of erythropoietin in cardiac ischemia: from bench to bedside. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48(11):2161-7.
- ¹⁹¹ Marti HH. Erythropoietin and the hypoxic brain. *J Exp Biol*. 2004;207(18):3233-42.
- ¹⁹² Garcia-Ramirez M, Hernandez C, Simo R. Expression of erythropoietin and its receptor in the human retina: a comparative study of diabetic and nondiabetic subjects. *Diabetes Care*. 2008;31(6):1189-94.
- ¹⁹³ Kumral A, Baskin H, Duman N, Yilmaz O, Tatli M, Ozer E, et al. Erythropoietin protects against necrotizing enterocolitis of newborn rats by the inhibiting nitric oxide formation. *Biol Neonate*. 2003;84(4):325-9.
- ¹⁹⁴ Egrie JC, Browne JK. Development and characterization of novel erythropoiesis stimulating protein (NESP). *Br J Cancer*. 2001;84(1):3-10.
-

-
- ¹⁹⁵ Smith KJ, Bleyer AJ, Little WC, Sane DC. The cardiovascular effects of erythropoietin. *Cardiovasc Res.* 2003;59:538-48.
- ¹⁹⁶ Macdougall IC, Walker R, Provenzano R, de Alvaro F, Locay HR, Nader PC, et al. C.E.R.A. Corrects Anemia in Patients with Chronic Kidney Disease not on Dialysis: Results of a Randomized Clinical Trial. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008;3(2):337-47.
- ¹⁹⁷ Smith KJ, Bleyer AJ, Little WC, Sane DC. The cardiovascular effects of erythropoietin. *Cardiovasc Res.* 2003;59(3):538-48.
- ¹⁹⁸ Brenner BM, Garcia DL, Anderson S. Glomeruli and blood pressure. Less of one, more the other? *Am J Hypertens.* 1988;1(4 Pt 1):335-47.
- ¹⁹⁹ Vehaskari VM, Aviles DH, Manning J. Prenatal programming of adult hypertension in the rat. *Kidney Int.* 2001;59(1):238-45.
- ²⁰⁰ Hoy WE, Hughson MD, Bertram JF, Douglas-Denton R, Amann K. Nephron number, hypertension, renal disease, and renal failure. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16:2557-64.
- ²⁰¹ Barker DJ, Bagby SP, Hanson MA. Mechanisms of disease: in utero programming in the pathogenesis of hypertension. *Nat Clin Pract Nephrol.* 2006;2(12):700-7.
- ²⁰² Eriksson JG, Forsén T, Tuomilehto J, Jaddoe VW, Osmond C, Barker DJ. Effects of size at birth and childhood growth on the insulin resistance syndrome in elderly individuals. *Diabetologia.* 2002;45(3):342-8.
- ²⁰³ Eriksson JG, Forsén T, Tuomilehto J, Osmond C, Barker DJ. Early growth and coronary heart disease in later life: longitudinal study. *BMJ.* 2001;322(7292):949-53.
- ²⁰⁴ Forsén T, Eriksson J, Tuomilehto J, Reunanen A, Osmond C, Barker D. The fetal and childhood growth of persons who develop type 2 diabetes. *Ann Intern Med.* 2000;133(3):176-82.
- ²⁰⁵ Bagby SP. Developmental origins of renal disease: should nephron protection begin at birth? *Clin J Am Soc Nephrol.* 2009;4(1):10-3.
- ²⁰⁶ Hinchliffe SA, Lynch MR, Sargent PH, Howard CV, Van Velzen D. The effect of intrauterine growth retardation on the development of renal nephrons. *Br J Obstet Gynaecol.* 1992;99(4):296-301.
-

-
- ²⁰⁷ Gubhaju L, Black MJ. The baboon as a good model for studies of human kidney development. *Pediatr Res*. 2005;58(3):505-9.
- ²⁰⁸ Rodríguez MM, Gómez AH, Abitbol CL, Chandar JJ, Duara S, Zilleruelo GE. Histomorphometric analysis of postnatal glomerulogenesis in extremely preterm infants. *Pediatr Dev Pathol*. 2004;7(1):17-25.
- ²⁰⁹ Gubhaju L, Sutherland MR, Yoder BA, Zulli A, Bertram JF, Black MJ. Is nephrogenesis affected by preterm birth? Studies in a non-human primate model. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2009;297(6):F1668-77.
- ²¹⁰ Villar-Martini VC, Carvalho JJ, Neves MF, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. Hypertension and kidney alterations in rat offspring from low protein pregnancies. *J Hypertens Suppl*. 2009;27(6):S47-51.
- ²¹¹ Moritz KM, Dodic M, Wintour EM. Kidney development and the fetal programming of adult disease. *Bioessays*. 2003;25(3):212-20.
- ²¹² Valero De Bernabé J, Soriano T, Albaladejo R, Juarranz M, Calle ME, Martínez D, et al. Risk factors for low birth weight: a review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2004;116(1):3-15.
- ²¹³ Collins JW, Rankin KM, David RJ. Low birth weight across generations: The effect of economic environment. *Matern Child Health J*. 2011;15(4):438-45.
- ²¹⁴ Konje JC, Okaro CI, Bell SC, de Chazal R, Taylor DJ. A cross-sectional study of changes in fetal renal size with gestation in appropriate- and small-for-gestational-age fetuses. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1997;10(1):22-6.
- ²¹⁵ Brenner BM, Chertow GM. Congenital oligonephropathy and the etiology of adult hypertension and progressive renal injury. *Am J Kidney Dis*. 1994;23(2):171-5.
- ²¹⁶ Hoy WE, Rees M, Kile E, Mathews JD, Wang Z. A new dimension to the Barker hypothesis: low birthweight and susceptibility to renal disease. *Kidney Int*. 1999;56(3):1072-7.
- ²¹⁷ Rodríguez MM, Gómez AH, Abitbol CL, Chandar JJ, Duara S, Zilleruelo GE. Histomorphometric analysis of postnatal glomerulogenesis in extremely preterm infants. *Pediatr Dev Pathol*. 2004;7(1):17-25.
-

-
- ²¹⁸ Hughson M, Farris AB 3rd, Douglas-Denton R, Hoy WE, Bertram JF. Glomerular number and size in autopsy kidneys: the relationship to birth weight. *Kidney Int.* 2003;63(6):2113-22.
- ²¹⁹ Nelson RG, Morgenstern H, Bennett PH. Birth weight and renal disease in Pima Indians with type 2 diabetes mellitus. *Am J Epidemiol.* 1998;148(7):650-6.
- ²²⁰ Amri K, Freund N, Vilar J, Merlet-Bénichou C, Lelièvre-Pégorier M. Adverse effects of hyperglycemia on kidney development in rats: in vivo and in vitro studies. *Diabetes.* 1999;48(11):2240-5.
- ²²¹ Hoy WE, Bertram JF, Denton RD, Zimanyi M, Samuel T, Hughson MD. Nephron number, glomerular volume, renal disease and hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2008;17(3):258-65.
- ²²² Gilbert JS, Lang AL, Grant AR, Nijland MJ. Maternal nutrient restriction in sheep: hypertension and decreased nephron number in offspring at 9 months of age. *J Physiol.* 2005;565(Pt 1):137-47.
- ²²³ Jones SE, Nyengaard JR, Flyvbjerg A, Bilous RW, Marshall SM. Birth weight has no influence on glomerular number and volume. *Pediatr Nephrol.* 2001;16(4):340-5.
- ²²⁴ Hoy WE, Douglas-Denton RN, Hughson MD, Cass A, Johnson K, Bertram JF. A stereological study of glomerular number and volume: preliminary findings in a multiracial study of kidneys at autopsy. *Kidney Int Suppl.* 2003;(83):S31-7.
- ²²⁵ Keller G, Zimmer G, Mall G, Ritz E, Amann K. Nephron number in patients with primary hypertension. *N Engl J Med.* 2003;348(2):101-8.
- ²²⁶ McNamara BJ, Diouf B, Douglas-Denton RN, Hughson MD, Hoy WE, Bertram JF. A comparison of nephron number, glomerular volume and kidney weight in Senegalese Africans and African Americans. *Nephrol Dial Transplant.* 2010;25(5):1514-20.
- ²²⁷ Zhang Z, Quinlan J, Hoy W, Hughson MD, Lemire M, Hudson T, et al. A common RET variant is associated with reduced newborn kidney size and function. *J Am Soc Nephrol.* 2008;19(10):2027-34.
- ²²⁸ Spencer J, Wang Z, Hoy W. Low birth weight and reduced renal volume in Aboriginal children. *Am J Kidney Dis.* 2001;37(5):915-20.
-

-
- ²²⁹ Rakow A, Johansson S, Legnevall L, Sevastik R, Celsi G, Norman M, et al. Renal volume and function in school-age children born preterm or small for gestational age. *Pediatr Nephrol.* 2008;23:1309-15.
- ²³⁰ Keijzer-Veen MG, Devos AS, Meradji M, Dekker FW, Nauta J, van der Heijden BJ. Reduced renal length and volume 20 years after very preterm birth. *Pediatr Nephrol.* 2010;25(3):499-507.
- ²³¹ Abdel-Hakeem AK, Henry TQ, Magee TR, Desai M, Ross M, Manson R, et al. Mechanisms of impaired nephrogenesis with fetal growth restriction: altered renal transcription and growth factor expression. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;199(3):252.
- ²³² Cetin I, Foidart JM, Miozzo M, Raun T, Jansson T, Tsatsaris V, et al. Fetal growth restriction:a workshop report. *Placenta.* 2004;25(8-9):753-7.
- ²³³ Kind KL, Clifton PM, Katsman AI, Tsiounis M, Robinson JS, Owens JA. Restricted fetal growth and the response to dietary cholesterol in the guinea pig. *Am J Physiol.* 1999;277(6 Pt 2):R1675-82.
- ²³⁴ Lafeber HN, Rolph TP, Jonas CT. Studies on the growth of the fetal guinea pig.The effects of ligation of the uterine artery on organ growth and development. *J Dev Physiol.* 1984;6(6):441-59.
- ²³⁵ Rosati P, Exacoustos C, Puggioni GF, Mancuso S. Growth retardation in pregnancy: experimental model in the rabbit employing electrically induced thermal placental injury. *Int J Exp Pathol.* 1995;76(3):179-81.
- ²³⁶ Tapanainen PJ, Bang P, Wilson K, Unterman TG, Vreman HJ, Rosenfeld RG. Maternal Hypoxia as a model for intrauterine growth retardation: effects on insulin-like growth factors and their binding proteins. *Peiatr Res.* 1994;36(2):152-8.
- ²³⁷ Langley-Evans SC. Maternal carbenoxolone treatment lowers birthweight and induces hypertension in the offspring of rats fed a protein-replete diet. *Clin Sci (Lond).* 1997;93(5):423-9.
- ²³⁸ Hohmann M, Kunzel W. Dihydroergotamine causes fetal growth retardation in guinea pigs. *Arch Gynecol Obstet.* 1992;251(4):187-92.
-

-
- ²³⁹ Price WA, Stiles AD, Moats-Staas BM, D'Ercole AJ. Gene expression of insulin-like growth factors (IGFs), the type 1 IGF receptor, and IGF-binding proteins in dexamethasone-induced fetal growth retardation. *Endocrinology*. 1992;130(3):1424-32.
- ²⁴⁰ Singhal A, Cole TJ, Fewtrell M, Deanfield J, Lucas A. Is slower early growth beneficial for long-term cardiovascular health? *Circulation*. 2004;109(9):1108-13.
- ²⁴¹ Hales CN, Barker DJ. The thrifty phenotype hypothesis. *Br Med Bull*. 2001;60:5-20.
- ²⁴² Luyckx VA, Compston CA, Simmen T, Mueller TF. Accelerated senescence in kidneys of low-birth-weight rats after catch-up growth. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2009;297(6):F1697-705.
- ²⁴³ Hales CN, Ozanne SE. The dangerous road of catch-up growth. *J Physiol*. 2003;547(Pt 1):5-10.
- ²⁴⁴ Ong KK, Ahmed ML, Emmett PM, Preece MA, Dunger DB. Association between postnatal catch-up growth and obesity in childhood: prospective cohort study. *BMJ*. 2000;320(7240):967-71.
- ²⁴⁵ Edlestone DI, Rudolph AM. Preferential streaming of ductus venosus blood to the brain and heart in fetal lambs. *Am J Physiol*. 1979;237(6):H724-9.
- ²⁴⁶ Harding R, Cock ML, Louey S, Joyce BJ, Davey MG, Albuquerque CA, et al. The compromised intra-uterine environment: implications for future lung health. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2000;27(12):965-74.
- ²⁴⁷ Murotsuki J, Bocking AD, Gagnon R. Fetal heart rate patterns in growth-restricted fetal sheep induced by chronic fetal placental embolization. *Am J Obstet Gynecol*. 1997;176(2):282-90.
- ²⁴⁸ Bauer R, Walter B, Brust P, Fuchtner F, Zwiener U. Impact of asymmetric intrauterine growth restriction on organ function in newborn piglets. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2003;110(1):S40-9.
- ²⁴⁹ Robel-Tillig E, Knupfer M, Pulzer F, Vogtmann C. Blood flow parameters of the superior mesenteric artery as an early predictor of intestinal dysmotility in preterm infants. *Pediatr Radiol*. 2004;34(12):958-62.
-

-
- ²⁵⁰ Lane RH, Chandorkar AK, Flozak AS, Simmons RA. Intrauterine growth retardation alters mitochondrial gene expression and function in fetal and juvenile rat skeletal muscle. *Pediatr Res.* 1998;43(5):563-70.
- ²⁵¹ Hodgins JB, Rasouli M, Markowitz GS, D'Agati VD. Very low birth weight is a risk factor for secondary focal segmental glomerulosclerosis. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2009;4(1):71-6.
- ²⁵² Nicolaides KH, Campbell S, Bradley RJ, Bilardo CM, Soothill PW, Gibb D. Maternal oxygen therapy for intrauterine growth retardation. *Lancet.* 1987;1(8539):942-5.
- ²⁵³ Nicolini U, Hubinont C, Santolaya J, Fisk NM, Rodeck CH. Effects of fetal intravenous glucose challenge in normal and growth retarded fetuses. *Horm Metab Res.* 1990;22(8):426-30.
- ²⁵⁴ Weiler J, Tong S, Palmer KR. Is Fetal Growth Restriction Associated with a More Severe Maternal Phenotype in the Setting of Early Onset Pre-Eclampsia? A Retrospective Study. *PLoS ONE.* 2011;6(10):e26937.
- ²⁵⁵ Tsatsaris V, Goffin F, Munaut C, Brichant JF, Pignon MR, Noel A. Overexpression of the soluble vascular endothelial growth factor receptor in preeclamptic patients: pathophysiological consequences. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(11):5555-63.
- ²⁵⁶ Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S, et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest.* 2003;111(5):649-58.
- ²⁵⁷ Wlodek ME, Mibus A, Tan A, Siebel AL, Owens JA, Moritz KM. Normal lactational environment restores nephron endowment and prevents hypertension after placental restriction in the rat. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18:1688-96.
- ²⁵⁸ Langley-Evans SC, Langley-Evans AJ, Marchand MC. Nutritional programming of blood pressure and renal morphology. *Arch Physiol Biochem.* 2003;111(1):8-16.
- ²⁵⁹ Boubred F, Buffat C, Feuerstein JM, Daniel L, Tsimaratos M, Oliver C, et al. Effects of early postnatal hypernutrition on nephron number and long-term renal function and structure in rats. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2007;293(6):F1944-9.

-
- ²⁶⁰ Makrakis J, Zimanyi MA, Black MJ. Retinoic acid enhances nephron endowment in rats exposed to maternal protein restriction. *Pediatr Nephrol.* 2007;22(11):1861-7.
- ²⁶¹ Li J, Khodus GR, Kruusmägi M, Kamali-Zare P, Liu XL, Eklöf AC, et al. Ouabain protects against adverse developmental programming of the kidney. *Nat Commun.* 2010;1:42.
- ²⁶² Moore E, Bellomo R. Erythropoietin (EPO) in acute kidney injury. *Ann Intensive Care.* 2011;1:3.
- ²⁶³ Yang CW, Li C, Jung JY, Shin SJ, Choi BS, Lim SW. Preconditioning with erythropoietin protects against subsequent ischemia-reperfusion injury in rat kidney. *FASEB J.* 2003;17(12):1754-5.
- ²⁶⁴ Spandou E, Tsouchnikas I, Karkavelas G, Dounousi E, Simenidou C, Guiba-Tziampiri O, et al. Erythropoietin attenuates renal injury in experimental acute renal failure ischaemic/reperfusion model. *Nephrol Dial Transplant.* 2006;21(2):330-6.
- ²⁶⁵ Forman CJ, Johnson DW, Nicol DL. Erythropoietin administration protects against functional impairment and cell death after ischemic renal injury in pigs. *BJU Int.* 2007;99(1):162-5.
- ²⁶⁶ Fishbane S, Ragolia L, Palaia T, Johnson B, Elzein H, Maesaka JK. Cytoprotection by darbepoetin/epoetin alfa in pig tubular and mouse mesangial cells. *Kidney Int.* 2004;65(2):452-8.
- ²⁶⁷ Stojanović V, Vučković N, Spasojević S, Barišić N, Doronjski A, Žikić D. The influence of EPO and hypothermia on the kidneys of rats after perinatal asphyxia. *Pediatr Nephrol.* 2012;27(1):139-44.
- ²⁶⁸ Ohls RK, Dai A, Roohi M, Darbepoetin alfa: pharmacokinetics and clinical use in neonates. *Hematologica Reports.* 2006;2(10):90-5.
- ²⁶⁹ Ohls RK, Christensen R, Kamath-Rayne BD, Rosenberg A, Wiedermeier SE, Roohi M, et al. A randomized, masked, placebo-controlled study of darbepoetin alfa in preterm infants. *Pediatrics.* 2013;132(1):e119-27.

-
- ²⁷⁰ Beland MD, Walle NL, Machan JT, Cronan JJ. Renal cortical thickness measured at ultrasound: is it better than renal length as an indicator of renal function in chronic kidney disease? *AJR Am J Roentgenol.* 2010;195(2):W146-9.
- ²⁷¹ Yamashita SR, von Atzingen AC, Iared W, Bezerra ASA, Ammirati AL, Canziani MEF, et al. Value of renal cortical thickness as a predictor of renal function impairment in chronic renal disease patients. *Radiol Bras.* 2015;48(1):12–6.
- ²⁷² Schmidt IM, Chellakooty M, Boisen KA, Damgaard IN, Mau Kai C, Olgaard K, et al. Impaired kidney growth in low-birth-weight children: distinct effects of maturity and weight for gestational age. *Kidney Int.* 2005;68(2):731-40.
- ²⁷³ Bagby SP. Maternal nutrition, low nephron number, and hypertension in later life: pathways of nutritional programming. *J Nutr.* 2007;137(4):1066-72.
- ²⁷⁴ Cambonie G, Comte B, Yzydorczyk C, Ntimbane T, Germain N, Lê NL, et al. Antenatal antioxidant prevents adult hypertension, vascular dysfunction, and microvascular rarefaction associated with in utero exposure to a low-protein diet. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2007;292(3):R1236-45.
- ²⁷⁵ Stewart T, Jung FF, Manning J, Vehaskari VM. Kidney immune cell infiltration and oxidative stress contribute to prenatally programmed hypertension. *Kidney Int.* 2005;68(5):2180-8.
- ²⁷⁶ Luyckx VA, Shukha K, Brenner BM. Low nephron number and its clinical consequences. *RMMJ.* 2011;2(4):e0061.