

*COLLÈGE NATIONAL
DES GYNÉCOLOGUES ET OBSTÉTRICIENS FRANÇAIS
Président : Professeur J. Lansac*

**Extrait des
Mises à jour
en Gynécologie
et Obstétrique**

—
**Tome XXXI - 2007
publié le 12.12.2007**



*TRENTE ET UNIÈMES JOURNÉES NATIONALES
Paris, 2007*

Origine développementale et transgénérationnelle des maladies de l'adulte : rôle de l'épigénétique

C. GALLOU-KABANI, C. JUNIEN *
(Paris)

Un des principaux défis pour les nutritionnistes aujourd'hui est de prévenir, de contenir, voire de faire régresser le fléau que représente l'épidémie mondiale de syndrome métabolique (MetS), et de ses complications, de plus en plus précoces et de plus en plus sévères. Le MetS comprend un ensemble de troubles métaboliques incluant une résistance à l'insuline, une diminution du HDL-cholestérol, une hypertriglycémie, un surpoids abdominal, associés à une hypertension, un état inflammatoire et un état thrombotique. De par la progression épidémique du MetS, les complications - obésité, diabète de type 2 (T2D), maladies cardiovasculaires et cancers - ont un impact de plus en plus préoccupant sur la santé publique (24 % des adultes US) [33, 39, 42, 71]. On dispose aujourd'hui de nombreuses données épidémiologiques indiquant que la nutrition fœtale et postnatale, le stress et le défaut d'activité physique influencent la vulnérabilité de l'adulte aux affections chroniques liées à l'alimentation et à la sédentarité comme les affections cardiovasculaires (CVD), l'obésité, l'hypertension, le diabète de type 2 (T2D), la dépression, le syndrome de l'ovaire polykystique, le cancer du sein ou la schizophrénie [9, 74]. Les limites des

* Inserm U 781 Génétique et épigénétique des maladies métaboliques, neurosensorielles et du développement - Clinique Maurice Lamy, Hôpital Necker Enfants-Malades - 149 rue de Sèvres - 75743 PARIS CEDEX 15

approches épidémiologiques chez l'homme sont bien connues et on ne dispose pas encore du recul nécessaire pour évaluer l'impact chez l'adulte et sur les générations futures des effets de l'épidémie galopante d'obésité et des troubles métaboliques associés (syndrome métabolique), dans le cadre d'une grossesse [1, 22, 27, 40, 41, 55, 59, 61, 69, 80, 83, 84, 105, 107, 108].

En revanche, les modèles animaux permettent avec un temps de génération beaucoup plus court d'évaluer l'effet des comportements de l'individu tout au long de sa vie, mais aussi ceux de la mère pendant les périodes périconceptuelle, gestationnelle et périnatale, et de mettre en œuvre des protocoles permettant d'évaluer sur des périodes beaucoup plus courtes d'éventuels effets transgénérationnels. Puis des études *in vitro* faisant appel à des techniques à grande échelle permettent de déchiffrer les mécanismes moléculaires en cause. Aussi de nombreux groupes de recherche ont tenté de reproduire ces conditions chez l'animal. La grande majorité des modèles animaux examinent les effets d'une restriction calorique ou protéique pendant la gestation et/ou la lactation. Pourtant, ils ne correspondent pas aux conditions actuelles de l'épidémie de MetS [6]. De plus en plus de femmes (14 % à 27 % [118]) débutent en effet leur grossesse en état de surcharge pondérale. Bien que moins nombreuses, les études examinant les conséquences d'une alimentation riche en hydrates de carbones ou riche en graisses reproduisent mieux ces conditions [7, 99, 101]. Si les effets du retard de croissance intra-utérin associé à un petit poids de naissance, ou ceux du diabète gestationnel [2, 25, 82, 100] avec macrosomie ont été bien étudiés, les effets sur la « programmation foetale » d'un excès de poids chez la mère, associé à une alimentation déséquilibrée et à des troubles du métabolisme pendant la période périconceptuelle ou bien au cours de la grossesse ou de la lactation [38, 44, 61, 111] puis au cours du vieillissement [48], sont encore largement méconnus [6]. La restriction alimentaire *in utero* est moins délétère si la nutrition est altérée de la même façon pendant la période postnatale [6, 75]. Si un fœtus est mal nourri il adoptera diverses stratégies pour optimiser ses chances de survie dans la période postnatale pour les mêmes conditions nutritionnelles [75]. On assiste maintenant à une augmentation régulière de la prévalence du surpoids et de l'obésité de l'enfant avec des chiffres qui atteignent 10-15 % dès l'âge de 5-6 ans.

COMMENT L'EXPRESSION DES GÈNES EST RÉGULÉE

Au cours des dernières décennies l'épigénétique a connu une remarquable avancée. Proposé en 1937, par Conrad Waddington, le concept d'épigénétique décrivait les processus par lesquels les gènes et leurs produits, le « génotype », donnaient naissance au « phénotype ». L'épigénétique était alors invoquée pour expliquer le développement embryonnaire et dès que la génétique mendélienne n'explique pas un phénomène. Aujourd'hui, le terme épigénétique - du grec *epi*, signifiant "sur" l'ADN - désigne les processus moléculaires permettant de moduler l'expression des gènes - par un remodelage de la chromatine, de manière durable et potentiellement réversible - qui ne sont pas fondés sur des changements dans la séquence de l'ADN.

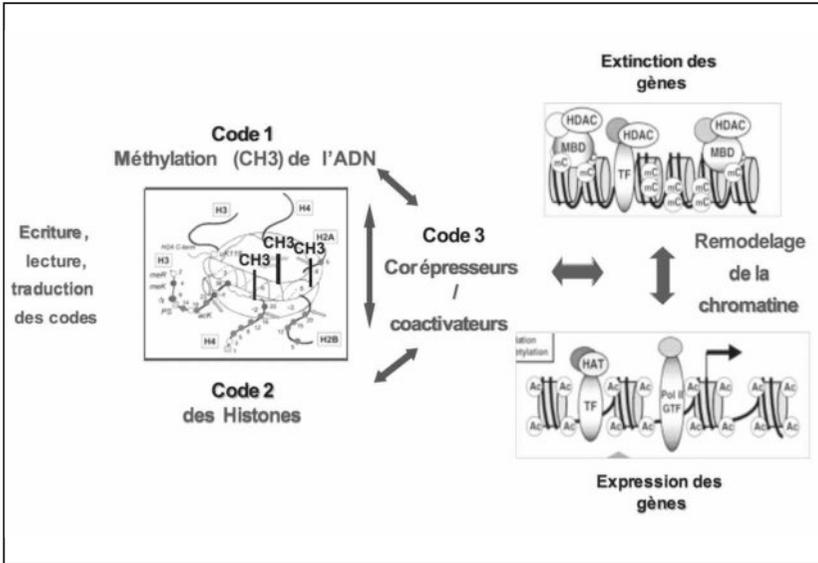
Tous nos tissus contiennent les mêmes 30 000 gènes et pourtant, dans un tissu donné et à un stade donné, tous ne s'expriment pas : un « code épigénétique » permet à certains gènes d'être actifs (plus ou moins), alors que d'autres restent silencieux, de manière transitoire ou permanente - donnant ainsi naissance au « phénotype ».

Le code épigénétique comprend plusieurs strates interconnectées et interdépendantes : le code de la méthylation de l'ADN (l'ajout ou la suppression d'un groupement méthyl sur la base C, l'une des quatre bases, A, T, C, G de l'ADN), le code des histones (des modifications post-traductionnelles variées : acétylation, méthylation, phosphorylation etc..) et celui des co-activateurs et co-répresseurs. Ces codes sont mis en place et interprétés par une machinerie complexe d'enzymes et de co-facteurs qui assurent un remodelage adéquat de la chromatine autour des gènes régulant leur accessibilité aux facteurs de transcription. Les marques épigénétiques de la chromatine se propagent fidèlement lors de la mitose. Elles peuvent également se maintenir lors de la méiose, entraînant une transmission stable d'états régulateurs [98] (figure 1).

Contrairement aux mutations dans la séquence de l'ADN qui sont irréversibles, les modifications épigénétiques sont, en principe, instables et réversibles. Elles ont ainsi un caractère transitoire dans la vie courante : au cours de la journée, l'expression des gènes est modulée par les signaux moléculaires des rythmes circadiens, ainsi que par les signaux nutritionnels, au gré de la diversité de l'ensemble des stimuli environnementaux.

Enfin, des altérations épigénétiques de l'ADN s'accumulent avec l'âge, qui peuvent rendre compte de l'accentuation des symptômes du syndrome métabolique chez les individus âgés. Des études menées

Figure 1. Codes et machinerie épigénétique



chez une souris génétiquement prédisposée à l'athérosclérose, montrent que des profils épigénétiques anormaux sont détectables dans l'aorte bien avant l'apparition de lésions vasculaires détectables [66]. De plus, les altérations de la méthylation de l'ADN sont accentuées si ces souris sont alimentées avec un régime de type occidental ou « cafétéria » [46].

PROGRAMMATION ÉPIGÉNÉTIQUE AU COURS DU DÉVELOPPEMENT FŒTOPLACENTAIRE ET POSTNATAL

En réponse à des programmes génétiques et épigénétiques orchestrés avec précision, les tissus et organes sont façonnés, alternant prolifération, différenciation et apoptose. Plusieurs exemples de régulation épigénétique en relation avec le statut nutritionnel au cours de la vie utérine ou de la période postnatale ont ainsi été mis en évidence. Les défauts de croissance fœtoplacentaire sont associés à des altérations épigénétiques chez le rat. L'inadéquation entre les apports (qualitatifs

et quantitatifs) de nutriments ou de métabolites et les besoins précis de ces processus, au décours de l'espace/temps limité qui leur est dévolu, peut aboutir à des altérations des processus homéostasiques liées à des modifications épigénétiques instables et potentiellement réversibles, mais aussi à une situation de « non-retour » due à des altérations irréversibles des processus de différenciation et d'organogenèse, avec un développement structurel et fonctionnel anormal, voire une absence de certains types cellulaires spécialisés.

Ainsi, la leptine, qui régule l'équilibre énergétique de la prise alimentaire, permet également le développement de certains neurones de l'hypothalamus impliqués dans la réponse aux aliments, et elle contribue à leur plasticité. Cependant, ce rôle primordial ne s'exerce que pendant une fenêtre très étroite de la période néonatale ; au-delà de ces limites, la maturation non achevée est irrécupérable [34].

Enfin, chez les rats dont la mère a subi une restriction protéique durant la gestation, le taux de mort cellulaire pancréatique physiologique en période postnatale est augmenté ce qui entraîne une diminution de la masse de cellules du pancréas et perturbe, à la génération suivante, l'adaptation des fonctions endocrines du pancréas. De même, bien qu'il ne s'agisse plus d'une restriction, l'altération des fonctions pancréatiques (comme l'hyperinsulinisme) consécutive à un régime riche en hydrates de carbones se répercute sur le développement du pancréas à la deuxième génération, en dehors de tout stimulus nutritionnel délétère [100]. Il est néanmoins particulièrement intrigant de constater que des causes diamétralement opposées, une sous-nutrition par une restriction protéique fœtale et/ou postnatale ou une surnutrition par un régime riche en hydrates de carbones ou en graisses, qui se traduisent par une diminution des flux sanguins fœtoplacentaires et compromettent la croissance de l'embryon, aient les mêmes conséquences à long terme.

NOURRITURES AFFECTIVES ET PROGRAMMATION ÉPIGÉNÉTIQUE - ADVERSITÉ ET RÉPONSES DÉFENSIVES

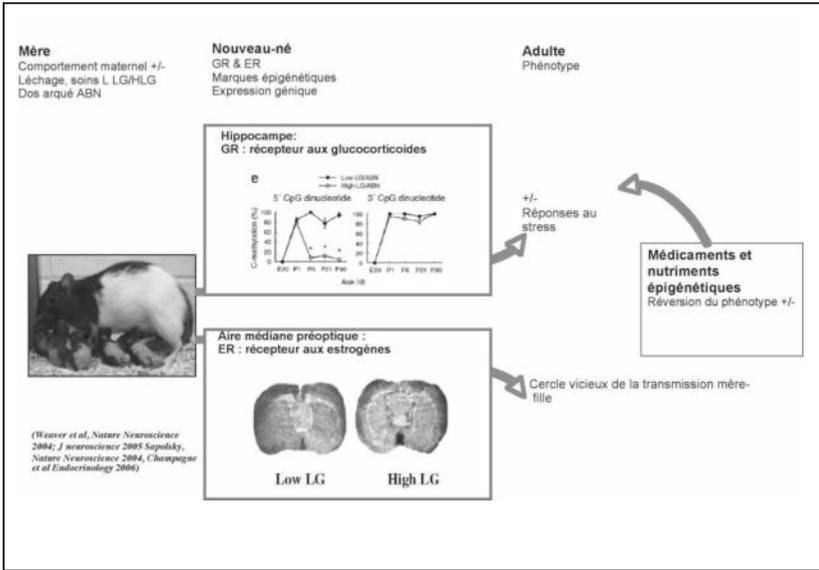
Un état épigénomique particulier ne requiert pas nécessairement l'ingestion d'une substance, il peut aussi être mis en place par une programmation comportementale, pendant une fenêtre étroite, et être potentiellement réversible. Des données récentes montrent que le comportement maternel peut « sculpter » les gènes de la progéniture,

en transmettant un message qui n'est ni bon ni mauvais en soi mais qui indique simplement au petit dans quel genre de monde il va se trouver exposé plus tard dans sa vie adulte. Il existe de profonds effets maternels sur les différences individuelles de réponses défensives et les stratégies reproductives dans des espèces allant des plantes aux insectes voire aux oiseaux. De manière générale, les effets maternels sont le reflet de la qualité de l'environnement et sont vraisemblablement régulés par la qualité des ressources maternelles, qui, à leur tour, déterminent les taux de croissance et le phénotype à l'âge adulte. Des données chez le rat suggèrent qu'il existe des formes comparables d'effets maternels sur les réponses défensives au stress qui sont médiés par les effets des variations de comportement maternel sur l'expression des gènes. Dans des conditions d'adversité de l'environnement les effets maternels accroissent les capacités de réponse défensives des petits. Chez les mammifères ces effets programment les systèmes émotionnels, cognitifs et endocriniens vers un accroissement de la sensibilité à l'adversité. De tels effets peuvent être considérés adaptatifs, augmentant ainsi la capacité du petit à survivre jusqu'à l'âge de reproduction. Le coût étant une augmentation du risque de multiples formes de pathologies plus tard au cours de la vie adulte [117].

Ainsi, une augmentation des soins maternels (high licking-grooming (HLG) / low licking-grooming (LLG)) à des rats nouveau-nés se traduit par une meilleure réponse au stress à l'âge adulte. M. Meaney et M. Szyf et coll. viennent de mettre en évidence une différence de méthylation du promoteur du gène du récepteur aux glucocorticoïdes (GR), dans l'hippocampe, entre les petits de mères HLG et les petits de mères LLG [113]. Ces différences apparaissent dès la première semaine de vie avec une déméthylation très précoce pour les petits de mères HLG. Ces différences persistent jusqu'à l'âge adulte et sont associées à une modification de l'acétylation des histones et à une augmentation du facteur de transcription NGFI-A qui se fixe sur le GR. Ce comportement induit des changements de méthylation de la cytosine d'un seul dinucléotide CpG (Cytosine-P-Guanine) dans la région du promoteur du GR dans l'hippocampe des petits (figure 2).

Mais ces modifications épigénétiques ne sont pas toujours totalement verrouillées. Ainsi, une injection au niveau central de trichostatine A, un inhibiteur d'histone désacétylase (HDAC), ou de méthionine, un donneur de groupements méthyl, effacent les différences entre les groupes d'animaux pour l'acétylation des histones, la méthylation de l'ADN, la fixation de NGFI-A et l'expression du GR et les réponses au stress de l'axe hypothalamo-hypophysaire. Ces données suggèrent que - contrairement aux modifications épigénétiques

Figure II. Nourritures affectives et marquage épigénétique réversible



survenant au décours de processus liés à l'organogénèse et irréversibles - il est possible d'agir sur des modifications épigénétiques labiles et ainsi de restaurer, chez l'adulte, les conséquences d'un comportement maternel postnatal inadéquat [93, 112].

GÈNES SOUMIS À EMPREINTE ET CROISSANCE FŒTOPLACENTAIRE ET POSTNATALE

Pour les gènes soumis à « empreinte parentale » seul l'allèle (ou copie) paternel ou maternel s'exprime. L'autre est « éteint » par des modifications épigénétiques. L'apposition du sceau parental se produit au cours de la genèse des gamètes. La complexité de la régulation au niveau des domaines « soumis à empreinte », comportant à la fois des gènes à expression maternelle et des gènes à expression paternelle, peut les rendre particulièrement sensibles aux facteurs environnementaux, aux nutriments.

L'empreinte parentale est rarement un phénomène de tout ou rien. L'expression de ces gènes soumis à empreinte (GSE) parentale varie en effet d'un individu à l'autre et, pour un même individu, d'un tissu à l'autre, ainsi qu'au cours de l'embryogenèse, du développement et du vieillissement, voire dans certaines situations pathologiques comme le cancer ou l'athérosclérose. Ainsi, les modifications épigénétiques associées à l'empreinte pourraient se comporter comme un système tampon, une sorte de rhéostat, permettant une adaptation rapide aux conditions environnementales, grâce aux gènes s'exprimant de façon mono-allélique, en leur imposant le silence (allèle actif) ou, à l'inverse, en réactivant leur expression (allèle inactif) [11, 51, 77, 115].

Nous n'avons pas encore la preuve formelle de l'implication des GSE dans les processus d'adaptation de l'espèce à son environnement, mais un faisceau d'arguments vient étayer cette hypothèse [37].

Gènes soumis à empreinte et croissance fœtoplacentaire : apport et demande en nutriments

En accord avec la théorie du conflit entre les sexes, plusieurs gènes à expression maternelle contrôlent négativement la croissance fœtale et placentaire, alors que plusieurs gènes à expression paternelle les contrôlent positivement. Grâce à certains des gènes soumis à empreinte, l'empreinte parentale intervient dans la capacité de transport des nutriments, régule les interactions entre différents types cellulaires au niveau des interfaces fœtomaternelles et contribue à la croissance du placenta et à sa résistance vasculaire, en contrôlant l'apport en nutriments. Dans les organes fœtaux, les GSE contrôlent la demande en nutriments en régulant le taux de croissance des tissus fœtaux.

Gènes soumis à empreinte et croissance postnatale

Les GSE jouent également un rôle crucial pendant la période postnatale. Ainsi par exemple, pour les altérations de deux des GSE, qui s'expriment à partir de l'allèle paternel, on peut voir comment de tels gènes peuvent réguler chez les différents partenaires, la mère, et le fœtus/nourrisson, de multiples aspects du développement fœtal et postnatal. L'inactivation de l'allèle paternel du gène *Peg3* entraîne, lorsqu'elle est portée par le fœtus, une diminution de la taille du placenta, de la croissance fœtale, de la capacité à téter et de la croissance

postnatale, et de la température corporelle, ainsi qu'un retard du sevrage et de la puberté. Lorsque la mutation de cet allèle paternel est portée par la mère, cela compromet ses chances de reproduction, avec une diminution des soins maternels, de la prise de nourriture pendant la grossesse et de la production de lait. Les conséquences en sont, à nouveau pour le nourrisson, une diminution de la croissance postnatale et un retard du sevrage et de la puberté [23]. La synchronisation de ces traits co-adaptatifs, chez la mère et les petits, permet d'assurer que le petit qui aura tiré le maximum de sa mère sera lui-même bien approvisionné en nutriments, la rendant ainsi capable d'être à son tour une « bonne » mère apportant à ses petits les meilleurs soins [23]. Par ailleurs, chez l'adulte, l'expression de ce gène dans le tissu adipeux, ainsi que celle d'un autre gène soumis à empreinte parentale (*Peg1*), est fortement augmentée dans l'obésité induite par le régime alimentaire [72] et corrélée à la taille des adipocytes [104]. Ce gène à expression paternelle pourrait donc favoriser la mise en réserve d'énergie.

Cependant, la démonstration formelle de l'implication des GSE dans les processus d'adaptation doit reposer sur une analyse détaillée des profils épigénétiques dans les régions clés des complexes de gènes soumis à empreinte parentale. En effet, l'augmentation ou la diminution de l'expression d'un gène soumis à empreinte parentale peut être attribuée soit à la variation de l'expression de l'allèle parental qui s'exprime normalement sans intervention de l'autre allèle, soit à une perte d'empreinte avec altération de certaines régions portant les marques de l'empreinte parentale et expression (ou extinction) des deux allèles, paternel et maternel. Ce type d'analyse devrait permettre de discriminer ces deux possibilités, afin de montrer si ces états d'empreinte parentale altérés sont transmissibles à la génération suivante.

EFFETS TRANSGÉNÉRATIONNELS ET ADAPTATION DE L'ESPÈCE

Bien que cela paraisse incompatible avec l'idée selon laquelle « *l'archoise épigénétique* » s'efface complètement, à l'exception des GSE, dans l'embryon, peu de temps après la fécondation, il existe, pour plusieurs mammifères, de nombreux exemples incontestables d'effets transgénérationnels. En fait, la déméthylation n'est pas complète et le niveau de méthylation résiduelle serait d'environ 10 % [43, 109]. Mais de nombreuses questions demeurent : cette méthylation est-elle régulièrement

distribuée ? Ne touche-t-elle que certains gènes et pas d'autres ? Existe-t-il des séquences qui résistent mieux que d'autres comme les éléments transposables IAP de la souris ? Existe-t-il des individus qui résistent mieux que d'autres à la déméthylation et seraient donc plus enclins à transmettre des effets transgénérationnels (ETG) ? Existe-t-il des facteurs environnementaux plus efficaces que d'autres ?

Chez l'homme, des données épidémiologiques vont dans ce sens, mais jusqu'à présent il n'a pas toujours été possible de démontrer avec certitude l'absence de facteurs confondants. De plus, à part l'exemple des ETG concernant la consommation de noix de Betel (*Areca catechu*) par la souris avec les effets sur la tolérance au glucose pour la descendance, la reconstitution d'un modèle animal n'a pu être faite. Enfin alors qu'il existe des preuves de concept chez l'animal, la démonstration du non effaçage des modifications épigénétiques n'a pu être réalisée chez l'homme mais uniquement sur des modèles murins [5, 67, 87, 113].

Un groupe de chercheurs suédois, se basant sur les registres des villages, des bases de données démographiques indiquant à partir du coût des denrées si les récoltes avaient été bonnes, modérées ou mauvaises, a déterminé la disponibilité et la quantité de nourriture dont avaient pu bénéficier des individus mâles, pendant leur période prépubertaire. Un grand-père « bien nourri » pendant sa période prépubertaire (SGP) « transmet » à ses petits-fils un risque multiplié par 4 de développer un TD2 [15, 52, 78].

La famine hollandaise (1944-45) représente l'unique contrepartie aux modèles animaux pour étudier l'effet d'une restriction calorique maternelle pendant différents stades de la gestation en utilisant les données d'une cohorte de 2 414 personnes nées autour de cette période de la famine. La sous-nutrition a été définie séparément pour chaque trimestre de grossesse comme un apport de moins de 1 000 calories par jour à partir des rations fournies par le gouvernement.

Les études des individus qui ont été exposés *in utero* à la famine suggèrent que les effets délétères peuvent également se transmettre aux petits-enfants des femmes (F0) exposées pendant leur grossesse [102]. Les mères exposées à la famine pendant leur premier et deuxième trimestre *in utero* (F1) ont donné naissance à leur tour à des enfants (F2) avec des poids de naissance plus faibles que ceux des enfants nés de mères non exposées *in utero*. La diminution du poids de naissance était due en partie à un ralentissement de la croissance fœtale et en partie à une diminution de la durée de la gestation. Les poids de naissance des enfants (F2) de mères (F1) exposées pendant leur troisième trimestre *in utero* n'étaient cependant pas diminués. Ces

données chez les mères (F1) exposées *in utero* sont différentes de celles observées pour leur mère (F0) pendant leur grossesse puisque l'exposition au troisième trimestre se répercutait sur le poids de naissance de leurs enfants, avec une diminution du poids de naissance (F1). L'ordre de naissance associe habituellement une augmentation du poids de naissance. Cette augmentation n'était pas observée pour le poids de naissance des enfants (F2) si la mère avait été exposée pendant le premier trimestre de sa grossesse. Dans ce groupe, les enfants nés en second pesaient en moyenne 252 g de moins à la naissance que les enfants premier-nés. Les enfants nés en troisième pesaient 419 g de moins même après ajustement pour le trimestre d'exposition de la mère, le poids de naissance de la mère, le tabagisme pendant la grossesse et le sexe des enfants. Ce type d'anomalie n'était pas constaté pour les enfants (F2) de mères (F1) exposées pendant le second ou le troisième trimestre. Cette étude suggère qu'il peut y avoir des effets biologiques à long terme, même dans la génération suivante, de l'exposition intra-utérine à une sous-nutrition qui ne correspondent pas aux effets sur le poids de naissance des mères elles-mêmes (F1) [64, 65, 91]. Environ 10 % de la population mondiale, soit 600 millions d'individus, principalement en Asie, consomment de manière récréative de la noix de bétel. La relation entre cette consommation et le risque de cancer oral est bien établie. Du fait de la présence de dérivés nitrés l'influence de cette pratique sur la survenue d'affections chroniques comme le T2D a suscité plusieurs études chez l'homme et chez la souris. Les études réalisées par Boucher *et al.* ont permis de démontrer chez la souris une intolérance au glucose qui était transmise à la F1 et à la F2 [13]. Plus récemment une étude pratiquée chez l'homme suggère que l'exposition à la noix de bétel chez le père augmente le risque de développer un MetS (RR = 2,1) de manière dose-dépendante et plus précocement (30,92/38,16 ans). Les mécanismes en cause n'ont pas encore été identifiés [13, 20].

Chez l'animal les exemples d'effets transgénérationnels sont beaucoup plus nombreux et concernent les effets :

1) - des déséquilibres nutritionnels avec les effets d'une carence en protéine pendant la gestation et/ou la lactation [45, 116], sur le développement du pancréas endocrine [12, 90], du rein [58], de la sous-nutrition pendant la période préimplantatoire sur l'hypertension [57], de la restriction calorique ou protéique sur le métabolisme du glucose [89], d'une restriction protéique pendant douze générations [103], de l'excès de croissance intra-utérin [24], de la persistance des conséquences métaboliques d'une alimentation riche en hydrates de car-

bone après la naissance [106], de l'apport en folates [73, 87, 112, 114], du défaut en fer chez la mère sur la tension artérielle [62], du jeûne du père pendant la période préconceptionnelle sur le glucose sérique des petits [3], l'effet des glucocorticoïdes [30, 31], de l'effet de l'exercice, du stress de la mère sur l'IMC chez les petits [81], de la croissance [88], de l'âge maternel [110] ;

2) - du comportement maternel [19] ;

3) - des troubles métaboliques de la mère : du diabète maternel [79], de l'obésité gestationnelle qui accentue le risque d'obésité [60], de l'hyperglycémie gestationnelle sur la transmission du T2D [40], de l'hyperinsulinisme maternel (programmée par une alimentation riche en hydrates de carbone après la naissance) qui prédispose les fœtus de rat à l'hyperinsulinisme et au diabète mais qui peut être prévenu par une restriction calorique [99], ou un régime riche en graisses chez la mère qui prédispose au MetS [100] ;

4) - de substances environnementales, drogues ou toxiques : des faibles doses de radiation [56, 85, 86], du traitement du père par le cyclophosphamide [8, 10], de la mère enceinte par le diéthylstilbestrol [92, 97], de carcinogènes [21], la transmission de l'usage du tabac et de la dépendance et les effets sur le poids de naissance [70, 95], l'effet des perturbateurs endocriniens sur la fertilité des mâles [5, 96], des phytoestrogènes [14, 29], de l'usage de morphine pendant l'adolescence et la sensibilité des petits [16], de la consommation de noix de bétel sur la tolérance au glucose [13].

Alors que les modèles précédents ne permettaient pas de dire si les effets d'un régime pouvaient être transmis à la génération suivante, une telle démonstration vient d'être faite avec les perturbateurs endocriniens. Dans une récente étude, l'exposition transitoire d'une rate gestante pendant la période de la détermination du sexe gonadique à des doses importantes de perturbateurs endocriniens comme la vinclozolin (un composé antiandrogénique utilisé comme pesticide en viticulture) ou le methoxychlor (un composé antiestrogénique) induit chez l'adulte F1 un phénotype associé à une diminution de la capacité spermatogénique (diminution du nombre de cellules et de leur mobilité) aboutissant à une diminution de la fertilité. De manière étonnante cette diminution de la fertilité était héritée à travers la lignée germinale par une importante proportion des mâles des générations suivantes (de F1 à F4). Les effets sur la reproduction étaient corrélés à une altération de la méthylation de l'ADN dans les cellules germinales. Ces effets étaient encore présents à la quatrième génération. Ainsi ces changements transmissibles se produisent même en l'absence

du stimulus environnemental qui les a produits chez la F1, démontrant l'effet durable d'une programmation épigénétique [4].

Transmission spécifique du sexe

Comme cela avait déjà été suggéré par Campbell et Perkins sur la base de 28 études antérieures sur les effets transgénérationnels des traitements hormonaux ou chirurgicaux ou par des substances sur certains mammifères (de 1954 à 1982), on peut distinguer quatre mécanismes différents pour l'induction d'effets capables de passer d'une génération à la suivante : 1) les effets transmis par les mâles sur plusieurs générations ; 2) la transmission par les mâles sur une génération ; 3) la transmission par les femelles sur plusieurs générations ; 4) un changement progressif quand l'animal est maintenu sous les conditions inductrices [17].

La majorité des études récentes traitent des effets maternels pendant la gestation ou la lactation et correspondent à des effets liés au milieu intra-utérin, pourtant une transmission par la lignée germinale femelle peut également intervenir, comme pour les mâles. La transmission peut se faire par la lignée germinale femelle uniquement ou par les deux lignées, ou bien encore dépendre de la souche donc du fond génétique [87].

Le cercle vicieux de la transmission mère-fille

Les effets transgénérationnels peuvent aussi résulter d'un cercle vicieux lorsque le comportement, l'état physiopathologique et/ou nutritionnel, ou le milieu intra-utérin de la mère ont une influence sur des fœtus femelles qui deviendront mère à leur tour et transmettront par le même mécanisme. L'effet du comportement maternel peut être transmis à la génération suivante par les femelles qui deviennent à leur tour des HLG ou des LLG. La programmation par comportement maternel persiste bien à l'âge adulte et montre un effet transgénérationnel, puisqu'à leur tour les femelles ainsi « bien maternées » deviennent elles-mêmes de « bonnes » mères HLG [49, 113]. Cette transmission mère-fille se fait par le biais d'un accroissement rapide (sixième jour) des récepteurs aux estrogènes dans la région de l'aire médiane préoptique, associé à une augmentation de l'expression du récepteur liée à une diminution de la méthylation [18, 28]. Une modification nutritionnelle pendant la période de lactation (lait riche en

hydrate de carbones) peut entraîner un cercle vicieux de transmission du phénotype acquis à la première génération, un hyperinsulinisme, à la seconde génération [17, 31, 50, 68, 76, 100].

Les effets sexe-spécifiques

Les effets de la programmation ou les effets transgénérationnels peuvent toucher indifféremment les mâles ou les femelles ou bien des effets spécifiques à l'un ou l'autre sexe peuvent être observés. La réduction de la fertilité induite par les perturbateurs endocriniens sur la méthylation d'un certain nombre de séquences était héritée à travers la lignée germinale mâle par la plupart des mâles des générations suivantes, mais ne semblait pas avoir d'impact sur les femelles [5]. Cette spécificité peut dépendre ou non de facteurs hormonaux, ou altérer des processus spécifiques de la gamétogénèse mâle ou femelle.

Nous avons créé des modèles de souris sous régime riche en graisses (45 % ou 60 %) afin d'étudier les effets de ces régimes au cours de différentes périodes de la vie - préconceptionnelle, gestation, lactation et après le sevrage au cours de la vie - sur plusieurs générations, et sur les 2 sexes. Des femelles préalablement rendues obèses par un régime hypergras (60 % de graisses) ont été croisées avec des mâles sous régime contrôle (10 % de graisses). Pendant toute la durée du croisement de la gestation et de la lactation les femelles obèses étaient placées sous régime normal. Au moment du sevrage les petits des deux sexes ont été placés sous régime hypergras. Après 5 mois sous régime hypergras, la moitié des femelles, placées au moment du sevrage sous régime hypergras, ne sont plus hyperphagiques en dépit de la palatabilité du régime hypergras et développent un phénotype de satiété. Ces femelles restent minces avec une sensibilité à l'insuline normale et une glycémie normale, malgré une hypercholestérolémie. Ces travaux montrent que des altérations nutritionnelles prénatales peuvent modifier la susceptibilité aux effets inducteurs du régime d'une manière sexe-spécifique [38].

On connaît encore assez mal quelle doit être la durée du stimulus, sur combien de générations l'effet peut persister en l'absence de tout stimulus, et il n'existe qu'un seul exemple d'exposition continue sur plusieurs générations [103].

CONCLUSIONS

Les avancées récentes en termes d'épidémiologie, de neurobiologie, de développement, d'analyse des conséquences moléculaires des comportements alimentaires et affectifs, couplées aux nouvelles techniques d'exploration du génome (transcript-, proté- et épigén-omique) et du devenir des aliments et des métabolites endogènes (métabolomique) révèlent l'impact insoupçonné des programmations et transmissions épigénétiques. Le défi pour la recherche médicale est d'identifier clairement les signaux environnementaux actifs et les cibles moléculaires pertinentes qui servent d'intermédiaires entre l'environnement précoce et la santé. Parmi les différents systèmes capables de médier ces actions on peut relever l'importance de l'axe hypothalamo-hypophysaire comme cible des influences environnementales et comme médiateur de la relation entre les événements précoces de la vie et la santé plus tard au cours de la vie adulte [94]. Les neurones de cet axe servent de médiateurs importants pour les réponses au stress à la fois comportementales et endocrines.

Au fur et à mesure que nous progressons dans cette connaissance, nous commençons à déchiffrer comment les expériences sociales influencent le cerveau et vont se répercuter sur les comportements, à distance du stimulus [18]. Pas plus que l'homme, l'animal n'a conscience des effets du comportement maternel en période périnatale sur la méthylation de son ADN ou sur les modifications post-traductionnelles des histones de ses gènes, son « subconscient » est ainsi enfoui dans la complexité de l'encodage épigénétique. Et pourtant une fois adulte, sollicité par divers événements ou facteurs environnementaux, stress ou nourriture, sa réactivité dépendra, à son insu, des marques épigénétiques laissées par ces programmations directes (parents) ou aux effets différés (grand-parents). Les effets sur l'homme de comportements maternels analogues à ceux observés chez le rat passent obligatoirement par les mêmes processus épigénétiques touchant certainement les mêmes gènes ou réseaux ou des gènes analogues, tout en impliquant d'autres gènes comme par exemple ceux qui ont été recrutés au cours de l'évolution de l'homme pour l'expression verbale, ou impliqués dans les neurotransmissions d'autres aires au niveau du cerveau [35]. La comparaison des génomes des différents mammifères confirme la continuité darwinienne entre les espèces. À quelques rares exceptions près - pseudogénéisation des gènes CETP et du récepteur au goût sucré [47, 63] - nous avons les mêmes gènes que les rongeurs ou les félins et *a fortiori* que ceux de nos proches cousins

primates. Mais, pour chaque gène, il peut exister des petites différences de séquences dont le nombre et les conséquences en termes de fonction - cf le gène FOXP2 impliqué dans la parole et le langage - varient selon les gènes et leur spécialisation au cours de l'évolution [35].

Les mécanismes à l'origine de fonctions vitales indispensables à la survie de l'espèce, comme le plaisir, la faim, la peur, ou la souffrance ont en revanche été très conservés au cours de l'évolution [36, 53, 54]. L'homologie entre les gènes des mammifères et d'autres espèces, moins proches, et leur modulation par des codes épigénétiques universels démontrent le recrutement de modules fonctionnels communs et la similitude des mécanismes impliqués dans les comportements alimentaires et affectifs. Indéniablement l'homme dispose de structures cérébrales plus élaborées avec des capacités de mémorisation, d'apprentissage, et la parole, qui contribuent à la complexité de ses réactions face à la diversité. Pourtant les premiers éléments des connaissances générées par ces nouvelles études révèlent la grande ressemblance des mécanismes fondamentaux entre les hommes et les animaux mais avec, pour certaines espèces, des traits beaucoup plus développés que dans d'autres espèces. Avec Franz de Waals, nous pouvons affirmer que « notre humanité plonge ses racines dans les pulsions sociales que nous avons en commun avec d'autres animaux », et nous demander : « ...et si la psychologie humaine s'inscrivait dans le prolongement de celle des animaux, qu'il s'agisse de la violence, de l'empathie, ou même de la morale ? » [26].

Les résultats obtenus chez l'animal et les essais cliniques en cours chez l'homme - dans le cadre de traitement de tumeurs, avec par exemple des chimiothérapies à base de cisplatine, budésonide ou déca-baine - laissent envisager, lorsque les mécanismes épigénétiques en jeu et les fenêtres critiques auront été décryptés, de nouvelles perspectives de prévention ou de traitement. Compte tenu des interrelations entre les différentes voies épigénétiques, la combinaison d'un médicament avec un régime ou des nutriments appropriés pourrait être plus efficace que le médicament isolé [32].

Remerciements

Ce travail a été soutenu financièrement par une bourse Nestlé (AV), une bourse des laboratoires Fournier-Pharma (CG) et des subventions de l'Inra, l'Inserm (ATC-Nutrition, PRNH), l'Association Française des Diabétiques et l'Institut Benjamin-Delessert.

Résumé

Les modifications épigénétiques - associant une méthylation de l'ADN et des modifications des histones - assurent par un remodelage adéquat de la chromatine la modulation de l'expression des gènes. Ces modifications sous-tendent la programmation, au cours du développement fœtal et postnatal, aboutissant au façonnage des tissus et des organes. Outre l'héritage d'un « génotype d'épargne », les individus avec les désordres métaboliques conduisant au syndrome métabolique, à l'obésité, au diabète de type 2 et aux maladies cardiovasculaires ont subi au cours de fenêtres critiques du développement une « programmation épigénétique » anormale en liaison avec les déséquilibres nutritionnels et les défauts métaboliques de la mère pendant la gestation et la lactation. Une programmation erronée peut avoir des effets sur la santé de l'enfant et surtout plus tard à l'âge adulte et pourrait même être transmise à la génération suivante. Les marques et processus épigénétiques et en particulier celles portées par les transposons et les gènes soumis à empreinte sont, du fait de leur labilité, hautement sensibles aux agents environnementaux et en particulier à l'alimentation et, en principe, réversibles. Elles jouent donc un rôle crucial au cours du développement et de l'évolution. Dans cet article, nous décrivons brièvement les conséquences physiopathologiques, à l'âge adulte, des conditions nutritionnelles influençant les principales étapes de la programmation épigénétique au cours du développement fœtoplacentaire et postnatal, les coadaptations évolutives des générations et les effets transgénérationnels.

Abréviations

ATP : adénosine triphosphate	MBD : <i>methyl binding domain</i>
BHMT : bétaine-homocystéine méthyltransférase	MS/MTR : méthionine synthétase
CBS : cystathionine béta-synthétase	MTHFR : méthylène tétrahydrofolate réductase
Cdkn1c : cyclin-dependent kinase inhibitor 1C (P57)	MTRR : méthionine synthétase réductase
CoA : coenzyme A	NAD ⁺ : nicotinamide dinucleotide
dATP : désoxyadénosine triphosphate	NAT1 : N-acétyltransférase 1
dGTP : désoxyguanosine triphosphate	Peg1 : <i>paternally expressed gene 1</i>
DHF : dihydrofolate	Peg3 : <i>paternally expressed gene 3</i>
DNMT : méthyltransférase de l'ADN	Plagl1/Zac : <i>pleiomorphic adenoma gene</i>
dTMP : désoxythymidine monophosphate	PPAR : <i>peroxisome proliferator activated receptor</i>
dUMP : désoxyuridine monophosphate	RFC1 : <i>reduced folate carrier 1</i>
GCP2 : glutamate carboxypeptidase II	SAH : S-adénosylhomocystéine
Gnas : <i>neuroendocrine secretory protein</i>	SAM : S-adénosylméthionine
H19 : H19 (voir L Dandolo)Grb10 : <i>growth factor receptor-bound protein 10</i>	SCFA : <i>small chain fatty acid</i>
HAT : histone acétyltransférase	SHMT : sérine hydroxyméthyltransférase
HDAC : histone désacétylase	SIRT1/Sir2 : sirtuins
HMT : histone méthyltransférase	Slc : <i>solute carrier family</i>
Igf2 P0 : <i>promoter 0 insulin like growth factor 2</i>	TCN2 : transcobalamine II
Igf2 : <i>insulin like growth factor 2</i>	THF : tétrahydrofolate
Igf2r : <i>insulin-like growth factor 2 receptor</i>	TS : thymidylate synthétase
Ipl1/Phlda2/TSSC3 : <i>tumor-suppressing subchromosomal transferable fragment 3</i>	xl : <i>extra large isoform</i>
MAT : <i>methionine adenosyltransferase</i>	

Bibliographie

1. Aerts L, Holemans K, Van Assche FA. Maternal diabetes during pregnancy: consequences for the offspring. *Diabetes Metab Rev* 1990; 6: 147-167.
2. Aerts L, Van Assche FA. Animal evidence for the transgenerational development of diabetes mellitus. *Int J Biochem Cell Biol* 2006; 38: 894-903.
3. Anderson LM, Riffle L, Wilson R, Travlos GS, Lubomirski MS, Alvord WG. Preconceptional fasting of fathers alters serum glucose in offspring of mice. *Nutrition* 2006; 22: 327-331.
4. Anway MD, Cupp AS, Uzumcu M, Skinner MK. Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. *Science* 2005; 308: 1466-1469.
5. Anway MD, Memon MA, Uzumcu M, Skinner MK. Transgenerational Effect of the Endocrine Disruptor Vinclozolin on Male Spermatogenesis. *J Androl* 2006 Nov-Dec; 27(6): 868-79.
6. Armitage JA, Khan IY, Taylor PD, Nathanielsz PW, Poston L. Developmental programming of the metabolic syndrome by maternal nutritional imbalance: how strong is the evidence from experimental models in mammals? *J Physiol* 2004; 561: 355-377.
7. Armitage JA, Taylor PD, Poston L. Experimental models of developmental programming: consequences of exposure to an energy rich diet during development. *J Physiol* 2005; 565: 3-8.
8. Auroux M, Dulouste E, Selva J, Rince P. Cyclophosphamide in the F0 male rat: physical and behavioral changes in three successive adult generations. *Mutat Res* 1990; 229: 189-200.
9. Barker DJ, Clark PM. Fetal undernutrition and disease in later life. *Rev Reprod* 1997; 2: 105-112.
10. Barton TS, Robaire B, Hales BF. Epigenetic programming in the preimplantation rat embryo is disrupted by chronic paternal cyclophosphamide exposure. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 7865-7870.
11. Beaudet AL, Jiang YH. A rheostat model for a rapid and reversible form of imprinting-dependent evolution. *Am J Hum Genet* 2002; 70: 1389-1397.
12. Blondeau B, Avril I, Duchene B, Breant B. Endocrine pancreas development is altered in foetuses from rats previously showing intra-uterine growth retardation in response to malnutrition. *Diabetologia* 2002; 45: 394-401.
13. Boucher BJ, Ewen SW, Stowers JM. Betel nut (*Areca catechu*) consumption and the induction of glucose intolerance in adult CD1 mice and in their F1 and F2 offspring [see comments]. *Diabetologia* 1994; 37: 49-55.
14. Branca F, Lorenzetti S. Health effects of phytoestrogens. *Forum Nutr* 2005; 57: 100-111.
15. Bygren LO, Kaati G, Edvinsson S. Longevity determined by paternal ancestors' nutrition during their slow growth period. *Acta Biotheor* 2001; 49: 53-59.
16. Byrnes EM. Transgenerational consequences of adolescent morphine exposure in female rats: effects on anxiety-like behaviors and morphine sensitization in adult offspring. *Psychopharmacology (Berl)* 2005; 182: 537-544.
17. Campbell JH, Perkins P. Transgenerational effects of drug and hormonal treatments in mammals: a review of observations and ideas. *Prog Brain Res* 1988; 73: 535-553.
18. Champagne FA, Curley JP. How social experiences influence the brain. *Curr Opin Neurobiol* 2005; 15: 704-709.
19. Champagne FA, Weaver IC, Diorio J, Dymov S, Szyf M, Meaney MJ. Maternal care associated with methylation of the estrogen receptor-alpha promoter and estrogen receptor-alpha expression in the medial preoptic area of female offspring. *Endocrinology* 2006; 147: 2909-2915.
20. Chen TH, Chiu YH, Boucher BJ. Transgenerational effects of betel-quid chewing on the development of the metabolic syndrome in the Keelung Community-based Integrated Screening Program. *Am J Clin Nutr* 2006; 83: 688-692.
21. Cheng RY, Hockman T, Crawford E, Anderson LM, Shiao YH. Epigenetic and gene expression changes related to transgenerational carcinogenesis. *Mol Carcinog* 2004; 40: 1-11.
22. Cnattingius S, Bergstrom R, Lipworth L, Kramer MS. Prepregnancy weight and the risk of adverse pregnancy outcomes. *N Engl J Med* 1998; 338: 147-152.
23. Curley JP, Barton S, Surani A, Keverne EB. Coadaptation in mother and infant regulated by a paternally expressed imprinted gene. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 2004; 271: 1303-1309.

24. D'Ercole AJ. Mechanisms of in utero overgrowth. *Acta Paediatr* 1999; Suppl 88: 31-36.
25. Dabelea D, Hanson RL, Lindsay RS, Pettitt DJ, Imperatore G, Gabir MM, Roumain J, Bennett PH, Knowler WC. Intrauterine exposure to diabetes conveys risks for type 2 diabetes and obesity: a study of discordant sibships. *Diabetes* 2000; 49: 2208-2211.
26. De Waals F. Le singe en nous (Our inner ape). Fayard, Paris, 2005.
27. DeFronzo RA, Bonadonna RC, Ferrannini E. Pathogenesis of NIDDM. A balanced overview. *Diabetes Care* 1992; 15: 318-368.
28. Dennis KE, Levitt P. Regional expression of brain derived neurotrophic factor (BDNF) is correlated with dynamic patterns of promoter methylation in the developing mouse forebrain. *Brain Res Mol Brain Res* 2005; 140: 1-9.
29. Dolinoy DC, Weidman JR, Waterland RA, Jirtle RL. Maternal genistein alters coat color and protects *Avy* mouse offspring from obesity by modifying the fetal epigenome. *Environ Health Perspect* 2006; 114: 567-572.
30. Drake AJ, Walker BR. The intergenerational effects of fetal programming: non-genomic mechanisms for the inheritance of low birth weight and cardiovascular risk. *J Endocrinol* 2004; 180: 1-16.
31. Drake AJ, Walker BR, Seckl JR. Intergenerational consequences of fetal programming by in utero exposure to glucocorticoids in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005 Jan; 288(1): R34-8.
32. Egger G, Liang G, Aparicio A, Jones PA. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature* 2004; 429: 457-463.
33. Ehrenberg HM, Dierker L, Milluzzi C, Mercer BM. Prevalence of maternal obesity in an urban center. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187: 1189-1193.
34. Elmquist JK, Flier JS. Neuroscience. The fat-brain axis enters a new dimension. *Science* 2004; 304: 63-64.
35. Enard W, Przeworski M, Fisher SE, Lai CS, Wiebe V, Kitano T, Monaco AP, Paabo S. Molecular evolution of FOXP2, a gene involved in speech and language. *Nature* 2002; 418: 869-872.
36. Esch T, Stefano GB. The neurobiology of pleasure, reward processes, addiction and their health implications. *Neuro Endocrinol Lett* 2004; 25: 235-251.
37. Gallou-Kabani C, Junien C. Nutritional epigenomics of metabolic syndrome: new perspective against the epidemic. *Diabetes* 2005; 54: 1899-1906.
38. Gallou-Kabani C, Vige A, Gross MS, Boileau C, Rabes JP, Fruchart-Najib J, Jais JP, Junien C. Resistance to high-fat diet in the female progeny of obese mice fed a control diet during the periconceptual, gestation, and lactation periods. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007; 292: E1095-1100.
39. Galtier-Dereure F, Boegner C, Bringer J. Obesity and pregnancy: complications and cost. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 1242S-1248S.
40. Gauguier D, Bihoreau MT, Ktorza A, Berthault MF, Picon L. Inheritance of diabetes mellitus as consequence of gestational hyperglycemia in rats. *Diabetes* 1990; 39: 734-739.
41. Gross T, Sokol RJ, King KC. Obesity in pregnancy: risks and outcome. *Obstet Gynecol* 1980; 56: 446-450.
42. Grundy SM. Obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 2595-2600.
43. Hajkova P, Erhardt S, Lane N, Haaf T, El-Maari O, Reik W, Walter J, Surani MA. Epigenetic reprogramming in mouse primordial germ cells. *Mech Dev* 2002; 117: 15-23.
44. Han J, Xu J, Epstein PN, Liu YQ. Long-term effect of maternal obesity on pancreatic beta cells of offspring: reduced beta cell adaptation to high glucose and high-fat diet challenges in adult female mouse offspring. *Diabetologia* 2005; Sep; 48(9): 1810-8.
45. Hemmings DG, Veerareddy S, Baker PN, Davidge ST. Increased myogenic responses in uterine but not mesenteric arteries from pregnant offspring of diet-restricted rat dams. *Biol Reprod* 2005; 72: 997-1003.
46. Hiltunen MO, Turunen MP, Hakkinen TP, Rutanen J, Hedman M, Mäkinen K, Turunen AM, Aalto-Setälä K, Ylä-Herttuala S. DNA hypomethylation and methyltransferase expression in atherosclerotic lesions. *Vasc Med* 2002; 7: 5-11.
47. Hogarth CA, Roy A, Ebert DL. Genomic evidence for the absence of a functional cholesteryl ester transfer protein gene in mice and rats. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 2003; 135: 219-229.
48. Issa JP. Epigenetic variation and human disease. *J Nutr* 2002; 132: 2388S-2392S.
49. Jablonka E, Lachmann M, Lamb MJ. Evi-

dence, mechanisms and models for the inheritance of acquired characters. *Journal of theoretical Biology* 1992; 158: 245-268.

50. Jablonka E, Lamb MJ. The changing concept of epigenetics. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 981: 82-96.

51. Junien C. L'empreinte parentale : de la guerre des sexes à la solidarité entre générations. *Médecine/Sciences* 2000; 3: 336-344.

52. Kaati G, Bygren LO, Edvinsson S. Cardiovascular and diabetes mortality determined by nutrition during parents' and grandparents' slow growth period. *Eur J Hum Genet* 2002; 10: 682-688.

53. Kelley AE. Memory and addiction: shared neural circuitry and molecular mechanisms. *Neuron* 2004; 44: 161-179.

54. Kelley AE, Schiltz CA, Landry CF. Neural systems recruited by drug- and food-related cues: studies of gene activation in corticolimbic regions. *Physiol Behav* 2005; 86: 11-14.

55. Klebig ML, Wilkinson JE, Geisler JG, Woychik RP. Ectopic expression of the agouti gene in transgenic mice causes obesity, features of type II diabetes, and yellow fur. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92: 4728-4732.

56. Koturbash I, Baker M, Loree J, Kutanzi K, Hudson D, Pogribny I, Sedelnikova O, Bonner W, Kovalchuk O. Epigenetic dysregulation underlies radiation-induced transgenerational genome instability in vivo. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006; 66: 327-330.

57. Kwong WY, Wild AE, Roberts P, Willis AC, Fleming TP. Maternal undernutrition during the preimplantation period of rat development causes blastocyst abnormalities and programming of postnatal hypertension. *Development* 2000; 127: 4195-4202.

58. 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: 965-974.

59. Leahy JL. Natural history of beta-cell dysfunction in NIDDM. *Diabetes Care* 1990; 13: 992-1010.

60. Levin BE. The obesity epidemic: metabolic imprinting on genetically susceptible neural circuits. *Obesity Research* 2000; 8: 342-347.

61. Levin BE, Govek E. Gestational obesity accentuates obesity in obesity-prone progeny. *Am J Physiol* 1998; 275: R1374-1379.

62. Lewis RM, Forhead AJ, Pety CJ, Ozanne

SE, Hales CN. Long-term programming of blood pressure by maternal dietary iron restriction in the rat. *Br J Nutr* 2002; 88: 283-290.

63. Li X, Li W, Wang H, Cao J, Maehashi K, Huang L, Bachmanov AA, Reed DR, Legrand-Defretin V, Beauchamp GK, Brand JG. Pseudogenization of a sweet-receptor gene accounts for cats' indifference toward sugar. *PLoS Genet* 2005; 1: 27-35.

64. Lumey LH. Decreased birthweights in infants after maternal in utero exposure to the Dutch famine of 1944-1945. *Paediatr Perinat Epidemiol* 1992; 6: 240-253.

65. Lumey LH, Stein AD. Offspring birth weights after maternal intrauterine undernutrition: a comparison within sibships. *Am J Epidemiol* 1997; 146: 810-819.

66. Lund G, Andersson L, Lauria M, Lindholm M, Fraga MF, Villar-Garea A, Ballestar E, Esteller M, Zaina S. DNA methylation polymorphisms precede any histological sign of atherosclerosis in mice lacking apolipoprotein E. *J Biol Chem* 2004; 279(28): 29147-54.

67. Martin DI, Ward R, Suter CM. Germline epimutation: A basis for epigenetic disease in humans. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1054: 68-77.

68. Martin JF, Johnston CS, Han CT, Benyshek DC. Nutritional origins of insulin resistance: a rat model for diabetes-prone human populations. *J Nutr* 2000; 130: 741-744.

69. Martin RM, Smith GD, Frankel S, Gunnell D. Parents' growth in childhood and the birth weight of their offspring. *Epidemiology* 2004; 15: 308-316.

70. Misra DP, Astone N, Lynch CD. Maternal smoking and birth weight: interaction with parity and mother's own in utero exposure to smoking. *Epidemiology* 2005; 16: 288-293.

71. Mokdad AH, Serdula MK, Dietz WH, Bowman BA, Marks JS, Koplan JP. The spread of the obesity epidemic in the United States, 1991-1998. *Jama* 1999; 282: 1519-1522.

72. Moraes RC, Blondet A, Birkenkamp-Demtroeder K, Tirard J, Orntoft TF, Gertler A, Durand P, Naville D, Begeot M. Study of the alteration of gene expression in adipose tissue of diet-induced obese mice by microarray and reverse transcription-polymerase chain reaction analyses. *Endocrinology* 2003; 144: 4773-4782.

73. Muskiet FA. The importance of (early) folate status to primary and secondary coronary artery disease prevention. *Reprod Toxicol* 2005; 20:

403-410.

74. Ozanne SE, Fernandez-Twinn D, Hales CN. Fetal growth and adult diseases. *Semin Perinatol* 2004; 28: 81-87.
75. Ozanne SE, Hales CN. Lifespan: catch-up growth and obesity in male mice. *Nature* 2004; 427: 411-412.
76. Patel MS, Srinivasan M. Metabolic programming: causes and consequences. *J Biol Chem* 2002; 277: 1629-1632.
77. Pembrey M. Imprinting and transgenerational modulation of gene expression; human growth as a model. *Acta Genet Med Gemellol (Roma)* 1996; 45: 111-125.
78. Pembrey ME, Bygren LO, Kaati G, Edvinsson S, Northstone K, Sjöström M, Golding J. Sex-specific, male-line transgenerational responses in humans. *Eur J Hum Genet* 2006; 14: 159-166.
79. Pettitt D. Diabetes in subsequent generations. In A Dornhorst & Dr Hadden (Eds), *Diabetes and pregnancy an international approach to diagnosis and management* (pp 367-376) Chichester: John Wiley and Sons, 1996.
80. Pettitt DJ, Aleck KA, Baird HR, Carraher MJ, Bennett PH, Knowler WC. Congenital susceptibility to NIDDM. Role of intrauterine environment. *Diabetes* 1988; 37: 622-628.
81. Pinto ML, Shetty PS. Influence of exercise-induced maternal stress on fetal outcome in Wistar rats: inter-generational effects. *Br J Nutr* 1995; 73: 645-653.
82. Plagemann A, Harder T, Franke K, Kohlhoff R. Long-term impact of neonatal breast-feeding on body weight and glucose tolerance in children of diabetic mothers. *Diabetes Care* 2002; 25: 16-22.
83. Plagemann A, Harder T, Kohlhoff R, Rohde W, Dörner G. Glucose tolerance and insulin secretion in children of mothers with pregestational IDDM or gestational diabetes. *Diabetologia* 1997; 40: 1094-1100.
84. Plagemann A, Harder T, Kohlhoff R, Rohde W, Dörner G. Overweight and obesity in infants of mothers with long-term insulin-dependent diabetes or gestational diabetes. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1997; 21: 451-456.
85. Pogribny I, Raiche J, Slovack M, Kovalchuk O. Dose-dependence, sex- and tissue-specificity, and persistence of radiation-induced genomic DNA methylation changes. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 320: 1253-1261.
86. Raiche J, Rodriguez-Juarez R, Pogribny I, Kovalchuk O. Sex- and tissue-specific expression of maintenance and de novo DNA methyltransferases upon low dose X-irradiation in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 325: 39-47.
87. Rakyán VK, Chong S, Champ ME, Cuthbert PC, Morgan HD, Luu KV, Whitelaw E. Transgenerational inheritance of epigenetic states at the murine Axin(Fu) allele occurs after maternal and paternal transmission. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 2538-2543.
88. Ramakrishnan U, Martorell R, Schroeder DG, Flores R. Role of intergenerational effects on linear growth. *J Nutr* 1999; 129: 544S-549S.
89. Reusens B, Remacle C. Intergenerational effect of an adverse intrauterine environment on perturbation of glucose metabolism. *Twin Res* 2001; 4: 406-411.
90. Reusens B, Remacle C. Programming of the endocrine pancreas by the early nutritional environment. *Int J Biochem Cell Biol* 2006; 38(5-6): 913-22.
91. Roseboom T, de Rooij S, Painter R. The Dutch famine and its long-term consequences for adult health. *Early Hum Dev* 2006; 82: 485-491.
92. Ruden DM, Xiao L, Garfinkel MD, Lu X. Hsp90 and environmental impacts on epigenetic states: a model for the trans-generational effects of diethylstilbestrol on uterine development and cancer. *Hum Mol Genet* 2005; 14 Spec No 1: R149-155.
93. Sapolsky RM. Mothering style and methylation. *Nat Neurosci* 2004; 7: 791-792.
94. Seckl JR, Meaney MJ. Glucocorticoid "programming" and PTSD risk. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1071: 351-378.
95. Shenassa ED, McCaffery JM, Swan GE, Khroyan TV, Shakib S, Lerman C, Lyons M, Mouttapa M, Niaura RS, Buka SL, Leslie F, Santangelo SL. Intergenerational transmission of tobacco use and dependence: a transdisciplinary perspective. *Nicotine Tob Res* 2003; 5 Suppl 1: S55-69.
96. Skinner MK, Anway MD. Seminiferous cord formation and germ-cell programming: epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1061: 18-32.
97. Sollars V, Lu X, Xiao L, Wang X, Garfinkel MD, Ruden DM. Evidence for an epigenetic mechanism by which Hsp90 acts as a capacitor for morphological evolution. *Nat Genet* 2003; 33: 70-74.
98. Spotswood HT, Turner BM. An increasin-

- gly complex code. *J Clin Invest* 2002; 110: 577-582.
99. Srinivasan M, Aalinkeel R, Song F, Mirani P, Pandya JD, Strutt B, Hill DJ, Patel MS. Maternal hyperinsulinemia predisposes rat fetuses for hyperinsulinemia, and adult-onset obesity and maternal mild food restriction reverses this phenotype. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 290: E129-E134.
100. Srinivasan M, Aalinkeel R, Song F, Patel MS. Programming of islet functions in the progeny of hyperinsulinemic/obese rats. *Diabetes* 2003; 52: 984-990.
101. Srinivasan M, Katewa SD, Palaniyappan A, Pandya JD, Patel MS. Maternal high-fat diet consumption results in fetal malprogramming predisposing to the onset of metabolic syndrome-like phenotype in adulthood. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 291: E792-799.
102. Stein AD, Lumey LH. The relationship between maternal and offspring birth weights after maternal prenatal famine exposure: the Dutch Famine Birth Cohort Study. *Hum Biol* 2000; 72: 641-654.
103. Stewart RJ, Preece RF, Sheppard HG. Twelve generations of marginal protein deficiency. *Br J Nutr* 1975; 33: 233-253.
104. Takahashi M, Kamei Y, Ezaki O. Mest/Peg1 imprinted gene enlarges adipocytes and is a marker of adipocyte size. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2004.
105. Thomas F, Balkau B, Vauzelle-Kervroedan F, Papoz L. Maternal effect and familial aggregation in NIDDM. The CODIAB Study. CODIAB-INSERM-ZENEGA Study Group. *Diabetes* 1994; 43: 63-67.
106. Vadlamudi S, Kalhan SC, Patel MS. Persistence of metabolic consequences in the progeny of rats fed a HC formula in their early postnatal life. *Am J Physiol* 1995; 269: E731-738.
107. Van Assche FA, Aerts L, Holemans K. The effects of maternal diabetes on the offspring. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol* 1991; 5: 485-492.
108. Van Assche FA, Holemans K, Aerts L. Long-term consequences for offspring of diabetes during pregnancy. *Br Med Bull* 2001; 60: 173-182.
109. Walsh CP, Chaillet JR, Bestor TH. Transcription of IAP endogenous retroviruses is constrained by cytosine methylation. *Nat Genet* 1998; 20: 116-117.
110. Wang MH, vom Saal FS. Maternal age and traits in offspring. *Nature* 2000; 407: 469-470.
111. Waterland RA, Dolinoy DC, Lin JR, Smith CA, Shi X, Tahiliani KG. Maternal methyl supplements increase offspring DNA methylation at Axin fused. *Genesis* 2006; 44: 401-406.
112. Waterland RA, Lin JR, Smith CA, Jirtle RL. Post-weaning diet affects genomic imprinting at the insulin-like growth factor 2 (Igf2) locus. *Hum Mol Genet* 2006; 15: 705-716.
113. Weaver IC, Cervoni N, Champagne FA, D'Alessio AC, Sharma S, Seckl JR, Dymov S, Szyf M, Meaney MJ. Epigenetic programming by maternal behavior. *Nat Neurosci* 2004; 7: 847-854.
114. Wolff GL, Kodell RL, Moore SR, Cooney CA. Maternal epigenetics and methyl supplements affect agouti gene expression in Avy/a mice. *Faseb J* 1998; 12: 949-957.
115. Young LE. Imprinting of genes and the Barker hypothesis. *Twin Res* 2001; 4: 307-317.
116. Zambrano E, Martinez-Samayoá PM, Bautista CJ, Deas M, Guillen L, Rodriguez-Gonzalez GL, Guzman C, Larrea F, Nathanielsz PW. Sex differences in transgenerational alterations of growth and metabolism in progeny (F2) of female offspring (F1) of rats fed a low protein diet during pregnancy and lactation. *J Physiol* 2005; 566: 225-236.
117. Zhang TY, Bagot R, Parent C, Nesbitt C, Bredy TW, Caldji C, Fish E, Anisman H, Szyf M, Meaney MJ. Maternal programming of defensive responses through sustained effects on gene expression. *Biol Psychol* 2006; 73: 72-89.
118. Obépi 2006, www.roche.fr