

Université de Montréal

**Conséquences d'un Environnement Foetal Défavorable sur le Système
Cardiovasculaire de Rat Adulte**

Par
Marie-Claude Battista

Département de Sciences Biomédicales
Faculté de Médecine

Thèse présentée à la Faculté des études supérieures en vue de l'obtention du
grade de Philosophiae Doctorae (PhD) en Sciences Biomédicales

octobre, 2004



Copyright, Marie-Claude Battista, 2004

W

4

U58

2005

V. 010

Direction des bibliothèques

AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Cette thèse intitulée :
**Conséquences d'un environnement foetal défavorable sur le système
cardiovasculaire de rat adulte**

présentée par :
Marie-Claude Battista

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes :

Dr. Johanne Tremblay
président rapporteur

Dr. Michèle Brochu
directrice de recherche

Dr. Angelino Calderone
membre du jury

Dr. Jean-Paul Praud
examineur externe

SOMMAIRE

Des études épidémiologiques ont démontré une association entre le petit poids de naissance et la possibilité de développer des pathologies dans la vie adulte. Des études antérieures effectuées dans notre laboratoire ont démontré qu'une diète faible en sodium donnée à des rates pour la dernière semaine de gestation (sur 3) entraîne une diminution du diamètre des vaisseaux utérins, une réduction du poids des placentas et les fœtus sont plus petits en taille et en longueur. Ces données suggèrent une diminution de la perfusion placentaire ainsi qu'un environnement fœtal défavorable. Dans la présente thèse, nous proposons l'hypothèse qu'un environnement fœtal défavorable, induit par la diète faible en sel à la rate gestante, conduit au développement de pathologies dans la vie adulte chez la progéniture.

Le premier objectif vise à caractériser le modèle animal. Nous avons observé que les mères ayant reçu la diète faible en sodium donnent naissance à des rats de petits poids (expérimentaux). À 12 semaines (adultes), ces animaux sont toujours plus petits que leurs témoins. Par méthode indirecte de calottage de la queue, nous avons démontré que la pression artérielle des rats expérimentaux est supérieure aux témoins et ce, tout au cours du développement. Chez les mâles expérimentaux, une augmentation de l'activité rénine et de l'urée plasmatique sont rapportées. Dans le plasma des femelles expérimentales adultes, nous observons une augmentation de l'activité rénine, une réduction de l'aldostérone ainsi qu'une élévation des concentrations d'urée et de créatinine. Chez ces dernières, nous

avons démontré une augmentation du ratio du poids du ventricule gauche sur le poids total de l'animal suggérant une hypertrophie cardiaque. Ces données démontrent que l'élévation de la pression artérielle chez les animaux avec restriction de croissance intrautérine (RCIU) est associée à une dysfonction rénale, cardiaque ainsi qu'à une altération du système rénine-angiotensine-aldostérone.

Les objectifs spécifiques du deuxième volet de l'étude sont d'explorer les altérations moléculaires et cellulaires de l'hypertrophie cardiaque observée chez les femelles expérimentales. Par microscopie confocale, nous avons démontré que les cardiomyocytes de ces animaux sont plus volumineux en raison d'une augmentation de leur épaisseur. De plus, les myocytes du ventricule gauche ont de plus longs sarcomères comparativement aux témoins. Par utilisation de micropuces d'ADN, une surexpression du peptide natriurétique de l'oreillette et de l'isoforme atriale des chaînes légères de la myosine sont observées dans le ventricule gauche des femelles expérimentales comparativement aux témoins. De plus, la sous-expression de l'isoforme $\beta 1$ de la $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{ATPase}$ est accompagnée d'une diminution de la contractilité des cardiomyocytes ainsi que d'une réduction de l'activité de l'aconitase. La diminution de l'activité de cette enzyme du cycle tricarboxylique suggère une augmentation du stress oxydatif. Nous proposons que le stress oxydatif serait à la base des altérations cellulaires et moléculaires dans ce modèle d'hypertrophie cardiaque.

En conclusion, nos résultats confirment l'hypothèse qu'un environnement foetal défavorable conduit au développement de pathologies dans la vie adulte.

Nous avons démontré que les femelles nées avec un petit poids développent à la fois une pression artérielle supérieure et une hypertrophie cardiaque. Finalement, l'environnement foetal n'a pas la même influence sur les 2 sexes puisque, dans notre modèle, les atteintes sont beaucoup plus marquées chez les femelles.

Mots clés: programmation foetale des maladies adultes, restriction de croissance intrautérine, hypertension, rein, système rénine-angiotensine-aldostérone, hypertrophie cardiaque, ventricule gauche

SUMMARY

Epidemiological studies have shown a link between low birth weight and adult diseases. Previous studies in our laboratory have reported that low-sodium diet given to the dams for the last week of gestation (out of 3) results in decreased uterine vessels diameter, reduced placental weight and foetal weight and height. These data suggests decreased placental perfusion and adverse intrauterine environment. In the present thesis, we hypothesized that adverse intrauterine environment leads to the programming of adult diseases.

Our first objective was to characterize the animal model. We have observed that dams receiving the low-sodium diet were giving birth to newborns of lower weight (experimentals). At 12 weeks of age, these animals were still smaller than controls. Using the indirect tail-cuff measuring system, we have shown that systolic blood pressure was increased in experimental animals when compared to controls. In experimental males, plasma renin activity (PRA) and plasma urea concentrations were increased. In experimental females, we observed increased PRA, decreased plasma aldosterone concentrations and elevated urea and creatinine plasma levels. Moreover, experimental females showed increased left cardiac ventricle to body weight ratio when compared to female controls. This result suggest cardiac hypertrophy. These data suggest that elevation of systolic blood pressure observed in experimental animals was associated with renal and cardiac dysfunction and alterations of the renin-angiotensin-aldosterone system.

In the second part of the study, the specific aims were to explore the cellular and molecular alterations of cardiac hypertrophy observed in experimental females. By using confocal microscopy, we showed increased cardiomyocytes volume secondary to increase myocyte depth. These myocytes had also longer sarcomeres. Increase in mRNA expression of the atrial natriuretic peptide and the atrial isoform of the myosin light chain genes was observed in the left cardiac ventricle of experimental females after DNA microarray experiments. Moreover, $\beta 1$ subunit of the $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{ATPase}$ was decreased at the mRNA and protein levels and this was accompanied by reduced cardiomyocyte contractility and aconitase activity. Reduction in this tricarboxylic cycle enzyme activity reflects increased oxidative stress. We thus propose that oxidative stress may be part of the reason for cellular and molecular alterations seen in cardiac hypertrophy found in experimental adult females.

In conclusion, these results support our hypothesis that adverse intrauterine environment leads to diseased in adulthood. We have shown that experimental females born with low-birth weight develops higher systolic blood pressure and cardiac hypertrophy. Finally, foetal environment has different influences and regulations upon sexes since, in our model, alterations are more defective in experimental females than males.

Key words: foetal programming of adult disease, intrauterine growth restriction, hypertension, kidney, renin-angiotensin-aldosterone system, cardiac hypertrophy, left cardiac ventricle

TABLE DES MATIÈRES

Titre.....	i
Page d'identification du jury.....	ii
Sommaire en français.....	iii
Sommaire en anglais.....	vi
Table des matières.....	viii
Liste des figures.....	xii
Liste des tableaux.....	xv
Liste des abréviations.....	xvii
1. INTRODUCTION.....	1
1.1 LES CONSÉQUENCES À COURT TERME D'UN ENVIRONNEMENT FŒTAL DÉFAVORABLE	2
1.1.1 La restriction de croissance intrautérine (RCIU).....	3
1.1.2 L'étiologie de la RCIU.....	3
1.1.3 Les conséquences à court terme	4
1.1.3.1 Redistribution du flux sanguin.....	5
1.1.3.2 Modifications métaboliques	6
1.1.3.3 Modifications endocriniennes	7
1.2 CONSÉQUENCES À LONG TERME	8
1.2.1 La restriction de croissance intrautérine.....	8
1.2.2 La période de récupération (« catch-up growth »).....	11

1.7 LES MODÈLES ANIMAUX DE PROGRAMMATION FŒTALE	56
1.7.1 Les modèles utilisant la manipulation alimentaire	56
1.7.1.1 Diète restreinte en calories	56
1.7.1.2 Diète restreinte en protéines	58
1.7.2 La surexposition aux glucocorticoïdes	62
1.7.3 Le modèle d'hypoxie foetale	64
1.7.4 Le modèle génétique de rat spontanément hypertendu (SHR)	65
1.8 JUSTIFICATION DE NOTRE MODÈLE ANIMAL	66
1.8.1 Le rat, modèle de programmation foetale.....	66
1.8.2 Développement de notre modèle animal.....	68
1.9 HYPOTHÈSES ET OBJECTIFS DE TRAVAIL	70
2. ARTICLE 1.....	72
INTRAUTERINE GROWTH RESTRICTION IN RATS IS ASSOCIATED WITH HYPERTENSION AND RENAL DYSFUNCTION IN ADULTHOOD	
3. ARTICLE 2.....	114
INTRAUTERINE GROWTH RESTRICTION AND THE PROGRAMMING OF LEFT VENTRICULAR HYPERTROPHY IN FEMALE RATS..	
4. DISCUSSION.....	149
4.1 Modèle animal de programmation foetale.....	150
4.2 Hypertrophie cardiaque.....	152
4.3 Importance du sexe dans la pathologie retrouvée à l'âge adulte.....	156

4.3 Importance du sexe dans la pathologie retrouvée à l'âge adulte.....	156
4.4 Stress oxydatif, modification ionique et expression génique. Influence sur la fonction cardiovasculaire	162
4.5 Conséquences sur l'axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien.....	166
4.6 Importance de la période post-natale	169
4.7 Conséquences rénales	170
5. CONCLUSION.....	172
6. REMERCIEMENTS	175
7. RÉFÉRENCES.....	178

LISTE DES FIGURES

1. INTRODUCTION

Figure 1: Adaptations du fœtus à un environnement foetal défavorable.....	5
Figure 2 : Méta-analyse démontrant le changement de pression artérielle systolique/kg de poids gagné à la naissance.....	10
Figure 3 : Facteurs impliqués dans la régulation normale de la pression artérielle.....	16
Figure 4 : Schéma de l'appareil juxtaglomérulaire.....	20
Figure 5 : Sécrétion de la rénine et formation de l'angiotensine II.....	21
Figure 6 : Transporteurs impliqués dans la réabsorption au niveau du tubule rénal	24
Figure 7 : Mécanismes physiopathologiques de l'hypertension artérielle.....	27
Figure 8 : Effet de l'environnement sur l'expression de gènes promouvant l'élévation de la pression diastolique.....	33
Figure 9 : Pression artérielle systolique et diastolique moyenne regroupée par âge et groupe ethnique chez les hommes et chez les femmes dans une population américaine âgée de plus de 18 ans.....	35
Figure 10 : Interaction actine-myosine.....	42
Figure 11 : Rôle de modulateur de l'ANP dans l'hypertrophie cardiaque.....	48
Figure 12 : Méthodologie de la micropuce Affymetrix	51

Figure13 : Distribution des espèces dans les différentes expériences animales effectuées pour l'étude de la restriction de croissance intrautérine.....	67
---	----

2. ARTICLE 1

Figure 1 : Time course of systolic blood pressure in intrauterine growth-restricted (IUGR) male (A) and female (B) rat offspring during development between the ages of 5 and 12 wk. Statistical analyses were performed using a two-way ANOVA with repeated measures. Results are expressed as mean \pm SE.....	112
--	-----

Figure 2: Effect of IUGR on atrial natriuretic peptide (ANP) mRNA in the left cardiac ventricles of 12-wk-old female and male adults. Northern blot analyses were performed on 20 μ g total RNA. <i>Top</i> : autoradiogram of a representative experiment. <i>Bottom</i> : means \pm SE of 5 separate experiments after standardization with the 18S ribosomal probe. * P < 0.05 vs controls.....	113
--	-----

3. ARTICLE 2

Figure 1: RT-PCR validation of genes selected from the gene chip.....	145
---	-----

Figure 2: Comparative gene expression for a)MRLC-2 b) β -MHC c) Na^+/K^+ -ATPase β 1 d) α MLC-1 and e)ANP relative to GAPDH by RT-PCR in left ventricles from adult female control and IUGR rats using column statistic analysis.....	146
Figure 3: Western blot analysis of Na^+/K^+ -ATPase β 1 protein from left ventricles of adult female control and IUGR rats.....	147
Figure 4: Activities for two TCA cycle enzymes in left cardiac ventricles of adult female control and IUGR rats.	148

LISTE DES TABLEAUX

1. INTRODUCTION

Tableau 1: Causes de la restriction de croissance intrautérine.....	4
Tableau 2: Expression des différentes isoformes des gènes codant pour des protéines contractiles cardiaques au cours du développement et de l'hypertrophie cardiaque concentrique.....	44
Tableau 3: Développement du méso- et métanéphros chez l'humain et le rat	68

2. ARTICLE 1

Table 1: Total body, brain, cardiac ventricle, and renal weights of fetuses, 1-wk –old offspring and 12-wk male and female adult offspring with mothers on normal (controls) or low-sodium (IUGR) diets.....	107
Table 2: Renin-angiotensin-aldosterone system and plasma corticosterone levels of 12-wk male and female offspring with mothers on controls or IUGR diets.....	108
Table 3: Plasma glucose, electrolytes, hematocrit, urea and creatinine of 12-wk male and female offspring with mothers on controls or IUGR diets.....	109
Table 4: Urinary electrolytes and urea of 12-wk male and female offspring with mothers on controls or IUGR diets.....	110

Table 5: Number and area of glomeruli present in the kidney of fetuses, 1-wk offspring, and adult rats with mothers on controls or IUGR diets111

3. ARTICLE 2

Table 1: PCR primers designed (by alpha DNA) for genes of interest.....142

Table 2: Relative changes in expression of hypertrophic marker genes in female adult IUGR rats.....143

Table3: Morphometric and contractility measurements for isolated cardiomyocytes from adult female control and IUGR rats.....144

LISTE DES ABRÉVIATIONS

α	:alpha
β	:bêta
β -MHC	:beta Myosin Heavy Chain (isoforme bêta de la chaîne lourde de la myosine)
11 β -HSD2	:11 bêta-hydroxystéroïde déhydrogénase de type 2
ACTH	:Corticotrophine
ADN	:Acide désoxyribonucléique
AI	:Angiotensine I
AII	:Angiotensine II
aMLC-1	:Atrial Myosin Light Chain 1 (isoforme atriale de la chaîne légère de la myosine)
ANP	:Atrial Natriuretic Peptide (peptide natriurétique de l'oreillette)
AQP	:Aquaporine
ARNm	:Acide Ribonucléique Messenger
AT ₁	:Récepteur de type AT ₁ de l'angiotensine II
AT ₂	:Récepteur de type AT ₂ de l'angiotensine II
ATP	:Adénosine triphosphate
AVP	:Arginine vasopressine (hormone antidiurétique)
BNP	:Brain Natriuretic Peptide (peptide natriurétique du cerveau)
bp	:Base Pair (paire de base)

CA	:Carbonic Anhydrase
Ca ²⁺ ATPase (SERCA2)	:Pompe Ca ²⁺ ATPase du réticulum sarcoplasmique
CNP	:Peptide natriurétique produit par l'endothélium vasculaire
CRH	:Corticolibérine
DOCA	:Déoxycorticostérone acétate
ECA	:Enzyme de conversion de l'angiotensine II
Egr-1	:Early growth response gene-1 (gène de réponse à une croissance précoce)
ENaC	:Canal sodique apical du tubule collecteur
eNOS	:Endothelial Nitric Oxide Synthase (synthase de l'oxyde nitrique endothéliale)
Epas 1	:Gène codant pour un membre de la famille des facteurs induit par l'hypoxie, HIF-2 α
ER α	:Estrogen Receptor alpha (récepteur aux oestrogènes alpha)
ER β	:Estrogen Receptor beta (récepteur aux oestrogènes bêta)
ERK	:Extracellular Signal Related Kinase (kinase reliée au signal extracellulaire)
ET	:Endothéline
ANF	:Facteur natriurétique de l'oreillette
GATA4	:Facteur de transcription impliqué dans la régulation de l'expression génique au niveau des myocytes cardiaque

GMPc	:Guanosine 3',5'- monophosphate cyclique
2HAPI	:High-density Array Pattern Interpreter (logiciel d'analyse des micropuces d'ADN)
HIF	:Hypoxic Inducible Factor (facteur induit par l'hypoxie)
IGF	:Insulin-like Growth Factor (facteur de croissance analogue à l'insuline)
IGFBP	:IGF Binding Protein (protéine de liaison de l'IGF)
kg	:Kilogramme
l	:Litre
L-NAME	:N-nitro-L-arginine methyl ester
MAPK	:Mitogen-Activated Protein Kinase (protéine kinase activée par les mitogènes)
MEF2	:Myocyte Enhancer Factor (facteur stimulant les myocytes)
MHC	:Myosin Heavy Chain (chaîne lourde de la myosine)
MLC	:Myosin Light Chain (chaîne légère de la myosine)
MLCK	:Myosin Light Chain Kinase (kinase des chaînes légères de la myosine)
M	:Molaire
mg	:Milligramme
ml	:Millilitre
mm	:Millimètre
mmHg	:Millimètre de mercure
mmol	:Millimolaire

MRLC (MRLC-2)	:Myosin Regulatory Light Chain (chaîne régulatrice des chaînes légères)
μg	:Microgramme
μm	:Micromètre (micron)
μmol	:Micromole
NA	:Noradrénaline
$\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$:Antiport sodium/calcium
Na^+/H^+	:Antiport sodium/proton
$\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$:Cotransport sodium/potassium/2 chlores
$\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{ATPase}$:Pompe à sodium et potassium
$\text{Na}^+:\text{Cl}^-$:Cotransport sodium/chlore
$\text{Na}^+:\text{HCO}_3^-$:Cotransport sodium/bicarbonate
$\text{Na}^+:\text{X}$:Cotransport sodium/substrat
NADPH	:Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Hydrogen
nmol	:Nanomole
NO	:Nitric oxide (oxyde nitrique)
NPR-A	:Récepteur de l'ANP et BNP
P45011 β	:Enzyme synthétisant la corticostérone
P450aldo	:Enzyme synthétisant l'aldostérone
PFPA	:Programmation fœtale des pathologies adultes
pl	:Picolitre
pmol	:Picomole

Ras	:Oncogène ayant une activité GTPasique impliqué dans la transduction du signal intracellulaire pour favoriser la croissance de la cellule
RCIU	:Restriction de Croissance IntraUtérine
RLO	:Radicaux Libres Oxygénés ($O_2^{\cdot-}$)
SERCA2	:Pompe favorisant l'entrée de calcium dans le réticulum sarcoplasmique
SHR	:Spontaneously Hypertensive Rats (rats spontanément hypertendus)
SHR-SP	:Spontaneously Hypertensive Rats Stroke Prone (rats spontanément hypertendus prédisposés aux accidents vasculaires cérébrales)
SOD	:Superoxide dismutase
SRA	:Système Rénine-Angiotensine
SRAA	:Système Rénine-Angiotensine-Aldostérone
TGF- β	:Transforming growth factor beta (facteur de croissance transformant de type bêta)
WKY	: Wistar Kyoto

1. INTRODUCTION

CHAPITRE 1- INTRODUCTION

Des études épidémiologiques ont démontré une association entre des conditions fœtales défavorables et la possibilité de développer des pathologies à l'âge adulte. Mes principaux intérêts étaient de caractériser le modèle animal de condition intrautérine néfaste développé préalablement dans le laboratoire, de vérifier si les rats nés de cet environnement développaient des maladies au cours de leur croissance et si tel était le cas, d'étudier les mécanismes reliant les deux événements. Ainsi, dans les prochaines pages, nous allons revoir 1) les conséquences d'un environnement fœtal défavorable, 2) la théorie de la programmation fœtale, 3) la régulation de la pression artérielle, 4) l'hypertension artérielle, 5) l'hypertrophie cardiaque et 6) les modèles animaux de programmation fœtale. Finalement, je justifierai l'utilisation du modèle animal et j'exposerai mes hypothèses et objectifs de travail.

1.1 LES CONSÉQUENCES À COURT TERME D'UN ENVIRONNEMENT FŒTAL DÉFAVORABLE

Le paramètre le plus souvent utilisé pour déterminer si les conditions fœtales étaient adéquates est le poids de naissance. Ainsi, la restriction de croissance intrautérine (RCIU) constitue un indice pour évoquer un environnement fœtal défavorable.

1.1.1 La restriction de croissance intrautérine (RCIU)

Chez l'humain, la RCIU est une pathologie de la grossesse se définissant par un poids inférieur à 2,500g chez le nouveau-né à terme ou lorsque ce dernier se retrouve, dans les courbes de croissance, en dessous du 10^e percentile pour l'âge gestationnel. La RCIU constitue la 2^e cause de morbidité et mortalité périnatale après la prématurité (Bernstein, 1996). Son incidence dans la population est d'environ 4-7% (Vandenbosche, 1998). La RCIU peut être définie comme étant symétrique ou asymétrique. Puisque la RCIU symétrique se produit très tôt dans la grossesse, au moment de la division cellulaire, le fœtus sera petit mais bien proportionné. En revanche, la RCIU asymétrique a lieu beaucoup plus tardivement et sera généralement causée par un transfert inadéquat de nutriments et d'oxygène de la mère au fœtus. Ainsi, la croissance du fœtus sera disproportionnée (Resnik, 2002; Peleg, 1998).

1.1.2 L'étiologie de la RCIU

La RCIU est une pathologie multifactorielle dans laquelle des facteurs maternels et foeto-placentaires doivent être pris en considération (Tableau 1). Du côté maternel, l'hypertension chronique et la pré-éclampsie constituent les 2 plus grands facteurs. On note aussi les infections virales, la gémelliparité ainsi que la consommation d'alcool, de drogues et de tabac. Du côté fœtal, les causes les plus fréquentes d'une RCIU sont les malformations congénitales et les aberrations chromosomiques (Vandenbosche, 1998). D'autre part, 40% des cas de RCIU ne

sont pas reliés à une condition sous-jacente connue. La RCIU peut être associée à la malnutrition et à l'hypoxie maternelle (Usher, 1974). Il a aussi été démontré que l'augmentation du volume circulant associée à la grossesse normale est diminuée dans certains cas de RCIU idiopathique chez l'humain (Rosso, 1993). Ces données suggèrent que chez la mère, une contraction volumique, une sous-alimentation ou une diminution de l'apport en oxygène affecteraient aussi la croissance du fœtus.

Tableau 1- Causes de la restriction de croissance intrautérine

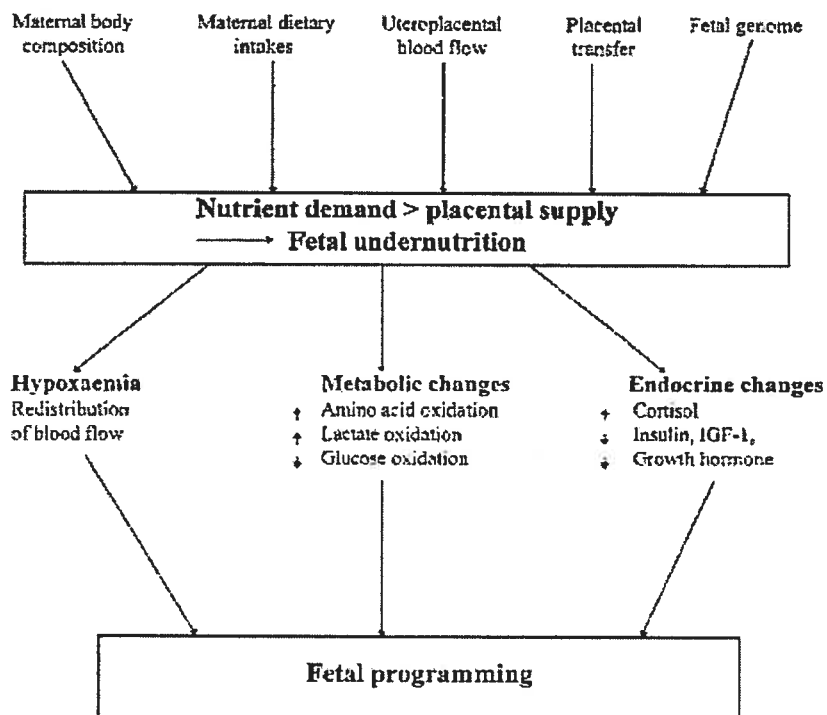
<p>Insuffisance placentaire Élévation non expliquée de alpha- foetoprotéine maternelle Prééclampsie Idiopathique Maladie maternelle chronique Maladie Cardiovasculaire Diabète Hypertension Placentation Anormale Placenta Abruptio Placenta Previa Infarction Placenta Circumvallate Placenta Accretia Hémangiome Maladies Génétiques Histoire Familiale Trisomie 13, 18 et 21 Triplodie Syndrome de Turner (quelques cas)</p>	<p>Malformations Immunologiques Syndrome Antiphospholipides Infections Cytomégalo virus Rubéole Herpes Toxoplasmose Malformations Métaboliques Phénylcétonurie Nutrition maternelle déficiente Abus de substances (cigarette, alcool, drogues) Grossesses Multiples Faible statut socioéconomique</p>
---	---

Traduit de: Peleg (1998)

1.1.3 Les conséquences à court terme

Afin de survivre dans son environnement intrautérin défavorable, le fœtus s'adapterait en redirigeant le flux sanguin et en apportant des modifications métaboliques et endocriniennes (Barker, 1998; Figure 1).

Figure 1- Adaptations du fœtus à un environnement fœtal défavorable



Tiré de: Barker (1998)

1.1.3.1 Redistribution du flux sanguin

Lorsque la nutrition et l'oxygénation du fœtus sont compromises, il y a adaptation du fœtus afin de protéger, contre l'hypoxie, les organes essentiels au maintien de la survie soit le cœur, le cerveau et les surrénales. Il y a redistribution du flux sanguin vers ces organes. Cela conduit à une RCIU asymétrique qui se traduit généralement par une augmentation du ratio du poids du cerveau et/ou du poids du cœur sur le poids total (Harel, 1985; Veille, 1993). Par contre, ceci se fait au détriment de la croissance en général et des autres organes tels que le foie, les muscles et les reins (Cohn, 1974).

Le rein est l'organe le plus perfusé par gramme de tissu. Bien qu'ils ne représentent que 0,5% du poids total, les 2 reins reçoivent 20% du débit cardiaque total (Gougoux, 1999). Ainsi, une réduction de leur apport sanguin peut causer des dommages irréparables. Par exemple, une diminution dans la vitesse de croissance du rein ainsi qu'une augmentation des concentrations plasmatiques de rénine ont été observées chez des fœtus humains ayant subi une RCIU (Konje, 1996). Par ailleurs, il a été démontré que la vitesse de filtration glomérulaire est réduite alors que l'excrétion rénale de sodium est augmentée chez des nouveau-nés ayant subi une RCIU (Robinson, 1990). Des dommages causés aux cellules du tubule proximal du rein ont été rapportés chez des foetus nés avec RCIU. Ces dommages seraient secondaires à l'hypoxie retrouvée (Pachi, 1993). Ces données suggèrent que la RCIU est souvent accompagnée d'une détérioration structurelle et fonctionnelle du rein.

1.1.3.2 Modifications métaboliques

Une des premières adaptations fœtales à un environnement défavorable est le passage d'un état anabolique (réaction de synthèse qui requiert de l'énergie) vers un état catabolique (réaction de dégradation qui libère de l'énergie). Ceci permet au fœtus de survivre plus longtemps en utilisant ses propres substrats mais ce faisant, au détriment de sa croissance. Chez les fœtus humains, la RCIU entraîne une acidose métabolique consécutive à l'augmentation des lactates (Marconi, 1990). On observe aussi une hypoglycémie (Doctor, 2001). Ainsi, comme le glucose n'est pas disponible, le métabolisme du fœtus empruntera la

voie de la néoglucogénèse où il produira le glucose nécessaire à la respiration cellulaire en dégradant l'acide lactique et les acides aminés. Ces derniers ne seront cependant plus disponibles pour la production de protéines et conséquemment, la croissance sera freinée.

1.1.3.3 Modifications endocriniennes

L'insuline et le facteur de croissance analogue à l'insuline (IGF) sont 2 hormones favorisant l'absorption des acides aminés, la synthèse des protéines et la lipolyse. Elles favorisent aussi l'entrée du glucose dans les tissus. Il est connu que le diabète gestationnel constitue un facteur de risque à la macrosomie foetale. Chez le nouveau-né humain, cette augmentation exagérée du poids de naissance serait secondaire à une hypersécrétion d'insuline du fœtus en réponse à l'augmentation de la glycémie maternelle (Pederson, 1977). Parallèlement, il a été démontré, chez la rate gestante, qu'une hypoglycémie maternelle provoque une RCIU accompagnée d'une hypoglycémie et d'une hypoinsulinémie foetale (Gruppuso, 1981). Chez le fœtus mouton, une diminution de la disponibilité du glucose, occasionnée par une malnutrition maternelle, conduit à une baisse de la sécrétion d'IGF-1 et réduit la croissance foetale (Oliver, 1993). Ces données fournissent des indications concernant l'implication du statut nutritionnel de la mère sur la régulation de la croissance foetale par l'insuline et les IGF.

1.2 CONSÉQUENCES À LONG TERME

1.2.1 La restriction de croissance intrautérine

Plusieurs données épidémiologiques provenant de différents pays occidentaux et en voie de développement ont associé la croissance fœtale à des pathologies dans la vie adulte.

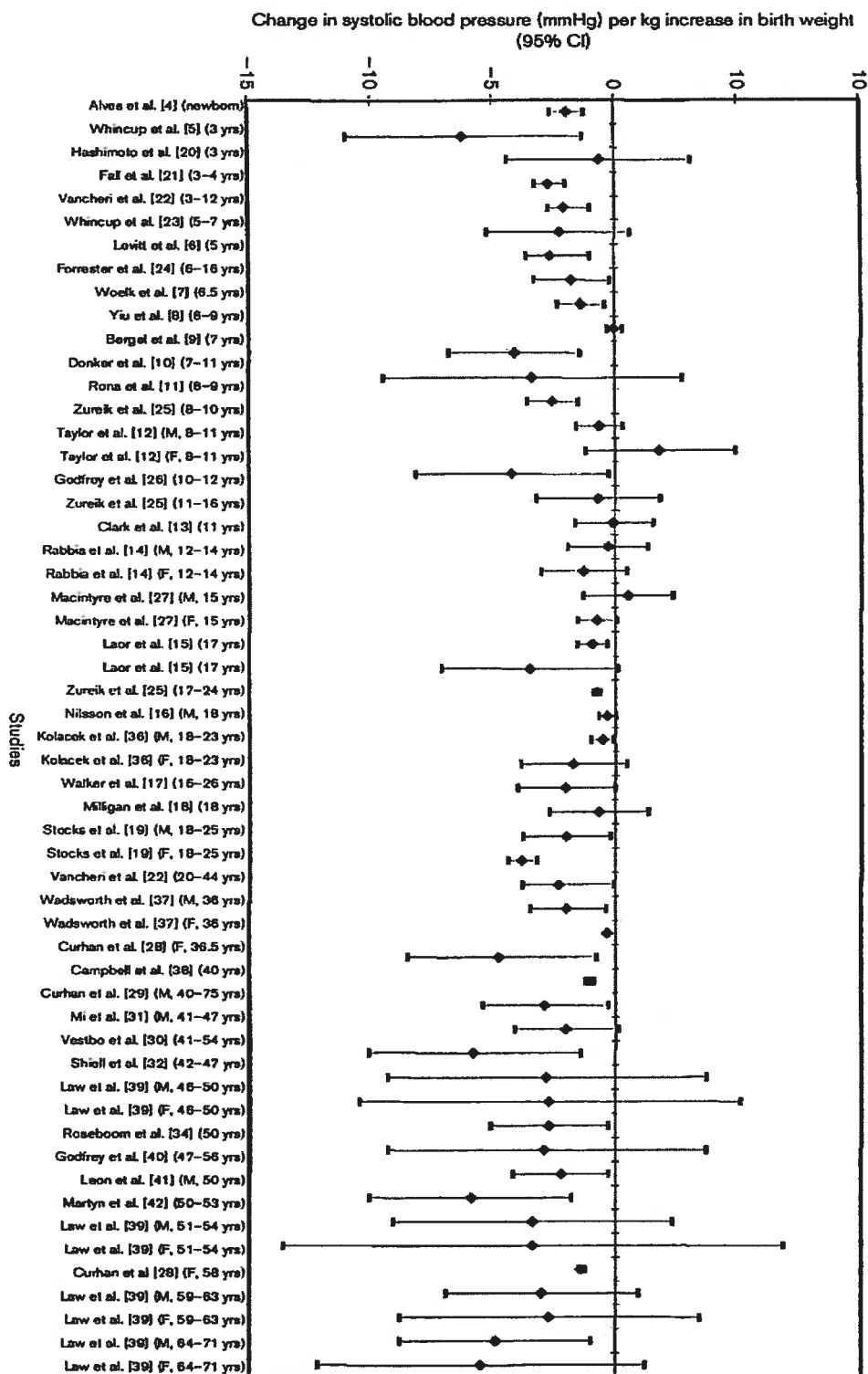
Il a été démontré que les hommes adultes nés de petit poids souffraient 2 fois plus d'intolérance au glucose et de diabète de type II vers l'âge de 64 ans que les sujets témoins (Hales, 1991). Ces résultats ont été corroborés chez des enfants indiens et ce, dès l'âge de 4 ans (Yajnik, 1995).

L'incidence de maladies cardiovasculaires est aussi très importante. Une diminution de la vasodilatation dépendante de l'endothélium a été rapportée chez des adultes âgés de 20-28 ans nés avec un petit poids (Leeson, 2001; Goodfellow, 1998). On propose que la malnutrition fœtale serait à la base d'une telle dysfonction endothéliale à l'âge adulte. De plus, alors que le petit poids de naissance a été associé à une incidence accrue de décéder de maladie cardiaque ischémique à l'âge adulte en Angleterre et en Suède (Barker, 1989; Leon, 1998), les cohortes finlandaise et indienne rapportent une importante recrudescence de maladies coronariennes dans cette population (Forsen, 1999; Stein, 1996). En Jamaïque, la détérioration de la santé physique de la femme enceinte, déterminée par le statut nutritionnel inadéquat, a été associée à la prévalence accrue de RCIU

asymétrique (Thame, 1997). Dès l'âge de 10 à 12 ans, les enfants nés de ces mères sont aussi plus à risque d'hypertension puisqu'on note une augmentation de 2,6 mmHg de leur pression artérielle systolique par rapport aux témoins (Forrester, 1996; Godfrey, 1994).

L'association entre l'augmentation de la pression artérielle et le petit poids de naissance a été démontrée dans plusieurs études (Figure 2). De façon générale, pour chaque augmentation de 1 kg du poids de naissance, la pression artérielle systolique est réduite de 2-3 mmHg chez l'enfant et de 2-4 mmHg chez l'adulte. À l'adolescence, on ne retrouve plus de corrélation entre le poids de naissance et la pression artérielle systolique (Law, 1996). Cependant, après la puberté, cette corrélation est retrouvée (Taittonen, 1996), ce qui suggère que le statut des hormones sexuelles peut aussi influencer cette relation.

Figure 2- Méta-analyse démontrant le changement de pression artérielle systolique/kg de poids gagné à la naissance



Tiré de : Huxley (2000)

La période de la grossesse où se produit l'insulte foetale semble aussi déterminante. Les études portant sur la famine hollandaise ont démontré que les foetus, dont les mères avaient été exposées à la famine en milieu et en fin de grossesse, ont un petit placenta et sont plus petits en poids et en taille comparativement aux témoins et à ceux exposés au début de la grossesse. Lorsque devenus adultes, la proportion d'individus souffrant d'intolérance au glucose et de résistance à l'insuline est plus grande parmi les individus dont l'insulte foetale est survenue en milieu et en fin de gestation. Par contre, ceux exposés à la famine pendant le premier trimestre ont un profil lipidique athérogénique, une augmentation de leur indice de masse corporelle ainsi qu'une augmentation des risques de maladies cardiovasculaires. Ces données démontrent le lien entre la sous-alimentation maternelle et les pathologies adultes bien que selon cette étude, ces dernières semblent être déterminées à différents moments de la grossesse. (Roseboom, 2001).

1.2.2 La période de récupération (« catch-up growth »)

Après la naissance, certains enfants nés avec une RCIU ont une période de récupération. Cette période est caractérisée par une accélération de la vitesse avec laquelle se développe le nouveau-né après la naissance, de façon à ce que la croissance, qui avait été perdue au moment de la période foetale est récupérée et même souvent dépassée lorsque comparée aux enfants normaux (Prader, 1963).

Alors que certains suggèrent que cette période serait bénéfique, d'autres proposent qu'elle aurait des effets nuisibles à long terme. Par exemple, il a été démontré que les enfants récupérant leur poids pour rattraper celui des enfants normaux développaient de meilleures performances neurologiques et neuro-développementales que leurs pairs n'ayant pas eu cette période (Hack, 1982). Cependant, les maladies adultes ont aussi été associées à la période de récupération suivant la RCIU. Ces données sont controversées. Certains auteurs accordent une importance essentielle à la période de croissance accélérée et proposent qu'elle constitue un risque supplémentaire avec le petit poids de naissance pour le développement du diabète et des maladies cardiovasculaires (Veening, 2002; Eriksson, 1999; Osmond, 1993). Cependant, d'autres rapportent l'incidence de ces pathologies malgré l'absence de cette période. Par exemple, dans une étude Sud-africaine, on démontre une augmentation de la pression artérielle ainsi qu'une altération de l'axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien chez des hommes de 20 ans non-obèses ayant subi une RCIU et dont le poids est toujours inférieur aux témoins (Levitt, 2000).

1.2.3 La nutrition post-natale

La nutrition donnée en période post-natale, chez le nourrisson, peut aussi entraîner la programmation de certaines pathologies adultes. Une corrélation positive a été retrouvée entre les nouveau-nés prématurés ayant reçu une préparation pour nourrisson enrichie en nutriments et l'augmentation du ratio leptine/masse adipeuse à l'âge de 13-16 ans comparativement à ceux ayant reçu

une formule standard ou nourris au sein maternel. En fait, ce ratio est un indicateur de l'obésité. De plus, il a aussi été documenté que plus les nourrissons témoins boivent une grande quantité de lait maternel, plus le ratio leptine/masse adipeuse est réduit à 13-16 ans suggérant un effet bénéfique du lait maternel sur la santé métabolique de l'enfant à long terme (Singhal, 2002b). Dans cette cohorte, une élévation des concentrations de leptine sanguine a aussi été associée à une diminution de la distension artérielle chez les adolescents nés prématurément (Singhal, 2002a). Ces résultats suggèrent que la prise d'une préparation supplémentée par des enfants nés prématurément constitue un facteur de risque à l'obésité. Ceci est accompagné d'une dysfonction vasculaire.

1.3 LA THÉORIE DE PROGRAMMATION FŒTALE

Afin d'expliquer comment un évènement survenant durant la période prénatale peut avoir des répercussions dans la vie adulte, la théorie de programmation foétale a été introduite (Barker, 1997). Pendant la vie foétale, les tissus et organes passent par une période de division cellulaire. Cependant, une des premières adaptations à un manque d'oxygène et/ou de nutriments, telle qu'observée en cas de RCIU, est un ralentissement de la division cellulaire qui vient déstabiliser cette période critique de développement et entraîne la reprogrammation de certaines fonctions biologiques. C'est ce qu'on appelle aussi la plasticité des systèmes. Cette reprogrammation ou plasticité peut être observée par un changement dans la distribution des types cellulaires, de l'activité

métabolique, de la régulation hormonale ou par une diminution du nombre de cellules dans un organe.

Plusieurs études démontrent l'effet d'un environnement pré- ou post-natal sur les fonctions biologiques à long terme. Par exemple, les nouveau-nés dont les mères ont souffert de déshydratation au cours de la grossesse manifestent une préférence marquée pour le sel comparativement aux nouveau-nés du groupe témoin (Crystal, 1998) Ces données ont été corroborées chez le rat où l'on a aussi rapporté que le système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA) de la mère est suractivé (Galaverna, 1995). L'administration de captopril (inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine II) à ces rats, devenus adultes, fait en sorte qu'ils recouvrent un appétit pour le sel semblable à celui des témoins. Ces résultats suggèrent que le comportement face au sel de ces animaux est une conséquence de la reprogrammation de leur SRAA en période prénatale (Galaverna, 1995).

La programmation foetale des maladies adultes a été définie comme étant un ensemble de mécanismes nécessaires à la protection du fœtus contre un environnement intrautérin défavorable. Cependant, lorsque devenu adulte, ces mécanismes (qui lui étaient favorables en période prénatale) deviennent nuisibles lorsque additionnés au style de vie et aux prédispositions génétiques et ainsi, il est exposé à un risque accru de développer des maladies adultes telles que le diabète, l'hypertension artérielle et les maladies cardiovasculaires (Barker, 1998).

En résumé, la santé maternelle semble être un élément majeur au bien-être du nouveau-né et ce, à court et à long terme. De plus, plusieurs s'entendent pour affirmer que le petit poids de naissance est un bon marqueur de la détresse fœtale et qu'un environnement fœtal défavorable prédisposerait aux pathologies dans la vie adulte.

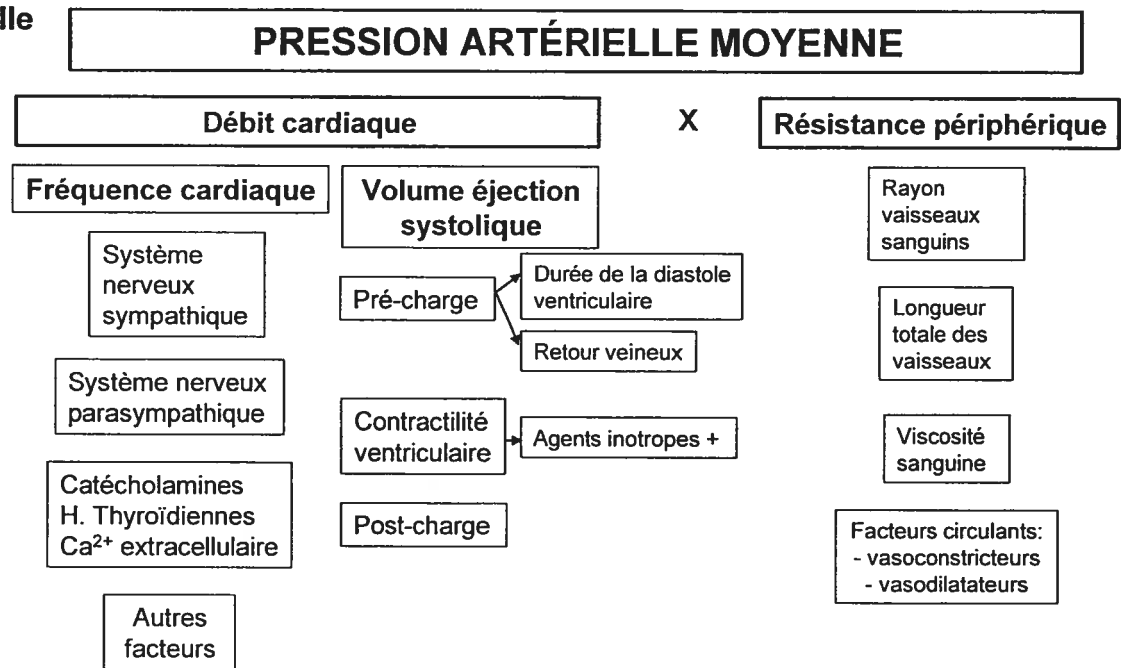
1.4 RÉGULATION DE LA PRESSION ARTÉRIELLE

De toutes les maladies associées à la programmation fœtale, l'hypertension est certainement celle qui est la plus étudiée. Dans la prochaine section, nous allons donc revoir la régulation normale de la pression artérielle.

1.4.1 Régulation hémodynamique intrinsèque au cœur

La pression artérielle moyenne dépend directement du débit cardiaque et des résistances périphériques. Si le débit cardiaque augmente, la pression artérielle augmentera de la même façon et ce, seulement si les résistances périphériques demeurent les mêmes (Figure 3).

Figure 3 - Facteurs impliqués dans la régulation normale de la pression artérielle



Le débit cardiaque est modulé par la fréquence cardiaque. Une augmentation de la décharge sympathique, une réduction du tonus parasympathique ainsi qu'une stimulation par les hormones thyroïdiennes et surrénaliennes telles que l'adrénaline et la noradrénaline provoquent une élévation de la fréquence cardiaque (effet chronotrope positif) (Bakris, 2002; Tortora, 2001).

Le débit cardiaque dépend aussi du volume d'éjection systolique. Ce paramètre détermine la force déployée par le cœur pour expulser le sang qui a pénétré dans les ventricules suite à la diastole (remplissage). Il est modulé par la précharge (tension passive se développant entre les parois suite à l'accumulation de sang dans le ventricule) qui est dépendante de la durée de la diastole et du retour veineux. Plus la période de remplissage est longue, plus le volume ventriculaire sera grand et ainsi, plus l'étirement du ventricule sera important. Le

retour veineux représente quant à lui, la quantité de sang qui revient au cœur par les veines et il augmente en réponse à une expansion du volume sanguin et à une constriction veineuse (Bakris, 2002; Tortora, 2001).

Le volume d'éjection systolique est aussi associé à la force de contraction ventriculaire. Ce paramètre représente la contraction que doit déployer le cœur et ce, indépendamment de la précharge. Il est favorisé par tout agent ayant une activité inotrope positive soit les catécholamines, le glucagon, les hormones thyroïdiennes et le calcium extracellulaire. Le dernier élément à faire varier le volume d'éjection systolique est la post-charge. Cette dernière représente la pression s'opposant à l'ouverture des valves pulmonaires et aortiques pour l'éjection du sang. Une augmentation de la post-charge (par augmentation des résistances périphériques ou par élévation de la pression aortique) aura pour effet de réduire le volume d'éjection systolique et conséquemment, le débit cardiaque si la force de contraction n'augmente pas (Bakris, 2002; Tortora, 2001).

La pression artérielle dépend aussi des résistances offertes par les vaisseaux. L'augmentation des résistances périphériques est inversement proportionnelle au rayon mais directement dépendante de la longueur des vaisseaux sanguins. Ainsi, les artérioles, les capillaires et les veinules offrent une plus grande résistance que les artères de conductance. Finalement, la viscosité du sang a aussi un rôle à jouer dans le contrôle des résistances. Plus le sang est épais, plus les résistances seront élevées (Bakris, 2002; Tortora, 2001).

1.4.2 Régulation hémodynamique extrinsèque au cœur

Afin de maintenir la pression artérielle à l'intérieur des limites physiologiques acceptables, les facteurs hémodynamiques intrinsèques du cœur sont continuellement gouvernés par des mécanismes de rétrocontrôle agissant sur les vaisseaux, le système des barorécepteurs et le système endocrinien.

Une modification soudaine de la pression artérielle provoque une réponse myogénique sur la paroi des vaisseaux. En fait, les artères de résistance répondent à une diminution de la pression en se contractant de façon à ramener la pression à des valeurs normales en quelques minutes comme par exemple lors d'état de choc, de perte sanguine importante ou de choc anaphylactique (Bakris, 2002; Tortora, 2001). L'endothélium des vaisseaux participe aussi au maintien d'une pression artérielle constante. Il libère des hormones vasoconstrictrices tel que l'endothéline (ET) et vasodilatatrices telle que l'oxyde nitrique (NO) qui agiront pour maintenir les résistances vasculaires (Furchgott, 1989).

Une modification subite de la pression artérielle entraîne une modulation du système des barorécepteurs/baroréflexes artériels. Bien que ce système est très important pour le contrôle de la pression artérielle de tous les instants, nous n'en ferons qu'une brève description puisqu'il ne fait pas l'objet de la présente thèse. Les barorécepteurs sont localisés à 2 endroits : au niveau de la carotide et de l'aorte. La présence de ces barorécepteurs permet de maintenir la pression artérielle à l'intérieur d'un écart assez étroit par rapport à la pression artérielle

moyenne. Ainsi, lorsque la pression artérielle augmente, les barorécepteurs sont plus étirés, les influx nerveux sont rapidement dirigés et intégrés aux centres cardiovasculaires du tronc cérébral tel qu'au niveau du noyau du tractus solitaire et du noyau ambigu (Mifflin, 2001). À ce niveau, on compare le signal reçu avec une valeur de pression artérielle pré-encodée. Si la valeur du signal est supérieure à celle de référence, il y a inhibition du système nerveux autonome sympathique (effets chromotrope et inotrope négatif) alors que la décharge parasympathique sera favorisée (effet inotrope négatif). De cette façon, la contractilité et la fréquence cardiaque seront réduites et la pression artérielle pourra revenir à des niveaux de base (Bakris, 2002; Tortora, 2001).

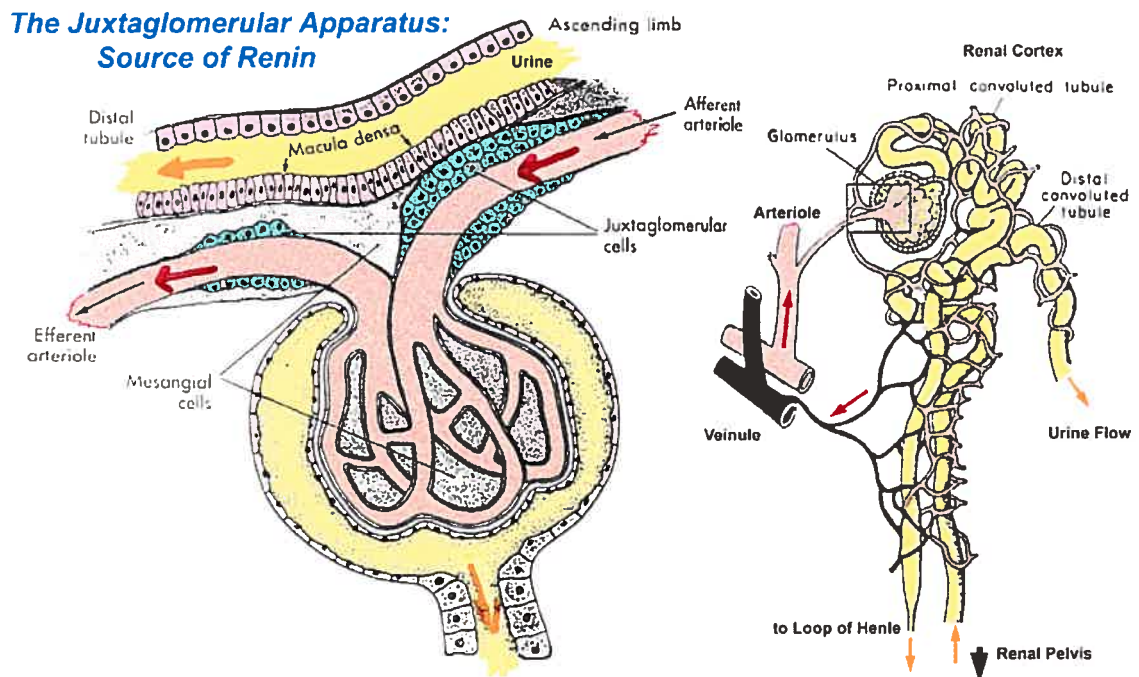
La pression artérielle est aussi maintenue à l'intérieur des limites physiologiques via l'action de différentes hormones. Par exemple, une réduction de la pression artérielle entraîne l'activation du SRAA et de l'hormone antidiurétique, vasopressine (AVP). La médullosurrénale libère l'adrénaline et la noradrénaline afin d'augmenter la fréquence et la contraction cardiaque. À l'inverse, une augmentation de la pression provoquera l'inhibition de ces systèmes hormonaux mais l'étirement résultant sur les parois cardiaques conduira à la libération du peptide natriurétique de l'oreillette (ANP). Cette hormone provoquera une diurèse et une natriurèse favorisant la diminution de pression artérielle (Bakris, 2002; Tortora, 2001).

1.4.2.1 Le système rénine-angiotensine-aldostérone

Le système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA) est un des plus importants systèmes hormonaux impliqués dans le contrôle de la pression artérielle, de l'équilibre volumique et hydrosodé. La cascade du SRAA comprend une série de clivage de substrats par des enzymes protéolytiques et dont le produit final est l'angiotensine II (All). La majorité des actions du SRAA est médiée par l'All mais ce dernier peut aussi être clivé en de plus petits peptides ayant une activité fonctionnelle moins bien connue telle que l'angiotensine III ou IV.

La libération de rénine constitue l'étape limitante du SRAA et elle s'effectue au sein de l'appareil juxtaglomérulaire (Figure 4).

Figure 4 - Schéma de l'appareil juxtaglomérulaire

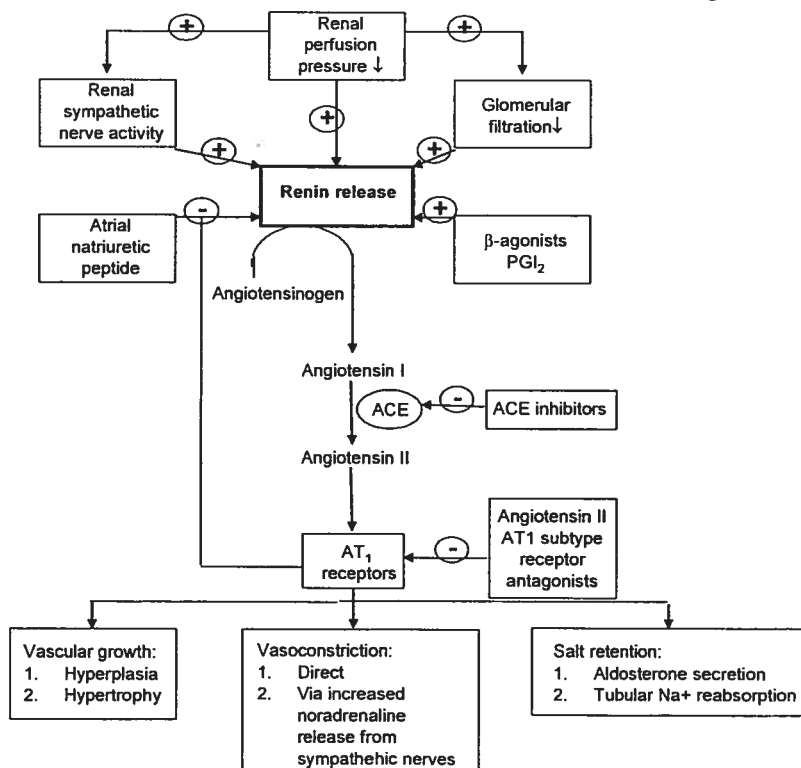


Tiré de : <http://kcampbell.bio.umb.edu/lecture1.htm>

La rénine est sécrétée par les cellules juxtaglomérulaires de l'artériole afférente du rein en réponse à une augmentation de l'activité sympathique, à une baisse de pression de perfusion rénale, à une hypovolémie ainsi qu'à une faible absorption de chlore au niveau de la macula densa du tubule contourné distal. L'All, l'aldostérone, l'ANP ainsi que l'expansion sodée inhibent sa libération (Bottari, 1993) (Figure 5).

La rénine a comme substrat l'angiotensinogène qu'elle clivera en angiotensine I (AI). L'angiotensinogène est synthétisée par le foie et est disponible pour la rénine dans le plasma. L'All, les glucocorticoïdes, les hormones thyroïdiennes et les oestrogènes favorisent sa sécrétion. Toutefois, ce décapeptide est physiologiquement inactif. L'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA), qui est principalement formée au niveau des cellules endothéliales des capillaires pulmonaires, convertit l'AI en All (Figure 5).

Figure 5 - Sécrétion de la rénine et formation de l'angiotensine II



Tiré de: Rang (1999)

1.4.2.1.1 Les récepteurs à l'Angiotensine II et leurs fonctions

L'Angiotensine II médie ces actions principalement via 2 sous-types de récepteurs : les récepteurs de type 1 (AT₁) et de type 2 (AT₂). Le récepteur AT₁ est retrouvé dans la majorité des tissus et est responsable des actions très diversifiées de l'Angiotensine II (de Gasparo, 2002). Au niveau des vaisseaux sanguins, il est responsable de la résistance périphérique en induisant une contraction des muscles lisses vasculaires. Dans le cœur, il provoque une élévation du débit cardiaque en augmentant le volume d'éjection et le rythme cardiaque (Gougoux, 1999). Au niveau de la surrénale, il est le principal stimulateur de la sécrétion d'aldostérone. Ce stéroïde agit au niveau des tubules collecteurs du rein pour augmenter la réabsorption de sodium (Lumbers, 1999). L'Angiotensine II a aussi un effet vasoconstricteur sur les artérioles afférentes et efférentes du glomérule rénal, ce qui diminue le débit sanguin rénal, le débit de filtration glomérulaire et conséquemment l'excrétion de sodium. Cette hormone favorise aussi la réabsorption sodique via son effet direct sur le tubule proximal (Siragy, 2000). Au niveau du cerveau, l'hormone agit sur l'hypothalamus et l'hypophyse pour augmenter la soif et l'appétit pour le sel (Morris, 2001). Toutes ces actions médiées par l'AT₁ ont pour but de faire augmenter le volume sanguin et la pression artérielle.

Le récepteur AT₂ est quant à lui moins bien connu et ces effets restent à caractériser. Il est surtout présent au cours de la vie foetale et sa quantité diminue chez l'adulte où il est présent dans la surrénale, le cœur et le cerveau. En condition pathologique telle que dans la défaillance cardiaque et l'infarctus du

myocarde, il est réexprimé. Il a des effets opposés à ceux de l'AT₁; il diminue la pression artérielle et a des effets vasodilatateurs et natriurétiques. (de Gasparo, 2002).

1.4.3 Régulation par le rein

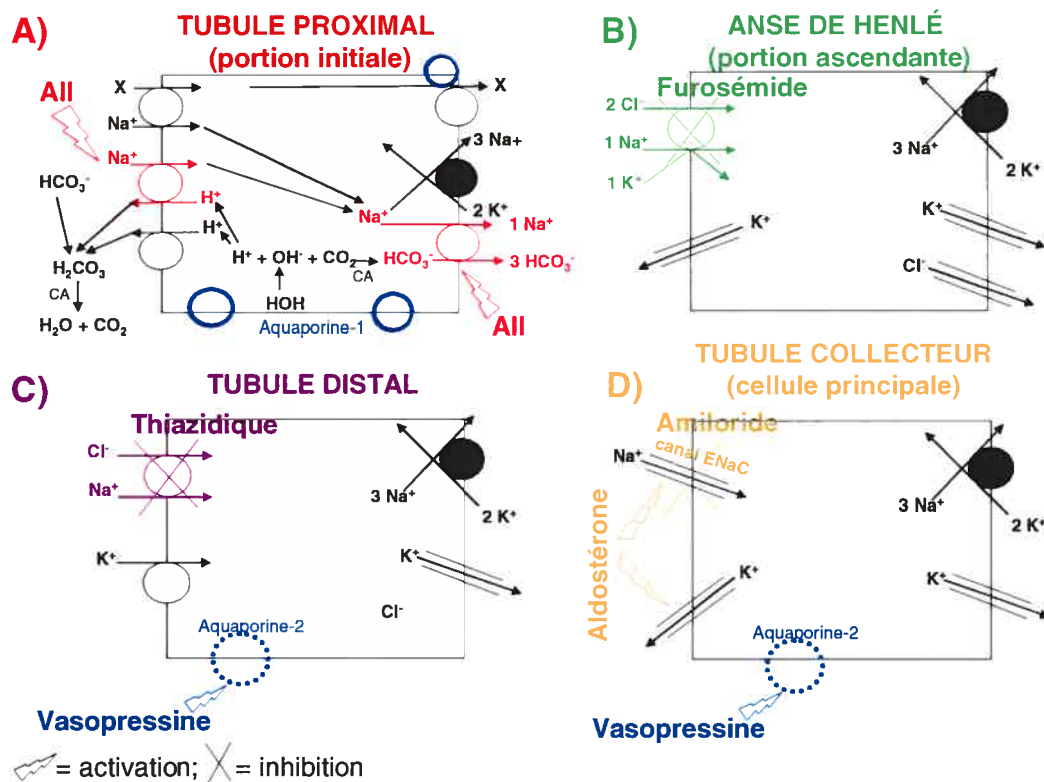
À long terme, la fonction principale du rein est de maintenir l'équilibre hydrique et ionique du sang afin de contrôler la pression sanguine. Pour ce faire, la filtration glomérulaire doit être maintenue de façon relativement stable. Une vasodilatation de l'artériole afférente ou une vasoconstriction de l'artériole efférente induit une augmentation de la pression hydrostatique dans les capillaires glomérulaires ce qui occasionne une filtration glomérulaire excessive. Cela provoque une excrétion trop rapide pouvant ainsi éliminer des substances essentielles. D'autre part, une vasoconstriction de l'artériole afférente ou une vasodilatation de l'artériole efférente diminue la pression glomérulaire induisant une filtration déficiente entraînant l'accumulation de déchets dans le sang. De plus, la régulation ionique devient inadéquate conduisant à l'élévation de la pression artérielle.

1.4.3.1 Les transporteurs impliqués dans la réabsorption sodique

Le tubule rénal a un rôle important dans le contrôle de la pression artérielle puisque la réabsorption et la sécrétion des différents ions et de l'eau modifiera considérablement l'ultrafiltrat glomérulaire et donnera la composition ionique et

hydrique définitive au plasma et à l'urine. Cependant, ces 2 processus sont des mécanismes physiologiques contrôlés de façon très étroite et plusieurs types de transports sont impliqués : des canaux, des cotransporteurs et des pompes. Puisque la régulation de la pression artérielle dépend beaucoup du contrôle du sodium et de l'eau, je reverrai brièvement leurs principaux transporteurs au niveau du tubule rénal (Figure 6).

Figure 6 – Transporteurs impliqués dans la réabsorption au niveau du tubule rénal



Le tubule proximal réabsorbe environ 75% du sodium et de l'eau. Le sodium sera majoritairement acheminé via des cotransporteurs pour différents substrats (Na⁺:X) et par l'antiport Na⁺:H⁺ alors que l'eau sera réabsorbé par des canaux à

eau : les aquaporines-1 (AQP-1) (Figure 6a). L'All augmente considérablement la réabsorption de sodium en stimulant son transport avec les protons ($\text{Na}^+:\text{H}^+$) et les bicarbonates ($\text{Na}^+:\text{HCO}_3^-$).

L'anse de Henlé descendante réabsorbe l'eau par les AQP-1. L'anse ascendante est imperméable à l'eau et elle réabsorbe environ 25% du sodium par le cotransporteur $1\text{Na}^+/1\text{K}^+/2\text{Cl}^-$ (Figure 6b). Cette partie de l'anse est ciblée par les diurétiques de l'anse tel que le furosémide.

Les tubules distaux et collecteurs sont aussi imperméables à l'eau, mais en cas de contraction volumique ou osmolaire importante, ils pourront en réabsorber suite à l'insertion d'AQP-2 par l'action de l'AVP (Figure 6c-d). Le tubule distal réabsorbe de faible quantité de sodium en cotransport avec le chlore ($\text{Na}^+:\text{Cl}^-$), c'est le cotransport sensible aux thiazidiques (Figure 6c).

Les cellules principales du tubule collecteur contiennent un canal sodique apical sensible à l'amiloride (canal ENaC). En présence d'aldostérone, la probabilité d'ouverture ainsi que la densité de ce canal au niveau de la membrane apicale sera augmentée (Figure 6d). Les concentrations cellulaires de sodium vont augmenter, ce qui va activer la pompe Na^+/K^+ -ATPase. Ceci aura pour effet de réabsorber le sodium vers le plasma et d'excréter le potassium du côté apical dans l'urine. (Gougoux, 1999; Lapointe, 1998-1999). Il a été démontré dans des tubules collecteurs corticaux isolés de rats adrénalectomisés ayant reçu une infusion d'aldostérone, une augmentation de 3 fois dans l'activité de la pompe Na^+/K^+ -

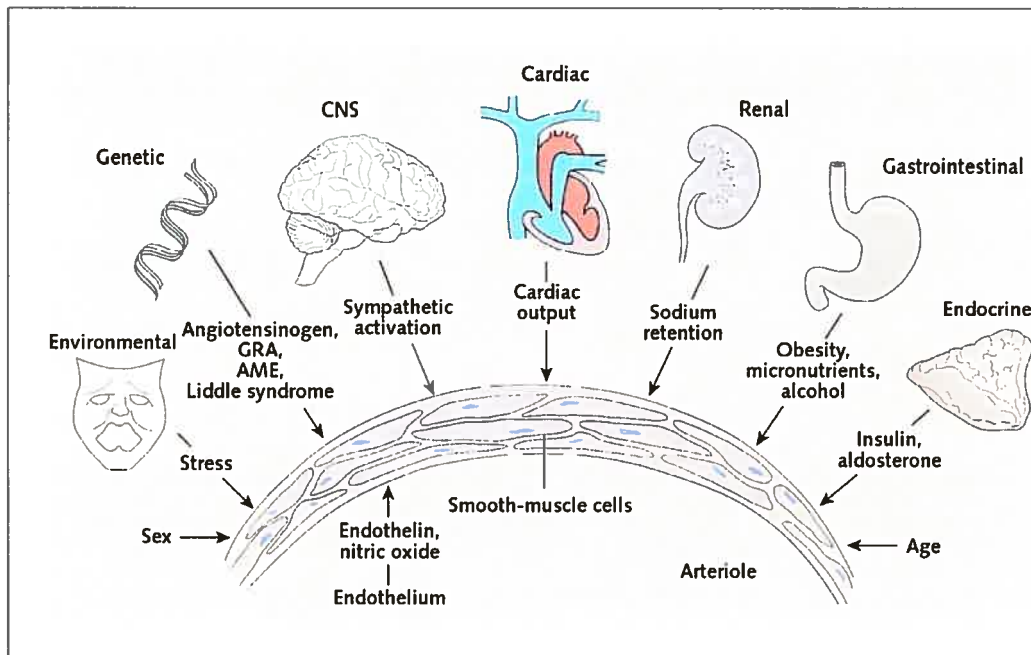
ATPase. Ceci est accompagné d'une augmentation substantielle de l'expression protéique de la pompe Na^+/K^+ -ATPase à la surface membranaire suggérant que l'aldostérone agit aussi plus directement sur le tubule collecteur (Férraille, 2003).

1.5 HYPERTENSION ARTÉRIELLE

L'hypertension artérielle afflige 21% des canadiens et constitue un des facteurs de risque le plus redoutable pour le développement d'autres pathologies telles que les maladies cardiaques, vasculaires-cérébrales et rénales. Chez l'humain, l'hypertension est diagnostiquée lorsque la pression artérielle est égale ou supérieure à 140/90 mmHg (SQHTA, 2002). L'hypertension est classée en 2 catégories : essentielle lorsque la cause n'est pas connue (90% des cas) et secondaire (10% des cas) lorsque l'étiologie est connue et diagnostiquée. Dans cette classe, on retrouve les hypertensions causées par certains médicaments (par exemple : anti-inflammatoires non-stéroïdiens, oestrogènes), les hypertensions qui surviennent suite à un problème mécanique (la constriction de l'artère rénale, une coarctation aortique) et les hypertensions d'origine hormonale telle qu'un syndrome de Cushing (excès de sécrétion de cortisol se liant sur les récepteurs aux minéralocorticoïdes), un phéochromocytome (excès de sécrétion de catécholamines) ou un aldostéronisme primaire (Onusko, 2003).

La cause de l'hypertension primaire est multifactorielle telle que décrite en Figure 7 et repose essentiellement sur l'interrelation entre des composantes biologiques, génétiques et environnementales. Dans les pages qui suivent, nous décrivons certains de ces facteurs.

Figure 7- Mécanismes physiopathologiques de l'hypertension artérielle



AME : apparent mineralocorticoid excess; CNS=central nervous system, GRA=glucocorticoid-remediable aldosteronism.

Tiré de: Calhoun (2000)

1.5.1 Altérations des différents systèmes biologiques

Il a été démontré que les vaisseaux de patients hypertendus se contractent à des doses de noradrénaline moins fortes que celles que nécessitent les vaisseaux de patients normotensifs suggérant une augmentation de la réactivité vasculaire chez les hypertendus (Ziegler, 1991). De plus, certains résultats suggèrent une dysfonction endothéliale chez les patients hypertendus où la sécrétion des vasodilatateurs et vasoconstricteurs serait déséquilibrée (Spieker, 2000). Chez les patients hypertendus, le diamètre des vaisseaux de résistance est réduit alors que le ratio media/lumière est augmenté provoquant donc une augmentation des résistances périphériques (Folkow, 1982). Ces données

suggèrent une atteinte de la fonction et de la structure des vaisseaux chez les patients hypertendus.

Chez des patients minces et hypertendus de moins de 40 ans, une augmentation du tonus sympathique local a été démontrée au niveau du rein, du cœur et des vaisseaux des muscles squelettiques (Esler, 1990). Chez des lapins «1 rein, 1 clip» hypertendus, il a été observé que la valeur seuil d'activation des barorécepteurs est déplacée vers des pressions plus élevées (Xie, 1991). Ces résultats suggèrent que l'hypertension pourrait être causée par une activation constitutive du système nerveux autonome sympathique sur les organes cibles du contrôle de la pression artérielle.

Comme il a été mentionné précédemment, les actions de l'All ont pour but d'augmenter la pression artérielle. L'hypertension essentielle est donc souvent associée à une suractivation du SRAA. Par l'utilisation d'inhibiteurs de ces différents composants (récepteur AT_1 , enzyme de conversion de l'angiotensine II), on arrive à normaliser la pression artérielle chez les sujets hypertendus (See, 2001; Brown, 1998).

Chez des rats devenus hypertendus suite à l'injection d'All, une augmentation de l'activité de l'enzyme oxydative NADPH oxydase (produit les radicaux libres oxygénés) ainsi qu'une importante formation d'anions superoxydes ont été observées. Ces résultats sont spécifiques à l'All puisque l'injection de noradrénaline provoque l'hypertension mais ne produit pas les effets relatifs au

stress oxydatif (Fukui, 1997; Rajagopalan, 1996). En fait, le stress oxydatif se décrit comme un déséquilibre entre les forces oxydantes et anti-oxydantes au profit de l'oxydation. Chez des rats spontanément hypertendus prédisposés aux accidents vasculaires cérébraux (SHR-SP), l'irbesartan (inhibiteur du récepteur AT₁) diminue la production d'anions superoxydes ainsi que l'expression de la NADPH oxydase de façon beaucoup plus marquée que le font les autres classes de médicaments anti-hypertenseurs. De plus, l'irbésartan augmente la disponibilité du NO chez ces rats (Brosnan, 2002). Il est documenté, chez les rats SHR, que les anions superoxydes se lient au NO pour former des peroxynitrites. La diminution de la biodisponibilité du NO provoque une réduction de la vasorelaxation dépendante de l'endothélium et contribuent à l'hypertension observée chez ces animaux (Cuzzocrea, 2004). Ces données suggèrent que la diminution de la biodisponibilité du NO par augmentation du stress oxydatif contribuerait à l'effet vasopresseur de l'All chez les rats hypertendus.

Il a aussi été démontré que l'endothéline-1 aurait une contribution dans l'hypertension induite par l'All (d'Uscio, 1997). Un traitement de 2 semaines à l'All chez des rats normotensifs Wistar Kyoto provoque une augmentation de la pression artérielle systolique ainsi qu'une diminution de la relaxation dépendante de l'endothélium en réponse à l'acétylcholine dans l'aorte. Cependant, lorsque ces rats sont traités avec un antagoniste sélectif du récepteur de type A de l'endothéline, le LU135252, on prévient l'augmentation de pression artérielle et on améliore la relaxation dépendante de l'endothélium. On propose donc que l'All exerce son effet vasopresseur en favorisant la sécrétion de l'ET-1 puisque chez

ces animaux, cette hormone est augmentée dans le plasma. Ainsi, en bloquant les effets vasoconstricteurs de l'ET-1 sur son récepteur ET-A avec le LU135252, on favorise l'activation sélective du récepteur de type B. Ceci contribuerait à la relâche d'oxyde nitrique et de prostacyclines lesquels amélioreraient la relaxation dépendante de l'endothélium et la pression artérielle. Chez ces mêmes rats, on a aussi rapporté que l'All augmentait les concentrations d'ET-1 dans les artères mésentériques et provoquait une hypertrophie de ces mêmes vaisseaux via le récepteur ET-A. L'utilisation du LU135252, réduit l'hypertrophie vasculaire et contribue à réduire la pression artérielle (Moreau, 1997). Ces résultats suggèrent que l'hypertension induite par l'All serait réversible par un antagoniste des récepteurs de l'endothéline lequel agirait pour faire diminuer la pression artérielle en libérant des vasodilatateurs et en prévenant le remodelage vasculaire.

1.5.2 Le rein et l'hypertension artérielle

Il a été proposé que l'hypertension essentielle serait secondaire à une diminution de la surface totale de filtration soit par diminution du nombre de glomérules dans le rein ou par réduction de la surface filtrante par glomérule (Brenner, 1988). Chez l'humain comme chez l'animal, plusieurs données supportent cette hypothèse. Dans une cohorte de patients atteints ou non de maladies rénales, les individus présentant moins de 700,000 glomérules par rein (alors que la moyenne est d'environ 1 million) ont une pression artérielle systolique supérieure à 150 mmHg (Hayman, 1939). Plus récemment, une réduction significative du nombre de néphrons a été rapportée chez des patients souffrant

d'hypertension primaire comparativement aux patients normotensifs (Keller, 2003). Chez les rats Munich Wistar Fromter (MWF) développant à l'âge adulte de l'hypertension artérielle spontanée, une protéinurie ainsi qu'une glomérulosclérose, on a découvert une réduction de près de 50% du nombre de glomérules lorsque comparés aux rats Wistar (Fassi, 1998).

1.5.3 L'influence génétique et environnementale

Selon une étude menée auprès de familles de jumeaux identiques, l'augmentation de la pression artérielle est due à 63% à des facteurs génétiques telle que l'augmentation de la rénine plasmatique. Selon cette même étude, les sujets de race noire ont plus de difficulté à excréter le sodium et ont une pression artérielle supérieure suite à une surcharge sodique comparativement aux sujets caucasiens (Grim, 1984). On a aussi observé que la pression artérielle de jumeaux monozygotiques pouvait être corrélée avec plus de facilité que chez les jumeaux dizygotiques (Feinleib, 1977). Ces données suggèrent une composante génétique au développement de l'hypertension artérielle.

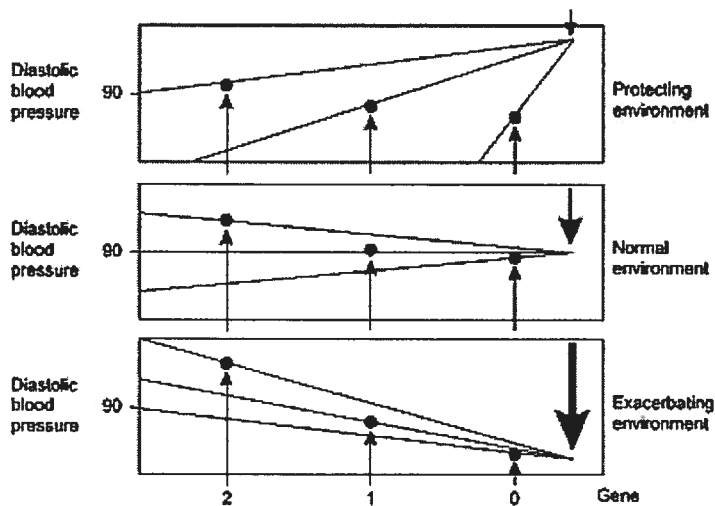
L'hypertension secondaire peut être une hypertension Mendélienne résultant de l'altération d'un seul gène. Chez l'humain, des mutations de différents transporteurs du tubule rénal ont été décrites et associées à l'hypertension due à une trop grande rétention sodique (Lifton, 2001). Par exemple la mutation du canal sodique ENaC (Figure 6) cause le syndrome de « Liddle » se définissant par une hypertension artérielle accompagnée de signes d'hyperaldostéronisme telle qu'une

hypokaliémie (Rossier, 1996). Cependant, chez ces patients la rénine et l'aldostérone plasmatique sont généralement basses.

De par son étiologie plus complexe, l'hypertension artérielle primaire est une pathologie polygénique dont l'identification de gènes susceptible de la causer est beaucoup plus difficile à déterminer. Un groupe a récemment mis en évidence une augmentation de la réabsorption sodique par le tubule proximal associée à une hypertension chez des patients porteurs d'une triple homozygotie pour les gènes de l'angiotensinogène, du récepteur AT₁ de l'angiotensine et de l'enzyme P450aldosynthase en présence de l'allèle *D* de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (Siani, 2004). Chez les souris portant une délétion du gène pour le récepteur de type B de l'endothéline, pour le gène de l'endothéline-1 ou pour la synthase endothéliale du monoxyde d'azote (eNOS), on observe aussi une élévation de la pression artérielle (Ohuchi, 1999; Kurihara, 1994; Huang, 1995). Plusieurs équipes travaillent à identifier les gènes impliqués dans l'hypertension essentielle. Cependant, l'influence génétique ne peut expliquer à elle seule le développement de l'hypertension. L'environnement pourrait aussi moduler la régulation des gènes. La Figure 8 décrit l'interaction entre les gènes et l'environnement ainsi que leur effet sur la pression artérielle diastolique (Hamet, 1998). Alors qu'un environnement favorable déplace la balance de façon à ce que la pression diastolique soit plus basse, la présence de gènes susceptibles d'être impliqués dans l'hypertension fait basculer le pivot vers des pressions plus élevées. Ainsi, pour un individu ayant 2 gènes de prédispositions à l'hypertension,

la pression diastolique passe d'élevée dans un environnement normal à très élevée dans un environnement exacerbant.

Figure 8 – Effet de l'environnement sur l'expression de gènes promouvant l'élévation de la pression diastolique



Tiré de : Hamet, 1998

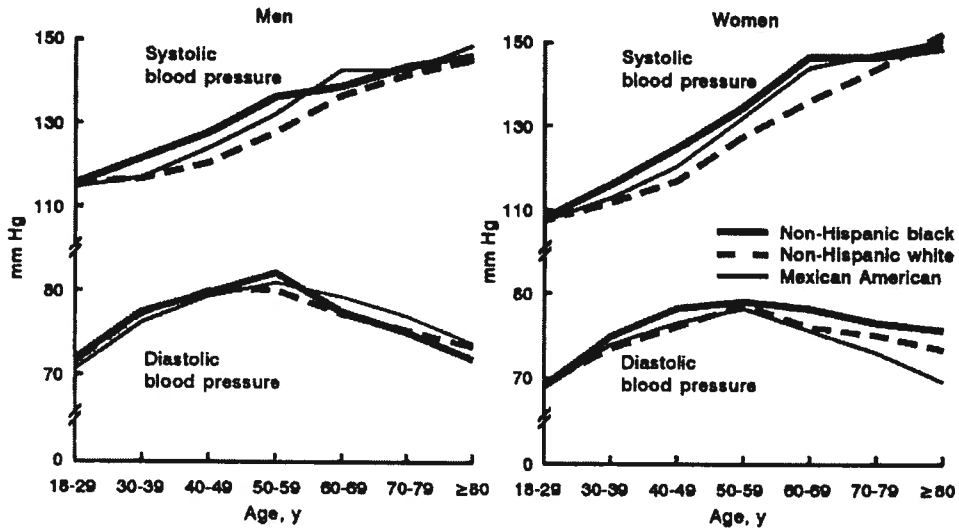
La cigarette, l'obésité, l'âge, la sédentarité et la sensibilité au sodium sont tous des facteurs de prédisposition à l'hypertension. Après l'âge de 70 ans, la probabilité de souffrir d'hypertension artérielle est de 50% (SQHTA, 2002). Des changements dans les habitudes de vie peuvent avoir des effets bénéfiques sur la pression artérielle. En effet, un régime hypocalorique et faible en sodium accompagné d'un entraînement aérobic modéré pendant 9 semaines abaisse les pressions artérielles systolique et diastolique moyenne chez des adultes obèses et hypertendus (Miller, 2002). La sensibilité au sodium a aussi d'importantes conséquences sur le rein. Il est documenté que le passage d'une diète faible vers une diète riche en sel chez les individus hypertendus entraîne une élévation de la

pression artérielle qui n'est pas accompagnée d'une réduction de la réabsorption de sodium par le tubule proximal. D'ailleurs, plus les patients hypertendus sont sensibles aux effets du sel, plus ils en réabsorbent (Chioloro, 2000). Le stress contribue aussi au développement de l'hypertension (Spence, 1999). Il est démontré que la gestion du stress a un effet aussi important sur le contrôle de l'hypertension artérielle que la perte de poids ou la prise de certains médicaments. L'augmentation de la pression artérielle dépend aussi du sexe de l'individu.

1.5.3.1 Les oestrogènes et l'hypertension artérielle

Jusqu'au milieu des années '80, on croyait que seuls les hommes étaient susceptibles de souffrir de maladies cardiovasculaires. Cette croyance était basée sur des données biaisées puisque les études effectuées jusqu'à ce moment n'incluaient pas de groupe de femmes plus âgées. L'étude de Framingham, incluant des sous-groupes de femmes âgées entre 35 et 84 ans, a démontré que les maladies cardiovasculaires se développent 10-20 ans plus tard chez les femmes comparativement aux hommes et l'arrivée de la ménopause conduit à une augmentation significative d'évènements coronariens et cardiovasculaires chez ces dernières (Lerner, 1986). Après la ménopause, la pression s'élève chez les femmes pour être plus importante que chez les hommes vers l'âge de 60-69 ans (Burt, 1995; Figure 9).

Figure 9 – Pression artérielle systolique et diastolique moyenne regroupée par âge et groupe ethnique chez les hommes et chez les femmes dans une population américaine âgée de plus de 18 ans



Tiré de: Burt (1995)

Plusieurs groupes ont observé qu'un traitement aux hormones de remplacement administré au moment de la ménopause diminuait de 50% le risque de maladies cardiovasculaires (Stampfer, 1991; Barrett-Connor, 1991). Par contre, chez des femmes préalablement atteintes de maladies cardiovasculaires, l'étude HERS (Heart and Estrogen/progestin Replacement Study) a entre autre rapporté un risque accru d'événements cardiovasculaires au cours de la 1^{ère} année d'utilisation d'une hormonothérapie de remplacement. Après 4 ans de traitement, aucun effet bénéfique n'a été démontré (Hulley, 1998). Une étude plus récente, la Women's Health Initiative Study, conduite chez 16,608 femmes ménopausées âgées de 50-79 ans ayant un utérus intact, a aussi rapporté plus de risques que d'avantages à l'administration d'une hormonothérapie de remplacement combinant

oestrogène et progestérone (Rossouw, 2002). Après un suivi d'environ 5 ans, cette étude a démontré une augmentation importante de maladies coronariennes et de cancer du sein invasif chez les patientes recevant le traitement comparativement à celles recevant le placebo. L'étude a été interrompue avant le temps prévu de 8,5 ans. De plus, il a été démontré que l'ovariectomie des femelles SHR en bas âge ne résulte pas en une augmentation de la pression artérielle plus importante comparativement aux femelles non-traitées et ce, jusqu'à 20 semaines de vie (Reckelhoff, 1998). Contrairement à ces études, une augmentation de la pression artérielle a été rapportée 3 semaines après l'ovariectomie chez des rates Sprague-Dawley (Pham-Dang, 2003). Lorsque l'on traite ces femelles ovariectomisées avec du tamoxifène (modulateurs sélectifs des récepteurs aux oestrogènes), la pression artérielle demeure élevée et produit des effets indésirables sur l'utérus et le poids corporel de l'animal. Ceci suggère que le tamoxifène ne remplace pas les effets causés par la perte des oestrogènes. Cependant, lorsque ces femelles sont traitées avec un antagoniste des récepteurs AT_1 de l'Angiotensin II, l'irbésartan, les effets secondaires sont évités et la pression artérielle est normalisée. Ces résultats proposent que l'augmentation de la pression artérielle chez les femelles ovariectomisées serait un effet de l'Angiotensin II plutôt que du manque d'oestrogène. En fait, l'effet de l'endothéline sur l'augmentation de la pression artérielle causée par l'Angiotensin II pourrait expliquer ces résultats. Chez des femmes ménopausées, une augmentation des concentrations d'ET-1 ont été mesurées (Wilcox, 1997). Chez les rates ovariectomisées, l'utilisation de BMS-182874 (antagoniste récepteur ET-A) normalise la pression artérielle comme démontrée par l'irbésartan (Mercier, 2002). Ces données suggèrent que l'hormonothérapie de remplacement ne serait pas une bonne cible

thérapeutique pour l'amélioration de la fonction cardiovasculaire, mais il faudrait se concentrer sur une thérapie agissant sur l'angiotensine et l'endothéline.

Les oestrogènes offriraient une certaine cardioprotection. Cependant, puisque la perte des oestrogènes ne conduit pas immédiatement à l'hypertension et que l'hormonothérapie de remplacement n'améliore pas nécessairement la fonction cardiovasculaire, ceci suggère que la perte des hormones sexuelles femelles ne serait pas le seul facteur impliqué dans l'augmentation de la pression artérielle.

1.5.3.2 La testostérone et l'hypertension artérielle

Dans plusieurs modèles animaux d'hypertension, les mâles ont aussi une pression artérielle systolique plus élevée que les femelles et ce, pour le même âge. Ceci a été démontré chez les rats SHR, DOCA-sel et Dahl-résistants au sel (Masubuchi, 1982; Ouchi, 1987; Rowland, 1992). Au cours de l'enfance, les garçons et les filles ont une pression artérielle semblable, mais ce n'est qu'au moment de la puberté qu'elle augmente de façon plus marquée chez les garçons que chez les filles (Harshfield, 1994). Ceci suggère donc l'augmentation de la production des androgènes comme déclencheur des événements. Par ailleurs, l'utilisation du flutamide (antagoniste des récepteurs aux androgènes) chez le rat SHR, a réduit la pression artérielle à des valeurs comparables aux femelles. Cet effet est spécifique à la testostérone et non pas à la dihydrotestostérone puisque l'inhibiteur de la conversion de la testostérone en dihydrotestostérone ne reproduit

pas l'effet (Reckelhoff, 1999). De plus, il a été démontré qu'un traitement à la testostérone chez des femelles ovariectomisées ou chez des mâles castrés conduisait à une élévation de la pression artérielle (Reckelhoff, 1998). Ces données appuient l'hypothèse que la testostérone serait un des facteurs impliqués dans l'élévation de la pression artérielle. Plusieurs mécanismes ont été suggérés pour expliquer le rôle de la testostérone dans l'élévation de la pression artérielle dont un effet sur le SRA.

Pour une pression donnée, les rats femelles excrètent mieux le sodium que les mâles alors que les mâles castrés présentent la même relation que les femelles (Reckelhoff, 1998). Chez le rat Wistar Kyoto, l'expression rénale de l'angiotensinogène est plus importante chez le mâle que chez la femelle alors qu'elle revient à des valeurs de base chez le mâle castré (Ellison, 1989). Dans une population normotensive, il a aussi été documenté que l'activité rénine plasmatique est supérieure chez les hommes que chez les femmes (James, 1986).

Ces résultats laissent croire que l'augmentation de la pression artérielle et l'incidence des maladies cardiovasculaires observées chez les femmes après la ménopause pourrait être une association entre la perte des oestrogènes et le fait que ces hormones ne s'opposent plus aux effets délétères des androgènes.

1.6 L'HYPERTROPHIE CARDIAQUE

L'hypertension artérielle constitue un facteur de risque conduisant au remodelage du myocarde et ultimement, à l'insuffisance cardiaque (Kenchiah, 2004). L'hypertrophie cardiaque se définit comme une réponse adaptative chronique du cœur adulte à une blessure ou à une charge hémodynamique anormale. Elle se manifeste par une augmentation de la grosseur des cardiomyocytes et de leur contenu protéique. L'hypertrophie cardiaque se présente d'abord comme une période de compensation pour maintenir le débit cardiaque ainsi que la fonction cardiovasculaire à des valeurs normales le plus longtemps possible. Cependant, cette pathologie progresse vers une phase de décompensation qui conduit à une cardiomyopathie caractérisée par une dilatation des chambres ventriculaires et ultimement à l'insuffisance cardiaque.

Le remodelage du myocarde repose essentiellement sur la loi de Laplace. Cette théorie stipule qu'à pression constante, l'augmentation du rayon de la courbe ventriculaire est proportionnelle à l'élévation de la tension développée entre les parois du ventricule.

Ainsi, Tension = Pression transmurale X Rayon

Dans un cœur sain, le rayon change peu pour accommoder une variation de pression occasionnelle comme par exemple au cours de la systole. Cependant, lorsque le ventricule est confronté à une élévation systémique de la pression

artérielle par exemple, le rayon s'agrandit aussi afin de normaliser la tension. Au fil du temps, le ventricule ainsi dilaté devient inefficace et ne pourra répondre de façon aussi intense à l'augmentation de la pression, car il doit consommer beaucoup trop d'énergie pour effectuer le même travail. Le ventricule compense donc en augmentant l'épaisseur de la paroi par hypertrophie (Basford, 2002).

Par conséquent, l'équation de Laplace se traduira de cette façon :

$$\text{Tension} = (\text{Pression intramurale} \times \text{Rayon}) / \text{Épaisseur de la paroi}$$

L'augmentation de l'épaisseur de la paroi ventriculaire est généralement considérée comme étant secondaire à de l'hypertrophie, car les myocytes cardiaques sont des cellules différenciées n'ayant plus la capacité de proliférer après la naissance. Ces cellules n'auraient donc plus le potentiel pour s'hyperplasier (augmentation de la quantité du nombre de cellules). L'augmentation de la masse ventriculaire serait donc due à la synthèse de protéines contractiles et accessoires (Shapiro, 1996). Cependant, de nouvelles données démontrent qu'une certaine quantité de myocytes seraient capables de se renouveler en passant à nouveau par le cycle cellulaire comme par exemple suite à une blessure cardiaque telle que l'infarctus du myocarde (Anversa, 2002). Alors que 80% des cardiomyocytes sont arrêtés dans le cycle cellulaire en phases G_0 ou G_1 , 20% des autres sont arrêtés en phase G_2/M . Ainsi, ces cardiomyocytes perdent la capacité de diviser leur cytoplasme (cytocinèse) mais pas celle de

diviser leur noyau (caryocinèse). C'est pourquoi en microscopie, certains cardiomyocytes sont mononucléés alors que d'autres sont binucléés.

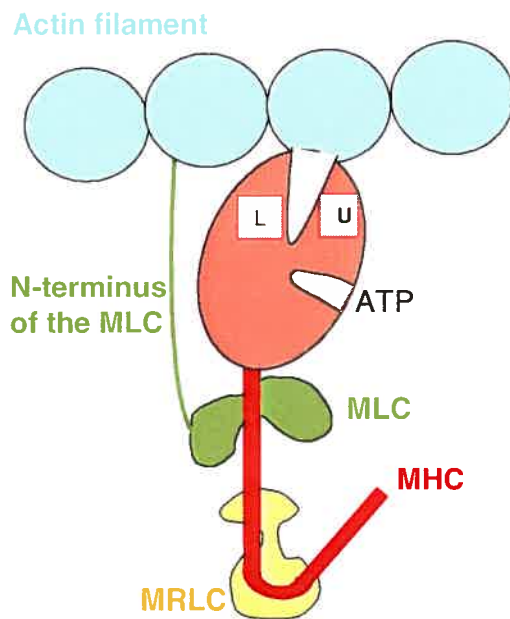
1.6.1 Les types d'hypertrophie et les caractéristiques associées

Il existe 2 types d'hypertrophie cardiaque: concentrique et eccentric. L'hypertrophie concentrique est retrouvée chez des patients hypertendus. Elle est caractérisée par un important épaissement de la paroi ventriculaire accompagné d'une légère (ou même sans) réduction de la dimension de la chambre cardiaque. La largeur des myocytes est augmentée et ces changements sont accompagnés d'un ajout de sarcomères en parallèle (Campbell, 1989). L'hypertrophie eccentric est causée par une surcharge volémique. On la retrouve chez les patients souffrant de maladies valvulaires ou d'infarctus du myocarde. Le volume et le rayon de la chambre ventriculaire sont élargis dus à l'élongation des myocytes et l'addition de sarcomères en série (Gerdes, 1988). Cependant, il existe des conditions comme chez les athlètes où l'hypertrophie est bénéfique. Par exemple chez les haltérophiles qui ont un entraînement statique et ont besoin de force musculaire, l'hypertrophie concentrique se développe. Chez les athlètes pratiquant un entraînement dynamique telle que la course, on observe plutôt l'hypertrophie eccentric (Longhurst, 1997).

1.6.2 La physiopathologie de l'hypertrophie cardiaque

Le sarcomère constitue l'élément contractile du myocyte. Chaque sarcomère est constitué d'un filament épais de myosine et d'un filament mince d'actine. C'est la cinétique de glissement de l'un sur l'autre qui génère la contraction. Chaque filament de myosine est composé de 2 chaînes lourdes (MHC), de 2 chaînes légères (MLC; appelée aussi chaîne essentielle) et de 2 chaînes régulatrices des chaînes légères (MRLC) (Figure 10). Alors que les chaînes lourdes constituent l'unité catalytique car elles possèdent le site de liaison pour l'ATP et l'actine, les chaînes légères et régulatrices modulent l'activité contractile (Morano, 1999).

Figure 10- Interaction actine-myosine



Tiré de : Schaub, 1998

1.6.2.1 Expression génique et hypertrophie cardiaque

Une des premières adaptations du cœur à la surcharge, qu'elle soit d'ordre volumique ou pressive, est la réexpression de certains isoformes de protéines contractiles. Certains marqueurs embryonnaires sont aussi réexprimés. Ce processus est appelé « réinduction du programme génique fœtal ». Les altérations observées lors d'hypertrophies concentriques sont notées dans le Tableau 2. Cependant, les différents types d'hypertrophies sont associés à des profils d'expression moléculaire différents. Par exemple, alors que le poids du ventricule gauche et l'expression d'ANP ont été rapportés comme étant augmentés de façon similaire lors d'hypertrophie cardiaque concentrique et eccentriche chez des rats, la surexpression de β -MHC et d'alpha-actine squelettique et la sous-expression de la pompe à Ca^{2+} du réticulum sarcoplasmique SERCA2 sont présentes seulement lors d'hypertrophie concentrique (Calderone, 1995). Puisque l'expression génique n'est pas la même entre les 2 types d'hypertrophies, ceci laisse suggérer que le profil génique puisse être associé aux différences morphologiques observées.

Tableau 2 – Expression des différentes isoformes des gènes codant pour des protéines contractiles cardiaques au cours du développement et de l'hypertrophie cardiaque concentrique

Famille de gènes	Foetal	Adulte	Hypertrophie
MHC	β -MHC α -MHC	α -MHC	β -MHC
α-Actine	squelettique cardiaque lisse	cardiaque	squelettique cardiaque
MLC-1	MLC-1v MLC-1a	MLC-1v	MLC-1a
MLC-2	MLC-2 _{v+}	MLC-2 _{v+}	MLC-2 _{v++}
Tropomyosine	α -Tm β -Tm	α -Tm	u-Tm β -Tm
Créatine Kinase	CK-M CK-B	CK-M	
Na⁺/K⁺-ATPase	α 1, a2	α 1	α 1, a2
ANP	+		++

+; normale, ++; augmentation/régulation à la hausse. MHC; myosin heavy chain, MLC; myosin light chain, Tm; tropomyosine. Les préfixes ventriculaire (v) et atriale (a) indiquent les tissus et/ou les étapes du développement où le produit du gène est exprimé de façon prédominante. Les isoformes M et B de la Créatine kinase représentent les isoformes muscle et non muscle spécifiques, respectivement. Adapté et traduit de: Reddy, 1996.

Les gènes du « programme génique foetal » les plus importants sont discutés dans la section suivante.

Dans le ventricule cardiaque, 2 types de MHC se succèdent dans le temps. Chez le foetus et le nouveau-né, on retrouve la forme V3 de la MHC soit l'isoforme composée de 2 sous-types bêta ($\beta\beta$). Par contre, chez l'adulte la MHC est

retrouvée sous sa forme V1 soit celle qui est composée de 2 sous-types alpha ($\alpha\alpha$) (Mahdavi, 1987). De plus, l'isoforme β a une plus faible activité ATPasique que l'isoforme α suggérant que le ventricule utilise moins d'ATP pour initier le glissement de la myosine avec l'actine, mais ceci engendre une réduction de la vitesse de contraction (Morano, 1999). En cas d'hypertrophie cardiaque chez l'adulte, la réexpression de l'isoforme β (ou V3) est favorisée (Lompre, 1979; Gupta, 1997). Par exemple, chez des rats où l'hypertrophie cardiaque s'est développée suite à une surcharge volémique ou pressive, on observe un changement d'expression de la MHC vers l'isoforme V3. Chez ces animaux, cette modification est accompagnée d'une diminution de la contractilité cardiaque (Takeda, 1990).

Chez le fœtus, la totalité du cœur exprime l'isoforme atriale des chaînes légères (aMLC-1). Avec la maturation et la septation cardiaque, il y a expression de l'isoforme ventriculaire (vMLC-1). C'est pourquoi chez l'adulte, les deux isoformes sont spécifiques, l'atriale dans les oreillettes et la ventriculaire dans les ventricules (Morano, 1999). Par contre, au moment de l'hypertrophie cardiaque, il y a réexpression de l'aMLC-1 dans le ventricule (Nakao, 1992). Il a été documenté que sa réexpression, secondaire à une hypertrophie causée par l'exercice chez le rat ou suite à l'hypertrophie cardiomyopathique obstructive chez l'humain, améliore la fonction contractile du cœur (Ritter, 1999, Diffie, 2003a). Cet effet de l'aMLC-1 serait causé par une augmentation de la sensibilité de l'appareil contractile des cardiomyocytes pour le calcium. De plus, l'aMLC-1 favorise l'interaction entre la

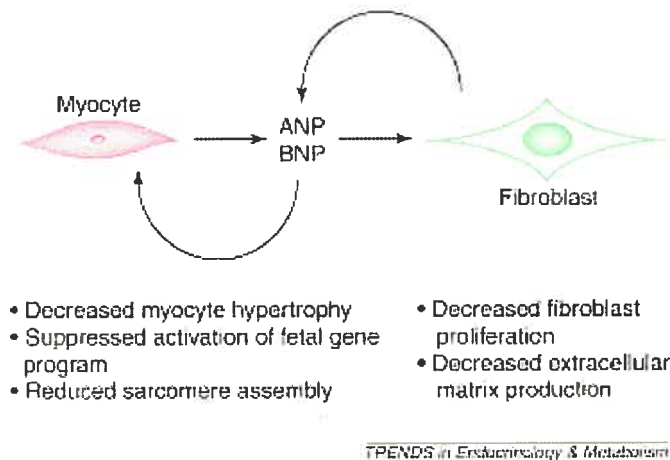
myosine et l'actine afin d'améliorer la cinétique de glissement de l'un sur l'autre (Diffie, 2003b, Schaub, 1998).

La MRLC-2 est une protéine contractile constitutivement exprimée dans le myocarde (Chien, 1991). Elle est phosphorylée de façon réversible par un ensemble de systèmes enzymatiques incluant la kinase (MLCK) et la phosphatase des chaînes légères. La contraction cardiaque serait initiée par cette phosphorylation (Adelstein, 1980). En cas d'hypertrophie, l'augmentation de la phosphorylation de la MRLC-2 servirait de mécanisme compensatoire pour favoriser la cinétique de glissement de l'actine sur la myosine et améliorer la contractilité cardiaque (Morano, 1999).

Le gamma-ANP est le précurseur de l'ANP qui est un peptide de 28 acides aminés (Oikawa, 1984). Le peptide natriurétique de l'oreillette possède plusieurs synonymes tel que facteur natriurétique de l'oreillette (ANF), cardionatine, alpha-ANP et précurseur A du peptide natriurétique. Au cours du développement embryonnaire, l'ANP est présent dans les ventricules et oreillettes cardiaques. Après la naissance, son expression sera presque exclusivement retrouvée dans les oreillettes. Cependant, en cas, d'hypertrophie cardiaque, l'ANP sera réexprimé dans les ventricules (Chien, 1991). L'ANP aide à la régression de l'hypertrophie cardiaque de façon indirecte en diminuant la surcharge sur le cœur par son effet de vasodilatateur et par son rôle d'agent diurétique/natriurétique (Ruskoaho, 2002). Des études plus récentes rapportent aussi que l'ANP aurait un rôle plus direct sur l'inhibition de la croissance des cardiomyocytes. Il a été démontré chez

la souris que la délétion du gène *Npr1* codant pour le récepteur à l'ANP et BNP (peptide natriurétique du cerveau), NPR-A, résulte en une élévation de la pression artérielle, une hypertrophie cardiaque et une fibrose interstitielle suggérant un rôle d'inhibiteur de la croissance et du remodelage cardiaque de l'ANP (Oliver, 1997). Par inactivation du récepteur NPR-A, on a démontré que l'hypertrophie cardiaque résultante est aussi accompagnée de la réinduction de certains gènes fœtaux tels que la β -MHC et l'ANP (Holtwick, 2003). Lorsque des cardiomyocytes de rats néonataux stimulés par l'Ang II ou l'ET sont prétraités avec de l'ANP, l'augmentation de la grosseur des cardiomyocytes et de la synthèse protéique normalement mesurée sont inhibés. De plus, ce prétraitement à l'ANP inhibe aussi l'activation des MAPK ainsi que la réexpression de gènes fœtaux caractéristiques de l'hypertrophie cardiaque normalement observée suite à une stimulation de ces cellules par l'Ang II et l'ET. Selon cette étude, l'ANP exerce ces effets en surexprimant la phosphatase de type 1 des MAPK, laquelle inhibe la réponse hypertrophique induite par l'Ang II et l'ET (Hayashi D, 2004). Il a aussi été démontré que l'ANP inhibe l'hypertrophie cardiaque induite par une stimulation à la noradrénaline (NA) en inhibant de façon GMPc-dépendante la stimulation de l'influx calcique créée par la NA (Calderone, 1998). Ainsi, en plus de sa caractéristique de marqueur, l'ANP serait un modulateur de l'hypertrophie cardiaque (Gardner, 2003; Figure 11). Cette hormone réduirait la croissance cellulaire et la transcription de gènes fœtaux en inhibant certaines voies de signalisation.

Figure 11- Rôle de modulateur de l'ANP dans l'hypertrophie cardiaque



Tiré de :Gardner, 2003

La famille des peptides natriurétiques incluant l'ANP est aussi composée du BNP et du CNP (peptide natriurétique produit par l'endothélium). Alors que BNP à un rôle d'antifibrotique au niveau des cardiomyocytes (Oliver, 1997), CNP joue plutôt un rôle proapoptotique au sein des cardiomyocytes néonataux (Han, 2003). Il a aussi été démontré que l'ANP, le BNP et le CNP se partageaient un rôle d'agent anti-hypertrophique dans des cardiomyocytes de rats adultes stimulés à l'All (Rosenkranz, 2003). Récemment, des études ont démontré que BNP et CNP étaient produits par les fibroblastes cardiaques. Dans des fibroblastes cardiaques humains, BNP inhibe la prolifération cellulaire induite par TGF- β et inhibe aussi la production de collagène et de fibronectine. Ce peptide natriurétique réduit aussi les effets du TGF- β sur les fibroblastes tel que la fibrose, la prolifération et l'inflammation (Kapoun, 2004). CNP a aussi été démontré comme supprimant la prolifération des fibroblastes ainsi que la production de matrice extracellulaire (Horio, 2003). Ainsi, ces 2 peptides natriurétiques agiraient à titre de régulateur contre une fibrose cardiaque excessive. Comme les peptides natriurétiques,

l'adrénomédulline est un peptide vasodilatateur synthétisé dans les cardiomyocytes et fibroblastes cardiaques de rats néonataux. L'adrénomédulline exerce des actions inhibitrices sur l'hypertrophie cardiaque et réduit aussi la prolifération des fibroblastes cardiaques ainsi que la production de collagène (Kato, 2003).

En réponse à un stimulus hypertrophique, plusieurs effecteurs intracellulaires sont stimulés et activent différentes voies de signalisation. Le facteur de transcription GATA4 est un effecteur nucléaire dans la plupart des voies de signalisation initiées par un étirement mécanique ou en réponse à différents stimuli humoraux agissant sur des récepteurs couplés aux protéines G tel que AII, ET-1 ou à des récepteurs à activité tyrosine kinase (Pikkarainen, 2003; Liang, 2002). De plus, le promoteur de plusieurs gènes cardiaques, tel que ANP, BNP, β -MHC, α -MHC, MLC, récepteur AT₁ de l'angiotensine, possède un domaine de liaison pour GATA4 qui est essentiel à leur transcription (Molkentin, 2000). Le facteur de transcription HAND2 est aussi impliqué dans la transcription de l'ANP puisque chez des souris HAND2^{-/-}, on observe une réduction marquée d'ANP dans le cœur (Thattaliyath, 2002). L'induction d'ANP est aussi possible par l'activation de la protéine kinase C (Reddy, 1996) et par Raf qui agit de façon MEK-indépendante dans les cellules cardiaque (Jette, 2000). Dans un modèle murin de dystrophie musculaire accompagnée d'une hypertrophie des cardiomyocytes et dans le cœur postnatal, où la croissance des myocytes est due à de l'hypertrophie, on a rapporté une activation de la kinase p38 qui phosphoryle le facteur de transcription des myocytes MEF2 (*myocyte enhancer factor*). De plus,

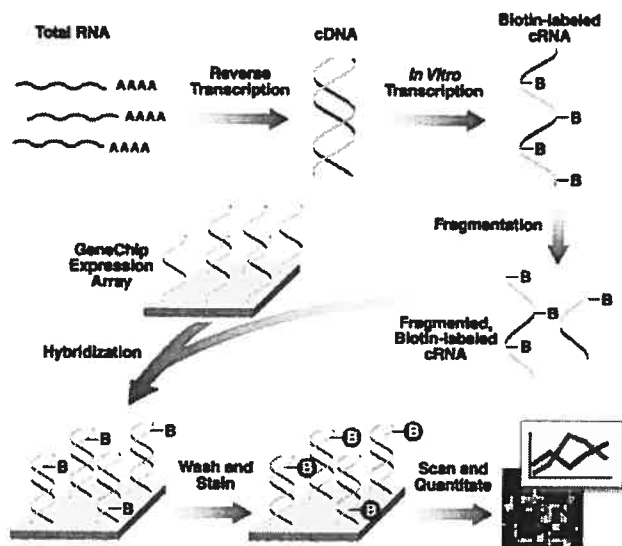
chez la souris transgénique dominante négative pour MEF2, on observe une diminution de la croissance du cœur en période post-natale ainsi qu'une réduction de l'expression de l'ANP (Kolodziejczyk, 1999). Ces travaux suggèrent un rôle important de l'activation de la kinase p38 sur le facteur de transcription MEF2 dans l'hypertrophie cardiaque normale et pathologique. De plus, MEF2 activerait la transcription de certains gènes dits fœtaux lors de l'hypertrophie cardiaque.

1.6.2.1.1 Informations complémentaires sur la méthodologie du criblage génique

Le criblage génique est une méthode utilisée pour déterminer quels gènes sont sur-, sous- ou non différemment exprimés lorsque 2 groupes ou 2 traitements sont comparés. Je ferai dans la section qui suit un bref rappel sur la méthodologie des micropuces d'Affymétrie qui ont été utilisées dans ma thèse ainsi que sur l'analyse des résultats.

La méthodologie des micropuces consiste tout d'abord à générer de l'ADN complémentaire à partir d'ARN. Cet ADNc subit une transcription *in vitro* afin d'insérer dans l'ARN des molécules fluorescentes de biotine. Par la suite, l'ARN marqué est fragmenté, hybridé aux oligonucléotides sur la micropuce et coloré à la streptavidine-phycoérythrine. Les excès de fluorochromes et de matériels non-hybridés sont éliminés par lavages. Par exposition à un laser, les molécules de biotine colorées sont excitées et émettent de la fluorescence laquelle est quantifiée (Figure 12).

Figure 12- Méthodologie de la micropuce Affymetrix



Tiré de: www.affymetrix.com/technology

Sur la micropuce, des milliers de gènes sont représentés. Sur celle utilisée dans notre étude (U34A pour le génome de rat), 7 000 séquences complètes et 1 000 séquences partielles sont présentes. Chacun des gènes est identifié par plus de 11 paires de sondes d'oligonucléotides couvrant le gène en entier afin d'assurer la qualité du signal spécifique ainsi que la fiabilité des résultats. Chacune de ces paires de sondes est composée d'une séquence nucléotidique spécifique, appelée «perfect match» et d'une séquence comportant un nucléotide différent au milieu de la séquence, nommée «mismatch». Ainsi, lors de l'hybridation, l'ARN complémentaire marqué et lié aux séquences spécifiques constitue le signal spécifique alors que celui lié à la séquence «mismatch» constitue le signal non-spécifique. Ceci constitue donc un contrôle propre à chacune des sondes. Dans le but de contrôler pour la quantité de matériel qui a été déposée sur la micropuce, des sondes de gènes rapporteurs tel que le GAPDH de rat (3, 5 M) et la β -actine de rat (3, 5 M) sont insérées. Finalement, la qualité de

fabrication de la micropuce est aussi vérifiée à l'aide de plusieurs contrôles internes (E.Coli BioC-3-prime [AFFX-BioC-3_at], E.Coli BioC-5-prime [AFFX-BioC-5_at], E.Coli BioD-3-prime [AFFX-BioDn-3_at], E.Coli BioD-5-prime [AFFX-BioDn-5_at], Cre-3-prime [AFFX-CreX-3_at], Cre-5-prime [AFFX-CreX-5_at]). Grâce à ses multiples contrôles, il est possible de comparer deux micropuces traitées dans le même essai et aussi de comparer les résultats obtenus à partir de deux expériences différentes.

Pour l'analyse des résultats, 4 types de méthodes sont disponibles. Cependant, le logiciel d'analyse le plus utilisé est celui fourni par le fabricant des micropuces soit le «Affymetrix Microarray suite 5.0 software». Nous avons utilisé le logiciel 2HAPI (High-density Array Pattern Interpreter) décrit par Sasik et Corbeil (Sasik, 2002). Alors que le programme d'Affymetrix est surtout reconnu comme étant performant pour l'analyse d'essais de micropuces individuelles, le logiciel 2HAPI utilise une méthodologie sophistiquée capable d'appliquer une analyse statistique à une série d'essais. Contrairement au système d'Affymetrix qui soustrait le signal provenant de la sonde «mismatch» du signal «perfect match», le programme utilisé dans notre étude détermine le signal de base seulement par le «mismatch» ce qui génère de meilleurs résultats. L'ensemble des signaux, de toutes les paires de sondes spécifiques représentant le même gène, sont intégrés par le logiciel et la valeur finale est représentative du nombre de transcrit présent. Ainsi, la sensibilité de ce système offre un niveau de détection entre 2 à 5 copies d'ARNm par cellules. De plus, cette nouvelle méthode d'analyse augmente de 4 fois le ratio signal spécifique/non-spécifique et diminue à 4% le nombre de

résultats faux positifs comparativement au 29% retrouvé par l'analyse d'Affymetrix (Sasik, 2002). Alors que la méthode d'Affymetrix utilise une nomination binaire pour indiquer l'expression réelle d'un gène sur la micropuce (absent ou présent), la méthode 2HAPI utilise une valeur statistique précise pour s'en assurer (valeur $p \leq 0.05$).

1.6.2.2 Métabolisme énergétique dans le cœur normal et hypertrophié

Les substrats utilisés, par le cœur, pour la production d'énergie sont différents chez le fœtus et l'adulte. Le fœtus qui est dans un environnement hypoxique utilise la glycolyse (dégradation du glucose et/ou du lactate) pour la production d'ATP. Cependant, après la naissance, la présence d'oxygène fait augmenter le nombre de mitochondries et ainsi, la β -oxydation des acides gras devient la principale source d'acétyl CoA pour la formation d'ATP par le cycle tricarboxylique (Lehman, 2002).

En cas d'hypertrophie cardiaque, le cœur se tourne vers un métabolisme dit fœtal. Des études effectuées chez le rat SHR souffrant d'hypertrophie concentrique ont démontré une augmentation de 4-5 fois du ratio oxydation glucose/acides gras comparativement aux rats normotensifs (Christe, 1994). Puisque le catabolisme du glucose produit plus d'ATP par mole d'oxygène consommée, ces résultats démontrent une économie énergétique au cours de l'hypertrophie compensée.

1.6.2.3 Le stress oxydatif et l'hypertrophie cardiaque

La présence du stress oxydatif constitue une nouvelle avenue quant à la pathogenèse de l'hypertrophie cardiaque. Dans le myocarde, les sources principales de radicaux libres oxygénés (RLO) sont la NADPH oxydase et la mitochondrie. En condition physiologique, une certaine quantité de RLO est générée au cours de la formation d'ATP par le cycle tricarboxylique et la chaîne respiratoire, mais est détruite par une enzyme mitochondriale : la superoxide dismutase (SOD). Cependant, en condition pathologique, un couplage inadéquat entre le cycle tricarboxylique et la chaîne respiratoire peut empêcher la SOD de fonctionner et ainsi, les RLO s'accumulent (Byrne, 2003).

Certaines enzymes mitochondriales impliquées dans le cycle tricarboxylique sont inactivées par le stress oxydatif. L'inactivation de l'enzyme NADP^+ -isocitrate déshydrogénase, essentielle pour fournir l'énergie aux cardiomyocytes, a été démontrée suite à l'administration d'un produit provoquant la peroxydation lipidique (Benderdour, 2003). Cette inactivation est suivie de l'hypertrophie cardiaque chez ces animaux. Suite à l'induction d'un stress oxydatif, l'aconitase (enzyme-clé du cycle tricarboxylique) est réduite chez des rats SHR développant l'hypertrophie cardiaque comparativement aux rats Wistar Kyoto (WKY) (Benderdour, sous presse). Il est donc suggéré que la production de RLO entraverait le fonctionnement du cycle tricarboxylique et contribuerait au développement de l'hypertrophie.

Dans le cœur de souris $Epas1^{-/-}$ (souris dont le gène codant pour le facteur induit par l'hypoxie (HIF) a été délété), on retrouve une hypertrophie cardiaque, une altération de la fonction du cycle tricarboxylique et des enzymes de l'oxydation des acides gras. Les myocytes cardiaques de ces souris contiennent plusieurs mitochondries en dégénérescence, lesquelles produisent 2 fois plus de RLO que la souris $Epas1^{+/+}$ (Scortegagna, 2003). Ces résultats suggèrent que le facteur HIF, stimulé par l'hypoxie et l'hypoglycémie, empêcherait l'induction d'un stress oxydatif et conserverait l'homéostasie de la mitochondrie. Ces données démontrent aussi qu'une atteinte des mitochondries au niveau cardiaque entraîne la formation de RLO qui entraveront l'activité des enzymes nécessaires au métabolisme énergétique. De plus, dans un modèle murin de surcharge pressive, l'hypertrophie cardiaque est accompagnée de peroxydation lipidique (Date, 2002). Cependant, lorsque les animaux sont traités avec un agent séquestrant les RLO, la N-2-mercaptopropionyl glycine, la peroxydation lipidique est éliminée et l'hypertrophie cardiaque régresse. On propose donc que les RLO seraient impliqués dans l'hypertrophie cardiaque secondaire à une surcharge pressive.

L'ensemble de ces données suggère que l'hypertrophie cardiaque serait caractérisée par la réexpression de gènes fœtaux, par une altération du métabolisme énergétique et ce possiblement via la présence d'un stress oxydatif.

1.7 LES MODÈLES ANIMAUX DE PROGRAMMATION FŒTALE

Nous avons vu précédemment que le petit poids de naissance est associé à plusieurs types de maladies dans la vie adulte. Cependant, dû à la longévité de l'humain, aux facteurs génétiques et aux facteurs non contrôlables, il devenait impératif de développer des modèles animaux afin d'élucider les mécanismes impliqués dans la programmation fœtale des pathologies adultes.

1.7.1 Les modèles utilisant la manipulation alimentaire

1.7.1.1 Diète restreinte en calories

Lorsqu'une diète restreinte de 70% en calories est donnée à des rates tout au cours de la gestation, on observe une diminution d'environ 30% du poids des fœtus et des placentas. À l'âge adulte, ces animaux ont une pression artérielle systolique supérieure de 5-8 mmHg à celle des témoins (Woodall, 1996b). Une diminution significative des niveaux plasmatiques de facteur de croissance analogue à l'insuline de type 1 (IGF-1) a été observée chez la mère tout au cours de la gestation. De plus, une réduction d'IGF-1 et des protéines de liaison des IGF de type 3 (IGFBP-3) a été rapportée chez le fœtus jusqu'au 9^e jour de vie post-natale (Woodall, 1996a; Gallager, 1998). Ces résultats suggèrent un rôle des IGF et de leur transporteur dans la RCIU. Un traitement à l'IGF-1 pendant 2 semaines normalise la pression artérielle systolique de ces animaux, augmente la concentration plasmatique des IGFBP-1 à 3 et réduit les concentrations plasmatiques d'insuline et de leptine en période de jeûne (Vickers, 2001). Ce

traitement améliorerait la pression artérielle des animaux RCIU via la voie de signalisation du récepteur à IGF ou par des réseaux de signalisation situés en aval.

Une diète restreinte de 60% en calories a été donnée à des rates gestantes pendant les 2 dernières semaines de gestation et la 1^{ère} semaine de lactation. Au jour 2 postnatal, certains ratons reçoivent une injection de capsaïcine alors que les ratons nés de mère témoin, reçoivent le véhicule. La capsaïcine, administrée en période néonatale, entraîne la dégénération des fibres C non-myélinisées qui constituent la majeure proportion des projections centrales des baro- et chémorécepteurs cardiovasculaires (Bond, 1982). La malnutrition maternelle entraîne une RCIU au cours de la période foetale. Alors que la pression artérielle systolique augmente chez les rats nés de mères mal nourries comparativement aux témoins, le traitement à la capsaïcine la normalise. Ces données suggèrent que l'élévation de la pression artérielle chez les rats nés de mères mal nourries serait secondaire à un défaut de l'activité des fibres sensorielles C non-myélinisées (Perez, 2002). Une atteinte du système nerveux sympathique serait à investiguer.

Une diète restreinte de 50% en calories à des rates pendant la seconde moitié de la gestation provoque une RCIU chez les ratons femelles. La pression artérielle de ces rates n'est pas modifiée à long terme. Cependant, la relaxation des artères mésentériques dépendantes de l'endothélium est réduite suivant un traitement à l'acétylcholine ou à la bradykinine chez les femelles RCIU comparativement aux femelles témoins. La sensibilité au nitroprussiate de sodium (qui provoque la relaxation d'un vaisseau suite à la relâche de NO exogène) est

augmentée (Holemans, 1999). Ces résultats ont été corroborés chez les mâles RCIU (Brawley, 2003). Ceci suggère que bien que la malnutrition maternelle ne conduise pas toujours à l'hypertension artérielle, des modifications de la fonction vasculaire peuvent être décelées. Une réduction de la synthèse du NO par diminution de la eNOS a été rapportée dans les aortes de mâles et femelles adultes nés de mères ayant reçu la diète restreinte en calories (Franco, 2002a).

1.7.1.2 Diète restreinte en protéines

En donnant une diète restreinte en protéines à des rates gestantes seulement entre la période de conception et la période d'implantation soit des jours 0 à 4, on observe une réduction du nombre de cellules formant le blastocyste. La diète faible en protéine entraîne, chez la mère, une réduction des concentrations plasmatiques d'insuline et d'acides aminés essentiels alors que les taux de glucose sont augmentés. Une réduction du poids de naissance a été démontrée chez les femelles alors qu'une élévation de la pression artérielle systolique à l'âge adulte est observée chez les mâles (Kwong, 2000). Ces résultats suggèrent que la déplétion en acides aminés de la mère constituerait un mécanisme conduisant à la restriction de croissance et à la programmation fœtale de l'hypertension.

Chez des rats âgés de 4 semaines dont les mères ont reçu une diète faible en protéines (9%) pour la totalité de la gestation, une réduction du ratio poids des reins sur poids total de l'animal ainsi qu'une diminution de 13% dans le nombre de glomérules rénaux ont été associées à une élévation de 13 mmHg de la pression artérielle comparativement aux animaux témoins. À 19 semaines,

l'augmentation de la pression artérielle est présente, le ratio du poids du rein sur le poids total est toujours inférieur, mais la filtration glomérulaire n'est pas modifiée chez les rats expérimentaux comparativement aux témoins (Langley-Evans, 1999). Dans des études subséquentes, on a démontré que les ratons 9% de 4 semaines présentent une réduction de la clearance de la créatinine alors que les rats plus âgés ont une augmentation de l'urée plasmatique ainsi qu'une importante excrétion d'albumine (Nwagwu, 2000). Ces travaux suggèrent que l'hypertension artérielle serait secondaire à une atteinte de la structure du rein laquelle serait programmée par la malnutrition maternelle. De plus, la réduction de la néphrogénèse chez les rats hypertendus conduirait à une détérioration de la fonction rénale.

La diète faible en protéines donnée pour la seconde moitié de la gestation provoque une diminution de 15% du poids de naissance. À partir de la 8^e semaine de vie, ces ratons développent une hypertension accompagnée d'une augmentation de l'activité rénine plasmatique et du sodium plasmatique alors que la fonction rénale demeure normale. Ces données suggèrent que l'hypertension observée est associée à une réabsorption accrue de sodium ainsi qu'à une expansion du volume extracellulaire (Manning, 2001). Dans une étude subséquente, on observe une importante augmentation de l'ARNm et de la protéine des transporteurs $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ dans l'anse de Henlé et Na^+/Cl^- dans le tubule distal du rein chez les rats nés de mères mal nourries par rapport aux témoins et ce, dès la 4^e semaine de vie soit avant l'établissement de

l'hypertension. Ces résultats suggèrent que l'hypertension serait le résultat d'un problème de la régulation du sodium par le tubule rénal (Manning 2002).

Dans des microvaisseaux de résistance cérébraux de rats adultes nés de mères ayant reçu la diète faible en protéines, une atténuation de la voie de la guanylate cyclase (GMPc et guanylate cyclase soluble) a été rapportée (Lamireau, 2002). Ces données suggèrent que le problème de vasorelaxation est relié à une déficience en NO.

L'administration de superoxide dismutase (enzyme catalysant la dégradation des anions superoxides en oxygène et peroxyde d'hydrogène) chez les mâles adultes nés de mères ayant reçu la diète restreinte en protéines entraîne une amélioration de la réponse vasculaire à l'acétylcholine et à la bradykinine (Franco, 2002c). La diminution de la relaxation des vaisseaux dépendante de l'endothélium, chez ces animaux, serait due à une diminution de la biodisponibilité du NO suite à sa séquestration par les anions superoxides en réponse à une augmentation du stress oxydatif.

Une augmentation de 134% de l'activité de l'enzyme de conversion de l'angiotensine II ainsi qu'une élévation de la pression artérielle de 28 mmHg ont été rapportées chez des rats de 13 semaines nés de mères qui avaient reçu la diète faible en protéines tout au cours de la gestation comparativement aux animaux nés de mères témoins. Chez ces animaux, le captopril a abaissé la pression artérielle à des niveaux comparables à ceux observés chez les normotensifs (Langley-Evans,

1995). Ces études suggèrent que l'activation du SRA serait en partie responsable de l'hypertension chez les rats nés de mères ayant reçu la diète en période prénatale.

Dans des études subséquentes, il a été démontré que l'administration de losartan (antagoniste des récepteurs AT₁) à la mère et aux ratons, entre la 2^e et la 4^e semaine de vie post-natale, prévient l'augmentation de pression artérielle normalement observée chez les animaux RCIU (Sherman, 2000). Par surcroît, une surexpression protéique du récepteur AT₁ a été rapportée dans le rein d'animaux RCIU de 4 semaines (Sahajpal, 2003). Dans une autre étude, une diminution de l'expression du récepteur AT₂ a été observée dans les reins d'animaux RCIU mâles (McMullen, 2004). Ces résultats suggèrent qu'une augmentation des récepteurs AT₁ ou une diminution des récepteurs AT₂ serait à la base de l'hypertension retrouvée chez ces animaux.

Chez des rats adultes nés de mères ayant reçu une diète restreinte en protéines (9% vs 18%) tout au cours de la gestation, une élévation de 18 mmHg par rapport aux témoins a été observée. Chez ces animaux, le contrôle baroréflexe de la fréquence cardiaque, généré par l'injection de phényléphrine (agoniste alpha-adrénergique) et de nitroprussiate, est déplacé vers des pressions plus élevées. L'injection d'inhibiteur de l'ECA normalise la pression artérielle et ramène la courbe de contrôle de la fréquence cardiaque par le baroréflexe vers des pressions plus basses. De plus, une augmentation du nombre de récepteurs AT₁ a été détectée dans l'organe subfornical du noyau paraventriculaire du cerveau (induit la soif).

L'administration intra-cérébroventriculaire de losartan et d'inhibiteur de l'ECA réduit la pression artérielle chez les animaux adultes 9% (Pladys, 2004). Ces résultats suggèrent que l'élévation de la pression artérielle, chez les animaux dont les mères ont été privées en nutriments au cours de la période prénatale, est secondaire à une atteinte du système de contrôle des baroréflexes et du cerveau. Ces effets semblent dépendants de l'activation du SRA périphérique.

1.7.2 La surexposition aux glucocorticoïdes

Chez l'humain et les animaux, les glucocorticoïdes ont des effets inhibiteurs sur la croissance (Reinisch, 1978). Par exemple, le syndrome de Cushing, causé par un excès de glucocorticoïdes, est caractérisé par un retard de croissance et une hypertension. De la dexaméthasone (un glucocorticoïde synthétique traversant la barrière placentaire) a été administrée à des brebis pendant 1 semaine à la fin du 1^{er} mois de gestation (terme environ 150 jours) (Dodic, 1998). Ce traitement a provoqué une élévation de la pression artérielle de 6-8 mm Hg chez l'agneau.

En condition normale, le fœtus est très peu exposé aux glucocorticoïdes provenant de la mère parce que ces derniers ne passent pas la barrière placentaire. Une enzyme, la 11 β -hydroxystéroïde déhydrogénase de type 2 (11 β -HSD2), localisée au niveau du placenta convertit le métabolite actif des glucocorticoïdes en un métabolite inactif. L'administration de carbexolone (inhibiteur de la 11 β -HSD2) chez la rate pendant toute la période de gestation entraîne une RCIU ainsi qu'une augmentation de la pression artérielle de 7-9 mm

Hg chez les rats mâles et femelles devenus adultes (Lindsay, 1996). De plus, l'administration de carbexolone à des rates gestantes adrénalectomisées ne conduit à aucun de ces effets chez les rats. Dans le modèle de restriction protéique, une diminution de 33% de l'activité de cet enzyme a été observée dans les placentas de ces mères comparativement aux témoins (Langley-Evans, 1996). Ces données suggèrent qu'un excès de glucocorticoïdes passant de la mère au fœtus par la réduction de l'activité de l'enzyme placentaire 11β -HSD2 serait impliqué dans la programmation fœtale de l'hypertension à l'âge adulte.

Dans le modèle de programmation fœtale par administration de glucocorticoïdes au 27^e jour de gestation chez la brebis, aucune différence dans les concentrations des différentes composantes du SRAA périphérique (rénine, angiotensinogène, ECA, AI et AII) n'a été retrouvée entre les animaux traités et normaux et ce, même si la pression artérielle de ces animaux est plus élevée à 40 mois. De plus, le traitement à l'irbesartan (antagoniste des récepteurs AT_1) chez les animaux traités n'abaisse pas la pression artérielle (Peers, 2001). Cependant, les composantes du SRA intrarénal, soient l'ARNm de l'angiotensinogène et des récepteurs AT_1 et AT_2 , sont augmentées chez ces animaux (Moritz, 2002). Ces données suggèrent que dans le modèle de surexposition aux glucocorticoïdes, bien que le SRAA périphérique ne semble pas avoir d'effet, le système intrarénal est suractivé et pourrait être le mécanisme par lequel la pression artérielle est élevée.

Lorsque la dexaméthasone est donnée à la rate pendant toute la gestation, une réduction de l'épaisseur de la zone néphrogénique est observée chez le fœtus. À la naissance, le poids total de l'animal ainsi que le poids des reins sont réduits. À 20 jours, soit après la fin de la néphrogénèse chez le rat (Tableau 3), le nombre de néphron est réduit de 60% chez les rats dont les mères ont été traitées comparativement aux témoins. À 60 jours de vie, une importante accumulation de sodium est notée au niveau des muscles squelettiques et du foie et il y a albuminurie (Celsi, 1998). Ces résultats suggèrent qu'un traitement aux glucocorticoïdes en période prénatale entraîne la réduction du nombre de néphrons, la rétention de sodium et des dommages glomérulaires qui peuvent être associés à l'élévation de la pression artérielle chez ces animaux lorsque devenus adultes.

1.7.3 Le modèle d'hypoxie foetale

Chez le cochon d'Inde, une artère d'une corne utérine est ligaturée, l'autre corne est intacte. Une RCIU est observée chez les fœtus de la corne ayant subi la ligature alors que les fœtus présents dans la corne non traitée sont de poids normaux. De plus, une réduction de 50-60% dans le poids de naissance est associée à une augmentation de 10 mmHg de la pression artérielle à l'âge adulte comparativement aux animaux non-traités (Persson, 1992). Une diminution de l'apport en oxygène de la mère vers le fœtus pourrait être la cause du petit poids de naissance et de l'hypertension à l'âge adulte.

Suite à la ligature de l'artère utérine au jour 17 de gestation chez la rate, le poids de naissance et des reins est réduit comparativement aux nouveau-nés témoins. À la naissance, le nombre de glomérules est diminué de plus de 30% chez ces rats. Bien que le volume glomérulaire ainsi que la longueur du tubule proximal augmentent, cette hypertrophie compensatoire est accompagnée d'une réduction de la filtration glomérulaire et de l'osmolarité urinaire. Ces travaux suggèrent une programmation foetale de la régulation structurelle et fonctionnelle du rein lesquels sont impliqués dans l'établissement de l'hypertension artérielle (Merlet-Bénichou, 1994).

1.7.4 Le modèle génétique de rat spontanément hypertendu (SHR)

Le rat SHR est connu depuis très longtemps comme modèle génétique d'hypertension. Les rats SHR ont un petit poids de naissance. Lorsque ces rats sont nourris par une mère normotensive WKY dès la naissance, la pression artérielle est réduite comparativement aux rats SHR nourris par la mère SHR (McCarty, 1996). Il a été rapporté que la composition du lait des mères SHR est modifiée en électrolytes et en acides gras comparativement aux témoins WKY. De plus, il est pauvre en protéines. Ceci suggère que l'environnement prénatal a un impact sur le devenir des bébés, mais le milieu postnatal a aussi une influence sur le développement de l'hypertension caractéristique des rats SHR adultes. De plus, lorsqu'une diète restreinte de 50% en calories est donnée à la rate gestante SHR, l'hypertension, la dysfonction endothéliale ainsi que l'atteinte rénale sont aggravées chez les mâles et chez les femelles comparativement aux rats nés de

mères SHR n'ayant pas reçu la diète (Franco, 2002b). Ainsi, de plus en plus de résultats caractérisent le rat SHR comme un modèle génétique ayant de fortes influences de l'environnement maternel. De plus, le rat SHR pourrait être caractérisé comme un modèle de malnutrition maternelle.

Suite à ces résultats, il semblerait que la programmation fœtale des pathologies adultes ne soit pas le résultat d'un seul facteur, mais plutôt l'addition de plusieurs causes comme par exemple une activation du SRA, une atteinte rénale ou vasculaire ou une augmentation de glucocorticoïdes passant de la mère au fœtus.

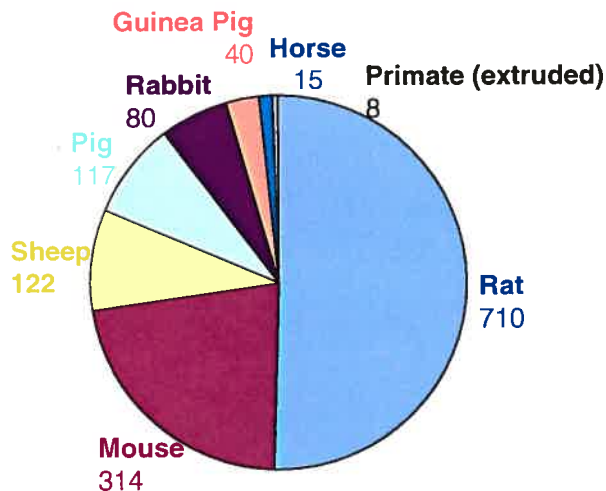
1.8 JUSTIFICATION DE NOTRE MODÈLE ANIMAL

1.8.1 Le rat, modèle de programmation fœtale

Le rat est un bon modèle pour l'étude de la programmation fœtale. En fait, il est le modèle de restriction de croissance le plus utilisé (Figure 13). Chez le rat, la gestation ne dure que 22 jours. Ainsi, l'accessibilité aux animaux est beaucoup plus facile que pour d'autres modèles tel que chez le mouton où la gestation est d'environ 150 jours. Le développement anatomique et physiologique du cœur et des vaisseaux est aussi similaire entre le rat et l'humain. Par exemple, le volume des myocytes augmente d'environ 25 fois et le nombre de cardiomyocytes s'accroît de plus de 3 fois entre la naissance et 2 mois de vie. L'angiogénèse des capillaires a aussi lieu après la naissance chez les 2 espèces (Hew, 2003). De plus, pour certains événements cardiaque, il est possible d'étudier des

phénomènes en période post-natale chez le rat qui ont lieu en prénatale chez l'humain (Hew, 2003). Par exemple, alors que chez l'humain le lit vasculaire coronarien est développé à la naissance, chez le rat, il continue de se développer après cette période. De plus, au niveau du métabolisme énergétique, le changement de l'oxydation du glucose pour celui des acides gras a lieu avant la naissance chez l'humain, mais seulement dans les 2 premières semaines de vie chez le rat. Ces ressemblances entre l'humain et le rat favorisent l'étude des mécanismes de la programmation fœtale des maladies cardiovasculaires.

Figure 13- Distribution des espèces dans les différentes expériences animales effectuées pour l'étude de la restriction de croissance intrautérine



Tiré de : Schröder, 2003

Le rat constitue aussi un excellent modèle pour la compréhension du développement du rein et de la néphrogénèse. Chez l'humain, la néphrogénèse débute vers la 5^e semaine pour se terminer *in utero* avant la 36^e semaine de

gestation alors que chez le rat, la néphrogénèse débute au jour 12 de gestation pour être complétée seulement 7-10 jours après la naissance (Tableau 3) (Guron, 2000). Dans les 2 cas, la maturation des néphrons s'effectue de façon centrifuge de la région cortico-médullaire (où l'on retrouve les néphrons les plus matures) vers la zone néphrogénique (soit la zone sous-capsulaire) (Guron, 2000). Il est donc possible d'étudier, après la naissance, des phénomènes qui se passent vers la fin du 3^e trimestre chez l'humain.

Tableau 3 – Développement du méso- et métanéphros chez l'humain et le rat

	Jour de gestation	Mésonéphros (% de gestation)	Métanéphros (% de gestation)
Humain	268	10-40	12-90
Rat	21	57-81	57-138

Tiré de: Wintour (1998)

1.8.2 Développement de notre modèle animal

Un des objectifs de notre laboratoire était de comprendre le paradoxe entre l'augmentation de l'aldostérone et la diminution de la pression artérielle au cours de la gestation normale. Des études antérieures ont démontré que l'augmentation de l'aldostérone plasmatique au cours de la gestation chez la rate est secondaire à une sécrétion accrue de ce stéroïde par la surrénale (Brochu, 1996). Ce phénomène est dû à la surexpression de l'ARNm et de l'activité de l'enzyme qui convertit la corticostérone en aldostérone chez le rat, soit la P450aldo (Brochu, 1997). Afin de mieux comprendre la régulation de cette enzyme chez la rate

gestante et non-gestante, un modulateur de son activité a été utilisé : la diète faible en sodium. La diète a été donnée à des rates Sprague-Dawley au cours de la 3^e semaine de gestation (sur 3) afin de ne pas interférer avec l'organogénèse du fœtus. En fait, cette dernière semaine correspond à la période maximale de croissance fœtale chez le rat (Beaudoin, 1980).

Cette diète faible en sodium a eu pour effet, chez la mère, 1) d'augmenter l'activité rénine plasmatique et l'aldostérone et 2) de diminuer le volume circulant (Roy-Clavel, 1999). De plus, une réduction de 26% dans le diamètre des artères utérines a été démontrée suggérant une diminution de la perfusion placentaire (données non-publiées). Chez le fœtus, la diète a eu pour effet de réduire le poids des placentas ainsi que le poids et la longueur foetale (Roy-Clavel, 1999). Ce modèle s'apparente à la restriction de croissance intrautérine asymétrique causée par une diminution du volume circulant et de la perfusion placentaire chez la femme enceinte non hypertensive (Salas, 1993). Il a aussi été démontré qu'une réduction du flux utéro-placentaire secondaire à l'hypoxie est associée à une RCIU chez le mouton (Boyle, 1996). De plus, notre modèle de programmation foetale se distingue des autres par des effets qui lui sont spécifiques. En fait, nous avons démontré que le nombre de récepteurs à l'angiotensine de type 1 (AT₁) est réduit dans les placentas de mères ayant reçu la diète faible en sodium (Bédard et collègues, en soumission). Il est connu que l'All, via son récepteur AT₁, stimule la sécrétion du lactogène placentaire qui agit directement ou indirectement via IGF-1 pour favoriser la croissance fœtale (Kalenga, 1994). Une réduction de l'ARNm et de la protéine du récepteur AT₁ a été retrouvée dans les placentas de RCIU

humaine (Li, 1998). Il est donc possible que la RCIU observée dans notre modèle soit secondaire à cet effet. Des études ont aussi démontré que la croissance fœtale est dépendante d'un flot continu d'eau et de soluté tel que le chlorure de sodium par une augmentation de la perméabilité placentaire (Faber, 1977). Ainsi, il est aussi possible que la diète faible en sodium modifie les échanges placentaires d'eau et de sodium entre la mère et le fœtus conduisant à des effets sur la croissance. En fait, nous avons démontré chez les fœtus nés de mère ayant reçu la diète faible en sodium, une réduction significative du sodium plasmatique comparativement aux fœtus contrôles. Ainsi, la restriction sodique en fin de gestation constitue un outil intéressant pour induire un environnement fœtal défavorable lequel nous permettra d'étudier la programmation fœtale des maladies adultes.

1.9 HYPOTHÈSES ET OBJECTIFS DE TRAVAIL

Comme nous l'avons décrit précédemment, de nombreuses études épidémiologiques ont associé le petit poids de naissance à différentes pathologies adultes. L'hypertension a été la maladie adulte la plus étudiée et le lien entre la RCIU et l'hypertension artérielle à l'âge adulte a été confirmé chez différents modèles animaux de RCIU. Plusieurs explications ont été suggérées pour expliquer le lien entre l'environnement fœtal défavorable et cette pathologie.

L'hypothèse de ma thèse de doctorat est que l'environnement intrautérin défavorable causé par une diminution de perfusion placentaire conduit à des

pathologies dans la vie adulte. Les objectifs spécifiques sont 1) de caractériser le modèle animal, 2) de déterminer le ou les types de pathologies associées dans la vie adulte et, 3) de déterminer les mécanismes associant l'environnement foetal à certaines pathologies déterminées dans l'objectif 2.

2. ARTICLE 1

Publié dans
American Journal of Physiology
Endocrinology and Metabolism
283 (1) :E124-E131, 2002 July

CONTRIBUTIONS

J'ai effectué toutes les expériences et j'ai écrit le papier. J'ai aussi contribué à la correction de l'article.

Dr. Luc Oigny a aidé à l'analyse de microscopie.

RÉSUMÉ 1

Suite à des études épidémiologiques, il a été proposé qu'un environnement intrautérin défavorable peut conduire au développement de pathologies dans la vie adulte. Nous avons démontré qu'une diète faible en sodium donnée à des rates pour la dernière semaine de gestation produit une restriction de croissance intrautérine (RCIU). Notre hypothèse est que les rats ayant subi une RCIU sont plus susceptibles de développer de l'hypertension artérielle dans la vie adulte. Le poids des organes a été caractérisé chez les fœtus et les rats d'une semaine. Chez les adultes (12 semaines), le poids des organes, la pression artérielle systolique, l'activité du système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA) ainsi que la fonction rénale ont été étudiés. Un examen histologique du cœur et des reins a aussi été effectué. Nous avons observé que le ratio du poids du cerveau et des ventricules cardiaques sur le poids total de l'animal est augmenté chez les fœtus RCIU comparativement à leurs témoins alors que le ratio du rein sur le poids total est inchangé. Ceci suggère une redistribution du flux sanguin. Chez les adultes, la pression artérielle systolique des mâles et des femelles RCIU est plus élevée. Les concentrations d'aldostérone plasmatique, réduite chez les femelles RCIU et inchangée entre les 2 groupes de mâles, ne corrèlent pas avec l'augmentation de l'activité rénine plasmatique. De plus, le sodium urinaire est diminué et l'urée plasmatique est augmentée chez les mâles et les femelles RCIU alors que les niveaux de créatinine dans le plasma sont élevés seulement chez les femelles. Ces résultats suggèrent une réduction de la filtration glomérulaire. Dans notre modèle de RCIU, induit par une diète faible en sodium donnée à la rate gestante, on observe dans la vie adulte, une élévation de la pression artérielle, des

altérations au niveau du SRAA ainsi qu'une dysfonction rénale. De plus, les différences observées entre les mâles et les femelles adultes suggèrent l'influence du sexe dans le devenir à long terme suite à une RCIU.

**INTRAUTERINE GROWTH RESTRICTION IN RATS IS ASSOCIATED
WITH HYPERTENSION AND RENAL DYSFUNCTION IN ADULTHOOD**

Marie-Claude Battista^{1,2}, Luc L. Oligny^{1,3},

Jean St-Louis^{1,2} and Michèle Brochu^{1,2*}

¹Research Center, Hôpital Sainte-Justine, Montréal, QC, Canada H3T 1C5

²Department of Obstetrics and Gynecology, Université de Montréal, Montréal, QC

³Department of Pathology, Hôpital Sainte-Justine, Université de Montréal,
Montréal, QC, Canada H3T 1

*Address for reprints:

Michèle Brochu

Centre de recherche

Hôpital Sainte-Justine

3175 Côte Ste-Catherine

Montréal, QC, Canada H3T 1C5

Email: michele.brochu@umontreal.ca

Tel (514) 345-4931 ext. 5035

Fax (514) 345-4801

Running title: Fetal growth restriction and hypertension

ABSTRACT

Epidemiological studies have produced evidence that unfavorable intrauterine environments during fetal life may lead to adverse outcomes in adulthood. We have previously shown that a low-sodium diet, given to pregnant rats over the last week of gestation, results in intrauterine growth restriction (IUGR). We hypothesize that pups born with IUGR are more susceptible to the development of hypertension in adulthood. IUGR fetuses and rats aged 1 week were characterized for organ growth and renal morphogenesis. The adults (12 wk) were evaluated for weight, systolic blood pressure, activity of the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) and renal function; hearts and kidneys underwent a histological examination. Brain and cardiac ventricle-to-body ratios were increased in IUGR fetuses compared with age-matched controls, whereas the kidney-to-body ratio was unchanged. Systolic blood pressure was elevated in both IUGR male and female adults. Plasma aldosterone levels were not correlated with increased plasma renin activity. Moreover, urinary sodium was decreased while plasma urea was elevated in both males and females and creatinine levels were augmented only in females, suggesting a glomerular filtration impairment in IUGR. In our model of IUGR induced by a low-sodium diet given to pregnant rats, high blood pressure, alteration of the RAAS and renal dysfunction are observed in adult life. Differences observed between male and female adults suggest the importance of gender in outcomes in adulthood after IUGR.

Key words: fetal programming, renin-angiotensin-aldosterone system

INTRODUCTION

Many epidemiological studies have linked diseases in adulthood, such as type 2 diabetes and hypertension, to adverse intrauterine environments during fetal life (for review, see Ref. 3). The hypothesis of fetal programming of Barker et al. (4) proposes that adverse intrauterine environments can alter fetal growth, leading to malfunction of organ systems later in life. The underlying mechanisms of programming are not easy to study in humans because of longevity and many uncontrollable factors, such as stress, genetics, diet and smoking. Development of different animal models of intrauterine growth restriction (IUGR) has supported a link between adverse intrauterine environment and adult disease. In these models, the mothers are manipulated or treated to impair fetal growth or produce fetal stress. For example, reduced calorie and protein intake by pregnant rats leads to elevated blood pressure in their offspring (29, 51). Reduced uterine blood flow in pregnant guinea pigs (40) induces high blood pressure in their adult offspring. Although the link is established, the underlying mechanisms are not clearly demonstrated.

It was reported that, in a group of IUGR human infants, cord venous angiotensin II concentration was elevated compared to an uncomplicated term pregnancy group (24). It was suggested that the fetal renin-angiotensin system (RAS) is activated during IUGR. In normally grown and IUGR fetal sheep, Edwards et al. (18) measured the arterial blood pressure between 115 and 145 days of gestation. No significant difference in the mean arterial blood pressure was noted

between the IUGR and the control groups. However, during captopril infusion, after 135 days of gestation, there was a significant decrease in fetal arterial blood pressure in the IUGR group but not in the control group. These authors also observed that increasing intravenous doses of angiotensin II elevated diastolic blood pressure in the two groups but the effects were different, with higher responses in the IUGR group. Therefore, they suggested that the fetal RAS is important in the maintenance of arterial blood pressure in growth-restricted sheep fetuses, but not in the control group (18). These authors suggested that this system could be implicated in fetal programming of adult disease. IUGR could affect renal development. In fact, fewer nephrons were observed in kidneys from human IUGR stillbirths when compared to live-born IUGR infants who died within the first year (23). This observation was also reported in IUGR rats (35).

We (43) reported that giving a low-sodium diet to dams in the last week of gestation induced birth of IUGR pups. This model is characterized, in the mother, by a decreased circulating volume and a greater activation of the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS). We have also observed reduced uterine arcuate artery diameters (26%) and decreased placental weights (12%), suggesting a decreased placental perfusion. Weight and length of the pups were consequently decreased without affecting the litter size. In humans, pregnancy-induced hypertension is known to be accompanied with a decreased circulatory volume (19) and is often treated with a low-sodium diet (34). Hence, we wanted to characterize the outcome of rat offspring born from dams on low-sodium diet. However, many studies have shown that dietary sodium restriction in humans does

not reduce gestational hypertension (14, 47). Our findings in the rat would support the latter statement. Our model provides additional data on the detrimental effects of a gestational hyponatremic diet on the offspring.

The aim of the present study is to characterize the pups born from our IUGR model and to point out possible implications of RAAS and renal function in development of higher blood pressure.

MATERIALS AND METHODS

Animals and study design

Female Sprague-Dawley rats (Charles River Canada, St-Constant, QC, Canada) weighing 225-250 g were mated with male rats. *Day 1* of pregnancy was determined by the presence of spermatozoa in vaginal smear. The animals were housed under controlled light (12:12-h light-dark cycle) and temperature ($21 \pm 3^\circ\text{C}$). The dams were randomly assigned to one of two diets for the last 7 days of pregnancy. One group was fed a normal diet containing 0.2% sodium (basal diet 5755; PMI Feed, Ren's Feed and Supplies, Oakville, ON, Canada) and tap water. They gave birth to the control offspring group. The second group received a 0.03% sodium diet (low-sodium diet 5881; PMI Feed) and demineralized water. Their offspring composed the IUGR group (43).

At the end of the 7-day regimen (*day 22* of gestation, term = *day 23*), some of the dams were killed by decapitation (0900-0930) to obtain fetuses. Two other groups of offspring were obtained after term delivery. At parturition, all dams received regular rat chow (0.3% sodium) and tap water. One-half of the litter was sacrificed at 7 days (1-wk group), the remaining pups at 12 wk of age (adult group). These animals were weaned at 4 wk of age and were separated into male and female subgroups. All offspring received a regular diet and tap water. This study received approval from the local animal care committee, which is accredited by the Canadian Council on Animal Care.

Physiological measurements

Systolic blood pressure was measured in unanesthetized male and female offspring from 12 litters (6 controls and 6 IUGR) by the indirect tail cuff method (50-001 rat tail blood pressure system; Harvard Apparatus, St-Laurent, QC, Canada). Training in the indirect tail-cuff method began when the rats in the adult groups were weaned at 4 wk of age, and blood pressure measurements were recorded at 2-day intervals between *weeks 5* and *12*.

After decapitation of male and female 12-wk adults, trunk blood was collected for hormone and electrolyte analysis. Brain and kidneys were taken and weighed in the fetal, 1-wk and 12-wk groups. Both cardiac ventricles were obtained in fetuses and 1-wk offspring. Because hypertension is highly correlated with left ventricular hypertrophy, only the left ventricles were taken and weighed in the 12-wk adults.

Sample collection and analysis

Three days before they were killed, the 12-wk offspring were housed in individual metabolic cages to collect 24-h urine samples. On the day the animals were killed, an aliquot of urine was used to measure sodium, potassium, total calcium and urea. At death, two blood samples were taken. One was rapidly centrifuged to determine hematocrit; the other sample was drawn into plain Vacutainer tubes (Becton-Dickinson, Franklin Lakes, NJ) and centrifuged at 3,000 rpm for 20 min at 4°C. An aliquot of plasma was analyzed to quantitate the concentration of the following substances: sodium and potassium with specific electrodes, total calcium by colorimetric reaction, urea by electrode conductivity, and creatinine by an enzymatic colorimetric test.

Plasma renin activity was measured indirectly by radioimmunoassay of angiotensin I generated during a 2-h incubation period, as described by Gutkowska et al. (21). The antibody used for this radioimmunoassay was purchased from Peninsula Laboratories, (Belmont, CA). Plasma aldosterone measurements were obtained after plasma extraction by a solid-phase procedure with C₁₈ Sep-Pak cartridges (Millipore; Waters, Montréal, QC, Canada), and then quantitated by radioimmunoassay, as previously described (8). Plasma renin activity and aldosterone levels were not measured in fetuses and 1-wk offspring because of the small amount of plasma available. Corticosterone was measured directly in plasma with a commercial radioimmunoassay kit (Medicorp, Montréal, QC, Canada) in fetuses, 1- wk offspring and adults (males and females). For fetal and 1-wk offspring, plasma from individuals of the same litter was pooled.

Renal and left cardiac ventricle morphometric studies

Whole kidneys from all groups and left cardiac ventricles from adult groups were fixed in 10% buffered formalin and paraffin embedded. Four-micrometer-thick sections were stained with the hematoxylin-phloxine-saffron technique. Morphometry was performed with a Zeiss AxioHOME (Oberkochen, Germany) computerized system on histological sections from kidneys of animals at three different developmental stages: fetal, 1-wk offspring, and 12-wk adults. The total area of the kidney in fetuses and 1-wk offspring was determined by delimitation of the entire kidney section. For adults, the total area of the kidney excluded the pyelic urinary space. Every glomerulus present on each section was counted, and the total area of each glomerulus was measured. In adults, glomeruli were counted and stratified as being either subcapsular, central, or juxtamedullary. Embryologically, the juxtamedullary glomeruli are the first to develop, the subcapsular glomeruli appearing last, thus giving a stratified architecture. The number of strata present in each section was counted as an indication of the progression of glomerulogenesis. Histological examination of the adults' left cardiac ventricles was performed by an experienced anatomic fetopathologist to evaluate the endocardium, myocardium, and epicardium including its vessels. Particular attention was paid to subtle changes of early hypertrophy at the level of the myocytes: nucleomegaly with hyperchromasia and cytomegaly with increased intracytoplasmic myofibrils. Endocardial fibroelastosis and the presence of myocardial collagen were also assessed subjectively, with the observer blinded with respect to the origin of the cases.

Northern hybridization

Total RNA was extracted from left cardiac ventricles of 12-wk male and female adults using TRIzol reagent. Atrium and liver were used as positive and negative controls, respectively. A 0.7-kb fragment of rat prepro-atrial natriuretic peptide (ANP; kindly provided by Dr. A. Calderone) were labeled with Redivue [α - ^{32}P]dCTP (Amersham Pharmacia Biotech, Baie d'Urfé, QC, Canada) to a specific activity of 1×10^6 counts \cdot min $^{-1}$ \cdot ng $^{-1}$ cDNA by the Rediprime II random prime labelling system (Amersham Pharmacia Biotech) and hybridized to nylon membranes (Boehringer Mannheim, Laval, QC, Canada) for 24 h at 42°C. Membranes exposed to the cDNA probes were washed twice (15 min at room temperature) with 300 mmol/l NaCl–30 mmol/l trisodium citrate and 0.1% SDS and once (15 min at 60°C) with the same solution (9). Nylon membranes were subsequently exposed to Kodak XAR film with an intensifying screen at -80°C, and films were scanned with Scion Image computer software (Scion, National Institute of Health, Bethesda, MD). Steady-state mRNA levels were expressed as arbitrary densitometric units and standardized by comparison with hybridization results obtained with random prime-labeled 18S ribosomal RNA. The experiment was performed on five animals per group. These animals were from different litters.

Statistical analysis

The IUGR group was compared with age-matched controls. Adults were also matched for gender. Systolic blood pressure measurements were compared between IUGR and control offspring by use of a two-way ANOVA with repeated

measures. The impact of age was also assessed. Statistical analysis of organ weight, morphometric studies, plasma and urinary parameters as well as ANP mRNA were performed by Student's *t*-test. All results are expressed as mean \pm SE. $P < 0.05$ was considered to be significant.

RESULTS

Physiological characterization of IUGR

As described in Table 1, fetal (22 days of gestation) body weight of the IUGR group was lower than that of controls. Kidney weight of the IUGR fetuses was also decreased, compared to controls, leading to similar kidney-to-body weight ratios between the two groups (IUGR: 9.65×10^{-3} vs control: 9.44×10^{-3}). Weights of brains and cardiac ventricles were not different between IUGR and control fetuses, resulting in increases of these organs' mass-to-body weight ratio in IUGR fetuses (brain: 4.73×10^{-2} vs 3.93×10^{-2} ; cardiac ventricles: 6.04×10^{-3} vs. 5.41×10^{-3} ; IUGR vs controls, respectively). In 1-wk offspring, IUGR rats were still smaller than their counterparts (Table 1). Brain and cardiac ventricle weights were significantly lower in the IUGR group.

The adults never recovered from their growth restriction. In IUGR males, total body, brain, left cardiac ventricle, and kidney weights remained significantly lower than controls (Table 1). In IUGR females, however, even though total body, brain, and kidney weights were lower, left cardiac ventricle weight was not different from those of controls. This particularity is also reflected by an increased ratio of

left cardiac ventricle to total body weight in IUGR females (3.21×10^{-3} vs 2.93×10^{-3} ; IUGR vs controls respectively).

Systolic blood pressure during development

Systolic blood pressure increased with age in all four groups of rats, but at approximately the 8th wk of age, the pressure tended to stabilize (Fig.1). Subsequently, higher systolic blood pressures were observed in animals born with IUGR, reaching 143 ± 1.21 mmHg at 12 wk old in IUGR male compared to 135 ± 1.29 mmHg in matched controls and 144 ± 1.38 mmHg in IUGR female compared to 135 ± 1.12 mmHg in their controls. Systolic blood pressure increased with age ($P = 4.36 \times 10^{-11}$) and IUGR status ($P = 2.44 \times 10^{-5}$).

RAAS and corticosterone levels

Corticosterone levels were significantly elevated in IUGR fetuses ($n = 3$ litters; 1.07 ± 0.07 nmol/ml) compared with the controls ($n = 6$ litters; 0.82 ± 0.07 nmol/ml). This difference was not observed between 1-wk IUGR and control offspring. Adult IUGR males showed increased plasma renin activity (Table 2). Plasma aldosterone and corticosterone levels were not different between the two groups. In females, despite of increased plasma renin activity, plasma aldosterone levels were decreased in the IUGR group. Plasma corticosterone levels were augmented in IUGR females compared with the controls.

Functional and structural evaluation of the kidney

In IUGR males, plasma measurements did not reveal any changes except for an increased urea, whereas plasma potassium, urea, and creatinine concentrations were elevated in IUGR females (Table 3).

As shown in Table 4, urinary sodium and potassium were decreased in IUGR males. IUGR females showed decreased urinary sodium and increased urea concentrations compared with controls.

Histological morphometric measurements were performed on the renal glomeruli. The ratio of the number of glomeruli to total area of the kidney as well as the mean area of glomeruli were not different between the two groups of animals in the three stages of development (Table 5). The number of strata was not altered (data not shown).

Structural evaluation of the left cardiac ventricle

Histological assessment of the left cardiac ventricle in 12-wk offspring showed no difference between the IUGR and control animals for both males and females. Neither the cytoplasm nor the nuclei of cardiomyocytes were hypertrophic, and interstitial collagen was not increased. There were no histopathological changes in the IUGR groups, and their cardiac histology was essentially identical to that of the control group (data not shown).

ANP mRNA expression in left cardiac ventricles

As shown in Fig. 2, the steady-state mRNA levels of prepro-ANP in left cardiac ventricles were significantly increased in 12-wk female adults born with IUGR compared with their controls (0.97 ± 0.05 vs 0.72 ± 0.06 densitometric arbitrary units, respectively; $p < 0.02$). This increase was not observed between IUGR and control males (0.87 ± 0.05 vs 0.84 ± 0.07 densitometric arbitrary units, respectively).

DISCUSSION

In this study, we have further characterized our IUGR model (43) by linking adverse fetal conditions and potential hypertension later in life. Moreover, we have shown that, in IUGR rats, 1) fetal brain and heart masses are increased relative to body weight, whereas relative kidney mass is unchanged; 2) by 12 wk of age, growth restriction is not compensated; 3) females have left ventricular hypertrophy; 4) elevated blood pressure is observed after the 8th week of age; 5) the RAAS is regulated differently in males and females; and 6) diminution of the glomerular filtration rate (creatinine and urea) is not related to a decline in the number or size of glomeruli.

In the mothers of our IUGR rats, it is believed that lowered plasma volume (43) and decreased diameter of the uterine arteries (J. St-Louis, B. Sicotte and M. Brochu, unpublished observations) would decrease uteroplacental blood flow. Moreover, decreased placental weight suggests reduced maternofetal exchanges,

affecting the developing fetus. It has been shown in lambs that oxygen deficiency generates a hypoxemic state, causing a redistribution of cardiac output to the heart and brain at the expense of renal blood flow (13). It has also been demonstrated that the brain-to-body weight ratio in IUGR rabbits is higher than in controls (22). In humans, Veille et al. (48) observed that IUGR infants have larger hearts. Similar results were obtained in our model, as shown by an increase in the brain-to-body weight and ventricle-to-body weight ratio in the IUGR group.

At 1 wk of age, IUGR offspring are still smaller than controls. At that time, contrary to the fetal stage, organ weights (brain, cardiac ventricles, and kidney) of the young IUGR rats are decreased compared to their controls. In humans with IUGR, a lack of catch-up growth in postnatal life was also observed (49), as it was in another rat model of IUGR induced by maternal undernutrition (50). Contrary to our present longitudinal experiments lasting 12 wk, our previous study (43) showed that IUGR animals appeared to recover by the 2nd wk. However, in that first study, pups were evaluated on *days 1* and *14* only. This 2nd week may be a transient growth rate stage. A similar observation was made by Woodall et al. (50), who compared growth curves of growth-restricted and control rats. Indeed, the former had a lower weight at birth, almost recovered by the 3rd week of life, and then stayed smaller than the controls throughout the length of the study.

We have shown that the weight of the left cardiac ventricle in IUGR adult female rats is similar to that of controls. The increased ratio of the left cardiac ventricle to total body weight in IUGR females suggests a left ventricular

hypertrophy in these animals, although cardiac histology did not show the hallmark signs of myocardiocyte hypertrophy. It is possible that myocytes may be enlarged to a certain level that cannot be detected using the histological methods employed in our study. In addition, the greater mass of the left ventricle was not caused by an increase in collagen. Measuring of heart or ventricle relative to body weight has been reported to be a reliable method to evaluate hypertrophy of the heart (5, 32). It has been shown that activation of some cardiac genes, including the ANP gene, occurs during cardiac hypertrophy (12). Using female rats, Calderone et al. (9) have shown that left cardiac ventricle ANP mRNA levels are increased in a pathological model of cardiac hypertrophy (norepinephrine induced) but not in a physiological model (exercise training). Transgenic mice overexpressing angiotensin II type 1 receptor in cardiomyocytes develop cardiac hypertrophy (37). In this model, expression of ventricular ANP was also increased. To further characterize cardiac hypertrophy in our female model of IUGR, we have analyzed expression of ANP. We have demonstrated that ANP mRNA is overexpressed (33%) in female IUGR compared with their controls, whereas no changes are observed in males. In a model of cardiac hypertrophy induced by selective deletion of GLUT4 associated with an increased ventricular ANP expression, no gross morphological abnormalities of myocyte architecture and no increase in interstitial collagen were observed (1). For these reasons, we believe that cardiac hypertrophy in our adult female rats is pathological. This increased ANP expression could explain the decreased plasma aldosterone levels in female rats.

The observation that systolic blood pressure is elevated in IUGR animals is of prime importance. This is consistent with the hypothesis of Barker (4) of fetal programming and confirms observations in other models of IUGR induced by either maternal undernutrition (50) or a low-protein diet (29). In the present study, this elevation of blood pressure was recorded from 8 wk of age. However, we have observed that at *week 7*, the blood pressure curve of the IUGR groups (males and females) tends to meet that of the controls. This alteration in the systolic blood pressure curve could reflect hormonal changes during the pubertal period.

Elevation of systolic blood pressure is present in both genders, left cardiac hypertrophy is only observed in females, and alterations of RAAS and renal function are less marked in males. These data are surprising, because it is well known that men are at greater risk for cardiovascular and renal disease compared to women of similar ages (46). This has also been shown in rats (20, 41). However, two studies conducted on humans showed that gender has an important influence on the left ventricle adaptation pattern to pressure overload due to aortic stenosis. In fact, women developed a greater degree of left ventricle hypertrophy, even though their cardiac performance is better than that of men (10, 26). It was suggested that the smaller heart size of females allows a greater degree of hypertrophy that compensates for the systolic overload seen in aortic valve stenosis (17). In rats, it was described that the hypertrophic response to renovascular hypertension is less marked in males than in females (33). It was also shown that male rats developed cardiac insufficiency symptoms earlier than females, the latter tending to respond with compensatory myocardial hypertrophy

(39). Our findings are in agreement with the results published by these authors. In our study, males and females both developed high systolic blood pressure. Furthermore, only females develop left ventricular hypertrophy. This could be explained by a decreased sodium excretion that induced a volume expansion as shown by a tendency to have lower hematocrits. It could be that IUGR females develop compensatory mechanisms (increased volume, sodium retention, cardiac hypertrophy, etc) in response to their higher blood pressure. We could not find literature comparing male and female urinary data. We observed that urinary sodium is reduced in females when compared to males. It is probably well explained by the difference in food consumption: 38g/day for males vs. 20g for females. Moreover, our plasma values of electrolytes are closely related to those obtained by Lillie et al. (30).

In humans, Konje et al. (25) observed that renin activity was significantly elevated in cord plasma from growth-restricted babies. In rats born from mothers receiving low-protein diets during pregnancy and who developed hypertension in adulthood, it was shown that, if they received angiotensin I-converting enzyme inhibitors (captopril) they underwent a significant reduction of blood pressure to levels similar to those measured in control animals (44). These studies suggest a role for the RAS in the development of hypertension programmed by IUGR. To further investigate the role of angiotensin II in the programming of hypertension, low-protein-exposed offspring were treated with losartan between 2 and 4 wk of age. By the 4th wk, the animals had not developed hypertension, and blood pressure was still normal by the 12th week (45). We have shown that the RAAS

system was altered in our adult rats. In IUGR males, increased plasma renin activity was observed without change in aldosterone levels. However, in IUGR females, plasma renin activity was heightened with a decrease in plasma aldosterone. To our knowledge, the only gender difference in regard to the RAAS was reported in spontaneously hypertensive rats (SHR) (42). It has been concluded by that study that the development of hypertension in SHR, regardless of sex steroids, is mediated by the RAAS. Those authors also suggested that androgens promote the exacerbation of hypertension in male SHR via a mechanism involving the RAAS (42). Our group is the first to show that the RAAS and corticosterone levels are modified differently in males and females.

The elevated corticosterone levels in IUGR females could be associated with hypertension. We observed that corticosterone concentrations were higher in IUGR fetuses than in the controls. Increased fetal corticosterone secretion is known to induce early parturition in IUGR, a condition often seen in our model (S. Bédard, M.-C. Battista and M. Brochu, unpublished observations). It also could suggest that fetal distress may alter hormonal profile in adulthood, possibly leading to subsequent postnatal diseases such as hypertension. In fact, excess of glucocorticoids in fetal life is known to exert adverse effects upon the structural development of the kidney and, hence, further influence blood pressure control, maybe through altered renin synthesis (11). The effects of excess glucocorticoids in fetal life, leading to hypertension, have also been observed in sheep (16).

Development, growth, and functional capacity of the kidney have been shown to be impaired by IUGR in humans (15, 23, 27) and rats (35). Because IUGR is a predisposing condition to subsequent development of hypertension, it was proposed that this predisposition might be conferred by the kidney (6). In humans, a prospective study concluded that blood pressure and creatinine levels are linked (38). Lucas et al. (31) demonstrated that, in IUGR rats induced by 50% food restriction of dams during pregnancy, there is true impairment of glomerular hemodynamics in the IUGR progeny. We investigated if hypertension could be caused by major impairment of renal function in our model. Indeed, in IUGR offspring, electrolyte balance was modified, whereas plasma urea and creatinine levels were both increased. Because hematocrit values did not change between groups, we speculated that decreased glomerular filtration could be implicated in the development of hypertension. To document such glomerular impairment, we looked for a reduction in the number of glomeruli or a reduction in glomerular surface. We could not document any such alteration, since both parameters were comparable in IUGR animals and controls. Langley-Evans et al. (28) postulated that, even though IUGR adult offspring of dams fed a low-protein diet during pregnancy had a lowered nephron complement from birth, they maintained a normal glomerular filtration rate. Moreover, it has been reported that in spontaneously hypertensive rats, the number of renal glomeruli was not significantly smaller than in normotensive Wistar-Kyoto rats (2). This implies that other renal excretory defects might be involved in the pathogenesis of hypertension (7). These findings support our observation that the number of glomeruli and glomerular filtration do not necessarily conspire in the pathogenesis of

hypertension. We observed that the number of strata was not altered, indicating a normal development of nephrons. Kidney damage in our IUGR animals may be due to more subtle modifications of renal homeostasis, impairments of the fine structure of the kidney, or even by pathophysiological alteration of the tubular portion (36).

In summary, this study, using IUGR rats born from mothers of our original model of low-sodium diet, provides evidence that fetal programming in these rats leads to the development of hypertension, alterations of renal function, and modifications of the RAAS. Moreover, our results indicate gender differences in the expression of these alterations in adult rats. It is expected that the results provided by investigations with our model will provide new and important findings that will help understand the link between fetal programming in IUGR and the pathogenesis of some forms of hypertension.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Dr. Patrick Vinay for valuable comments on this model, and Dr Angelo Calderone for the gift of rat prepro-ANP cDNA. Our studies were supported by grants from La Fondation des Maladies du Cœur du Québec and the Canadian Institutes of Health Research (MOP-37902). M.-C. Battista received a studentship from La Société Québécoise d'Hypertension Artérielle and La Fondation de l'Hôpital Sainte-Justine. M. Brochu is a scholar from Fonds de la Recherche en Santé du Québec.

REFERENCES

1. Abel ED, Kaulbach HC, Tian R, Hopkins JCA, Duffy J, Doetschman T, Minnemann T, Boers ME, Hadro E, Oberste-Berghaus C, Quist W, Lowell BB, Ingwall JS, and Kahn BB. Cardiac hypertrophy with preserved contractile function after selective deletion of GLUT4 from the heart. *J Clin Invest* 104 : 1703-1714, 1999.
2. Azar S, Johnson MA, Scheinman J, Bruno L, and Tobian L. Regulation of glomerular capillary pressure and filtration rate in young Kyoto hypertensive rats. *Clin Sci (Colch)*56: 203-209, 1979.
3. Barker DJP. In utero programming of chronic disease. *Clin Sci (Colch)*95: 115-128, 1998.
4. Barker DJP, Gluckman PD, Godfrey KM, Harding JE, Owens JA, and Robinson JS. Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. *Lancet* 341: 938-941, 1993.
5. Bastien NR, Juneau A-V, and Lambert C. Chronic AT1 receptor blockade and ACE inhibition in (CHF 146) cardiomyopathic hamsters : Effects on cardiac hypertrophy and survival. *Cardiovasc Res* 43(1):77-85, 1999.

6. Brenner BM, and Chertow GM. Congenital oligonephropathy: an inborn cause of adult hypertension and progressive renal injury. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2: 691-695, 1993.
7. Brenner BM, Garcia DL, and Anderson S. Glomeruli or blood pressure. Less of one, more the other? *Am J Hypertens* 1: 335-347, 1988.
8. Brochu M, Féthière J, Roy M, Ong H, and De Léan A. Highly sensitive and rapid radioimmunoassay for aldosterone in plasma and cell culture medium. *Clin Biochem* 22: 289-292, 1989.
9. Calderone A, Murphy RJL, Lavoie J, Colombo F, and Béliveau L. TGF- β_1 and pre-pro- ANP mRNAs are differentially regulated in exercise-induced cardiac hypertrophy. *J Appl Physiol* 91: 771-776, 2001.
10. Carroll J, Carroll E, and Feldman T. Sex-associated differences in left ventricular function in aortic stenosis of elderly. *Circulation* 86: 1099-1107, 1992.
11. Celsi G, Kistner A, Aizman R, Eklof A-C, Ceccatelli S, and Jacobson SH. Prenatal dexamethasone causes oligonephronia, sodium retention, and higher blood pressure in the offspring. *Pediatr. Res.* 44: 317-322, 1998.

12. Chien KR, Knowlton KU, Zhu H, and Chien S. Regulation of cardiac gene expression during myocardial growth and hypertrophy : molecular studies of an adaptive physiologic response. *FASEB J* 5: 3037-3046, 1991.
13. Cohn HE, Sack EI, Heyman MA, and Rudolph AM. Cardiovascular responses to hypoxemia and acidemia in fetal lambs. *Am J Obstet Gynecol* 120: 817-824, 1974.
14. de Leew PW, and Peeters LL. Sodium restriction during pregnancy: an outdated advice. *Ned Tijdschr Geneeskd* 143: 2131-2132, 1999.
15. Deutinger J, Bartl W, Pfersmann C, Neumark J, and Bernascherk G. Fetal kidney volume and urine production in cases of fetal growth retardation. *J Perinat Med* 15: 307-315, 1987.
16. Dodic M, May CN, Wintour EM, and Coghlan JP. An early prenatal exposure to excess glucocorticoid leads to hypertensive offspring in sheep. *Clin Sci* 94: 149-155, 1998.
17. Douglas P, Otto C, Mickel M, Labovitz A, Reid CH, and Davis K. Gender differences in left ventricle geometry and function in patients undergoing balloon dilatation of the aortic valve for isolated aortic stenosis. *Br Heart J* 73: 548-554, 1995.

18. Edwards LJ, Simonetta G, Owens JA, Robinson JS, and McMillen IC. Restriction of placental and fetal growth in sheep alters fetal blood pressure responses to angiotensin II and captopril. *J Physiol* 513: 897-904, 1999.
19. Gallery EDM, Hunyor SN, and Gyory AZ. Plasma volume contraction: a significant factor in both pregnancy-associated hypertension (pre-eclampsia) and chronic hypertension in pregnancy. *Q J Med New Series XLVIII*: 593-602, 1973.
20. Ganten U, Schroder G, Witt M, Zimmerman F, Ganten D, and Stock G. Sexual dimorphism of blood pressure in spontaneously hypertensive rats: Effects of anti-androgen treatment. *J Hypertens* 7: 721-726, 1989.
21. Gutkowska J, Boucher R, and Genest J. Dosage radioimmunologique de l'activité rénine plasmatique. *Union Méd Can* 106: 446-450, 1977.
22. Harel S, Yavin E, Tomer A, Barak Y, and Binderman I. Brain:body ratio and conceptional age in vascular-induced intrauterine growth retarded rabbits. *Brain Dev* 7: 575-579, 1985.
23. Hinchcliffe SA, Lynch MRJ, Sargent PM, Howard CV, and Van Velzen D. The effect of intrauterine growth retardation on the development of renal nephrons. *Br J Obstet Gynaecol* 99: 296-301, 1992.

24. Kingdom JCP, McQueen J, Connel JMC, and Whittle MJ. Fetal angiotensin II levels and vascular (type 1) angiotensin receptors in pregnancies complicated by IUGR. *Br J Obstet Gynaecol* 100: 476-482, 1993.
25. Konje JC, Bell SC, Morton JJ, De Chazal R, and Taylor DJ. Human fetal kidney morphometry during gestation and the relationship between weight, kidney morphometry and plasma active renin concentration at birth. *Clin Sci (Colch)* 91: 169-175, 1996.
26. Kostkiewicz M, Tracz W, Olszowska M, Podolec P, and Drop D. Left ventricular geometry and function in patients with aortic stenosis: gender differences. *Int J Cardiol* 71: 57-61, 1999.
27. Kurjak KA, Kirkinen P, Latin V, and Ivankovic D. Ultrasonic assessment of fetal kidney function in normal and complicated pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 141: 266-270, 1981.
28. Langley-Evans SC, Welhane SJ and Jackson AA. Fetal exposure to a maternal low protein diet impairs nephrogenesis and promotes hypertension in the rat. *Life Sci* 64: 965-74, 1999.
29. Langley SC, and Jackson AA. Increased systolic blood pressure in adult rats induced by fetal exposure to maternal low protein diet. *Clin Sci(Colch)* 86: 217-222, 1994.

30. Lillie LE, Temple NJ, and Florence LZ. Reference values for young normal Sprague-Dawley rats: weight gain, haematology and clinical chemistry. *Hum Exp Toxicol* 15: 612-616, 1996.
31. Lucas SR, Costa-Silva VL, and Zaladek-Gil F. Effects of intrauterine undernutrition on the renal function of the progeny. *Braz J Med Biol Res* 22: 1303-1306, 1989.
32. Malhotra A, Buttric P, and Scheuer J. Effects of sex hormones on development of physiological and pathological cardiac hypertrophy in male and female rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*: 259: 868-871, 1990.
33. Malhotra A, Schaible TF, Capasso J, and Scheuer J. Correlation of myosin isoenzyme alterations with myocardial function in physiologic and pathologic hypertrophy. *Eur Heart J* 5 Supplem F: 61-67, 1984.
34. Mathewson M. Women diagnosed with pregnancy-induced hypertension (pre-eclampsia) should be placed on a sodium restricted diets. *Crit Care Nurse* 3: 114-114, 1983.
35. Merlet-Bénichou C, Gilbert T, Muffat-Joly M, Lelièvre-Pégorier M, and Leroy B. Intrauterine growth retardation leads to a permanent nephron deficit in the rat. *Pediatr Nephrol* 8: 175-180, 1994.

36. Pachi A, Lubrano R, Maggi E, Giancotti A, Giampa G, Elli M, Mannarino O, and Castello M.A. Renal tubular damage in fetuses with intrauterine growth retardation. *Fetal Diagn Ther* 8: 109-113, 1993.
37. Paradis P, Dali-Youssef N, Paradis F, Thibeault G, and Nemer M. Overexpression of angiotensin II type I receptor in cardiomyocytes induces cardiac hypertrophy and remodeling. *PNAS* 97: 931-936, 2000.
38. Perneger TV, Javier Nieto F, Whelton PK, Klag MJ, Comstock GW, and Szklo M. A prospective study of blood pressure and serum creatinine. *JAMA* 269: 488-493, 1993.
39. Pfeffer JM, Pfeffer MA, Fletcher P, Fishbein MC, and Braunwald E. Cardiac performance in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 242: 776-784, 1982.
40. Persson E, and Jansson. Low birth weight is associated with elevated adult blood pressure in the chronically catheterized guinea pig. *Acta Physiol Scand* 145: 195-196, 1992.
41. Reckelhoff JF, and Baylis C. Glomerular metalloprotease activity in the aging rat kidney: inverse correlation with injury. *J Am Soc Nephrol.* 3: 1835-1838, 1993.

42. Reckelhoff JF, Zhang H, and Srivastava K. Gender differences in development of hypertension in spontaneously hypertensive rats: role of the renin-angiotensin system. *Hypertension* 35(1Pt2):480-483, 2000
43. Roy-Clavel E, Picard S, St-Louis J, and Brochu M. Induction of intrauterine growth restriction with a low sodium diet fed to pregnant rats. *Am J Obstet Gynecol* 180: 608-613, 1999.
44. Sherman RC, and Langley-Evans SC. Early administration of angiotensin-converting enzyme inhibitor captopril, prevents the development of hypertension programmed by intrauterine exposure to a maternal low protein diet in the rat. *Clin Sci (Colch)* 94: 373-381, 1998.
45. Sherman RC, and Langley-Evans SC. Antihypertensive treatment in early postnatal life modulates prenatal dietary influences upon blood pressure in the rat. *Clin Sci (Colch)* 98: 269-75, 2000.
46. Silbiger S.R, and Neugarten J. The impact of gender on the progression of chronic renal disease. *Am J Kidney Dis* 25: 515-533, 1995.
47. Van Buul BJ, Steegers EA, Jongsma HW, Rijpkema AL, Eskes TK, Thomas CM, Baadenhuysen H, and Hein PR. Dietary sodium restriction in the prophylaxis of hypertensive disorders of pregnancy: effects on the intake of other nutrients. *Am J Clin Nutr* 62: 49-57, 1995.

48. Veille JC, Hanson R, Sivakoff M, Hoen H, and Bon-Ami M. Fetal cardiac size in normal, intrauterine growth retarded, and diabetic pregnancies. *Am J Perinat* 10: 275-279, 1993.
49. Villar J, Belizan JM, Spalding J, and Klein RE. Postnatal growth of intrauterine growth retarded infants. *Early Hum Dev* 6: 265-271, 1982.
50. Woodall SM, Breier BH, Johnston BM, and Gluckman PD. A model of intrauterine growth retardation caused by chronic maternal undernutrition in the rat: effects on the somatotrophic axis and postnatal growth. *J Endocrinol* 150: 231-242, 1996.
51. Woodall SM, Johnston BM, Breier BM, and Gluckman PD. Chronic maternal undernutrition in the rat leads to delayed postnatal growth and elevated blood pressure of offspring. *Pediatr Res* 40: 438-443, 1996.

FIGURE LEGEND

Figure 1- Time course of systolic blood pressure in intrauterine growth-restricted (IUGR) male (A) and female (B) rat offspring during development between the ages of 5 and 12 wk. Statistical analyses were performed using a two-way ANOVA with repeated measures. Results are expressed as mean \pm SE.

Figure 2- Effect of IUGR on atrial natriuretic peptide (ANP) mRNA in the left cardiac ventricles of 12-wk-old female and male adults. Northern blot analyses were performed on 20 μ g total RNA. *Top*: autoradiogram of a representative experiment. *Bottom*: means \pm SE of 5 separate experiments after standardization with the 18S ribosomal probe. * $P < 0.05$ vs controls.

Table 1- Total body, brain, cardiac ventricle, and renal weights of fetuses, 1-wk –old offspring and 12-wk male and female adult offspring with mothers on normal (controls) or low-sodium (IUGR) diets.

		Total, g	Brain, g	Cardiac Ventricles, mg	Left Cardiac Ventricle, g	Kidney, g
Fetus	<i>Controls</i> (8)	5.0 ± 0.2	0.196 ± 0.004	27 ± 1		0.047 ± 0.002
	<i>IUGR</i> (8)	4.1 ± 0.1 ***	0.186 ± 0.005	25 ± 1		0.040 ± 0.002 *
Offspring1-week	<i>Controls</i> (18)	14.5 ± 1.4	0.618 ± 0.025	97 ± 8		0.202 ± 0.029
	<i>IUGR</i> (38)	10.5 ± 1.3 ***	0.478 ± 0.038***	80 ± 6 ***		0.144 ± 0.015 ***
Males	<i>Controls</i> (16)	451 ± 9	2.07 ± 0.04		1.17 ± 0.04	3.33 ± 0.07
	<i>IUGR</i> (15)	383 ± 8 ***	1.90 ± 0.04 *		1.02 ± 0.03 **	2.79 ± 0.11***
Females	<i>Controls</i> (16)	258 ± 6	1.83 ± 0.03		0.73 ± 0.03	1.99 ± 0.05
	<i>IUGR</i> (15)	233 ± 5 **	1.70 ± 0.04 *		0.74 ± 0.02	1.78 ± 0.05 **

Values are means ± SE. IUGR, intrauterine growth restricted. For fetuses, the values represent the mean fetal weight in a given litter for the number of litter indicated. In 1-wk offspring, individual rats were studied (sample size in parentheses). In adults, the numbers of rats used are shown in parentheses.

*P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001 vs. age-matched controls.

Table 2- Renin-angiotensin-aldosterone system and plasma corticosterone levels of 12-wk male and female offspring with mothers on controls or IUGR diets.

	Males		Females	
	<i>Controls (14)</i>	<i>IUGR (13)</i>	<i>Controls (11)</i>	<i>IUGR (12)</i>
Plasma renin activity (pmol ANGI·ml ⁻¹ ·h ⁻¹)	1.37 ± 0.20	2.05 ± 0.26 *	1.39 ± 0.23	2.23 ± 0.27 *
Aldosterone (pmol/ml)	1.53 ± 0.15	1.81 ± 0.18	2.03 ± 0.26	1.36 ± 0.21 *
Corticosterone (nmol/ml)	0.77 ± 0.07	0.95 ± 0.08	1.22 ± 0.08	1.56 ± 0.12 *

Values are means ± SE. The numbers of rats used are shown in parentheses.

*P<0.05 vs. gender-matched controls.

Table 3- Plasma glucose, electrolytes, hematocrit, urea and creatinine of 12-wk male and female offspring with mothers on controls or IUGR diets.

	Males		Females	
	<i>Controls (9)</i>	<i>IUGR (10)</i>	<i>Controls (12)</i>	<i>IUGR (12)</i>
Glucose, mmol/l	8.4 ± 0.2	8.1 ± 0.3	8.5 ± 0.2	8.2 ± 0.1
Na ⁺ , mmol/l	141 ± 1	137 ± 4	139 ± 1	138 ± 1
K ⁺ , mmol/l	7.4 ± 0.2	7.8 ± 0.7	7.3 ± 0.2	7.9 ± 0.2 *
Total Ca ²⁺ , mmol/l	2.61 ± 0.03	2.54 ± 0.07	2.63 ± 0.03	2.59 ± 0.02
Hematocrit, %	47 ± 1	47 ± 2	46 ± 3	41 ± 2
Urea, mmol/l	4.9 ± 0.2	6.6 ± 0.3 ***	4.9 ± 0.3	7.1 ± 0.3 ***
Creatinine, μmol/l	29 ± 2	31 ± 1	26 ± 1	32 ± 1 ***

Values are means ± SE. The numbers of rats used are shown in parentheses.

*P<0.05; ***P<0.001 vs. gender-matched controls.

Table 4- Urinary electrolytes and urea of 12-wk male and female offspring with mothers on controls or IUGR diets.

	Males		Females	
	<i>Controls (9)</i>	<i>IUGR (9)</i>	<i>Controls (12)</i>	<i>IUGR (12)</i>
Na ⁺	223 ± 31	130 ± 26 *	135 ± 9	70 ± 22 **
K ⁺	309 ± 5	262 ± 19 *	261 ± 13	271 ± 12
Total Ca ²⁺	1.6 ± 0.2	1.6 ± 0.2	2.9 ± 0.2	3.5 ± 0.4
Urea	968 ± 124	1002 ± 60	905 ± 67	1253 ± 144 *

Values are means ± SE in mmol/l. The numbers of rats used are shown in parentheses. *P<0.05, **P<0.01 vs. gender-matched controls.

Table 5- Number and area of glomeruli present in the kidney of fetuses, 1-wk offspring, and adult rats with mothers on controls or IUGR diets.

		Number of glomeruli Area of Total Kidney glomeruli / mm ²	Mean Area of Glomeruli, mm ²
Fetus	Controls	21.1 ± 2.7	1.78 ± 0.12
	IUGR	15.7 ± 1.9	2.21 ± 0.26
Offspring, 1 wk	Controls	25.1 ± 1.5	2.22 ± 0.06
	IUGR	22.2 ± 0.8	2.14 ± 0.07
Adults, 12 wk	Controls	4.0 ± 0.6	8.75 ± 0.78
	IUGR	4.0 ± 0.4	9.32 ± 0.77

Values are means ± SE; n=5 animals per group. Note that there is no statistical difference observed between the IUGR and the control groups.

FIGURE 1

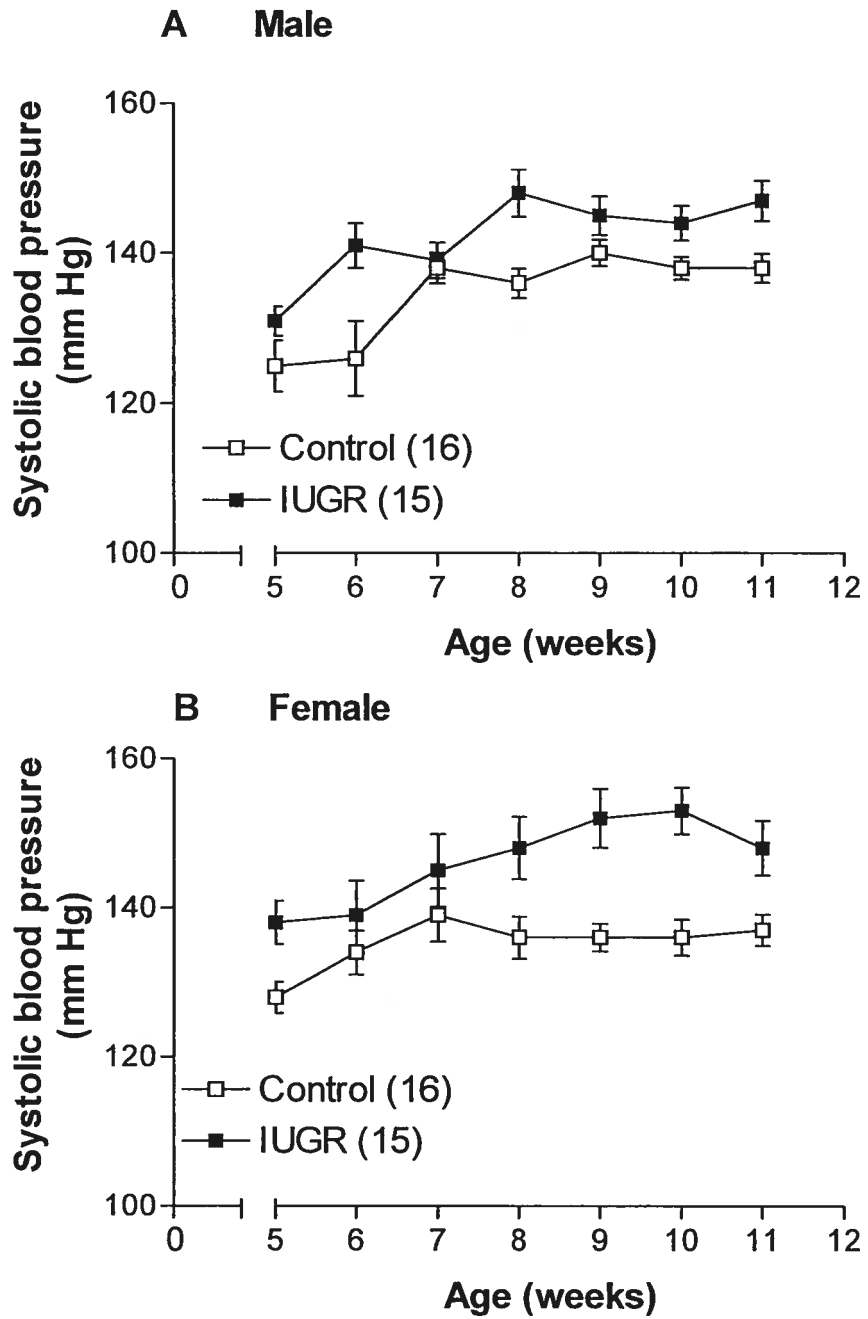
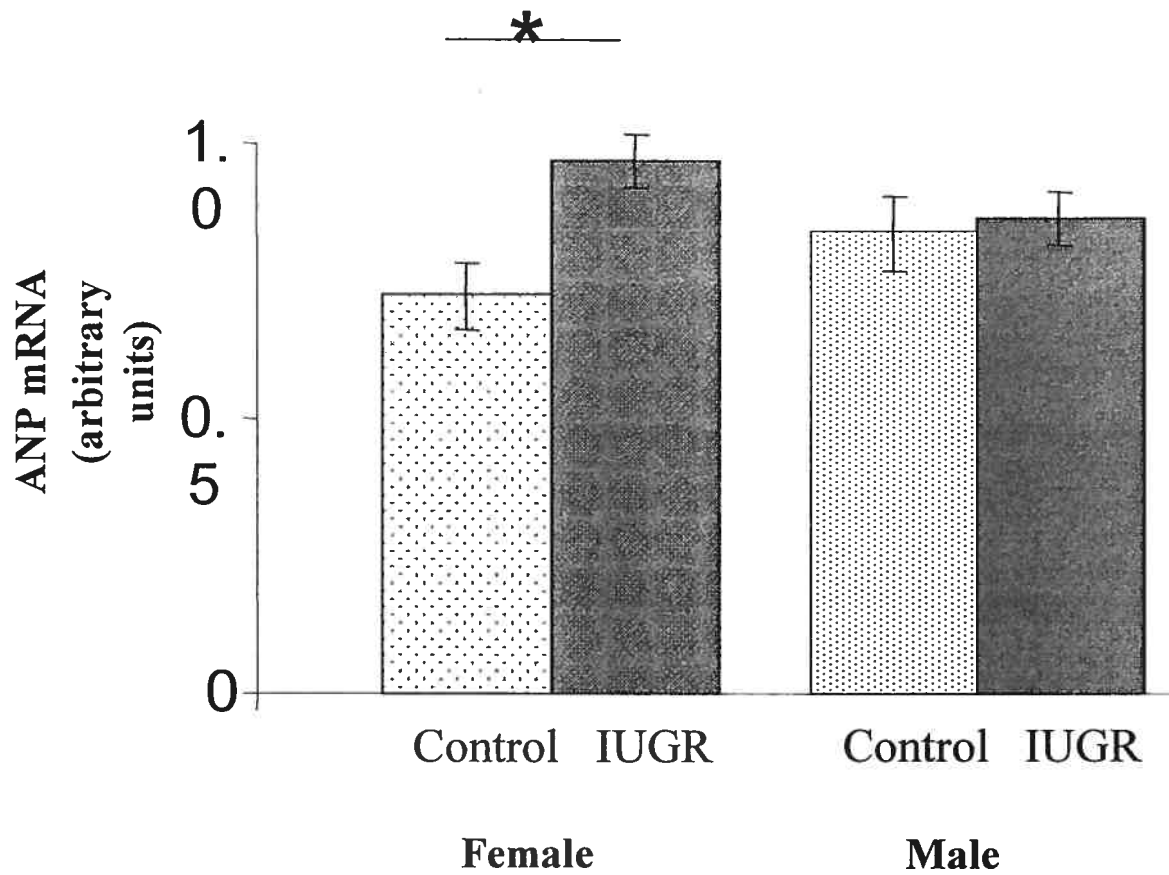
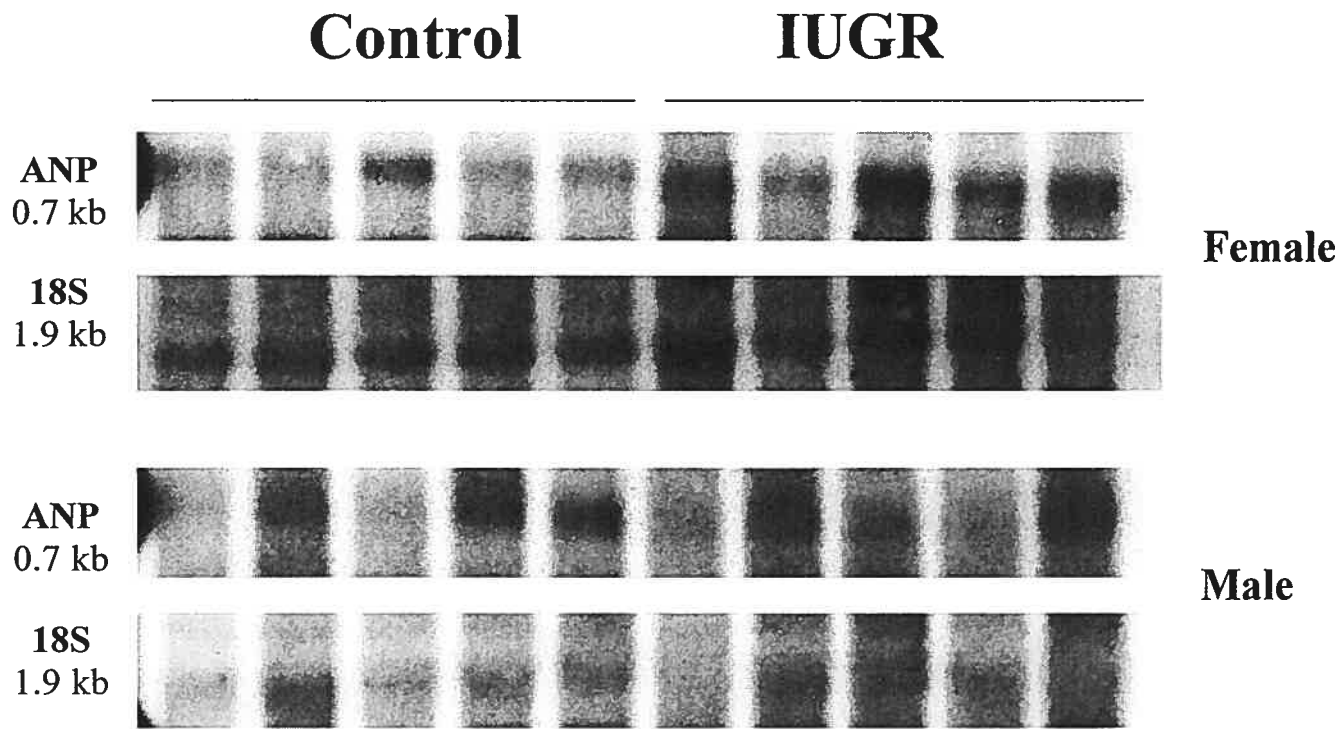


FIGURE 2



3. ARTICLE 2

En préparation
pour Circulation

CONTRIBUTIONS

J'ai effectué les expériences de toutes les Figures et du Tableau 2. J'ai fait les analyses de microscopie confocale du Tableau 3. J'ai aussi écrit le papier et participé à la correction.

Dr. Ezechiel Calvo a supervisé les travaux sur les micropuces d'ADN et Dr. Jacques Corbeil en a fait les analyses (Tableau 2).

Dr. Alzbeta Chorvatova a effectué les expériences de microscopie confocale sur les cardiomyocytes (Tableau 3).

Dr. Blandine Comte a supervisé les travaux sur l'activité des enzymes du métabolisme.

RÉSUMÉ 2

Des études épidémiologiques ont associé un environnement intrautérin défavorable aux maladies adultes. Dans le laboratoire, nous avons développé un modèle de programmation foetale des pathologies adultes (PFPA) en donnant une diète faible en sodium à des rates gestantes. À l'âge adulte, les femelles nées de ces mères ont un ratio poids ventricule gauche/poids total augmenté par rapport aux témoins suggérant une hypertrophie cardiaque. Notre hypothèse est qu'une altération de la morphologie cellulaire et de l'expression génique se produit dans le ventricule gauche de femelles PFPA. Ceci serait associé à des défauts de contractilité et à une altération du cycle tricarboxylique. Au sacrifice, le ventricule gauche cardiaque des femelles adultes est prélevé. Des micropuces d'ADN Affymetrix U34A sont utilisées pour comparer l'expression génique entre les deux groupes de rates. La validation des résultats des micropuces est effectuée par RT-PCR semi-quantitatif. L'activité de la citrate synthase et de l'aconitase, enzymes du cycle tricarboxylique, est déterminée par méthode spectrophotométrique. La morphologie des cardiomyocytes est évaluée par microscopie confocale et leur contractilité est déterminée suite à la stimulation de champ à 0,5Hz. Lorsque comparées aux témoins, les femelles PFPA adultes présentent 1) une augmentation du volume des cardiomyocytes suite à l'augmentation de leur épaisseur 2) une augmentation de l'expression (ARNm) du peptide natriurétique de l'oreillette (ANP) et de la chaîne légère de la myosine auriculaire (α MLC-1) 3) une diminution de l'expression de la sous-unité β 1 de la $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{ATPase}$ 4) une diminution de la contraction des cardiomyocytes et 5) une diminution de l'activité de l'aconitase. Ces résultats suggèrent que l'environnement foetal défavorable

induit une altération structurelle et fonctionnelle du ventricule gauche conduisant à une hypertrophie cardiaque. De plus, l'inhibition de l'aconitase suggère la présence d'un stress oxydatif.

Abstract

Epidemiological studies link intrauterine growth restriction (IUGR) with increased incidence of hypertension and cardiac disease in adulthood. Our rat model of IUGR supports this contention and provides evidence for the programming of susceptibility for hypertension in all offspring. Moreover, gross anatomic changes (cardiac ventricle to body ratios) provide evidence for programming of cardiac disease in the female offspring. The aim of the current study is to measure changes in cardiac tissue that support the initiation of hypertrophy. Adult female rats from our IUGR model and age and gender-matched controls were sacrificed at 12 weeks of age. Left cardiac ventricles were removed and used for monitoring changes in several key genes, Na⁺/K⁺-ATPase β 1 protein expression, cardiomyocyte morphology and contractility as well as citrate synthase and aconitase activities. When compared to controls, IUGR females exhibit higher expression (mRNA) of atrial natriuretic peptide and the atrial isoform of the myosin light chain, lower levels of Na⁺/K⁺-ATPase β 1 protein, increased cardiomyocyte depth and volume, increased sarcomere length, diminished cardiomyocyte contractility and lower aconitase activity. Female offspring of our IUGR rat model exhibit changes as adults that are consistent with the onset of cardiac hypertrophy. The decrease in aconitase activity suggests that oxidative stress may be implicated in the hypertrophic response.

Key Words: fetal programming, intrauterine growth restriction, cardiac hypertrophy.

Introduction

Fetal programming of adult disease is an area of research that has gained considerable attention. Epidemiological studies suggest that adverse intrauterine environments during fetal life are associated with a higher incidence of hypertension, type II diabetes and coronary disease.¹ Animal models of intrauterine growth restriction (IUGR) support this contention and are invaluable for studying underlying mechanisms in the programming of these pathologies.

In our laboratory, we developed a model of IUGR induced by a low sodium diet given to pregnant rats over the last week of gestation.² The IUGR offspring exhibit hypertension, changes in the renin-angiotensin-aldosterone system and renal dysfunction as adults.³ Furthermore, left cardiac ventricle to total body weight ratios and atrial natriuretic peptide (ANP) mRNA levels are elevated in female IUGR offspring when they reach adulthood.³ Although these two changes indicate cardiac hypertrophy, no gross morphological abnormalities of the myocyte architecture consistent with hypertrophy were noted nor were other markers examined.³

Ventricular hypertrophy is a well-established risk factor for cardiovascular mortality in humans. Cardiac hypertrophy is defined as the increase in myocardial mass in response to increased wall tension.⁴ In the absence of a proliferative potential, the heart reduces wall stress by increasing individual cell growth or hypertrophy. Maladaptive hypertrophy leading to disease is associated with distinct morphological, molecular and functional changes. In this regard, increased cardiomyocyte size in pressure-overload is accompanied by changes in the expression and activity of several ion channels and transporters^{5,6} as well as the

re-activation of a fetal gene program.⁷⁻⁹ Some of these genes code for contractile proteins such as atrial myosin light chain (aMLC-1) and myosin heavy chain (MHC)^{10;11}, others, such as ANP, regulate blood pressure by controlling Na⁺ and water homeostasis. Reactivation of these genes is considered a hallmark for cardiac hypertrophy. Furthermore, their modified expression in hypertrophy may underlie alterations in myocyte function and contractility.

Cardiac hypertrophy is also associated with oxidative stress and the production of reactive oxygen species (ROS).¹² For example, in a murine model of pressure-overload, cardiac hypertrophy was noted simultaneously with increased heme oxygenase-1 mRNA expression and lipid peroxidation, both signs of oxidative stress.¹³ This hypertrophic response was reversed by the administration of the ROS scavenger, N-2-mercaptopropionyl glycine. Furthermore, in an *in vitro* model of cardiac hypertrophy, ROS production was observed concomitant with a decrease in the activity of the tricarboxylic acid (TCA) cycle enzyme, aconitase.¹⁴ As aconitase is extremely sensitive to ROS¹⁵, its suppression may serve as a useful marker for oxidative stress and cardiac hypertrophy.

In view of the above, the aim of the present study is to characterize changes that occur in left cardiac ventricles of the adult female offspring of our IUGR rat model. We propose that alterations in cardiomyocyte size, gene expression, contractility and the activities of some enzymes of the TCA cycle may be noted. These changes would validate our model for fetal programming of cardiac hypertrophy and help elucidate underlying mechanisms implicated in the hypertrophic response.

Materials and Methods

Animals, Experimental Design, Diet and Housing

Experimental procedures were reviewed and approved by the local Animal Care Committee that is accredited by the Canadian Council on Animal Care. Female Sprague-Dawley rats (Charles River Canada, St-Constant, Qc, Canada) were obtained, bred and housed as detailed previously.² Control rats (n=30) were the female offspring of dams maintained on a normal diet containing 0.2% sodium (basal diet 5755; PMI Feed, Ren's Feed and Supplies, Oakville, ON, Canada) and tap water. The IUGR females (n= 30) were the offspring of dams placed on a 0.03% sodium diet (low-sodium diet 5881; PMI Feed) and demineralized water for the last week of gestation. After birth, all offspring received normal rat chow (0.2% sodium) and tap water. At 12 weeks of age, females were sacrificed by decapitation (9:00-9:30 h), body weights recorded and hearts removed. Atria were trimmed away and left cardiac ventricles used. For molecular analyses and enzyme activity measures, tissues were immediately frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C until further use. For cardiomyocyte morphology and contractility studies, hearts were processed immediately.

Total RNA isolation.

Total RNA from left cardiac ventricles (100 mg) was extracted using TRIzol reagent (Invitrogen Canada Inc., Burlington, Ontario, Canada). Left cardiac ventricles of 5 animals from different litters were pooled, reduced to powder for RNA extraction, and used in DNA microarray. To verify results of the DNA

microarray, 7 to 9 left cardiac ventricles from animals from different litters were reduced separately for RNA extraction.

Gene expression microarray

Gene expression quantification was performed as described by Vasseur and colleagues.¹⁶ Fifteen mg of fragmented cRNA were hybridized to a U34A Genechip (Affymetrix, Santa Clara, CA). Microarrays were processed in an Affymetrix GeneChip Fluidic Station 400. Results were analysed as previously described.¹⁷ Gene expression quantification microarray experiments were repeated twice using RNA from 2 sets of animals. Genes were considered to be present at 95% confidence ($p < 0.05$) for their expression, and differentially expressed when at least a two-fold (arbitrary cut-off) difference between control and experimental values was evident.

Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction

Verification of results from gene expression microarray was done by RT-PCR for 5 selected genes (aMLC-1, ANP, β -MHC, myosin regulatory light chain 2 (MRLC-2), β 1 subunit of the Na^+/K^+ -ATPase pump) using the same pooled samples. Results were reported on glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) as internal control. For confirmation of these results, the procedure was carried out on triplicate samples from individual animals as well. PCR primers specific for genes of interest were designed with PRIMER3 (www.genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer/primer3_www.cgi) using sequence data from NCBI database (Table 1).

Single-stranded cDNA was created by reverse transcription (SuperScriptTM II RNase H- Reverse Transcriptase, Invitrogen) and PCR (Taq DNA Polymerase, Invitrogen) performed according to the procedure detailed by the manufacturer. The annealing step was carried out for 1 min at temperatures determined for each gene (aMLC-1, 53°C; ANP, 50°C; β -MHC, 51°C; MRLC-2, 56°C; Na⁺/K⁺-ATPase β -1, 53°C and GAPDH, 51°C). The extension step was performed at 72°C for 1 min. PCR results were taken during the exponential phase. The number of cycles needed for amplification was determined for each gene (20 for GAPDH, 21 for β -MHC, 22 for Na⁺/K⁺-ATPase β 1, 24 for MRLC-2 and 27 for aMLC-1 and ANP). PCR products were electrophoresed on 1% agarose gels containing ethidium bromide. Amplification products were quantified using Alpha Imager software (Alpha Innotech Corporation, San Leandro, CA).

Western Blotting for Na⁺/K⁺-ATPase β 1

Two hundred mg of frozen powder from each left cardiac ventricle (5 animals per group) were homogenized in Tris buffer (pH 7.4) and centrifuged at 2,500g x 10 min. Supernatants collected were then centrifuged at 300,000g x 1 hr and pellets resuspended in sample buffer. Proteins (20 μ g /lane) were separated on 15% SDS-polyacrylamide gels and transferred to nitrocellulose membranes (NitroPure, Osmonics Inc., Gloucester, MA). Membranes were blocked with TBS/0.1% Tween 20/5% milk and then incubated with mouse anti-Na⁺/K⁺-ATPase β 1 subunit antibodies (Upstate Biotechnology, Waltham, MA) (1:1,000) overnight at 4°C, washed, and then incubated with horseradish peroxidase-conjugated goat anti-mouse immunoglobulin (Upstate Biotechnology) (1:10,000) for 30 min at room

temperature. Equal protein loading was determined on duplicate gels using mouse anti- β -actin primary antibodies (Abcam, Cambridge, MA). Immunoreactive bands were visualized with the enhanced ECL chemoluminescence detection system (Amersham, Piscataway, NJ).

Cardiomyocyte morphology

Cardiomyocyte isolation, morphometric analyses and contractility measures

Left cardiomyocytes were isolated as previously detailed.¹⁸ Spatial and volumetric distribution of unstained single cardiomyocytes was determined (λ excitation/emission= 488/520) by scanning confocal microscope (Zeiss LSM 510, Thornwood, NY) equipped with a PlanNeofluor 63x/1,3 oil immersion objective. Three D confocal images were recorded using 2.0 μ m steps in z-stack. Cell length, width and depth were determined from these images and cell volume (V) and cross-sectional are (CSA) calculated using the equation for an elliptic cylinder: $V=l*w*d*\pi/4$ and $CSA= w*d*\pi/4$, respectively. Length of individual sarcomeres was determined from transmission images and sarcomere number was calculated in each cell as a ratio between cell length and sarcomere length. Cardiomyocyte shortening was studied by line scan confocal imaging of single cardiomyocytes perfused extracellularly with solutions heated to $35\pm 1^\circ\text{C}$.¹⁸ Cells were field stimulated at 0.5 Hz by a constant voltage isolated stimulator (DS-A2, Digitimer Ltd., Harvard, St-Laurent, Qc) through a trigger generator (DG-2, Digitimer Ltd.) using platinum electrodes incorporated into a homemade bath. Cardiomyocyte shortening was expressed as % of change in cell length = (cell length-cell shortening)/cell length.

Enzyme assays

Thirty mg of frozen powdered tissue were homogenized in 0,1mM Tris-HCL/ 15mM tricarballic acid solution (pH 7.8), centrifuged at 9,500g x 10 min at 4°C and the supernatant collected immediately processed for enzyme determinations. Citrate synthase activity was measured at 412 nm using 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid as substrate.¹⁹ Aconitase activity was determined at 340 nm by the formation of NADPH following α -ketoglutarate production from isocitrate.²⁰ Protein concentrations were determined with the BioRad Assay kit (Bio-Rad, Mississauga, ON) using bovine serum albumin as standard. Enzyme activities are expressed in units (U) per mg of protein, where U is defined as the amount of enzyme catalyzing the conversion of 1 μ mol of substrate per minute at 37°C. Activities for each enzyme were determined for 6 animals per group.

Statistical analysis

Results are expressed as mean \pm SEM and compared using Student's *t*-test. Data on gene expression from individual animals were compared by 1-way factor analysis of variance. Significance assumed at $p < 0.05$.

Results

Gene expression microarray

Those genes whose expression was altered by at least 2-fold in the IUGR group when compared to controls are listed (Table 2). In the first assay, expression of aMLC-1, four genes related to ANP and monoamine oxidase A were higher, whereas, expression of integrin β -1 and Na⁺/K⁺-ATPase β 1 genes were

lower in IUGR rats when compared to controls. In the second assay, expression of aMLC-1, integrin α -1 and butyrate response factor 1 increased in the IUGR rats by at least 2-fold when compared to controls.

RT-PCR validation

RT-PCR validation of aMLC-1, ANP, β -MHC, MRLC-2 and Na^+/K^+ -ATPase β 1 was done on pooled tissue samples prepared and used for gene expression microarray assays. The results obtained from the two techniques were similar (Figure 1).

Gene expression microarray methodology was used to screen for gene products that may be implicated in cardiac hypertrophy. In view of the slight discrepancy between our two microarray assays, distribution of mRNA levels between the two populations of animals was examined using mRNAs from individual animals. Although MRLC-2 (Figure 2a), β -MHC (Figure 2b) and Na^+/K^+ -ATPase β 1 (Figure 2c) mRNA levels are not different between the 2 groups of animals, expression of aMLC-1 (Figure 2d) and ANP (Figure 2e) mRNA increase in the left ventricles of our IUGR adult females.

Na^+/K^+ -ATPase β 1 Western blotting analysis

A representative western blot (Figure 3a) shows that the intensities of the Na^+/K^+ -ATPase β 1 immunoreactive bands are lower in samples from left ventricles of IUGR females when compared to those from controls. From densitometric analyses, expression of Na^+/K^+ -ATPase β 1 protein (expressed in arbitrary units) is 2-fold lower in IUGR females when compared to controls (Figure 3b). Mean

optical density values for Na⁺/K⁺-ATPase β 1 protein are 0.56 for IUGR females and 1.23 for controls.

Cardiomyocyte morphology and contractility

Cardiomyocytes isolated from left ventricles of the IUGR females are significantly greater ($p < 0.05$) in depth than those from control females (Table 3). We also observed significant increase of 23% ($p < 0.05$) in cell volume (Table 3). Cross-sectional area of single myocytes was also significantly increased (Table 3). In addition, sarcomere length is also significantly greater ($p < 0.05$) in cardiomyocytes from the IUGR females when compared to those of controls (Table 3). In contrast, no significant differences were found in cardiomyocyte length and width as well as mean sarcomere number per cell amongst the 2 groups of animals. Finally, cell contractility (0.5Hz, $35 \pm 1^\circ\text{C}$) was reduced by 29% in IUGR females when compared to controls.

Tricarboxylic acid cycle enzyme activities

Activities of citrate synthase were found not to differ amongst the two groups of animals (Figure 4a). In contrast, activities of the second mitochondrial enzyme, aconitase, are significantly lower ($p < 0.01$) in samples from left cardiac ventricles of IUGR females when compared to those of controls (Figure 4b).

Discussion

The increase in left cardiac ventricle to total body weight ratios in our female IUGR rats suggests hypertrophy.³ However, morphological evidence for

onset of cardiomyocyte hypertrophy is only confirmed in our present study using scanning confocal microscopy. In this regard, increased cell depth accounts for the increase in cardiomyocyte volume in our IUGR females while significantly greater cross-sectional area indicate thicker left ventricular wall. These data correlate with increase in left ventricle to body weight ratio, identified previously in this model. Moreover, these changes in volume or cross-sectional area have been documented to occur first during a period of compensated hypertrophy.²¹ Myocyte lengthening is noted more so during the progression to heart failure as is the excessive addition of sarcomeres in series.²¹ We do report an increase in sarcomere length in the IUGR females that may indicate either the initiation of the formation of series sarcomeres, or, reflect alterations in intracellular ionic composition.²² Disruption of the intracellular ionic environment would affect the contractile apparatus, sarcomere length and thus, the contractile response.

In both human hearts and animal models, maximal Na^+/K^+ -ATPase pump activity has been shown to decrease during hypertrophy.^{23;24} For the most part, this decrease is attributed to the reduced expression of the high affinity ouabain-sensitive catalytic α subunits or the common β regulatory unit of the pump.^{23;24} In our present study, we find a 50% reduction in $\beta 1$ protein in left ventricles of our adult IUGR females while $\beta 1$ mRNA remains unaltered. Similar findings were reported in a rat model of renovascular hypertension with left ventricular cardiac hypertrophy where $\beta 1$ protein decreased without any change in mRNA.²⁵ Diminished Na^+/K^+ -ATPase pump activity would impact resting membrane potential, intracellular Na^+ , as well as the activity of the $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger,

leading to change in intracellular Ca^{2+} and perturbations in the contractile response.

Changes in the expression of contractile elements are shown to occur in cardiac hypertrophy and may underlie diminished cardiomyocyte contractility as well. Myocardial contractile function improves with maturation and depends in part on developmental changes in the expression of components of the contractile apparatus.²⁶ In the rat, the perinatal increase in myocardial contractile force occurs concomitant with changes in myosin isoforms.²⁶ For example, in the rodent ventricle, there is a transition in the expression of MHC from the β to the α isoform²⁷ as well as a segregation of specific MLCs with aMLC in the atria and vMLC in the ventricles.²⁸ Hypertrophy is sometimes associated with a reversal of these phenomena in both humans⁸ and rats.⁹ In our IUGR adult females we find aMLC-1 mRNA to increase in the left ventricles while β MHC is unchanged. Similar findings were reported in a rat model of pressure-overload where marked cardiac hypertrophy was observed without any change in β MHC mRNA.²⁹ Upregulation of MRLC-2 is associated with myocardial hypertrophy as well.⁷ However, for the most part, MRLC-2 expression is shown to increase in cell culture models of hypertrophy.^{30;31} In our animal model MRLC-2 mRNA was unaltered.

Synthesis of ANP by ventricular myocytes is high during fetal and early neonatal periods decreasing markedly thereafter to reach adult levels.⁷ In myocardial hypertrophy, the ANP gene is re-expressed in the ventricle⁷, making it a useful marker for cardiac hypertrophy. For example, a positive correlation between myocyte size and ANP immunoreactivity was shown in spontaneously hypertensive rats (SHR).³² A modulatory role has been proposed for ANP in

cardiac hypertrophy as well.³³ In this regard, ANP produced by the ventricular myocytes and myofibroblasts could act, via its receptor, to suppress the activation of fetal genes associated with hypertrophy. In support of this, genetic disruption of the ANP receptor A in mice results in increased ANP expression, cardiac hypertrophy, and reactivation of fetal genes in the left cardiac ventricle.³⁴ Although ANP gene expression increases in the IUGR rats, the receptor, which is normally present in the adult heart, may serve to inhibit reactivation of fetal genes like β -MHC that is unaltered in our model.

We presently report that oxidative stress may be implicated in cardiomyocyte hypertrophy in our female IUGR rats as well. It may underlie the decrease in Na^+/K^+ -ATPase β 1 expression in our model. In this regard, we show the activity of aconitase, the mitochondrial TCA cycle enzyme that is most susceptible to inactivation by ROS³⁵, to decrease significantly in left ventricles of our IUGR female rats. In contrast, and as shown by others³⁶, citrate synthase activity is unaltered.

In adult SHR male rats treated with doxorubicin, Na^+/K^+ -ATPase activity was shown to decrease in the left ventricles and the extent of cardiac hypertrophy correlated well with the increase in membrane lipid peroxidation.³⁷ These changes in cardiac tissue were reversed by the antioxidant, α -tocopherol.³⁷ Furthermore, in an *in vitro* model of cultured rat cardiomyocytes, nontoxic doses of ouabain were shown to suppress Na^+/K^+ -ATPase activity, induce hypertrophic growth and increase transcription of marker genes for hypertrophy by mechanisms that implicate ROS generation.^{31;38} These experiments propose a link between cardiac hypertrophy, the suppression of Na^+/K^+ -ATPase activity and oxidative stress and

corroborate our present findings suggesting that ROS may be implicated in the hypertrophic response in our rat model as well.

In conclusion, we provide evidence for the fetal programming of cardiac disease in a rat model of IUGR. Programming of cardiac hypertrophy is limited to the female animals and may reflect gender differences in the response to certain stressors. Although the underlying mechanisms that lead to the hypertrophic response in our animals warrant further study, our present data suggest that oxidative stress may be involved. The progression of hypertrophy to cardiopathy will be studied in older IUGR female rats and the use of antioxidants in preventing these hypertrophic changes in our animals will be investigated as well.

Acknowledgments

We are grateful to Drs. A. Tremblay and Rhoda Kenigsberg for their expert advice. This study was supported by grants from the Canadian Institutes of Health Research (MOP-37902). Personal support was provided by Fonds de la Recherche en Santé du Québec to M.C.B., M.B. and A.C. J.C. holds a Canada Research Chair in Medical Genomics.

References

1. Barker DJ, Gluckman PD, Godfrey KM, Harding JE, Owens JA, Robinson JS. Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. *Lancet*. 1993;341:938-941.
2. Roy-Clavel E, Picard S, St-Louis J, Brochu M. Induction of intrauterine growth restriction with low-sodium diet fed to pregnant rats. *Am J Obstet Gynecol*. 1999;180:608-613.
3. Battista MC, Oligny LL, St Louis J, Brochu M. Intrauterine growth restriction in rats is associated with hypertension and renal dysfunction in adulthood. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2002;283:E124-E131.
4. James MA, Saadeh AM, Jones JV. Wall stress and hypertension. *J Cardiovasc Risk*. 2000;7:187-190.
5. Tomaselli GF, Marban E. Electrophysiological remodeling in hypertrophy and heart failure. *Cardiovasc Res*. 1999;42:270-283.
6. Swynghedauw B. Molecular mechanisms of myocardial remodeling. *Physiol Rev*. 1999;79:215-262.

7. Chien KR, Knowlton KU, Zhu H, Chien S. Regulation of cardiac gene expression during myocardial growth and hypertrophy: molecular studies of an adaptive physiologic response. *FASEB J.* 1991;5:3037-3046.
8. Nakao K, Yasue H, Fujimoto K, Okumura K, Yamamoto H, Hitoshi Y, Murohara T, Takatsu K, Miyamoto E. Increased expression of atrial myosin light chain 1 in the overloaded human left ventricle: possible expression of fetal type myocytes. *Int J Cardiol.* 1992;36:315-328.
9. Gupta M, Gupta MP. Cardiac hypertrophy: old concepts, new perspectives. *Mol Cell Biochem.* 1997;176:273-279.
10. Diffie GM, Nagle DF. Regional differences in effects of exercise training on contractile and biochemical properties of rat cardiac myocytes. *J Appl Physiol.* 2003;95:35-42.
11. Schaub MC, Hefti MA, Zuellig RA, Morano I. Modulation of contractility in human cardiac hypertrophy by myosin essential light chain isoforms. *Cardiovasc Res.* 1998;37:381-404.
12. Byrne JA, Grieve DJ, Cave AC, Shah AM. Oxidative stress and heart failure. *Arch Mal Coeur Vaiss.* 2003;96:214-221.

13. Date MO, Morita T, Yamashita N, Nishida K, Yamaguchi O, Higuchi Y, Hirotsu S, Matsumura Y, Hori M, Tada M, Otsu K. The antioxidant N-2-mercaptopropionyl glycine attenuates left ventricular hypertrophy in in vivo murine pressure-overload model. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39:907-912.
14. Nakagami H, Takemoto M, Liao JK. NADPH oxidase-derived superoxide anion mediates angiotensin II-induced cardiac hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol*. 2003;35:851-859.
15. Hausladen A, Fridovich I. Superoxide and peroxynitrite inactivate aconitases, but nitric oxide does not. *J Biol Chem*. 1994;269:29405-29408.
16. Vasseur S, Malicet C, Calvo EL, Labrie C, Berthezene P, Dagorn JC, Iovanna JL. Gene expression profiling by DNA microarray analysis in mouse embryonic fibroblasts transformed by rasV12 mutated protein and the E1A oncogene. *Mol Cancer*. 2003;2:19.
17. Sasik R, Calvo E, Corbeil J. Statistical analysis of high-density oligonucleotide arrays: a multiplicative noise model. *Bioinformatics*. 2002;18:1633-1640.
18. Chorvatova A, Hussain M. Effects of caffeine on potassium currents in isolated rat ventricular myocytes. *Pflugers Arch*. 2003;446:422-428.

19. Nulton-Persson AC, Szweda LI. Modulation of mitochondrial function by hydrogen peroxide. *J Biol Chem*. 2001;276:23357-23361.
20. Comte B, Vincent G, Bouchard B, Benderdour M, Des RC. Reverse flux through cardiac NADP(+)-isocitrate dehydrogenase under normoxia and ischemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002;283:H1505-H1514.
21. Onodera T, Tamura T, Said S, McCune SA, Gerdes AM. Maladaptive remodeling of cardiac myocyte shape begins long before failure in hypertension. *Hypertension*. 1998;32:753-757.
22. Powell T, Matsuoka S, Sarai N, Noma A. Intracellular Ca(2+) dynamics and sarcomere length in single ventricular myocytes. *Cell Calcium*. 2004;35:535-542.
23. Muller-Ehmsen J, Wang J, Schwinger RH, McDonough AA. Region specific regulation of sodium pump isoform and Na,Ca-exchanger expression in the failing human heart--right atrium vs left ventricle. *Cell Mol Biol (Noisy -le-grand)*. 2001;47:373-381.
24. Paganelli F, Mougnot R, Maixentt JM. Defective activity and isoform of the Na,K-ATPase in the dilated cardiomyopathic hamster. *Cell Mol Biol (Noisy -le-grand)*. 2001;47:255-260.

25. Book CB, Moore RL, Semanchik A, Ng YC. Cardiac hypertrophy alters expression of Na⁺,K⁽⁺⁾-ATPase subunit isoforms at mRNA and protein levels in rat myocardium. *J Mol Cell Cardiol.* 1994;26:591-600.
26. Fisher DJ, Towbin J. Maturation of the heart. *Clin Perinatol.* 1988;15:421-446.
27. Mahdavi V, Izumo S, Nadal-Ginard B. Developmental and hormonal regulation of sarcomeric myosin heavy chain gene family. *Circ Res.* 1987;60:804-814.
28. Swynghedauw B. Developmental and functional adaptation of contractile proteins in cardiac and skeletal muscles. *Physiol Rev.* 1986;66:710-771.
29. Wiesner RJ, Ehmke H, Faulhaber J, Zak R, Ruegg JC. Dissociation of left ventricular hypertrophy, beta-myosin heavy chain gene expression, and myosin isoform switch in rats after ascending aortic stenosis. *Circulation.* 1997;95:1253-1259.
30. Huang CY, Hao LY, Buetow DE. Insulin-like growth factor-induced hypertrophy of cultured adult rat cardiomyocytes is L-type calcium-channel-dependent. *Mol Cell Biochem.* 2002;231:51-59.

31. Huang L, Li H, Xie Z. Ouabain-induced hypertrophy in cultured cardiac myocytes is accompanied by changes in expression of several late response genes. *J Mol Cell Cardiol.* 1997;29:429-437.
32. Kaganovsky E, Belkin V, Barhum Y, Schaper J, Schaper W, Kessler-Icekson G. Occurrence and distribution of atrial natriuretic peptide-containing cells in the left ventricle of hypertensive rats. Effect of antihypertensive treatment. *Cell Tissue Res.* 2001;303:57-67.
33. Gardner DG. Natriuretic peptides: markers or modulators of cardiac hypertrophy? *Trends Endocrinol Metab.* 2003;14:411-416.
34. Holtwick R, van Eickels M, Skryabin BV, Baba HA, Bubikat A, Begrow F, Schneider MD, Garbers DL, Kuhn M. Pressure-independent cardiac hypertrophy in mice with cardiomyocyte-restricted inactivation of the atrial natriuretic peptide receptor guanylyl cyclase-A. *J Clin Invest.* 2003;111:1399-1407.
35. Vasquez-Vivar J, Kalyanaraman B, Kennedy MC. Mitochondrial aconitase is a source of hydroxyl radical. An electron spin resonance investigation. *J Biol Chem.* 2000;275:14064-14069.

36. Leary SC, Michaud D, Lyons CN, Hale TM, Bushfield TL, Adams MA, Moyes CD. Bioenergetic remodeling of heart during treatment of spontaneously hypertensive rats with enalapril. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2002;283:H540-H548.
37. Torii M, Ito H, Suzuki T. Lipid peroxidation and myocardial vulnerability in hypertrophied SHR myocardium. *Exp Mol Pathol.* 1992;57:29-38.
38. Xie Z, Kometiani P, Liu J, Li J, Shapiro JI, Askari A. Intracellular reactive oxygen species mediate the linkage of Na⁺/K⁺-ATPase to hypertrophy and its marker genes in cardiac myocytes. *J Biol Chem.* 1999;274:19323-19328.

Legends to figure**FIGURE 1**

RT-PCR validation of genes selected from the gene chip. Samples (mRNA) used for the RT-PCR validation were the same as the one used for the gene chip assays. Water was used as negative control and atria as positive control.

FIGURE 2

Comparative gene expression for a)MRLC-2 b) β -MHC c) Na^+/K^+ -ATPase β 1 d) α MLC-1 and e)ANP relative to GAPDH by RT-PCR in left ventricles from adult female control and IUGR rats using column statistic analysis.

FIGURE 3

Western blot analysis of Na^+/K^+ -ATPase β 1 protein from left ventricles of adult female control and IUGR rats. Representative immunoblot (A) and corresponding densitometric analyses (B). Brain microsomes serve as positive control and buffer as negative control.

FIGURE 4

Activities for two TCA cycle enzymes in left cardiac ventricles of adult female control and IUGR rats.

TABLE 1. PCR primers designed (by alpha DNA) for genes of interest.

Gene	FP: Forward Primer (5'→ 3')	Product size (bp)
	RP: Reverse Primer (5'→ 3')	
Atrial myosin light chain-1 (aMLC-1)	FP : CCAGCCTGAAGAGATGAAT RP : CCAGTATGAGTCCAGTGCTC	376
Atrial natriuretic peptide (ANP)	FP : TTCAAGAACCTGCTAGACCA RP : GCTCCAATCCTGTCAATCCT	302
β - Myosin heavy chain (β -MHC)	FP : GGCCTGAATGAAGAGTAGAT RP : GTGTTTCTGCCTAAGGTGCT	98
Glyceraldehyde-3- phosphate dehydrogenase (GAPDH)	FP : GGTGATGCTGGTGCTGAGTA RP : GGATGCAGGGATGATGTTCT	369
Myosin regulatory light chain 2 (MRLC-2)	FP : GGAGGAGACCATTCTCAACG RP : TGGAGAACCTCTCTGCTTGC	110
Na ⁺ /K ⁺ -ATPase β 1	FP : TGGAGACTTACCCTCTGACGATG RP : GGCTAGTGGGAAAGATTTGTGC	357

TABLE 2. Relative changes in expression of hypertrophic marker genes in female adult IUGR rats*.

Gene description	Probe set name	Microarray	
		1 st	2 nd
atrial myosin light chain-1	X51531cds_at	+6.37	+2.24
Natriuretic peptide precursor A	X01118_at	+4.02	1.30
Rat cardionatrin precursor	E00775cds_s_at	+3.58	1.21
Rat atrial natriuretic factor (ANF)	E00903cds_s_at	+3.26	0.93
Rat γ atrium natriuretic polypeptide γ -rANP	E00698cds_s_at	+3.23	1.09
Rat monoamine oxidase A gene	D00688_s_at	+2.14	1.69
Integrin, alpha 1	X52140_at	1.25	+3.48
Butyrate response factor 1	rc_AI136891_at	1.05	+2.20
Integrin, beta 1	rc_AI177366_at	-2.09	0.89
Na ⁺ /K ⁺ -ATPase transporting beta1 polypeptide	rc_AI230614_s_at	-2.45	1.25
Myosin regulatory light chain	D14688_s_at	0.96	1.35
Myosin heavy chain, cardiac muscle, fetal	X15939_f_at	1.12	1.65

* Results are expressed as fold change in expression in IUGR females when compared to control rats.

TABLE 3. Morphometric and contractility measurements for isolated cardiomyocytes from adult female control and IUGR rats*.

Cell	Controls	IUGR
Length (μm)	121.7 ± 3.4 (N=22)	125.7 ± 2.9 (N=36)
Width (μm)	30.3 ± 1.7 (n=22)	30.1 ± 1.0 (n=36)
Depth (μm)	16.2 ± 0.5 (n=22)	19.4 ± 0.7 ** (n=36)
Volume (pL)	45.7 ± 2.6 (n=22)	56.0 ± 2.9 ** (n=36)
Cross-sectional area (μm)	380 ± 23 (n=22)	442 ± 19 * (n=36)
Sarcomeric length (μm)	1.75 ± 0.01 (n=22)	1.78 ± 0.01 * (n=36)
Sarcomeric number	75.5 ± 2.3 (n=22)	74.1 ± 1.8 (n=36)
% of change in cell length	6.2 ± 0.5 (n=15)	4.4 ± 0.4 ** (n=32)

* $p \leq 0.05$ vs controls; n=number of cells analyzed

FIGURE 1

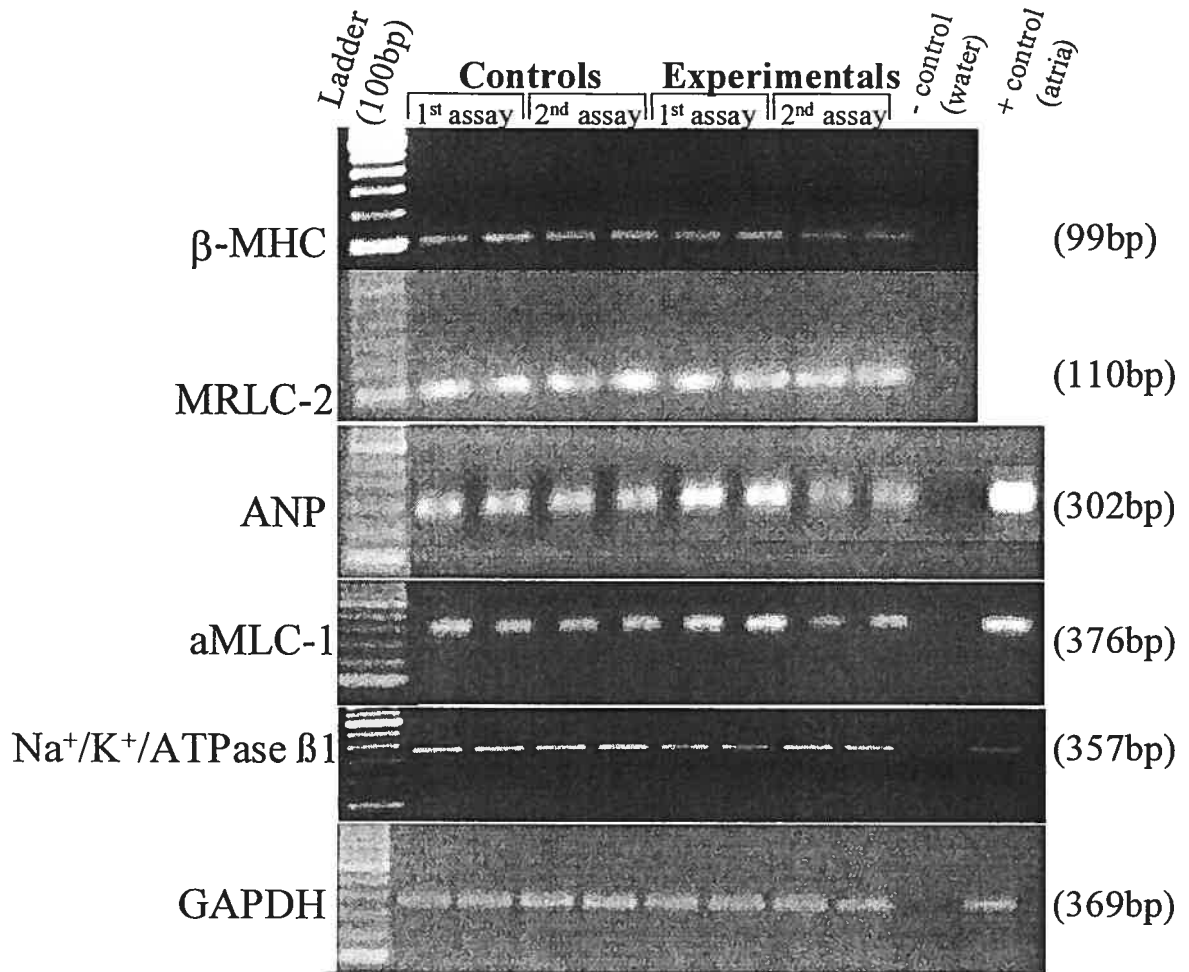
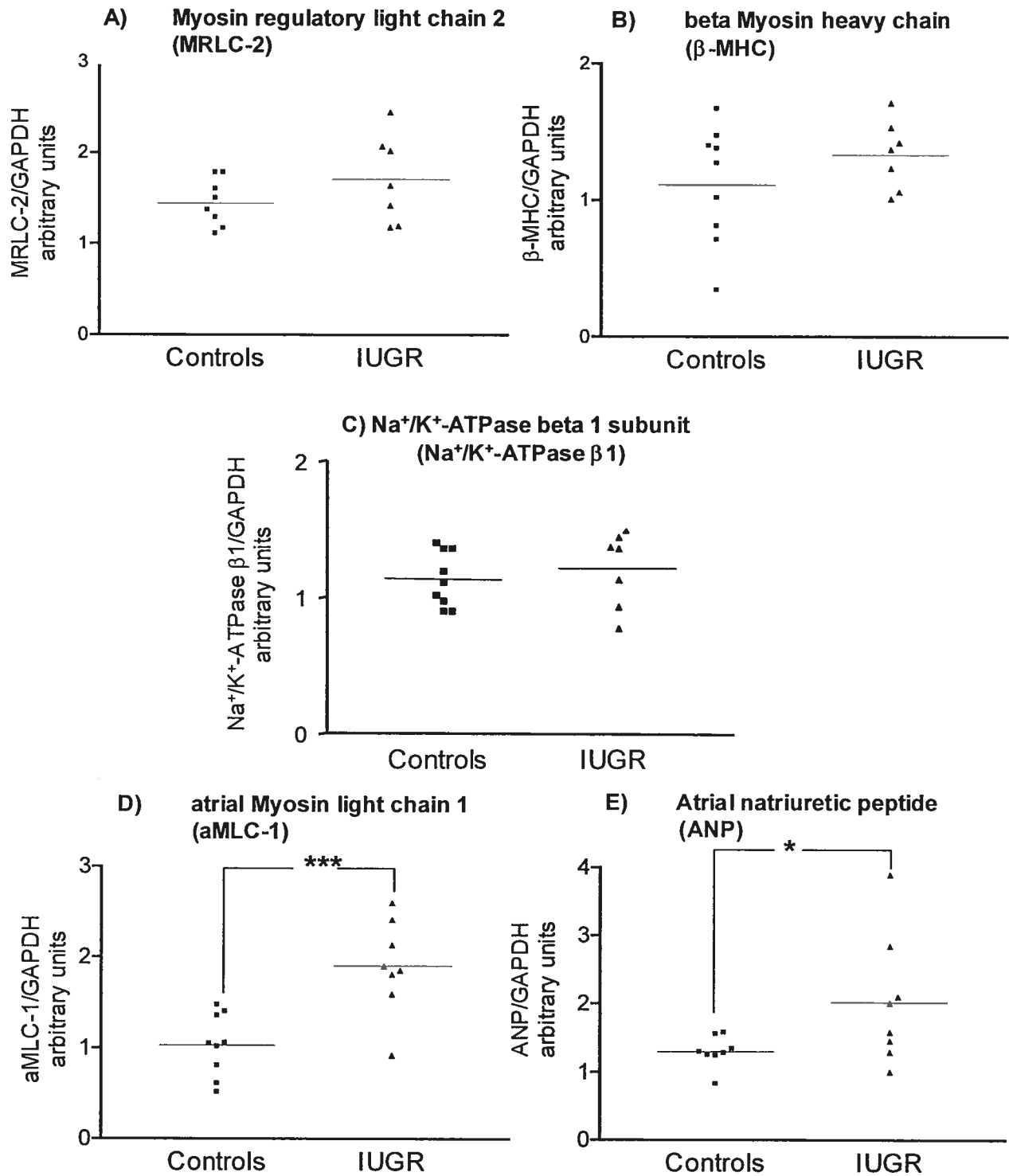
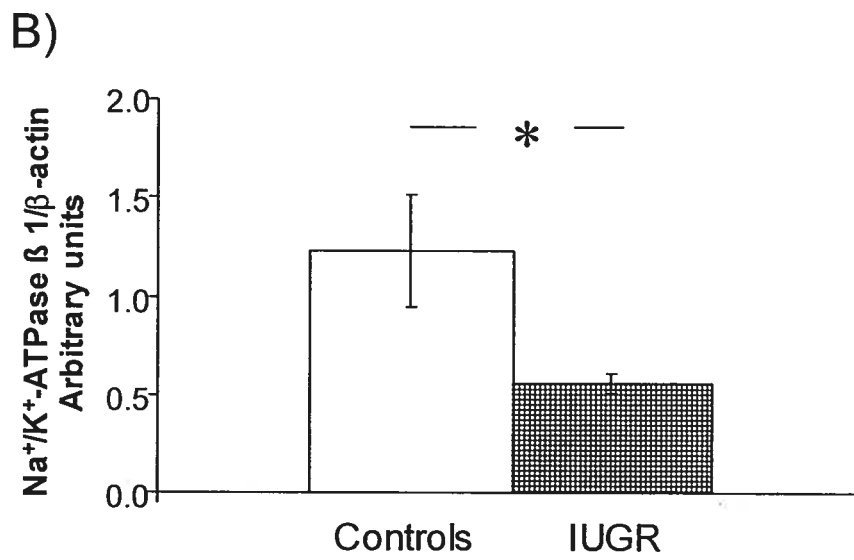
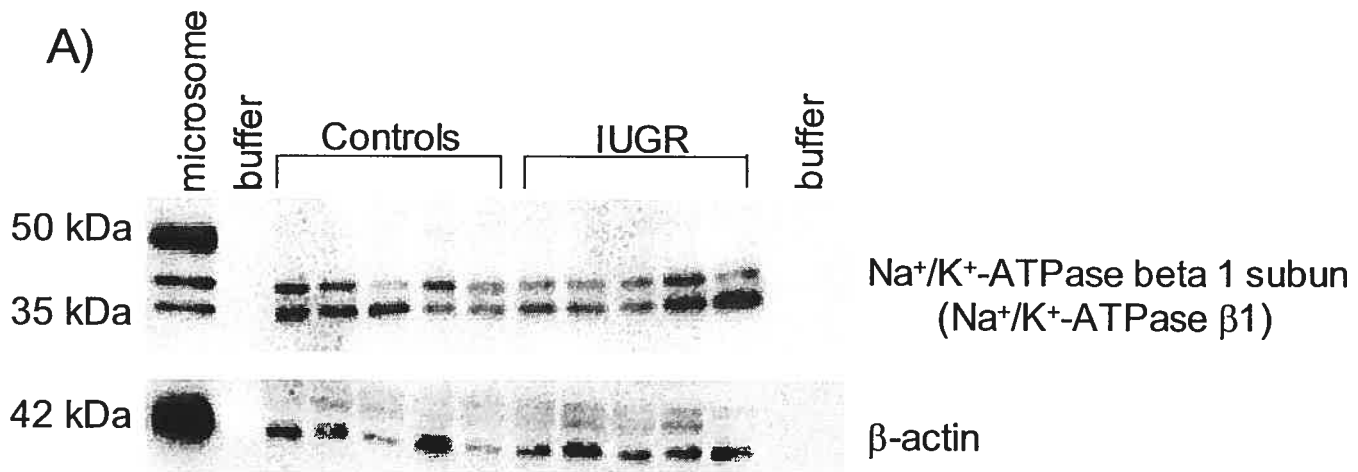


FIGURE 2



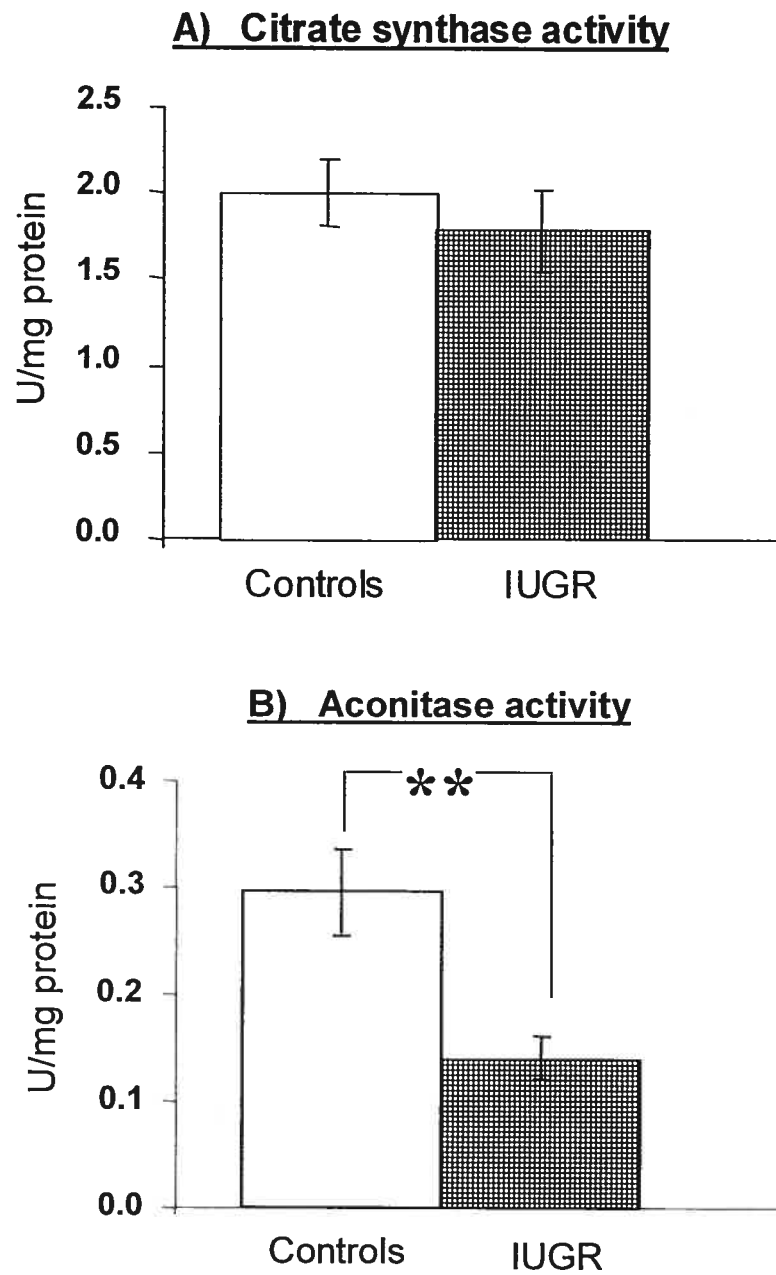
* $p \leq 0.05$; *** $p \leq 0.01$ compared to controls

FIGURE 3



* $p \leq 0.05$ compared to controls

FIGURE 4



4. DISCUSSION

CHAPITRE 4- DISCUSSION

Le diabète et l'hypertension sont des maladies faisant partie des plus importants enjeux sociaux du 21^e siècle. Selon un sondage sur la santé communautaire effectué en 2000-2001, 13% des Canadiens souffrent d'hypertension alors que 4,2% ont le diabète (Tanuseputro, 2003). Ces maladies sont souvent associées à des facteurs de risques tel que la cigarette, l'obésité, le stress et la mauvaise nutrition. Cependant, plusieurs évidences, chez l'humain et dans des modèles animaux, suggèrent qu'un environnement foetal défavorable prédisposerait au développement de ces pathologies.

4.1 MODÈLE ANIMAL DE PROGRAMMATION FŒTALE

Différents modèles animaux ont été proposés pour étudier l'impact d'un environnement foetal défavorable sur le développement de maladies à l'âge adulte. Parmi ceux-ci, on retrouve une restriction calorique ou protéique chez la mère, la ligature des artères utérines, un excès de glucocorticoïdes et autre. Dans ces modèles, la manipulation utilisée est souvent sévère et invasive. Nous avons développé un nouveau modèle de programmation foetale des maladies adultes en donnant une diète faible en sodium (0,03% vs 0.2% sodium) à des rates pour la dernière semaine de gestation. Cette méthode induit chez la mère, une réduction du volume circulant et du diamètre des vaisseaux utérins produisant un environnement foetal défavorable. Ainsi, nous croyons que la restriction de croissance intrautérine observée chez ces nouveau-nés serait la conséquence

d'une diminution de la perfusion placentaire réduisant l'apport en oxygène et en nutriments aux fœtus.

Les effets d'une hypoxie en période prénatale sont bien documentés. Chez des brebis gestantes exposées à un milieu hypoxique causé par la haute altitude, on observe chez les fœtus, une diminution de la PO_2 et du débit cardiaque. Le flux sanguin et l'apport en oxygène sont maintenus vers le cœur et le cerveau au détriment du squelette, du système digestif et du rein (Kamitomo, 1993). Dans notre modèle, le petit poids de naissance est accompagné d'une redistribution du flux sanguin. Ceci a été démontré par une augmentation du ratio du poids du cerveau et du cœur sur le poids total de l'animal chez les foetus expérimentaux.

Il est clairement établi que le petit poids de naissance peut conduire à des pathologies dans la vie adulte et comme il a été rapporté dans l'introduction, l'hypertension est certainement celle qui est la plus étudiée. Ainsi, dans notre modèle, nous observons une RCIU de 18% alors que l'élévation de la pression artérielle chez ces derniers, à l'âge adulte, est de 8-9mmHg par rapport aux animaux témoins. Ainsi, à titre de comparaison, dans le modèle de restriction calorique à la mère, on observe une réduction de 30% du poids de naissance et ceci est accompagné d'une augmentation de 5-8 mmHg de la pression artérielle à l'âge adulte (Woodall, 1996b). Dans le modèle de restriction protéique, la réduction du poids de naissance est d'environ 10% alors que la pression artérielle à l'âge adulte augmente d'environ 13 mmHg (Langley-Evans, 1999). Les résultats obtenus

dans notre modèle de programmation foetale des maladies adultes sont comparables à ceux obtenus par d'autres modèles.

4.2 HYPERTROPHIE CARDIAQUE

Chez des nouveau-nés humains prématurés ayant subi une importante RCIU, une augmentation du diamètre du ventricule gauche en fin de diastole ainsi qu'une dysfonction ventriculaire ont été démontrées. On rapporte aussi une augmentation du volume circulant ainsi que du volume des globules rouges dans les 3 premiers jours de vie (Leipala, 2003). Ceci suggère que ces nouveaux-nés ont une hypertrophie cardiaque accompagnée de problèmes hémodynamiques. Chez des fœtus mouton de 78 jours dont les mères ont subi une restriction calorique de 50% entre les jours 28 à 78 de gestation (terme: 150 jours), on observe une augmentation compensatoire de la croissance des ventricules et ceci est accompagnée d'une augmentation de la transcription de 6 gènes reliés à l'hypertrophie cardiaque et de 3 gènes inhibant le remodelage des tissus ayant subi l'hypertrophie (Han, 2004). Ces données suggèrent qu'un environnement foetal défavorable a des conséquences sur le développement à court terme du cœur.

Un environnement foetal défavorable peut aussi avoir des conséquences sur le cœur à long terme. Il a été démontré que l'exposition prénatale aux glucocorticoïdes chez le mouton conduit à une hypertrophie cardiaque à l'âge adulte (Dodic, 2001). Dans notre modèle, nous observons une modification de l'expression génique dans le ventricule gauche en cours d'hypertrophie chez les

femelles expérimentales à 12 semaines. Ainsi, un environnement foetal défavorable peut provoquer des modifications qui auront des répercussions sur le remodelage ainsi que sur l'expression de gènes du myocarde dans la vie adulte.

Bien que de plus en plus de travaux étudient les mécanismes par lesquels un environnement foetal défavorable conduit à une hypertrophie cardiaque, peu de choses sont connues. Cependant, l'environnement postnatal semble avoir une influence dans le développement de l'hypertrophie cardiaque. À la naissance, des souriceaux ont été placés dans un milieu hypoxique et on observe une hypertrophie cardiaque qui est conservée à l'âge adulte (Hohimer, 2003). Il est connu que la croissance des cardiomyocytes chez le rat s'effectue par une transition de l'hyperplasie vers l'hypertrophie entre 3-4 jours après la naissance (Poolman, 1998). Chez des rats exposés au monoxyde de carbone en période pré- et post-natale, on observe une hypertrophie cardiaque qui est accompagnée d'une augmentation du nombre de myocytes, de la vitesse de division cellulaire ainsi que d'une prolongation de l'hyperplasie des cardiomyocytes en période néonatale. De plus, l'hypertrophie persiste à l'âge adulte (Penney, 1988). Ces données suggèrent qu'un environnement foetal et/ou postnatal défavorable peut modifier la croissance des myocytes cardiaques au cours de la période néonatale et affecter leur développement à long terme.

La croissance et le développement du cœur dépendent aussi de l'apoptose. En fait, il a été démontré que l'apoptose dans le cœur est présente dans les premiers stades du développement embryonnaire, mais elle est aussi présente

pendant les 2 premières semaines de vie post-natale. Ce processus apoptotique détruit plus de cellules du ventricule droit que du ventricule gauche, ce qui fait en sorte que ce ventricule se développe plus rapidement et a 2 fois plus de masse musculaire et de cardiomyocytes dans le cœur à l'âge adulte (Kajstura, 1995). Ainsi, la régulation du nombre de cardiomyocytes dans le cœur, à l'âge adulte, semble être déterminée par une balance entre l'hyperplasie et l'apoptose. Ces évènements sont régulés en période pré- et post-natale. Ainsi, l'hypertrophie cardiaque observée chez les femelles expérimentales adultes de notre modèle pourrait être due à un déséquilibre entre la prolifération et la mort cellulaire déterminé par l'environnement foetal défavorable ainsi que par la période post-natale.

Au niveau cellulaire, l'hypertrophie cardiaque se manifeste par un remodelage morphologique des cellules. Dépendamment que l'hypertrophie soit de type concentrique ou eccentric, le volume des cardiomyocytes sera modifié différemment. En fait, le volume d'un cardiomyocyte se calcule selon l'équation suivante : $\text{Volume} = \text{Longueur} \times \text{Largeur} \times \text{Épaisseur} \times \pi/4$. Ainsi, l'augmentation du volume peut être secondaire à l'augmentation de l'un ou l'autre de ces 3 paramètres. L'augmentation du volume, par augmentation de la longueur des cardiomyocytes, est surtout observée dans la progression vers la défaillance cardiaque puisque ceci est causé par l'addition de sarcomères en série, lesquels auront pour effet de créer une augmentation du diamètre de la chambre cardiaque. D'un autre côté, l'épaississement de la paroi ventriculaire résulte aussi en une augmentation du volume cellulaire soit par augmentation de la largeur ou de

l'épaisseur de la cellule qui se traduira par une augmentation du diamètre des myocytes que l'on appelle aussi « cross-sectionnal area ». Il a été décrit que l'augmentation de l'épaisseur de la chambre démontrée par le « cross-sectionnal area » constitue le premier mécanisme pour réduire le stress systolique sur la paroi ventriculaire. Ce type de remodelage représente aussi la première phase d'adaptation à l'hypertrophie concentrique (Gerdes, 2002). Ainsi, chez les femelles RCIU à l'âge adulte, le volume des cardiomyocytes est plus important et ceci est causé par l'augmentation de l'épaisseur de la cellule, laquelle se traduit aussi par une augmentation du « cross-sectionnal area ». De plus, nous n'observons pas de collagène ni de fibrose caractéristique de l'hypertrophie plus sévère comparativement aux témoins. Ainsi, c'est pourquoi nous croyons que l'hypertrophie cardiaque retrouvée est de type compensatoire et qu'elle en serait à sa phase d'initiation.

Chez nos femelles RCIU adultes, nous avons aussi mesuré plusieurs indicateurs d'hypertrophie cardiaque qui seront discutés plus loin. Cependant, une des caractéristiques majeures de l'hypertrophie cardiaque est la présence d'ANP dans le ventricule gauche. En fait, il a été démontré qu'une augmentation d'ANP dans le ventricule gauche était caractéristique d'une hypertrophie de type pathologique contrairement à de l'hypertrophie physiologique où l'expression d'ANP n'est pas modifiée (Calderone, 2001). Chez les femelles RCIU de notre modèle, l'expression d'ARNm de l'ANP est augmentée dans le ventricule gauche cardiaque. Bien sûr, une augmentation de 34% dans l'expression d'ANP (mesuré par Northern Blot dans le premier papier) est faible comparativement aux

modèles présentant une hypertrophie cardiaque sévère. Par contre, lorsque nous avons remesuré l'expression d'ARNm par des techniques plus sensibles, nous observons une augmentation plus substantielle. Par essai de micropuce, on note une augmentation de plus de 3 fois dans l'expression de l'ANP (confirmé par RT-PCR) et lorsque l'on refait l'expérience sur plusieurs animaux différents (RT-PCR), on voit que l'expression chez certains animaux augmente de plus de 4 fois. Ceci est comparable à d'autres modèles d'hypertrophie cardiaque. Par exemple, chez des souris dont le gène du récepteur à l'ANP a été inactivé, on observe une hypertrophie cardiaque accompagnée d'une augmentation de 5 fois de l'expression de l'ARNm de l'ANP (Holtwick, 2003). Comme il est mentionné à plusieurs reprises dans cette thèse, nos animaux sont au début de l'hypertrophie, ce qui peut expliquer pourquoi l'expression d'ANP n'est pas aussi considérable que dans certains autres modèles où l'hypertrophie est bien installée comme par exemple, dans le modèle d'hypertrophie induite suite à l'infusion de noradrénaline où l'on observe une induction de 12 fois de l'ANP (Calderone, 2001).

4.3 IMPORTANCE DU SEXE DANS LA PATHOLOGIE RETROUVÉE À L'ÂGE ADULTE

Dans la présente thèse, nous avons démontré qu'un environnement foetal défavorable entraîne des modifications physiologiques et moléculaires. Ces altérations sont différentes selon le sexe de l'animal. Nous avons démontré qu'à l'âge adulte, les femelles expérimentales présentent une élévation de la pression artérielle systolique accompagnée d'une altération du SRA, d'une augmentation de la corticostérone et d'une diminution de l'aldostérone plasmatique. De plus, chez

ces dernières, nous observons un début d'hypertrophie cardiaque déterminée par une augmentation du volume des cardiomyocytes ainsi que par la réexpression du programme génique foetal. Ceci est accompagné d'une diminution de la contractilité ainsi que par une augmentation de l'activité de l'aconitase. Chez les mâles, nous avons observé une élévation de la pression artérielle qui est aussi accompagnée d'une augmentation de l'activité rénine plasmatique. Cependant, chez ces derniers, les atteintes semblent moins délétères.

Dans différents modèles de programmation foetale des maladies adultes, on a aussi démontré des différences importantes entre les mâles et les femelles. Par exemple, dans le modèle où la restriction protéique est donnée au cours de la période d'implantation, seuls les foetus femelles souffrent de RCIU. Par contre, seulement les mâles développent une pression artérielle supérieure au cours du développement (Kwong, 2000). Une restriction calorique de 30% pendant les 18 premiers jours de la gestation provoque une élévation de la pression artérielle chez les 2 sexes, mais de façon plus importante chez les mâles. Chez les mâles, on note en plus une augmentation de la vasoconstriction au thromboxane A2 ainsi qu'une augmentation de la sensibilité au potassium suggérant une atteinte de la réactivité vasculaire chez ces derniers (Ozaki, 2001). Toutefois, une étude récente portant sur le développement de l'hypertension chez les ratons nés de mère ayant reçu une diète riche en gras démontre que seules les femelles RCIU développent une pression artérielle systolique supérieure (Khan, 2003). Une augmentation plus substantielle de la pression artérielle systolique chez les femelles devenues adultes a aussi été rapportée dans un modèle de stress

prénatal (Igosheva, 2004). De plus, il a été démontré que lorsque des rates sont exposées à l'alcool au cours des 2 dernières semaines de gestation, ceci entraîne une RCIU. Lorsque devenues adultes, les femelles nées de ces mères souffrent d'hypertrophie cardiaque comparativement aux mâles (Wilcoxon, 2003). Ces résultats apparemment contradictoires sont possiblement expliqués par la méthode utilisée et la durée de l'induction de l'environnement foetal défavorable. Par exemple, les diètes et les manipulations sont induites à différents moments de la gestation. De plus, la composition en protéines, en matières grasses et en sel est variable dans les différentes diètes. Il semble donc que la période de gestation ainsi que la méthode utilisée pour induire l'environnement foetal défavorable ont un effet différent selon le sexe du foetus.

Tous ces résultats ajoutés aux nôtres nous amènent à suggérer une influence des hormones sexuelles ou de leurs récepteurs sur la fonction cardiovasculaire entre autre. On rapporte chez des animaux adultes mâles et femelles ayant subi le même degré d'hypertrophie cardiaque suite à une sténose aortique, des différences quant à l'expression des gènes foetaux (β -MHC, ANP) et de la fonction contractile. De plus, on observe que le récepteur aux oestrogènes est exprimé dans les myocytes et dans le ventricule gauche des 2 sexes (Weinberg, 1999). Ces résultats suggèrent une différence de sexe importante quant à l'adaptation hémodynamique du myocarde en réponse à une hypertrophie cardiaque. Des travaux portant sur des cardiomyocytes en culture provenant de rats néonataux ont démontré qu'un traitement au 17β -estradiol à des concentrations physiologiques provoque l'activation d'un facteur de transcription, le

Egr-1 (early growth response gene-1). Cette activation est médiée par les 2 sous-types de récepteurs des oestrogènes, soit ER α et ER β via ERK1/2. Cependant, c'est un élément de réponse au sérum, plutôt que l'élément de réponse aux oestrogènes dans la région promotrice du gène de Egr-1 qui est responsable de son activation par les oestrogènes (de Jager, 2001). Il est connu que Egr-1 est surexprimé en cas d'hypertrophie cardiaque et serait responsable de la meilleure capacité d'adaptation des femelles face à ce remodelage (Holder, 1995; Saadane, 1999). En cas d'athérosclérose, Egr-1 est surexprimé et induit l'expression de gènes favorisant la réparation des lésions vasculaires tel que TGF- β et des facteurs de croissance (McCaffrey, 2000). Ces travaux suggèrent que les oestrogènes recrutent des facteurs de réponse retrouvés dans le sérum et agissent via les récepteurs aux oestrogènes pour activer Egr-1 et stimuler la transcription des gènes dans le myocarde. Ceci pourrait contribuer à l'effet cardioprotecteur des oestrogènes. Or, chez nos femelles expérimentales, il est donc possible que la signalisation en aval du récepteur soit déficiente, que le facteur de réponse retrouvé dans le sérum nécessaire à l'activation de Egr-1 soit absent ou que ce facteur de transcription soit inactif. En plus, d'autres évidences démontrent qu'une altération du récepteur aux oestrogènes peut moduler l'effet cardioprotecteur des oestrogènes. Chez les femmes âgées, le développement de l'athérosclérose a été associé à l'hyperméthylation des récepteurs aux oestrogènes de type alpha (ER α). Ceci provoque leur inactivation dans les tissus vasculaires (Post, 1999). Dans notre modèle, il est aussi possible que la détérioration de la fonction cardiovasculaire (augmentation de la pression artérielle, hypertrophie cardiaque) chez les femelles expérimentales soient

secondaires à une régulation négative de ces récepteurs dans les tissus cardiaques et vasculaires empêchant donc les oestrogènes d'offrir la cardioprotection attendue.

D'autres travaux ont démontré l'expression du récepteur aux androgènes dans les cardiomyocytes de mâles et de femelles. Une stimulation de ce récepteur par la testostérone ou par la dihydrotestostérone entraîne l'augmentation de la synthèse protéique et de la sécrétion d'ANP par les cardiomyocytes (Marsh, 1998). Ces travaux suggèrent que les récepteurs aux androgènes ont un rôle néfaste dans l'hypertrophie cardiaque. Il a aussi été rapporté que le ratio oestrogènes/androgènes serait modifié après la ménopause et pourrait expliquer pourquoi l'effet cardioprotecteur des oestrogènes est amoindri à ce moment. En fait, une étude a démontré que suite à la ménopause, la concentration des androgènes diminuent mais, vers l'âge de 70-79 ans, augmente pour se retrouver à des concentrations d'avant la pré-ménopause (Laughlin, 2000). Ainsi, chez les femelles de notre modèle, il est aussi possible que le ratio oestrogène/androgène soit déséquilibré au profit des androgènes ou que le nombre de récepteurs aux androgènes soit plus important que celui pour les oestrogènes.

Pour ce qui est des mâles RCIU adultes de notre modèle, il est impossible à ce stade de l'étude de fournir une explication sur l'état de la structure de leur cœur et de leur fonction cardiaque et de comparer avec celles des femelles. Chez ces derniers, le poids du ventricule gauche sur le poids total n'est pas modifié suggérant à prime à bord qu'il n'y ait pas d'hypertrophie cardiaque. Cependant, il

n'est pas hors de tout doute que ces mâles ne souffrent pas d'une atteinte cardiaque moins sévère puisque nous n'avons pas investigué plus loin. En fait, il serait intéressant de faire des études de fonctionnalités chez ces mâles RCIU pour vérifier à proprement dit l'impact du sexe et des androgènes sur la fonction cardiaque.

Nous avons démontré que les cardiomyocytes de femelles expérimentales, sont plus volumineux et que l'expression de certains gènes présents lors d'hypertrophie est augmentée comparativement aux témoins. Par contre, on ne trouve pas de collagène ni de fibrose caractéristique de la phase de décompensation chez ces animaux. Ainsi, nous croyons que l'hypertrophie cardiaque décrite chez les femelles expérimentales à 12 semaines est de type compensatoire ou même en phase d'initiation. En fait, chez le rat, les signes de la transition d'une hypertrophie stable vers la défaillance cardiaque se manifestent autour de la 20^e semaine de vie (Douglas, 1998; Bing, 1995). Chez des rats mâles Sprague-Dawley auquel on a fait une constriction de l'aorte suprarénale, on observe une hypertrophie cardiaque secondaire à la surcharge pressive. Vingt semaines après la chirurgie, un groupe de ces rats souffre de défaillance cardiaque alors que dans l'autre groupe, les rats sont toujours au stade d'hypertrophie compensée (Norton, 2002). Dans le groupe d'hypertrophie compensée, on observe une hypertrophie de type concentrique ainsi qu'une augmentation de la pression artérielle systolique et diastolique comparativement aux témoins. Chez les rats avec défaillance cardiaque, on note une dilatation de la chambre ventriculaire accompagnée d'une hypertrophie de type eccentric, une

réduction de la pression artérielle systolique et diastolique comparativement aux animaux avec hypertrophie compensée, une importante dysfonction du ventricule gauche ainsi qu'une augmentation de collagène (Norton, 2002). Cependant, la fonction contractile du myocarde est similaire entre les 2 groupes d'animaux souffrant d'hypertrophie, soit légèrement réduite comparativement aux témoins. Ces travaux démontrent que la transition d'un état compensé vers un état décompensé est secondaire à un remodelage délétère du ventricule gauche plutôt qu'à la diminution de la fonction contractile. À la lumière de ces connaissances, il serait intéressant de poursuivre notre étude en laissant les animaux femelles vieillir et observer si l'hypertrophie compensatoire se transformerait en hypertrophie décompensée.

4.4 STRESS OXYDATIF, MODIFICATION IONIQUE ET EXPRESSION GÉNÉRIQUE. INFLUENCE SUR LA FONCTION CARDIOVASCULAIRE.

Nos travaux démontrent une réduction de l'activité de l'aconitase dans les mitochondries du ventricule gauche cardiaque des femelles expérimentales. Il est connu que l'activité de cet enzyme est inhibée par un stress oxydatif (Hausladen, 1994). Ainsi, nous proposons une augmentation de celui-ci chez les femelles RCIU. Des travaux portant sur des rates SHR ovariectomisées ont démontré une élévation de la vasoconstriction artérielle par l'Ang II, une augmentation du récepteur AT₁ dans les tissus vasculaires et une surproduction de radicaux libres. De plus, un traitement à l'irbésartan prévient la dysfonction endothéliale ainsi que la production de radicaux libres chez ces dernières (Wassmann, 2001). Ces données laissent supposer que dans notre modèle, l'augmentation du stress oxydatif

cardiaque chez les femelles expérimentales pourrait être secondaire à l'augmentation de l'activité rénine plasmatique (indice de l'activation du SRA).

Tel que décrit plus haut, il est aussi possible que la fonction contractile ne soit pas différente entre l'hypertrophie compensée et décompensée suggérant qu'une diminution de la fonction contractile n'est pas retrouvée seulement qu'en cas de défaillance cardiaque. Ainsi, nous croyons que dans notre modèle, la diminution de la contractilité des cardiomyocytes observée chez les femelles expérimentales est la conséquence de l'altération d'autres systèmes affectés par un environnement foetal défavorable. Par exemple, suite à l'ischémie-reperfusion chez le rat, on observe une diminution de l'expression des isoformes alpha-2, alpha-3 et bêta-1 de la Na^+/K^+ -ATPase dans le cœur. Cependant, un prétraitement avec un mélange d'antioxydants prévient ces effets. Lorsque les cœurs sont perfusés avec des oxydants ou des molécules générant la formation d'anions superoxydes, l'expression des isoformes décrites ci-haut est réduite (Ostadal, 2003). Ces travaux suggèrent que les modifications dans l'expression des différentes sous-unités de la Na^+/K^+ -ATPase dans le cœur est secondaire à l'influence d'un stress oxydatif. Nos résultats, chez les femelles expérimentales, démontrent une diminution de l'activité de l'aconitase, consécutive à l'effet d'un stress oxydatif, qui pourrait être impliquée dans la réduction de l'expression de l'isoforme $\beta 1$ de la Na^+/K^+ -ATPase dans le ventricule gauche. En fait, la pompe Na^+/K^+ -ATPase régule le potentiel électrique de la cellule en modifiant le gradient pour le sodium et le potassium et constitue ainsi la force pour le transport du calcium via l'antiport $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (McDonough, 2002). Cependant, lorsque la pompe à

sodium est inhibée, le transport des ions $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ est modifié au profit d'une accumulation de calcium dans la cellule. Il est démontré que l'accumulation de calcium dans la cellule affecte les processus d'excitation-contraction en cas d'hypertrophie cardiaque. Par exemple, en cas de défaillance cardiaque chez l'humain ou d'hypertrophie cardiaque sévère chez le rat, on note un défaut de la relaxation cellulaire suite à la diminution de l'expression de la pompe faisant entrer le calcium dans le réticulum sarcoplasmique soit la pompe SERCA2 (Mercadier, 1990; de la Bastie, 1990). Ainsi, le calcium s'accumule dans le cytosol puisqu'il n'est pas recapté, le transit calcique est prolongé, il se crée des anomalies de repolarisation, la durée du potentiel d'action est augmentée et ces altérations conduisent ultimement à un déficit contractile des cardiomyocytes (Beuckelmann, 1992; Maltsev, 1998). Ces données ont été corroborées chez des rats Sprague-Dawley où l'on a fait une néphrectomie partielle (5/6) (Kennedy, 2003). Comparativement aux animaux témoins, on observe une hypertension et une hypertrophie cardiaque accompagnée d'une augmentation de l'expression de l'ANP. On rapporte aussi une diminution de la Na^+/K^+ -ATPase (protéine et activité), de la contractilité des cardiomyocytes (de 2 fois), de la pompe SERCA2 et de l'antiport $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$. Ces événements sont corrélés avec l'augmentation du calcium cytosolique ainsi qu'avec la prolongation du temps que nécessitent les cardiomyocytes pour que leur longueur et les concentrations de calcium reviennent à la normale suite à une stimulation électrique chez ces animaux. Ceci suggère que l'hypertrophie cardiaque est souvent accompagnée de problèmes de contractilité liés à la mauvaise manipulation du calcium. De plus, nous avons démontré que la quantité d'ARNm de l'isoforme atriale de la chaîne légère de la

myosine est modifiée chez les femelles expérimentales de notre modèle. Il est connu que cette isoforme module la contractilité cardiaque en modifiant la sensibilité pour le calcium (Schaub, 1998). Dans notre modèle, il serait donc intéressant de vérifier le transit calcique et de mesurer l'activité des différentes pompes et transporteurs régulant le calcium dans les cardiomyocytes des femelles expérimentales. Ces modifications ioniques pourraient expliquer la diminution de la contractilité chez ces dernières.

Il a aussi été rapporté que l'inhibition de la pompe Na^+/K^+ -ATPase dans des cellules en culture par des doses non toxiques de ouabaïne (inhibiteur de la pompe) entraîne la réexpression de certains gènes foetaux tel que l'ANP et la MRLC-2 (Huang, 1997). Il a par la suite été démontré que l'inhibition de la Na^+/K^+ -ATPase provoque la transcription génique au niveau du noyau en activant 2 différentes voies. La première est dépendante d'une accumulation intracellulaire de calcium qui activerait la voie des MAPK ou agirait directement sur le noyau. La deuxième voie est indépendante du calcium. En fait, l'inhibition de la Na^+/K^+ -ATPase agirait aussi via la voie de Ras pour conduire à la production d'espèces oxygénées réactives par les mitochondries qui activeraient la transcription génique au noyau (Kometiani, 1998; Liu, 2000). L'ensemble de ces résultats suggèrent qu'en plus de son effet sur la contractilité, l'inhibition de la Na^+/K^+ -ATPase médierait la croissance cellulaire caractéristique de l'hypertrophie cardiaque. Puisque la sous-unité $\beta 1$ de la Na^+/K^+ -ATPase est réduite chez les femelles expérimentales de notre modèle, nous supposons que son activité l'est aussi. Nous avons aussi observé un stress oxydatif. Or, il serait très intéressant d'étudier

les mécanismes de régulation du calcium, de mesurer les radicaux libres et de vérifier l'interaction entre tous ces facteurs pour comprendre s'ils pourraient être responsables de la réexpression des gènes tels que l'ANP et l'aMLC-1 observés chez les femelles.

4.5 CONSÉQUENCES SUR L'AXE HYPOTHALAMO-HYPOPHYSAIRE-SURRÉNALIEN

Nous donnons la diète faible en sodium à des rates au cours de la dernière semaine de gestation (soit des jours 14 à 21) pour ne pas interférer avec l'organogénèse (Beaudoin, 1980). Cependant, le cortex surrénalien se développe et devient fonctionnel entre les jours de gestation 16 à 20 (Josimovich, 1954). À partir du 20^e jour de gestation (G20), les cellules souches présentes dans la surrénale acquièrent la capacité d'effectuer un mouvement centripète, de sorte qu'elles peuvent migrer vers le centre de la glande et se différencier en cellules glomérulée, fasciculée ou réticulée (Mitani, 1999). Ceci constitue le mécanisme de la zonation et de la croissance surrénalienne fœtale chez le rat. Des études d'immunohistochimie ont démontré que les cellules P45011 β positives (cellules de la zone fasciculée produisant la corticostérone) émettent un signal dès G17 mais, à ce moment, elles sont dispersées dans le cortex. De plus, à ce stade, les cellules P450aldo positives (cellules de la zone glomérulée produisant l'aldostérone) sont absentes. Ce n'est qu'à G20 que les cellules P450aldo positives sont présentes dans la zone glomérulée et que les cellules P45011 β positives se retrouvent dans la zone fasciculée de la surrénale. La vascularisation nécessaire au transport des hormones dans le sang n'est détectable qu'au jour G19 (Mitani, 1999). Ceci

suggère que la machinerie nécessaire à la synthèse de corticostéroïdes n'est effective qu'en fin de gestation. Il est aussi démontré qu'en réponse à une hypoxie foetale, la surrénale est un des organes protégés contre l'hypoxie par la redistribution du flux sanguin (Cohn, 1974). Chez des foetus humains avec restriction de croissance intrautérine, on retrouve une importante augmentation des concentrations de corticolibérine (CRH) dans le sang du cordon. Chez ces derniers, on rapporte aussi une élévation des concentrations d'hormone corticotrophine (ACTH) dans leur plasma comparativement aux foetus dont le poids est approprié pour l'âge gestationnel (Goland, 1993). De plus, chez des foetus moutons ayant subi une hypoxie en fin de gestation, on observe une augmentation transitoire de l'ACTH plasmatique accompagnée d'une élévation des concentrations de cortisol, d'une augmentation de l'expression d'ARNm du récepteur à l'ACTH dans la surrénale et des enzymes responsables de la stéroïdogénèse (Braems, 2003). Ces données suggèrent que suite à un environnement foetal défavorable, l'axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien des foetus est activé. En plus de son action pour contrôler la sécrétion de corticostérone/cortisol de la zone fasciculée de la glande surrénale (Ehrhart-Bornstein, 1998), l'ACTH a aussi une activité mitogénique. Sur des cellules adrénocorticales en culture provenant de foetus de rat, on a documenté une importante prolifération dans les 24 à 72 heures suivant un traitement à l'ACTH (Arola, 1993). Ainsi, dans notre modèle, nous avons démontré une augmentation de la corticostérone plasmatique des foetus nés de mères ayant reçu la diète faible en sodium ainsi que chez les femelles expérimentales à l'âge adulte comparativement aux témoins. Puisque l'insulte survient au cours de la période de

développement structurel et fonctionnel de la glande surrénalienne, l'axe hypothalamo-hypophysaire du fœtus pourrait être activé et conduire à un déséquilibre hormonal de la surrénale suite à la stimulation excessive par l'ACTH.

Alors que la sécrétion de corticostérone est principalement contrôlée par l'ACTH, ce facteur n'est pas le seul responsable de la sécrétion d'aldostérone (Ehrhart-Bornstein, 1998). En fait, la sécrétion d'aldostérone peut être modifiée par plusieurs autres facteurs tels que l'Angiotensin II et le potassium. Il a été démontré qu'une stimulation chronique de l'axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien et du système nerveux sympathique, par un stress chronique imposé à des rats, résulte en une augmentation de l'activité rénine plasmatique par surproduction de rénine par le rein et en une réduction des concentrations d'aldostérone. Ce dernier événement serait secondaire à l'inhibition des voies terminales de la stéroïdogénèse (diminution de la P450_{aldo}). De plus, on note une réduction de la liaison de l'Angiotensin II dans la zone glomérulée de la surrénale chez ces rats stressés, ce qui peut expliquer que l'augmentation de l'activité du SRA ne stimule pas la production d'aldostérone (Aguilera, 1995). Ainsi, la diminution de l'aldostérone plasmatique chez les femelles expérimentales pourrait être secondaire au stress qui a été imposé en période fœtale. De plus, on retrouve chez ces dernières à 12 semaines une augmentation de la corticostérone plasmatique, ce qui est un bon indicateur du stress.

4.6 IMPORTANCE DE LA PÉRIODE POST-NATALE

Plusieurs études ont démontré que le petit poids de naissance ne serait pas le seul facteur responsable des pathologies observées à l'âge adulte. On suggère que, chez l'humain, la croissance accélérée suivant une RCIU serait aussi importante pour le développement de l'hypertension à l'âge adulte (Law, 2002). Il a même été proposé qu'une réduction de la vitesse de croissance dans les premières années de vie serait bénéfique pour la santé cardiovasculaire à long terme (Singhal, 2004). Dans notre modèle, nous n'observons pas de croissance accélérée après la naissance. Pourtant, la pression artérielle systolique est plus élevée chez les animaux expérimentaux. De plus, chez les femelles de 12 semaines, l'hypertrophie cardiaque est en voie de développement. Ces résultats marquent l'importance de la période fœtale dans l'atteinte cardiovasculaire à long terme. Ceci n'exclut pas que la période post-natale ait un rôle à jouer.

En effet, nous croyons que les soins apportés au cours de la période post-natale ont aussi une influence. Nous avons interverti les mères sous diète faible en sodium et témoins. Ainsi, des nouveau-nés témoins étaient allaités par une mère qui avait reçu pour la dernière semaine de gestation la diète faible en sodium alors que les nourrices des nouveau-nés expérimentaux étaient des mères témoins. Chez ce dernier groupe, une élévation de la pression artérielle est quand même observée mais de moindre importance que lorsqu'ils sont nourris par leur propre mère. De plus, ces animaux montrent une amélioration de leur fonction rénale à l'âge adulte. Chez les animaux témoins nourris par la mère ayant reçu la diète faible en sodium, aucune augmentation de la pression artérielle n'est observée.

Cependant, leur fonction rénale se détériore. Ces résultats suggèrent que l'environnement postnatal, et plus particulièrement la lactation par des mères ayant reçu la diète faible en sodium, affecte le développement du rein, mais entraîne peu de conséquences sur le développement d'une pression artérielle augmentée à 12 semaines de vie. Nos résultats sont en accord avec des études effectuées chez des rats SHR nourris par des mères WKY dès la naissance. Une diminution de 20-25% de la pression artérielle accompagnée d'une réduction de la sensibilité du tubule rénal à l'effet antinatriurétique de l'All ont été observées comparativement aux rats SHR témoins (Gouldsborough, 2001). Ceci suggère que même chez les rats génétiquement hypertendus, l'environnement postnatal module le développement du rein. En fait, chez le rat, il est connu que la néphrogénèse n'est complétée que 7-10 jours après la naissance alors que les tubules rénaux sont complètement fonctionnels seulement après 6 semaines de vie (Guron, 2000). De plus, au cours de la redistribution du flux sanguin caractéristique de la RCIU, le rein est un des premiers organes privés d'oxygène (Kamitomo, 1993). Plusieurs problèmes structurels et fonctionnels ont été démontrés chez les fœtus et nouveau-nés humains (Konje, 1996; Robinson, 1990, Pachi, 1993). Il est donc probable que la combinaison d'un environnement prénatal et postnatal inadéquat entraîne des problèmes rénaux dans la vie adulte tels qu'observés dans notre modèle.

4.7 CONSÉQUENCES RÉNALES

Puisque, dans notre modèle, la néphrogénèse n'est pas modifiée entre les animaux adultes expérimentaux et témoins, nous croyons que la pathologie rénale

observée à l'âge adulte serait plutôt secondaire à une atteinte fonctionnelle de certaines structures du rein telles que les artérioles glomérulaires et/ou les tubules rénaux. Ces derniers sont fortement influencés par la régulation hormonale de l'angiotensine II. Par exemple, chez les rats adultes nés de mères ayant eu une restriction protéique, une élévation de la pression artérielle est accompagnée d'une rétention sodique plus importante. Alors que l'activité rénine plasmatique est réduite au cours des 2 premiers mois de vie, on observe une hyperréninémie à l'âge adulte. L'administration d'enalapril (inhibiteur de l'ECA) arrive à normaliser la pression artérielle (Manning, 2001). Ces phénomènes ont été associés à une augmentation de l'expression du symporteur $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ dans l'anse de Henlé et de l'antiport Na^+/Cl^- dans le tubule distal (Manning, 2002). De plus, il est rapporté que l'administration d'irbésartan (bloqueur AT_1) à des rats Wistar devenus hypertendus par un traitement au L-NAME (inhibiteur des synthèses d'oxyde nitrique) réduit la pression artérielle, augmente la filtration glomérulaire et réduit le nombre de lésions préglomérulaires présentes au niveau des artérioles afférentes comparativement aux animaux seulement traités au L-NAME (Jover, 2001). Ceci suggère que les récepteurs AT_1 de l'angiotensine II seraient impliqués dans l'élévation de la pression artérielle en provoquant des lésions préglomérulaires conduisant à une réduction de la filtration. Ainsi, l'augmentation de l'activité rénine plasmatique de 50 et 60% chez les mâles et chez les femelles expérimentaux de notre modèle peut agir de façon à élever les résistances des artérioles glomérulaires afférentes ou en augmentant la réabsorption sodique par les transporteurs du tubule rénal. Ceci contribuerait à la diminution de la filtration glomérulaire observée ainsi qu'à l'élévation de la pression artérielle.

5. CONCLUSION

CHAPITRE 5- CONCLUSION

Au cours des dernières années, nous avons développé un modèle animal de programmation fœtale des maladies adultes. Ce modèle permet d'étudier les mécanismes qui se mettent en place suite à un environnement fœtal défavorable et de leurs effets sur le développement de maladies à différents âges. Il serait aussi possible de voir l'effet d'une éventuelle intervention sur ces mécanismes, sur le développement, le pronostic ou même sur la prévention de l'hypertension artérielle et de l'hypertrophie cardiaque. Ces mécanismes identifiés chez le rat devront cependant être confirmés chez l'humain.

La médecine actuelle dispose de connaissances et de techniques de plus en plus avancées qui permettent de sauver, à des stades très précoces de la gestation, des fœtus qui auparavant étaient destinés à mourir. Cependant, il est rapporté que ces derniers sont très petits, peu matures et doivent être hospitalisés régulièrement pour des problèmes secondaires à leur petit poids de naissance (Gregoire, 1998). Or, les conséquences à long terme de telles interventions sont peu connues. Si les mécanismes associant un environnement fœtal défavorable aux pathologies adultes sont connus, on pourra accorder un meilleur suivi à ces bébés. Ainsi, dans la continuité de ce projet, j'aimerais étudier l'hypertrophie cardiaque chez les femelles expérimentales, soit en vérifiant l'effet des oestrogènes et de leurs récepteurs ou en étudiant les processus de régulation du calcium dans les cellules myocardiques. De plus, il serait intéressant de laisser les femelles vieillir jusqu'à 20 semaines et de vérifier si l'augmentation de la pression

artérielle s'aggrave en hypertension et si le développement de l'hypertrophie cardiaque se poursuit jusqu'à la défaillance cardiaque.

6. REMERCIEMENTS

CHAPITRE 6- REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier ma directrice, Dr. Michèle Brochu. Je te remercie Michèle, avec tout mon cœur, pour m'avoir si bien dirigée et conseillée au cours des 5 dernières années. Je te remercie pour ta patience, ton dévouement et pour les nombreuses heures que tu as pu passé à travailler avec moi (et ce, toujours sans les compter). Avec toi, la science est une énorme bulle rose et tout est à découvrir et à apprécier. Je te remercie de m'avoir transmis cet intérêt contagieux. En plus de tout ce que tu m'as apporté sur le plan technique et théorique, tu m'auras aussi appris qu'à chaque problème, il y a une solution et qu'il faut toujours *nuancé*.

Mes remerciements vont aussi à Dr. Jean St-Louis. Merci Jean pour tes nombreuses connaissances. Que tu parles de sciences, de théâtre ou d'histoire, c'est toujours aussi passionnant et intéressant.

Ma reconnaissance va aussi à Serge Picard ainsi qu'à Benoît Sicotte. Je vous remercie tous les 2 pour votre aide technique. Merci pour le temps que vous m'avez accordé.

Je remercie les Drs. Johanne Tremblay, Angelino Calderone et Jean-Paul Praud pour avoir accepté de faire partie de mon comité de thèse. Votre travail est très important et apprécié à sa juste valeur.

Je tiens également à remercier mes parents et ma sœur. Merci papa et maman pour TOUT. Merci de m'avoir encouragée et supportée depuis le début. Vous avez toujours été là. Merci Caroline pour ta folie et ta joie de vivre.

Un merci tout particulier à mon amoureux. Ghislain, je te remercie d'être toujours présent et de m'épauler comme tu le fais. Merci aussi pour ta patience d'ange.

À mes collègues et amis, May, Sophie, Annie, Karine et Pierre-André, je vous remercie particulièrement pour votre aide au quotidien, pour nos discussions scientifiques et aussi pour celles qui ne le sont pas. Vous êtes des personnes précieuses.

Je tiens à remercier la direction ainsi que les secrétaires du centre de recherche de l'hôpital Ste-Justine et du département de Sciences Biomédicales de l'Université de Montréal pour leur dévouement et leur aide.

Finalement, j'aimerais remercier la Fondation de l'hôpital Ste-Justine, la Société Québécoise d'Hypertension Artérielle, le département de Sciences Biomédicales ainsi que le Fonds de Recherche en Santé du Québec pour leur contribution financière tout au cours de mes études.

7. RÉFÉRENCES

CHAPITRE 7- RÉFÉRENCES

Adelstein RS. Eisenberg E. Regulation and kinetics of the actin-myosin-ATP interaction. *Annual Review of Biochemistry*. 49:921-56, 1980

Aguilera G. Kiss A. Sunar-Akbasak B. Hyperreninemic hypoaldosteronism after chronic stress in the rat. *Journal of Clinical Investigation*. 96(3):1512-9, 1995

Anversa P. Nadal-Ginard B. Myocyte renewal and ventricular remodelling. *Nature*. 415(6868):240-3, 2002

Arola J. Heikkila P. Voutilainen R. Kahri AI. Role of adenylate cyclase-cyclic AMP-dependent signal transduction in the ACTH-induced biphasic growth effect of rat adrenocortical cells in primary culture. *Journal of Endocrinology*. 139(3):451-61, 1993

Bakris GL. Mensah GA. Pathogenesis and clinical physiology of hypertension. *Cardiology Clinics*. 20(2):195-206, 2002

Barker DJ. The long-term outcome of retarded fetal growth. *Clinical Obstetrics & Gynecology*. 40(4):853-63, 1997

Barker DJ. In utero programming of chronic disease. *Clinical Science*. 95(2):115-28, 1998

Barker DJ. Winter PD. Osmond C. Margetts B. Simmonds SJ. Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. *Lancet*. 2(8663):577-80, 1989

Barrett-Connor E. Bush TL. Estrogen and coronary heart disease in women. *JAMA*. 265(14):1861-7, 1991

Basford JR. The Law of Laplace and its relevance to contemporary medicine and rehabilitation. *Archives of Physical Medicine & Rehabilitation*. 83(8):1165-70, 2002

Beaudoin AR. Embryology and teratology. In: Baker HJ, Lindsey JR, Weisbroth, editors. *The laboratory rat. Volume 2: research applications* . New York: Academic Press; 1980. p. 75-101

Benderdour M. Charron G. DeBlois D. Comte B. Des Rosiers C. Cardiac mitochondrial NADP⁺-isocitrate dehydrogenase is inactivated through 4-hydroxynonenal adduct formation: an event that precedes hypertrophy development. *Journal of Biological Chemistry*. 278(46):45154-9, 2003

Bernstein I. Gabbe SG. Intrauterine growth restriction. In: Gabbe SG, Niebyl JR, Simpson JL, Annas GJ, et al., eds. *Obstetrics: normal and problem pregnancies*. 3d ed. New York: Churchill Livingstone, 1996:863-86

Beuckelmann DJ. Nabauer M. Erdmann E. Intracellular calcium handling in isolated ventricular myocytes from patients with terminal heart failure. *Circulation*. 85(3):1046-55, 1992

Bing OH. Brooks WW. Robinson KG. Slawsky MT. Hayes JA. Litwin SE. Sen S. Conrad CH. The spontaneously hypertensive rat as a model of the transition from compensated left ventricular hypertrophy to failure. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 27(1):383-96, 1995

Bond SM. Cervero F. McQueen DS. Influence of neonatally administered capsaicin on baroreceptor and chemoreceptor reflexes in the adult rat. *British Journal of Pharmacology*. 77(3):517-24, 1982

Bottari SP. de Gasparo M. Steckelings UM. Levens NR. Angiotensin II receptor subtypes: characterization, signalling mechanisms, and possible physiological implications. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 14(2):123-71, 1993

Boyle DW. Lecklitner S. Liechty EA. Effect of prolonged uterine blood flow reduction on fetal growth in sheep. *American Journal of Physiology*. 270(1 Pt 2):R246-53, 1996

Braems G. Fetal hypoxemia on a molecular level: adaptive changes in the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis and the lungs. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*. 110 Suppl 1:S63-9, 2003

Brawley L. Itoh S. Torrens C. Barker A. Bertram C. Poston L. Hanson M. Dietary protein restriction in pregnancy induces hypertension and vascular defects in rat male offspring. *Pediatric Research*. 54(1):83-90, 2003

Brenner BM. Garcia DL. Anderson S. Glomeruli and blood pressure. Less of one, more the other? *American Journal of Hypertension*. 1(4 Pt 1):335-47, 1988

Brochu M. Gauvin JP. St-Louis J. Increase of aldosterone secretion in adrenal cortex suspensions derived from pregnant rats. *Proceedings of the Society for Experimental Biology & Medicine*. 212(2):147-52, 1996

Brochu M. Lehoux JG. Picard S. Effects of gestation on enzymes controlling aldosterone synthesis in the rat adrenal. *Endocrinology*. 138(6):2354-8, 1997

Brosnan MJ. Hamilton CA. Graham D. Lygate CA. Jardine E. Dominiczak AF. Irbesartan lowers superoxide levels and increases nitric oxide bioavailability in blood vessels from spontaneously hypertensive stroke-prone rats. *Journal of Hypertension*. 20(2):281-6, 2002

Brown NJ. Vaughan DE. Angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Circulation*. 97(14):1411-20, 1998

Burt VL. Whelton P. Roccella EJ. Brown C. Cutler JA. Higgins M. Horan MJ. Labarthe D. Prevalence of hypertension in the US adult population. Results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1991. *Hypertension*. 25(3):305-13, 1995

Byrne JA. Grieve DJ. Cave AC. Shah AM. Oxidative stress and heart failure. *Archives des Maladies du Coeur et des Vaisseaux*. 96(3):214-21, 2003

Calderone A. Takahashi N. Izzo NJ Jr. Thaik CM. Colucci WS. Pressure- and volume-induced left ventricular hypertrophies are associated with distinct myocyte phenotypes and differential induction of peptide growth factor mRNAs. *Circulation*. 92(9):2385-90, 1995

Calderone A. Thaik CM. Takahashi N. Chang DL. Colucci WS. Nitric oxide, atrial natriuretic peptide, and cyclic GMP inhibit the growth-promoting effects of norepinephrine in cardiac myocytes and fibroblasts. *Journal of Clinical Investigation*. 101(4):812-8, 1998

Calderone A. Murphy RJ. Lavoie J. Colombo F. Beliveau L. TGF-beta(1) and prepro-ANP mRNAs are differentially regulated in exercise-induced cardiac hypertrophy. *Journal of Applied Physiology*. 91(2):771-6, 2001

Calhoun DA. Bakir SE. Oparil S. Etiology and pathogenesis of essential hypertension. In: Crawford MH, DiMarco Jp, eds. *Cardiology*. London: Mosby International; 2000. pp.3.1-3.10.

Campbell SE. Rakusan K. Gerdes AM. Change in cardiac myocyte size distribution in aortic-constricted neonatal rats. *Basic Research in Cardiology*. 84(3):247-58, 1989

Celsi G. Kistner A. Aizman R. Eklof AC. Ceccatelli S. de Santiago A. Jacobson SH. Prenatal dexamethasone causes oligonephronia, sodium retention, and higher blood pressure in the offspring. *Pediatric Research*. 44(3):317-22, 1998

Chien KR. Knowlton KU. Zhu H. Chien S. Regulation of cardiac gene expression during myocardial growth and hypertrophy: molecular studies on adaptative physiologic response. *FASEB Journal*. 5: 3037-46, 1991

Chiolero A. Maillard M. Nussberger J. Brunner HR. Burnier M. Proximal sodium reabsorption: An independent determinant of blood pressure response to salt. *Hypertension*. 36(4):631-7, 2000

Christe ME. Rodgers RL. Altered glucose and fatty acid oxidation in hearts of the spontaneously hypertensive rat. *Journal of Molecular & Cellular Cardiology*. 26(10):1371-5, 1994

Cohn HE. Sacks EJ. Heymann MA. Rudolph AM. Cardiovascular responses to hypoxemia and acidemia in fetal lambs. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. 120(6):817-24, 1974

Crystal SR. Bernstein IL. Infant salt preference and mother's morning sickness. *Appetite*. 30(3):297-307, 1998

Cuzzocrea S. Mazzon E. Dugo L. Di Paola R. Caputi AP. Salvemini D. Superoxide: a key player in hypertension. *FASEB Journal*. 18(1):94-101, 2004

Date MO. Morita T. Yamashita N. Nishida K. Yamaguchi O. Higuchi Y. Hirotsu S. Matsumura Y. Hori M. Tada M. Otsu K. The antioxidant N-2-mercaptopyrionyl glycine attenuates left ventricular hypertrophy in in vivo murine pressure-overload model. *Journal of the American College of Cardiology*. 39(5):907-12, 2002

de Gasparo M. Les récepteurs AT₁ et AT₂ de l'angiotensine II: l'essentiel. *Drugs*. 62 Spec No 1:1-10, 2002

de Jager T. Pelzer T. Muller-Botz S. Imam A. Muck J. Neyses L. Mechanisms of estrogen receptor action in the myocardium. Rapid gene activation via the ERK1/2 pathway and serum response elements. *Journal of Biological Chemistry*. 276(30):27873-80, 2001

de la Bastie D. Levitsky D. Rappaport L. Mercadier JJ. Marotte F. Wisnewsky C. Brovkovich V. Schwartz K. Lompre AM. Function of the sarcoplasmic reticulum and expression of its Ca²⁺-ATPase gene in pressure overload-induced cardiac hypertrophy in the rat. *Circulation Research*. 66(2):554-64, 1990

Diffie GM. Seversen EA. Stein TD. Johnson JA. Microarray expression analysis of effects of exercise training reveals an increase in atrial myosin light chain 1 in rat ventricle. *American Journal of Physiology. Heart* 284: H830-7, 2003a

Diffie GM. Nagle DF. Regional differences in effects of exercise training on contractile and biochemical properties of rat cardiac myocytes. *Journal of Applied Physiology*. 95(1):35-42, 2003b

Doctor BA. O'Riordan MA. Kirchner HL. Shah D. Hack M. Perinatal correlates and neonatal outcomes of small for gestational age infants born at term gestation. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. 185(3):652-9, 2001

Dodic M. May CN. Wintour EM. Coghlan JP. An early prenatal exposure to excess glucocorticoid leads to hypertensive offspring in sheep. *Clinical Science*. 94(2):149-55, 1998

Dodic M. Samuel C. Moritz K. Wintour EM. Morgan J. Grigg L. Wong J. Impaired cardiac functional reserve and left ventricular hypertrophy in adult sheep after prenatal dexamethasone exposure. *Circulation Research*. 89(7):623-9, 2001

Douglas PS. Katz SE. Weinberg EO. Chen MH. Bishop SP. Lorell BH. Hypertrophic remodeling: gender differences in the early response to left ventricular pressure overload. *Journal of the American College of Cardiology*. 32(4):1118-25, 1998

d'Uscio LV. Moreau P. Shaw S. Takase H. Barton M. Luscher TF. Effects of chronic ETA-receptor blockade in angiotensin II-induced hypertension. *Hypertension*. 29(1 Pt 2):435-41, 1997

Ehrhart-Bornstein M. Hinson JP. Bornstein SR. Scherbaum WA. Vinson GP. Intraadrenal interactions in the regulation of adrenocortical steroidogenesis. *Endocrine Review*. 19(2):101-43, 1998

Ellison KE. Ingelfinger JR. Pivor M. Dzau VJ. Androgen regulation of rat renal angiotensinogen messenger RNA expression. *Journal of Clinical Investigation*. 83(6):1941-5, 1989

Eriksson JG. Forsen T. Tuomilehto J. Winter PD. Osmond C. Barker DJ. Catch-up growth in childhood and death from coronary heart disease: longitudinal study. *British Medical Journal*. 318(7181):427-31, 1999

Esler M. Lambert G. Jennings G. Increased regional sympathetic nervous activity in human hypertension: causes and consequences. *Journal of Hypertension - Supplement*. 8(7):S53-7, 1990

Faber JJ. Thornburg KL. Fetal homeostasis in relation to placental water exchange. *Annales de Recherches Vétériennes*. 8(4):353-61, 1977

Fassi A. Sangalli F. Maffi R. Colombi F. Mohamed El. Brenner BM. Remuzzi G. Remuzzi A. Progressive glomerular injury in the MWF rat is predicted by inborn nephron deficit. *Journal of the American Society of Nephrology*. 9(8):1399-406, 1998

Feinleib M. Garrison RJ. Fabsitz R. Christian JC. Hrubec Z. Borhani NO. Kannel WB. Rosenman R. Schwartz JT. Wagner JO. The NHLBI twin study of cardiovascular disease risk factors: methodology and summary of results. *American Journal of Epidemiology*. 106(4):284-5, 1977

Feraille E. Mordasini D. Gonin S. Deschenes G. Vinciguerra M. Doucet A. Vandewalle A. Summa V. Verrey F. Martin PY. Mechanism of control of Na,K-ATPase in principal cells of the mammalian collecting duct. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 986:570-8, 2003

Folkow B. Physiological aspects of primary hypertension. *Physiological Reviews*. 62(2):347-504, 1982

Forrester TE. Wilks RJ. Bennett FI. Simeon D. Osmond C. Allen M. Chung AP. Scott P. Fetal growth and cardiovascular risk factors in Jamaican schoolchildren. *British Medical Journal*. 312(7024):156-60, 1996

Forsen T. Eriksson JG. Tuomilehto J. Osmond C. Barker DJ. Growth in utero and during childhood among women who develop coronary heart disease: longitudinal study. *British Medical Journal*. 319(7222):1403-7, 1999

Franco Mdo C. Arruda RM. Dantas AP. Kawamoto EM. Fortes ZB. Scavone C. Carvalho MH. Tostes RC. Nigro D. Intrauterine undernutrition: expression and activity of the endothelial nitric oxide synthase in male and female adult offspring. *Cardiovascular Research*. 56(1):145-53, 2002a

Franco Mdo C. Arruda RM. Fortes ZB. de Oliveira SF. Carvalho MH. Tostes RC. Nigro D. Severe nutritional restriction in pregnant rats aggravates hypertension, altered vascular reactivity, and renal development in spontaneously hypertensive rats offspring. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 39(3):369-77, 2002b

Franco Mdo C. Dantas AP. Akamine EH. Kawamoto EM. Fortes ZB. Scavone C. Tostes RC. Carvalho MH. Nigro D. Enhanced oxidative stress as a potential mechanism underlying the programming of hypertension in utero. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 40(4):501-9, 2002c

Fukui T. Ishizaka N. Rajagopalan S. Laursen JB. Capers Q 4th. Taylor WR. Harrison DG. de Leon H. Wilcox JN. Griendling KK. p22phox mRNA expression and NADPH oxidase activity are increased in aortas from hypertensive rats. *Circulation Research*. 80(1):45-51, 1997

Furchgott RF. Vanhoutte PM. Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *FASEB Journal*. 3(9):2007-18, 1989

Galaverna O. Nicolaidis S. Yao SZ. Sakai RR. Epstein AN. Endocrine consequences of prenatal sodium depletion prepare rats for high need-free NaCl intake in adulthood. *American Journal of Physiology*. 269(3 Pt 2):R578-83, 1995

Gallaher BW. Breier BH. Keven CL. Harding JE. Gluckman PD. Fetal programming of insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-3: evidence for an altered response to undernutrition in late gestation following exposure to periconceptual undernutrition in the sheep. *Journal of Endocrinology*. 159(3): 501-8, 1998

Gardner DG. Natriuretic peptides: markers or modulators of cardiac hypertrophy? *Trends in Endocrinology Metabolism*. 14(9): 411-6, 2003

Gerdes AM. Campbell SE. Hilbelink DR. Structural remodeling of cardiac myocytes in rats with arteriovenous fistulas. *Laboratory Investigation*. 59(6):857-61, 1988

Gerdes AM. Cardiac myocyte remodeling in hypertrophy and progression to failure. *Journal of Cardiac Failure*. 8(6 Suppl):S264-8, 2002

Godfrey KM. Forrester T. Barker DJ. Jackson AA. Landman JP. Hall JS. Cox V. Osmond C. Maternal nutritional status in pregnancy and blood pressure in childhood. *British Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 101(5):398-403, 1994

Goland RS. Jozak S. Warren WB. Conwell IM. Stark RI. Tropper PJ. Elevated levels of umbilical cord plasma corticotropin-releasing hormone in growth-retarded fetuses. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 77(5):1174-9, 1993

Goodfellow J. Bellamy MF. Gorman ST. Brownlee M. Ramsey MW. Lewis MJ. Davies DP. Henderson AH. Endothelial function is impaired in fit young adults of low birth weight. *Cardiovascular Research*. 40(3):600-6, 1998

Gougoux A. Circulation rénale. In: Morin G (ed) : *La physiologie du rein et des liquides corporels*, Québec, Canada, 1999. pp.63-80.

Gouldsbrough I. Ashton N. Maternal environment alters renal response to angiotensin II in the spontaneously hypertensive rat. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 28(7):504-9, 2001

Gregoire MC. Lefebvre F. Glorieux J. Health and developmental outcomes at 18 months in very preterm infants with bronchopulmonary dysplasia. *Pediatrics*. 101(5):856-60, 1998

Grim CE. Luft FC. Weinberger MH. Miller JZ. Rose RJ. Christian JC. Genetic, familial and racial influences on blood pressure control systems in man. *Australian & New Zealand Journal of Medicine*. 14(4):453-7, 1984

Gruppuso PA. Migliori R. Susa JB. Schwartz R. Chronic maternal hyperinsulinemia and hypoglycemia. A model for experimental intrauterine growth retardation. *Biology of the Neonate*. 40(3-4):113-20, 1981

Gupta M. Gupta MP. Cardiac hypertrophy: old concepts, new perspectives. *Molecular & Cellular Biochemistry*. 176(1-2):273-9, 1997

Guron G. Friberg P. An intact renin-angiotensin system is a prerequisite for normal renal development. *Journal of Hypertension*. 18:123-37, 2000

Hack M. Merkatz IR. Gordon D. Jones PK. Fanaroff AA. The prognostic significance of postnatal growth in very low--birth weight infants. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. 143(6):693-9, 1982

Hales CN. Barker DJ. Clark PM. Cox LJ. Fall C. Osmond C. Winter PD. Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64. *British Medical Journal*. 303(6809):1019-22, 1991

Hamet P. Pausova Z. Adarichev V. Adaricheva K. Tremblay J. Hypertension: genes and environment. *Journal of Hypertension*. 16(4):397-418, 1998

Han B. Fixler R. Beerli R. Wang Y. Bachrach U. Hasin Y. The opposing effects of endothelin-1 and C-type natriuretic peptide on apoptosis of neonatal rat cardiac myocytes. *European Journal of Pharmacology*. 474(1):15-20, 2003

Han HC. Austin KJ. Nathanielsz PW. Ford SP. Nijland MJ. Hansen TR. Maternal nutrient restriction alters gene expression in the ovine fetal heart. *The Journal of Physiology*. 2004 May 7 [Epub ahead of print]

Harel S. Yavin E. Tomer A. Barak Y. Binderman I. Brain: body ratio and conceptional age in vascular-induced intrauterine growth retarded rabbits. *Brain & Development*. 7(6):575-9, 1985

Harshfield GA. Alpert BS. Pulliam DA. Somes GW. Wilson DK. Ambulatory blood pressure recordings in children and adolescents. *Pediatrics*. 94(2 Pt 1):180-4, 1994

Hausladen A. Fridovich I. Superoxide and peroxynitrite inactivates aconitases, but nitric oxide does not. *Journal of Biological Chemistry*. 269:29405-8, 1994

Hayashi D. Kudoh S. Shiojima I. Zou Y. Harada K. Shimoyama M. Imai Y. Monzen K. Yamazaki T. Yazaki Y. Nagai R. Komuro I. Atrial natriuretic peptide inhibits cardiomyocyte hypertrophy through mitogen-activated protein kinase phosphatase-1. *Biochemical and Biophysical Research Communication*. 322(1):310-319, 2004

Hayman JR. Martin J. Miller M. Renal function and the number of glomeruli in the human kidney. *Archives of Internal Medicine*. 64; 69-83, 1939

Hew KW. Keller KA. Postnatal anatomical and functional development of the heart: a species comparison. *Birth Defects Research (Part B)*. 68(4):309-20, 2003

Hohimer AR. Mysliwiec M. Lee K. Davis LE. Pantely GA. Perinatal hypoxia causes ventricular enlargement associated with increased atrial natriuretic peptide (ANP) mRNA levels in newborn mice. *High Altitude Medicine and Biology*. 4(2):241-54, 2003

Holder EL. Al Moustafa AE. Chalifour LE. Molecular remodelling in hypertrophied hearts from polyomavirus large T-antigen transgenic mice. *Molecular Cell Biochemistry*. 152(2):131-41, 1995

Holemans K. Gerber R. Meurrens K. De Clerck F. Poston L. Van Assche FA. Maternal food restriction in the second half of pregnancy affects vascular function but not blood pressure of rat female offspring. *British Journal of Nutrition*. 81(1):73-9, 1999

Holtwick R. van Eickels M. Skryabin BV. Baba HA. Bubikat A. Begrow F. Schneider MD. Garbers DL. Kuhn M. Pressure-independent cardiac hypertrophy in mice with cardiomyocyte-restricted inactivation of the atrial natriuretic peptide receptor guanylyl cyclase-A. *Journal of Clinical Investigation*. 111(9):1399-407, 2003

Horio T. Tokudome T. Maki T. Yoshihara F. Suga S. Nishikimi T. Kojima M. Kawano Y. Kangawa K. Gene expression, secretion, and autocrine action of C-type natriuretic peptide in cultured adult rat cardiac fibroblasts. *Endocrinology*. 144(6):2279-84, 2003

Huang L. Li H. Xie Z. Ouabain-induced hypertrophy in cultured cardiac myocytes is accompanied by changes in expression of several late response genes. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 29(2):429-37, 1997

Huang PL. Huang Z. Mashimo H. Bloch KD. Moskowitz MA. Bevan JA. Fishman MC. Hypertension in mice lacking the gene for endothelial nitric oxide synthase. *Nature*. 377(6546):239-42, 1995

Hulley S. Grady D. Bush T. Furberg C. Herrington D. Riggs B. Vittinghoff E. Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. Heart and Estrogen/progestin Replacement Study (HERS) Research Group. *JAMA*. 280(7):605-13, 1998

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. *Journal of Hypertension*. 18(7):815-31, 2000

Igosheva N. Klimova O. Anishchenko T. Glover V. Prenatal stress alters cardiovascular responses in adult rats. *The Journal of Physiology*. 2004 Mar 19 [Epub ahead of print]

James GD. Sealey JE. Muller F. Alderman M. Madhavan S. Laragh JH. Renin relationship to sex, race and age in a normotensive population. *Journal of Hypertension - Supplement*. 4(5):S387-9, 1986

Jette C. Thorburn A. A Raf-induced, MEK-independent signaling pathway regulates atrial natriuretic factor gene expression in cardiac muscle cells. *FEBS Letter*. 467(1):1-6, 2000

Josimovich JB. Ladman AJ. Deane HW. A histophysiological study of the developing adrenal cortex of the rat during fetal and early postnatal stages. *Endocrinology*. 54:627-39, 1954

Jover B. Herizi A. Casellas D. Mimran A. Influence of irbesartan and enalapril on changes of renal function associated with the established phase of I-NAME hypertension. *Journal of Hypertension*. 19(11):2039-46, 2001

Kajstura J. Mansukhani M. Cheng W. Reiss K. Krajewski S. Reed JC. Quaini F. Sonnenblick EH. Anversa P. Programmed cell death and expression of the protooncogene bcl-2 in myocytes during postnatal maturation of the heart. *Experimental Cell Research*. 219(1):110-21, 1995

Kalenga MK. de Gasparo M. Thomas K. De Hertogh R. Angiotensin II induces human placental lactogen and pregnancy-specific beta 1-glycoprotein secretion via an angiotensin AT1 receptor. *European Journal of Pharmacology*. 268(2):231-6, 1994

Kamitomo M. Alonso JG. Okai T. Longo LD. Gilbert RD. Effects of long-term, high-altitude hypoxemia on ovine fetal cardiac output and blood flow distribution. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 169(3):701-7, 1993

Kapoun AM. Liang F. O'Young G. Damm DL. Quon D. White RT. Munson K. Lam A. Schreiner GF. Protter AA. B-type natriuretic peptide exerts broad functional opposition to transforming growth factor-beta in primary human cardiac fibroblasts: fibrosis, myofibroblast conversion, proliferation, and inflammation. *Circulation Research*. 94(4):453-61, 2004

Kato J. Tsuruda T. Kitamura K. Eto T. Adrenomedullin: a possible autocrine or paracrine hormone in the cardiac ventricles. *Hypertension Research*. 26 Suppl:S113-9, 2003

Keller G. Zimmer G. Mall G. Ritz E. Amann K. Nephron number in patients with primary hypertension. *New England Journal of Medicine*. 348(2):101-8, 2003

Kenchiah S. Pfeffer MA. Cardiac remodeling in systemic hypertension. *Medical Clinics of North America*. 88(1):115-30, 2004

Kennedy D. Omran E. Periyasamy SM. Nadoor J. Priyadarshi A. Willey JC. Malhotra D. Xie Z, Shapiro JI. Effect of chronic renal failure on cardiac contractile function, calcium cycling, and gene expression of proteins important for calcium homeostasis in the rat. *Journal of the American Society of Nephrology*. 14(1):90-7, 2003

Khan IY. Taylor PD. Dekou V. Seed PT. Lakasing L. Graham D. Dominiczak AF. Hanson MA. Poston L. Gender-linked hypertension in offspring of lard-fed pregnant rats. *Hypertension*. 41(1):168-75, 2003

Kolodziejczyk SM. Wang L. Balazsi K. DeRepentigny Y. Kothary R. Megeney LA. MEF2 is upregulated during cardiac hypertrophy and is required for normal post-natal growth of the myocardium. *Current Biology*. 9(20):1203-6, 1999

Kometiani P. Li J. Gnudi L. Kahn BB. Askari A. Xie Z. Multiple signal transduction pathways link Na⁺/K⁺-ATPase to growth-related genes in cardiac myocytes. The roles of Ras and mitogen-activated protein kinases. *Journal of Biological Chemistry*. 273(24):15249-56, 1998

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. *Clinical Science*. 91(2):169-75, 1996

Kurihara Y. Kurihara H. Suzuki H. Kodama T. Maemura K. Nagai R. Oda H. Kuwaki T. Cao WH. Kamada N. et al. Elevated blood pressure and craniofacial abnormalities in mice deficient in endothelin-1. *Nature*. 368(6473):703-10, 1994

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*. 127(19):4195-202, 2000

Lamireau D. Nuyt AM. Hou X. Bernier S. Beauchamp M. Gobeil F Jr. Lahaie I. Varma DR. Chemtob S. Altered vascular function in fetal programming of hypertension. *Stroke*. 33(12):2992-8, 2002

Langley-Evans SC. Jackson AA. Captopril normalises systolic blood pressure in rats with hypertension induced by fetal exposure to maternal low protein diets. *Comparative Biochemistry & Physiology, Part A. Physiology*. 110(3):223-8, 1995

Langley-Evans SC. Phillips GJ. Benediktsson R. Gardner DS. Edwards CR. Jackson AA. Seckl JR. Protein intake in pregnancy, placental glucocorticoid metabolism and the programming of hypertension in the rat. *Placenta*. 17(2-3):169-72, 1996

Langley-Evans SC. Welham SJ. Jackson AA. Fetal exposure to a maternal low protein diet impairs nephrogenesis and promotes hypertension in the rat. *Life Sciences*. 64(11):965-74, 1999

Lapointe JY. Cardinal J. Régulation du métabolisme du sodium. Dans: Cahier de néphrologie. Résidents du tronc commun de médecine. Édition subventionnée par Merck Frosst, 1998-1999. pp.1-19

Laughlin GA. Barrett-Connor E. Kritz-Silverstein D. von Muhlen D. Hysterectomy, oophorectomy, and endogenous sex hormone levels in older women: the Rancho Bernardo Study. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 85(2):645-51, 2000

Law CM. Shiell AW. Is blood pressure inversely related to birth weight? The strength of evidence from a systematic review of the literature. *Journal of Hypertension* 14(8):935-41, 1996

Law CM. Shiell AW. Newsome CA. Syddall HE. Shinebourne EA. Fayers PM. Martyn CN. de Swiet M. Fetal, infant, and childhood growth and adult blood pressure: a longitudinal study from birth to 22 years of age. *Circulation*. 105(9):1088-92, 2002

Leeson CP. Kattenhorn M. Morley R. Lucas A. Deanfield JE. Impact of low birth weight and cardiovascular risk factors on endothelial function in early adult life. *Circulation*. 103(9):1264-8, 2001

Lehman JJ. Kelly DP. Gene regulatory mechanisms governing energy metabolism during cardiac hypertrophic growth. *Heart Failure Review* 7:175-85, 2002

Leipala JA. Boldt T. Turpeinen U. Vuolteenaho O. Fellman V. Cardiac hypertrophy and altered hemodynamic adaptation in growth-restricted preterm infants. *Pediatric Research*. 53(6):989-93, 2003

Leon DA. Lithell HO. Vagero D. Koupilova I. Mohsen R. Berglund L. Lithell UB. McKeigue PM. Reduced fetal growth rate and increased risk of death from ischaemic heart disease: cohort study of 15 000 Swedish men and women born 1915-29. *British Medical Journal*. 317(7153):241-5, 1998

Lerner DJ. Kannel WB. Patterns of coronary heart disease morbidity and mortality in the sexes: a 26-year follow-up of the Framingham population. *American Heart Journal*. 111(2):383-90, 1986

Levitt NS. Lambert EV. Woods D. Hales CN. Andrew R. Seckl JR. Impaired glucose tolerance and elevated blood pressure in low birth weight, nonobese, young south african adults: early programming of cortisol axis. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 85(12):4611-8, 2000

Li X. Shams M. Zhu J. Khalig A. Wilkes M. Whittle M. Barnes N. Ahmed A. Cellular localization of AT1 receptor mRNA and protein in normal placenta and its reduced expression in intrauterine growth restriction. Angiotensin II stimulates the release of vasorelaxants. *Journal of Clinical Investigation*. 101(2):442-54, 1998

Liang Q. Molkenkin JD. Divergent signaling pathways converge on GATA4 to regulate cardiac hypertrophic gene expression. *Journal of Molecular & Cellular Cardiology*. 34(6):611-6, 2002

Lifton RP. Gharavi AG. Geller DS. Molecular mechanisms of human hypertension. *Cell*. 104(4):545-56, 2001

Lindsay RS. Lindsay RM. Edwards CR. Seckl JR. Inhibition of 11-beta-hydroxysteroid dehydrogenase in pregnant rats and the programming of blood pressure in the offspring. *Hypertension*. 27(6):1200-4, 1996

Liu J. Tian J. Haas M. Shapiro JI. Askari A. Xie Z. Ouabain interaction with cardiac Na⁺/K⁺-ATPase initiates signal cascades independent of changes in intracellular Na⁺ and Ca²⁺ concentrations. *Journal of Biological Chemistry*. 275(36):27838-44, 2000

Lompre AM. Schwartz K. D'Albis A. Lacombe G. Van Thiem N. Swynghedauw B. Myosin isoenzyme redistribution in chronic heart overload. *Nature* 282:105-117, 1979

Longhurst JC. Stebbins CL. The power athlete. *Cardiology Clinics*. 15(3):413-29, 1997

Lumbers ER. Angiotensin and aldosterone. *Regulatory Peptides*. 80(3):91-100, 1999

Mahdvi V. Izumo S. Nadal-Ginard B. Developmental and hormonal regulation of sarcomeric myosin heavy chain gene family. *Circulation Research*. 60:804-14, 1987

Maltsev VA. Sabbah HN. Tanimura M. Lesch M. Goldstein S. Undrovinas AI. Relationship between action potential, contraction-relaxation pattern, and intracellular Ca²⁺ transient in cardiomyocytes of dogs with chronic heart failure. *Cellular & Molecular Life Sciences*. 54(6):597-605, 1998

Manning J. Beutler K. Knepper MA. Vehaskari VM. Upregulation of renal BSC1 and TSC in prenatally programmed hypertension. *American Journal of Physiology - Renal Fluid & Electrolyte Physiology*. 283(1):F202-6, 2002

Manning J. Vehaskari VM. Low birth weight-associated adult hypertension in the rat. *Pediatric Nephrology*. 16(5):417-22, 2001.

Marconi AM. Cetin I. Ferrazzi E. Ferrari MM. Pardi G. Battaglia FC. Lactate metabolism in normal and growth-retarded human fetuses. *Pediatric Research*. 28(6):652-6, 1990

Marsh JD. Lehmann MH. Ritchie RH. Gwathmey JK. Green GE. Schiebinger RJ. Androgen receptors mediate hypertrophy in cardiac myocytes. *Circulation*. 98(3):256-61, 1998

Masubuchi Y. Kumai T. Uematsu A. Komoriyama K. Hirai M. Gonadectomy-induced reduction of blood pressure in adult spontaneously hypertensive rats. *Acta Endocrinologica*. 101(1):154-60, 1982

McCaffrey TA. Fu C. Du B. Eksinar S. Kent KC. Bush H Jr. Kreiger K. Rosengart T. Cybulsky MI. Silverman ES. Collins T. High-level expression of Egr-1 and Egr-1-inducible genes in mouse and human atherosclerosis. *Journal of Clinical Investigation*. 105(5):653-62, 2000

McCarty R. Lee JH. Maternal influences on adult blood pressure of SHR: a single pup cross-fostering study. *Physiology & Behavior*. 59(1):71-5, 1996

McDonough AA. Velotta JB. Schwinger RH. Philipson KD. Farley RA. The cardiac sodium pump: structure and function. *Basic Research in Cardiology*. 97 Suppl 1:119-24, 2002

McMullen S. Gardner DS. Langley-Evans SC. Prenatal programming of angiotensin II type 2 receptor expression in the rat. *British Journal of Nutrition*. 91(1):133-40, 2004

Mercadier JJ. Lompre AM. Duc P. Boheler KR. Fraysse JB. Wisnewsky C. Allen PD. Komajda M. Schwartz K. Altered sarcoplasmic reticulum Ca²⁺(+)-ATPase gene expression in the human ventricle during end-stage heart failure. *Journal of Clinical Investigation*. 85(1):305-9, 1990

Mercier I. Pham-Dang M. Clement R. Gosselin H. Colombo F. Rouleau JL. Calderone A. Elevated mean arterial pressure in the ovariectomized rat was normalized by ET(A) receptor antagonist therapy: absence of cardiac hypertrophy and fibrosis. *British Journal of Pharmacology*. 136(5):685-92, 2002

Merlet-Benichou C. Gilbert T. Muffat-Joly M. Lelievre-Pegorier M. Leroy B. Intrauterine growth retardation leads to a permanent nephron deficit in the rat. *Pediatric Nephrology*. 8(2):175-80, 1994

Mifflin SW. What does the brain know about blood pressure? *News in Physiological Science*. 16: 266-71, 2001

Miller ER 3rd. Erlinger TP. Young DR. Jehn M. Charleston J. Rhodes D. Wasan SK. Appel LJ. Results of the Diet, Exercise, and Weight Loss Intervention Trial (DEW-IT). *Hypertension*. 40(5):612-8, 2002

Mitani F. Mukai K. Miyamoto H. Suematsu M. Ishimura Y. Development of functional zonation in the rat adrenal cortex. *Endocrinology*. 140; 3342-53, 1999

Molkentin JD. The zinc finger-containing transcription factors GATA-4, -5, and -6. Ubiquitously expressed regulators of tissue-specific gene expression. *Journal of Biological Chemistry*. 275(50):38949-52, 2000

Morano I. Tuning the human heart molecular motors by myosin light chains. *Journal of Molecular Medicine*. 77(7):544-55, 1999

Moreau P. d'Uscio LV. Shaw S. Takase H. Barton M. Luscher TF. Angiotensin II increases tissue endothelin and induces vascular hypertrophy: reversal by ET(A)-receptor antagonist. *Circulation*. 96(5):1593-7, 1997

Moritz KM. Johnson K. Douglas-Denton R. Wintour EM. Dodic M. Maternal glucocorticoid treatment programs alterations in the renin-angiotensin system of the ovine fetal kidney. *Endocrinology*. 143(11):4455-63, 2002

Morris M. Means S. Oliverio MI. Coffman TM. Enhanced central response to dehydration in mice lacking angiotensin AT(1a) receptors. *American Journal of Physiology*. 2001 280(4):R1177-84, 2001

Nakao K. Yasue H. Fujimoto K. Okumura K. Yamamoto H. Hitoshi Y. Murohara T. Takatsu K. Miyamoto E. Increased expression of atrial myosin light chain 1 in the overloaded human left ventricle: possible expression of fetal type myocytes. *International Journal of Cardiology*. 36(3):315-28, 1992

Norton GR. Woodiwiss AJ. Gaasch WH. Mela T. Chung ES. Aurigemma GP. Meyer TE. Heart failure in pressure overload hypertrophy. The relative roles of ventricular remodeling and myocardial dysfunction. *Journal of the American College of Cardiology*. 39(4):664-71, 2002

Nwagwu MO. Cook A. Langley-Evans SC. Evidence of progressive deterioration of renal function in rats exposed to a maternal low-protein diet in utero. *British Journal of Nutrition*. 83(1):79-85, 2000

Ohuchi T. Kuwaki T. Ling GY. Dewit D. Ju KH. Onodera M. Cao WH. Yanagisawa M. Kumada M. Elevation of blood pressure by genetic and pharmacological disruption of the ETB receptor in mice. *American Journal of Physiology*. 276(4 Pt 2):R1071-7, 1999

Oikawa S. Imai M. Ueno A. Tanaka S. Noguchi T. Nakazato H. Kangawa K. Fukuda A. Matsuo H. Cloning and sequence analysis of cDNA encoding a precursor for human atrial natriuretic polypeptide. *Nature*. 309(5970):724-6, 1984

Oliver MH. Harding JE. Breier BH. Evans PC. Gluckman PD. Glucose but not a mixed amino acid infusion regulates plasma insulin-like growth factor-I concentrations in fetal sheep. *Pediatric Research*. 34(1):62-5, 1993

Oliver PM. Fox JE. Kim R. Rockman HA. Kim HS. Reddick RL. Pandey KN. Milgram SL. Smithies O. Maeda N. Hypertension, cardiac hypertrophy, and sudden death in mice lacking natriuretic peptide receptor A. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 94(26):14730-5, 1997

Onusko E. Diagnosing secondary hypertension. *American Family Physician*. 67(1):67-74, 2003

Osmond C. Barker DJ. Winter PD. Fall CH. Simmonds SJ. Early growth and death from cardiovascular disease in women. *British Medical Journal*. 307(6918):1519-24, 1993

Ostadal P. Elmoselhi AB. Zdobnicka I. Lukas A. Chapman D. Dhalla NS. Ischemia-reperfusion alters gene expression of Na⁺-K⁺ ATPase isoforms in rat heart. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 306(2):457-62, 2003

Ouchi Y. Share L. Crofton JT. Iitake K. Brooks DP. Sex difference in the development of deoxycorticosterone-salt hypertension in the rat. *Hypertension*. 9(2):172-7, 1987

Ozaki T. Nishina H. Hanson MA. Poston L. Dietary restriction in pregnant rats causes gender-related hypertension and vascular dysfunction in offspring. *Journal of Physiology*. 530(Pt 1):141-52, 2001

Pachi A. Lubrano R. Maggi E. Giancotti A. Giampa G. Elli M. Mannarino O. Castello MA. Renal tubular damage in fetuses with intrauterine growth retardation. *Fetal Diagnosis & Therapy*. 8(2):109-13, 1993

Pederson J. Hyperglycemia and hyperinsulinism theory and birthweight. In: *The pregnant diabetic and her newborn: problems and management*. Baltimore: Williams and Wilkins, 1977. p. 211-20

Peers A. Campbell DJ. Wintour EM. Dodic M. The peripheral renin-angiotensin system is not involved in the hypertension of sheep exposed to prenatal dexamethasone. *Clinical & Experimental Pharmacology & Physiology*. 28(4):306-11, 2001

Peleg D. Kennedy CM. Hunter SK. Intrauterine growth restriction: identification and management. *American Family Physician*. 58(2):453-60, 466-7, 1998

Penney DG. Gargulinski RB. Hawkins BJ. Santini R. Caldwell-Ayre TM. Davidson SB. The effects of carbon monoxide on persistent changes in young rat heart: cardiomegaly, tachycardia and altered DNA content. *Journal of Applied Toxicology*. 8(4):275-83, 1988

Perez H. Ruiz S. Soto-Moyano R. Prenatal malnutrition-induced hypertension in young rats is prevented by neonatal capsaicin treatment. *Neuroscience Letters*. 328(3):253-6, 2002

Persson E. Jansson T. Low birth weight is associated with elevated adult blood pressure in the chronically catheterized guinea-pig. *Acta Physiologica Scandinavica*. 145(2):195-6, 1992

Pham-Dang ML. Clement R. Mercier I. Calderone A. Comparative effects of tamoxifen and angiotensin II type-1 receptor antagonist therapy on the hemodynamic profile of the ovariectomized female rat. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 81(9):915-9, 2003

Pikkarainen S. Tokola H. Majalahti-Palviainen T. Kerkela R. Hautala N. Bhalla SS. Charron F. Nemer M. Vuolteenaho O. Ruskoaho H. GATA-4 is a nuclear mediator of mechanical stretch-activated hypertrophic program. *Journal of Biological Chemistry*. 278(26):23807-16, 2003

Pladys P. Cambonie G. Thibault G. Lahaie I. Le NL. Abran D. Nuyt AM. Role of Brain and Peripheral Angiotensin II in Hypertension and Altered Arterial Baroreflex Programmed during Fetal Life in Rat. *Pediatric Research*. 2004 Apr 7 [Epub ahead of print]

Poolman RA. Brooks G. Expressions and activities of cell cycle regulatory molecules during the transition from myocyte hyperplasia to hypertrophy. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 30(10):2121-35, 1998

Post WS. Goldschmidt-Clermont PJ. Wilhide CC. Heldman AW. Sussman MS. Ouyang P. Milliken EE. Issa JP. Methylation of the estrogen receptor gene is associated with aging and atherosclerosis in the cardiovascular system. *Cardiovascular Research*. 43(4):985-91, 1999

Prader A. Tanner JM. von Harnack G. Catch-up growth following illness or starvation. An example of developmental canalization in man. *Journal of Pediatrics* 62:646-59, 1963

Rajagopalan S. Kurz S. Munzel T. Tarpey M. Freeman BA. Griending KK. Harrison DG. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. Contribution to alterations of vasomotor tone. *Journal of Clinical Investigation*. 97(8):1916-23, 1996

Rang HP. Dale MM. Ritter JM. The vascular system. In: Rang HP, Dale MM, Ritter JM (ed): Pharmacology, Churchill Livingstone, Leith Walk, Edinburgh, 1999. pp.278-300

Reckelhoff JF. Zhang H. Granger JP. Testosterone exacerbates hypertension and reduces pressure-natriuresis in male spontaneously hypertensive rats. Hypertension. 31(1 Pt 2):435-9, 1998

Reckelhoff JF. Zhang H. Srivastava K. Granger JP. Gender differences in hypertension in spontaneously hypertensive rats: role of androgens and androgen receptor. Hypertension. 34(4 Pt 2):920-3, 1999

Reddy DS. Singh M. Chopra K. Signalling mechanisms of cardiac hypertrophy. Indian Journal of pharmacology. 28:58-71. 1996

Reinisch JM. Simon NG. Karwo WG. Prenatal exposure to prednisone in humans and animals retards intra-uterine growth. Science 202;436-8, 1978

Resnik R. Intrauterine growth restriction. Obstetrics & Gynecology. 99(3):490-6, 2002

Ritter O. Luther HP. Haase H. Baltas LG. Baumann G. Schulte HD. Murano I. Expression of atrial myosin light chains but not α -myosin heavy chains is correlated in vivo with increased ventricular function in patients with hypertrophic obstructive cardiomyopathy. *Journal of Molecular Medicine*.77: 677-85, 1999

Robinson D. Weiner CP. Nakamura KT. Robillard JE. Effect of intrauterine growth retardation on renal function on day one of life. *American Journal of Perinatology*. 7(4):343-6, 1990

Roseboom TJ. van der Meulen JH. Ravelli AC. Osmond C. Barker DJ. Bleker OP. Effects of prenatal exposure to the Dutch famine on adult disease in later life: an overview. *Molecular & Cellular Endocrinology*. 185(1-2):93-8, 2001

Rosenkranz AC. Woods RL. Dusting GJ. Ritchie RH. Antihypertrophic actions of the natriuretic peptides in adult rat cardiomyocytes: importance of cyclic GMP. *Cardiovascular Research*. 57(2):515-22, 2003

Rossier BC. 1996 Homer Smith Award Lecture. Cum grano salis: the epithelial sodium channel and the control of blood pressure. *Journal of the American Society of Nephrology*. 8(6):980-92, 1997

Rosso P. Donoso E. Braun S. Espinoza R. Fernandez C. Salas SP. Maternal hemodynamic adjustments in idiopathic fetal growth retardation. *Gynecologic & Obstetric Investigation*. 35(3):162-5, 1993

Rossouw JE. Anderson GL. Prentice RL. LaCroix AZ. Kooperberg C. Stefanick ML. Jackson RD. Beresford SA. Howard BV. Johnson KC. Kotchen JM. Ockene J. Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA*. 288(3):321-33, 2002

Rowland NE. Fregly MJ. Role of gonadal hormones in hypertension in the Dahl salt-sensitive rat. *Clinical & Experimental Hypertension - Part A, Theory & Practice*. 14(3):367-75, 1992

Roy-Clavel E. Picard S. St-Louis J. Brochu M. Induction of intrauterine growth restriction with low-sodium diet fed to pregnant rats. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 180:608-13, 1999

Ruskoaho H. Atrial natriuretic peptide: synthesis, release, and metabolism. *Pharmacological Review*. 44(4):479-602, 1992

Saadane N. Alpert L. Chalifour LE. TAFII250, Egr-1, and D-type cyclin expression in mice and neonatal rat cardiomyocytes treated with doxorubicin. *American Journal of Physiology*. 276(3 Pt 2):H803-14, 1999

Sahajpal V. Ashton N. Renal function and angiotensin AT1 receptor expression in young rats following intrauterine exposure to a maternal low-protein diet. *Clinical Science*. 104(6):607-14, 2003

Salas SP. Rosso P. Espinoza R. Robert JA. Valdes G. Donoso E. Maternal plasma volume expansion and hormonal changes in women with idiopathic fetal growth retardation. *Obstetrics & Gynecology*. 81(6):1029-33, 1993

Sasik R. Calvo E. Corbeil J. Statistical analysis of high-density oligonucleotide arrays: a multiplicative noise model. *Bioinformatics*. 18(12):1633-1640, 2002

Schaub MC. Hefti MA. Zuellig RA. Morano I. Modulation of contractility in human cardiac hypertrophy by myosin essential light chain isoforms. *Cardiovascular Research*. 37(2):381-404, 1998

Schröder HJ. Models of fetal growth restriction. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*. 110;S29-39, 2003

Scortegagna M. Ding K. Oktay Y. Gaur A. Thurmond F. Yan LJ. Marck BT. Matsumoto AM. Shelton JM. Richardson JA. Bennett MJ. Garcia JA. Multiple organ pathology, metabolic abnormalities and impaired homeostasis of reactive oxygen species in *Epas1*^{-/-} mice. *Nature Genetics*. 35(4):331-40, 2003

See S. Angiotensin II receptor blockers for the treatment of hypertension. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. 2(11):1795-804, 2001

Shapiro LM. Sugden PH. Left ventricular hypertrophy. In: Julian DG, Camm AJ, Fox KM, Hall RTC, Poole-Wilson PA, eds. *Disease of the heart*. 2nd ed. London: Saunders, 1996

Sherman RC. Langley-Evans SC. Antihypertensive treatment in early postnatal life modulates prenatal dietary influences upon blood pressure in the rat. *Clinical Science*. 98(3):269-75, 2000

Siani A. Russo P. Paolo Cappuccio F. Iacone R. Venezia A. Russo O. Barba G. Iacoviello L. Strazzullo P. Combination of renin-angiotensin system polymorphisms is associated with altered renal sodium handling and hypertension. *Hypertension*. 43(3):598-602, 2004

Singhal A. Cole TJ. Fewtrell M. Deanfield J. Lucas A. Is slower early growth beneficial for long-term cardiovascular health? *Circulation*. 109(9):1108-13, 2004

Singhal A. Farooqi IS. Cole TJ. O'Rahilly S. Fewtrell M. Kattenhorn M. Lucas A. Deanfield J. Influence of leptin on arterial distensibility: a novel link between obesity and cardiovascular disease? *Circulation*. 106(15):1919-24, 2002a

Singhal A. Farooqi IS. O'Rahilly S. Cole TJ. Fewtrell M. Lucas A. Early nutrition and leptin concentrations in later life. *American Journal of Clinical Nutrition*. 75(6):993-9, 2002b

Siragy HM. AT(1) and AT(2) receptors in the kidney: role in disease and treatment. *American Journal of Kidney Disease*. 36(3 Suppl 1):S4-9, 2000

Société Québécoise d'Hypertension Artérielle (SQHTA). Mot du président, définition de l'hypertension artérielle et mesure de la tension artérielle. Dans : *Hypertension artérielle 2002. Guide Thérapeutique*. Denis Drouin, Alain Milot (eds.). 2002. p.7-10.

Spence JD. Barnett PA. Linden W. Ramsden V. Taenzer P. Lifestyle modifications to prevent and control hypertension. 7. Recommendations on stress management. Canadian Hypertension Society, Canadian Coalition for High Blood Pressure Prevention and Control, Laboratory Centre for Disease Control at Health Canada, Heart and Stroke Foundation of Canada. *CMAJ Canadian Medical Association Journal*. 160(9 Suppl):S46-50, 1999

Spieker LE. Noll G. Ruschitzka FT. Maier W. Luscher TF. Working under pressure: the vascular endothelium in arterial hypertension. *Journal of Human Hypertension*. 14(10-11): 617-30, 2000

Stampfer MJ. Colditz GA. Estrogen replacement therapy and coronary heart disease: a quantitative assessment of the epidemiologic evidence. *Preventive Medicine*. 20(1):47-63, 1991

Stein CE. Fall CH. Kumaran K. Osmond C. Cox V. Barker DJ. Fetal growth and coronary heart disease in south India. *Lancet*. 348(9037):1269-73, 1996

Taittoten L. Nuutinen M. Turtinen J. Uhari M. Prenatal and postnatal factors in predicting later blood pressure among children: cardiovascular risk in young Finns. *Pediatric Research*. 40:627-32, 1996

Takeda N. Nakamura I. Okubo T. Nagano M. Altered myocardial contractility and energetics in hypertrophied myocardium. *Japanese Circulation Journal*. 54(5):540-6, 1990

Tanuseputro P. Manuel DG. Leung M. Nguyen K. Johansen H; Canadian Cardiovascular Outcomes Research Team. Risk factors for cardiovascular disease in Canada. *Canadian Journal of Cardiology*. 19(11):1249-59, 2003

Thame M. Wilks RJ. McFarlane-Anderson N. Bennett FI. Forrester TE. Relationship between maternal nutritional status and infant's weight and body proportions at birth. *European Journal of Clinical Nutrition*. 51(3):134-8, 1997

Thattaliyath BD. Firulli BA. Firulli AB. The basic-helix-loop-helix transcription factor HAND2 directly regulates transcription of the atrial natriuretic peptide gene. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 34(10):1335-44, 2002

Tortora GJ. Grabowski SR. Le maintien du fonctionnement du corps humain. Dans: Tortora Grabowski Principes d'anatomie et de physiologie. Neuvième édition, édité par John Wiley et Sons Inc, les éditions du nouveau pédagogique, Canada, 2001. pp. 644-1029.

Usher R. McLean F. Normal fetal growth and the significance of fetal growth retardation. In: Davis JA, Dobbing J, eds. *Scientific foundations of Paediatrics*. London: Heinemann, 1974. p. 69-80

Vandenbosche RC. Kirchner JT. Intrauterine growth retardation. *American Family Physician*. 58(6):1384-90, 1393-4, 1998

Veening MA. Van Weissenbruch MM. Delemarre-Van De Waal HA. Glucose tolerance, insulin sensitivity, and insulin secretion in children born small for gestational age. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 87(10):4657-61, 2002

Veille JC. Hanson R. Sivakoff M. Hoen H. Ben-Ami M. Fetal cardiac size in normal, intrauterine growth retarded, and diabetic pregnancies. *American Journal of Perinatology*. 10(4):275-9, 1993

Vickers MH. Ikenasio BA. Breier BH. IGF-I treatment reduces hyperphagia, obesity, and hypertension in metabolic disorders induced by fetal programming. *Endocrinology*. 142(9):3964-73, 2001

Wassmann S. Baumer AT. Strehlow K. van Eickels M. Grohe C. Ahlbory K. Rosen R. Bohm M. Nickenig G. Endothelial dysfunction and oxidative stress during estrogen deficiency in spontaneously hypertensive rats. *Circulation*. 103(3):435-41, 2001

Weinberg EO. Thienelt CD. Katz SE. Bartunek J. Tajima M. Rohrbach S. Douglas PS. Lorell BH. Gender differences in molecular remodeling in pressure overload hypertrophy. *Journal of the American College of Cardiology*. 34(1):264-73, 1999

Wilcox JG. Hatch IE. Gentzschein E. Stanczyk FZ. Lobo RA. Endothelin levels decrease after oral and nonoral estrogen in postmenopausal women with increased cardiovascular risk factors. *Fertility and Sterility*. 67(2):273-7, 1997

Wilcoxon JS. Schwartz J. Aird F. Redei EE. Sexually dimorphic effects of maternal alcohol intake and adrenalectomy on left ventricular hypertrophy in rat offspring. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*. 285(1):E31-9, 2003

Wintour EM. Alcorn D. Albiston A. Boon WC. Butkus A. Earnest L. Moritz K. Shandley L. The renin-angiotensin system and the development of the kidney and adrenal in sheep. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 25;S97-100, 1998

Woodall SM. Breier BH. Johnston BM. Gluckman PD. A model of intrauterine growth retardation caused by chronic maternal undernutrition in the rat: effects on the somatotrophic axis and postnatal growth. *Journal of Endocrinology* 150: 231-42, 1996a

Woodall SM. Johnston BM. Breier BH. Gluckman PD. Chronic maternal undernutrition in the rat leads to delayed postnatal growth and elevated blood pressure in the offspring. *Pediatric Research* 40:438-43, 1996b

Xie PL. McDowell TS. Chapleau MW. Hajduczuk G. Abboud FM. Rapid baroreceptor resetting in chronic hypertension. Implications for normalization of arterial pressure. *Hypertension*. 17(1):72-9, 1991

Yajnik CS. Fall CH. Vaidya U. Pandit AN. Bavdekar A. Bhat DS. Osmond C. Hales CN. Barker DJ. Fetal growth and glucose and insulin metabolism in four-year-old Indian children. *Diabetic Medicine*. 12(4):330-6, 1995

Ziegler MG. Mills P. Dimsdale JE. Hypertensives' pressor response to norepinephrine. Analysis by infusion rate and plasma levels. *American Journal of Hypertension*. 4(7 Pt 1):586-91, 1991