



HAL
open science

**Impact des pathologies métaboliques de la mère sur la
programmation fœtale de pathologies cardiovasculaires. :
Effets de l'alimentation post-natale et effets
trans-générationnels**

Abigaëlle Guillot

► **To cite this version:**

Abigaëlle Guillot. Impact des pathologies métaboliques de la mère sur la programmation fœtale de pathologies cardiovasculaires. : Effets de l'alimentation post-natale et effets trans-générationnels. Médecine humaine et pathologie. Université d'Angers, 2021. Français. NNT : 2021ANGE0056 . tel-04213624

HAL Id: tel-04213624

<https://theses.hal.science/tel-04213624v1>

Submitted on 21 Sep 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE DE DOCTORAT DE

L'UNIVERSITE D'ANGERS

ECOLE DOCTORALE N° 605

Biologie Santé

Spécialité : « *Physiologie, Physiopathologie, Biologie Systémique Médicale* »

Par

« Abigaëlle GUILLOT »

« Impact des pathologies métaboliques de la mère sur la programmation fœtale de pathologies cardiovasculaires. Effets de l'alimentation post-natale et effets trans-générationnels. »

Thèse présentée et soutenue à Angers, le 29 Novembre 2021

Unité de recherche : UMR CNRS 6015 INSERM U1083

Thèse N° : 211733

Rapporteurs avant soutenance :

Pr Catherine Vergely Université de Dijon, EA 2979, Dijon

Pr Jean-François Arnal PU-PH, UMR 1048, Toulouse

Composition du Jury :

Président : Dr Carmen Martinez Directeur de recherche CNRS, UMR INSERM U1063, Angers

Examineurs : Dr Vincent Paillé Chargé de recherche INRA, UMR 1280, Nantes

Dr Cyril Reboul Maître de conférences, EA 4278, Avignon

Dir. de thèse : Dr Céline Fassot Chargé de recherche INSERM, UMR CNRS 6015 INSERM U1083, Angers

L'auteur du présent document vous autorise à le partager, reproduire, distribuer et communiquer selon les conditions suivantes :



- Vous devez le citer en l'attribuant de la manière indiquée par l'auteur (mais pas d'une manière qui suggérerait qu'il approuve votre utilisation de l'œuvre).
- Vous n'avez pas le droit d'utiliser ce document à des fins commerciales.
- Vous n'avez pas le droit de le modifier, de le transformer ou de l'adapter.

Consulter la licence creative commons complète en français :
<http://creativecommons.org/licences/by-nc-nd/2.0/fr/>



Remerciements

Au Docteur Céline Fassot qui m'a fait confiance pendant ces 3 années. Tu m'as guidé, écouté, poussé à donner le meilleur de moi-même pour arriver au bout de ce projet. Je ne te remercierai jamais assez pour ta patience, ton soutien, tes conseils, pour tout ce que tu m'as appris et toute l'aide que tu m'as apporté au cours de ces tumultueuses mais riches années. Merci de m'avoir donné l'opportunité de découvrir ce sujet passionnant.

Au Docteur Daniel Henrion pour m'avoir accepté au sein de l'équipe Carme il y a 5 ans et de m'avoir donné la chance d'effectuer mes années de Master et de thèse dans votre laboratoire.

Aux Docteurs Patricia Parnet et Françoise Schmitt pour avoir accepté d'être les rapporteurs de mon travail de thèse.

Au Docteur Carmen Martinez pour participer à mon jury de thèse en tant que président.

Aux Professeurs Catherine Vergely et Jean-François Arnal pour avoir accepté d'être les rapporteurs dans mon jury de thèse.

Aux Docteurs Vincent Paillé et Cyril Reboul pour avoir accepté d'être mes examinateurs dans ce même jury de thèse.

A Cyrielle Payen pour avoir été à mes côtés pendant un an, pour m'avoir fait participer à tes travaux, pour m'avoir transmis tes connaissances et ton savoir-faire sur ce sujet fascinant, notamment concernant l'expérimentation animale. Merci infiniment pour tout.

Au Docteur Laurent Loufrani pour m'avoir introduit au monde de la recherche en Master 1 et 2, pour avoir continué d'être présent pendant ma thèse et de m'avoir conseillé et aidé sur tout ce qui concernait l'imagerie confocale.

Aux Docteurs Sophie Tamareille et Fabrice Prunier pour m'avoir appris tout ce qui touchait à l'expérimentation cardiaque. Je n'aurais pas pu aller si loin sans votre aide précieuse.

Un grand merci à Aglaé pour avoir participé à ce projet. Ton aide m'a été indispensable ces derniers mois.

A Cyril Le Corre et Jennifer Bourreau pour votre aide indispensable avec mes animaux.

A Jérôme, Elodie, Amandine, Laurent, Nelly, Louis et tous les autres membres du personnel animalier pour s'être occupés de mes animaux au SCAHU et pour tous leurs conseils et coups de main concernant le bien-être animal.

A Anne-Laure, Lynda, Emilie, Coralyne, Jordan, Manuela, Agnès pour vos nombreux conseils et votre assistance quand j'en avais le plus besoin.

A Carole pour ton amabilité et ta disponibilité sans faille.

A Ahmad, Zenouba, Jacinthe, Charbel, Amani, Alexis, Laura, Léa, Marion, Inès, Amélie, Asma, Rym, Pauline, Joohee, Louwana et tous ceux que j'ai pu rencontrer, pour votre soutien, votre gentillesse, vos anecdotes, votre bonne humeur. Vous avez rendu chaque jour infiniment meilleur.

A mon amie Aimé pour m'avoir fait rire, pleurer, m'avoir toujours soutenu malgré la distance qui nous sépare. Merci d'avoir été là pour moi quand j'en avais besoin et pour l'amitié que tu me portes depuis maintenant 8 ans.

A mes amis Maxime, Florian, Nolann, Lucas, Thomas, Valentin, Gaëtan pour avoir égayé toutes mes soirées depuis presque 3 ans avec votre humour fracassant et votre gentillesse. Vous m'avez apporté une joie ineffable.

A ma famille pour tout votre amour : Papy, Mamy, Domi, Camille, Gaby, Maité et Léopold, tous mes (nombreux) oncles, tantes, cousins et cousines. Sans oublier Christian et Patricia.

A mes parents et mes frères qui ont toujours été là pour moi. A ma merveilleuse mère et mon bienveillant beau-père, vous n'avez jamais cessé de croire en moi. Merci pour votre tendresse et votre générosité. A mes téméraires petits frères Florent et Lucas, pour tous nos moments de bonheur partagé et vos 400 coups. Je n'aurais jamais été si loin sans votre soutien et votre amour. Merci d'avoir été mes piliers et d'avoir fait de moi la personne que je suis aujourd'hui.

Table des matières

LISTE DES ABREVIATIONS	1
TABLE DES FIGURES	5
TABLE DES TABLEAUX	8

INTRODUCTION **9**

CHAPITRE 1 : PROGRAMMATION FŒTALE DE MALADIES METABOLIQUES ET CARDIOVASCULAIRES.....9

1. Programmation fœtale	9
1.1. Origine du concept de « programmation fœtale ».....	9
1.2. Hypothèse mécanistique de la programmation fœtale	10
1.2.1. Hypothèse de Barker	10
1.2.2. Théories du « mismatch » et des 1000 jours.....	10
1.3. Mécanismes épigénétiques impliqués	12
1.3.1. Méthylation de l'ADN	12
1.3.2. Modifications des histones.....	13
1.3.3. ARN non codants.....	14
1.4. Dimorphisme sexuel dans la programmation fœtale.....	15
1.4.1. Dimorphisme sexuel et conséquences sur les fonctions métaboliques et cardiovasculaires.....	16
1.4.2. Mécanismes impliqués.....	16
(a) Rôle des hormones sexuelles.....	16
(b) Rôle des modifications épigénétiques.....	17
(c) Rôle du placenta.....	17
2. Fonction métabolique	18
2.1. Métabolisme du glucose	18
2.1.1. Le foie et le pancréas.....	18
2.1.2. Homéostasie du glucose : insuline et glucagon.....	20
2.2. Métabolisme des lipides.....	22
2.2.1. Le tissu adipeux et le foie.....	22
2.2.2. Le cholestérol.....	23
2.2.3. Les acides gras.....	24
2.2.4. Les adipokines.....	24
2.3. Syndrome métabolique.....	27
2.4. Programmation fœtale du syndrome métabolique.....	28
3. Fonction cardiovasculaire.....	29
3.1. Fonction cardiaque	29
3.1.1. Structure et fonctionnement macroscopique	29
3.1.2. Le cardiomyocyte : unité contractile du cœur	33
3.2. Fonction vasculaire.....	38
3.2.1. Structure d'un vaisseau.....	38
3.2.2. Types de vaisseaux	39
(a) Artères de compliance : l'aorte.....	39
(b) Artères de résistance : les artères mésentériques.....	40
(c) Artères mixtes : les artères coronaires.....	40
3.2.3. Vasoréactivité	41
(a) Vasoconstriction	42
(b) Vasorelaxation	44
3.3. Programmation fœtale d'anomalies cardiovasculaires.....	47
3.3.1. Programmation fœtale d'anomalies cardiaques.....	47
(a) Maladie coronarienne	47
(b) Remodelage cardiaque	48

(c) Infarctus du myocarde.....	49
(d) Insuffisance cardiaque.....	50
3.3.2. Programmation fœtale d'anomalies vasculaires.....	51
3.3.3. Facteurs environnementaux impliqués.....	52

CHAPITRE 2 : OBESITE MATERNELLE, CHANGEMENT D'ALIMENTATION POST-NATALE ET EFFETS TRANS-GENERATIONNELS.....57

1. Obésité : définition et données épidémiologiques.....	57
2. Obésité maternelle : problèmes métaboliques chez la mère et effets sur la descendance...58	58
2.1. Prévalence et problèmes gestationnels.....	58
2.2. Modèles animaux d'obésité.....	59
2.3. Données cliniques et expérimentales et impact sur la descendance.....	61
2.3.1. Fonction métabolique de la descendance.....	61
(a) Données cliniques.....	61
(b) Données expérimentales.....	61
2.3.2. Fonction cardiovasculaire de la descendance.....	62
(a) Données cliniques.....	62
(b) Données expérimentales.....	62
3. Changements d'alimentation post-natale	64

OBJECTIFS DE LA THESE 67

RESULTATS 68

PARTIE 1 : Impact de l'obésité maternelle sur la programmation fœtale d'anomalies vasculaires, indépendamment des anomalies métaboliques chez la descendance 69

CONTEXTE SCIENTIFIQUE 70

ARTICLE : Pathophysiological adaptations of resistance arteries in rat offspring exposed in utero to maternal obesity is associated with sex-specific epigenetic alterations 72

DISCUSSION 85

PARTIE 2 : Impact de l'obésité maternelle et de l'alimentation post-natale sur la programmation fœtale d'anomalies cardiaques chez la descendance 87

CONTEXTE SCIENTIFIQUE 88

ARTICLE : Maternal obesity and postnatal diet modification have no impact on cardiac function in adult male and female offspring 90

Introduction 92

Materials and Methods 93

Animal model 93

Transthoracic echocardiography 93

Sampling 94

Histomorphological analysis of left ventricle	94
Contractile function of left ventricle analysis by Western Blot	95
Results	96
Physiological parameters and lipid profile of male and female offspring	96
Heart function of male and female offspring	96
Cardiac fibrosis and cardiomyocytes morphology in the LV of rat offspring	97
Cardiac contractility analysis in the LV of male and female offspring	98
Discussion	99
Conclusion	100
DISCUSSION	106
DISCUSSION GENERALE	108
CONCLUSION	112
BIBLIOGRAPHIE	113

Liste des abréviations

ADP : Adénosine DiPhosphate

AgRP : Agouti-Related Protein = Protéine liée au phénotype Agouti

AMPc : Adénosine MonoPhosphate cyclique

AN : Area of Necrosis = Aire de nécrose

AT1R : récepteur de type 1 de l'angiotensine II

ATP : Adénosine TriPhosphate

BSA : Bovine Serum Albumine = Albumine de sérum bovin

CAC : Control Adopted by Control = petit né de mère contrôle adopté par une autre mère contrôle

CBF : Coronary Blood Flow = Débit coronaire

CaMKII : Ca²⁺-Calmoduline dependant protein kinase II = Protéine Kinase dépendante de la Ca²⁺-calmoduline II

CMLs : Cellules Musculaires Lisses

CMO : Control Mother Offspring = petit né de mère contrôle

COX : cyclo-oxygénase

DiasP : Diastolic Pressure = Pression diastolique

DMS : Differentially Methylated Site = Site de Méthylation Différenciée

EDHFs : Endothelium Derived Hyperpolarizing Factors = Facteurs Hyperpolarisants Dérivés de l'Endothélium

ERK : Extracellular signal-Regulated Kinases = Kinases régulées par des signaux extracellulaires

ETTs : acides époxyeicosatriénoïques

FE : Fractional Ejection = Fraction d'Ejection

Foxo3a : forkhead-3a

FR : Fraction de Raccourcissement

FS : Fractional Shortening = Fraction de Raccourcissement

GMPc : Guanosine Monophosphate cyclique

GPx : Glutathion Peroxydase

GTP : Guanosine Triphosphate

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

HO•: Radical hydroxyle

HFpEF : Heart Failure with preserved Ejection Fraction = Insuffisance cardiaque avec fraction d'éjection préservée

HFrEF : Heart Failure with reduced Ejection Fraction = Insuffisance cardiaque avec fraction d'éjection réduite

HR : Heart Rate = Fréquence cardiaque

ICAM-1 : Intercellular Adhesion Molecule 1 = Molécule d'Adhésion Intercellulaire 1

IGF-1 : Insulin-like Growth Factor 1

INDO : Indométacine

IκB : Inhibiteur de NF-κB

IKK : Protéine Kinase d'IκB

JNK : Protéine kinase c-Jun N-terminal

L-NAME : L-N^G-Nitro Arginine Methyl Ester

LV: Left Ventricle = Ventricule Gauche

LVDD : Left Ventricular (end) Diastolic Diameter = Diamètre télédiastolique du ventricule gauche

LVEDP : Left Ventricular End-Diastolic Pressure = Pression télédiastolique du ventricule gauche

LVPWDT : left ventricular posterior wall diastolic thickness = Epaisseur télédiastolique de la paroi postérieure du ventricule gauche

LVPWST : left ventricular posterior wall systolic thickness= Epaisseur télésystolique de la paroi postérieure du ventricule gauche

LVSD : left ventricular (end) systolic diameter = Diamètre télésystolique du ventricule gauche

MAPK : Mitogen-Activated Protein Kinases = Protéines Kinases des voies Activées par des facteurs Mitogènes

MHC : Myosin Heavy Chain = Chaîne Lourde de Myosine

MLCP : Myosin-Light-Chain Phosphatase = phosphatases des chaînes légères de myosine

MMP : Métalloprotéase

mTOR : mammalian Target Of Rapamycin = cible de la rapamycine chez les mammifères

NAFLD : Non-Alcoholic Fatty Liver Disease = stéatopathie non alcoolique

NCX : échangeur Na⁺/Ca²⁺

NFATc3 : Nuclear Factor of Activated T-cells 3 = Facteur Nucléaire des Cellules T Activées 3

•NO : monoxyde d'azote

NF- κ B : Nuclear Factor-kappa B = Facteurs nucléaires améliorateurs de chaîne légère kappa de cellules B activées

NPY : Neuropeptide Y

O₂^{•-} : Anion superoxyde

O₃ : Ozone

OAO : Obese Adopted by Obese = petit né de mère obèse adopté par une autre mère obèse

OMO : Obese Mother Offspring = Petit né de mère obèse

ONOO⁻ : Anion Peroxynitrite

PBS : Phosphate Buffered Saline = Tampon phosphate salin

PGI₂ : Prostaglandine I₂

PKA : Protéine Kinase A

Pi : Phosphate Inorganique

PI3K : Phosphoinositide 3-Kinase

POMC : Proopiomélanocortine

RCPG : Récepteurs couplés aux protéines G

ROS : Reactive Oxygen Species = Espèces Réactives de l'Oxygène

RyR2 : Récepteur de la Ryanodine de type 2

SDT : Septum Diastolic Thickness = Epaisseur du septum en diastole

SERCA2 : Sarcoplasmic Reticular Ca²⁺-ATPase 2 = ATPase calcium-dépendante du réticulum sarcoplasmique

SOD : Superoxyde Dismutase

SR : Sarcoplasmic Reticulum

SST : Septum Systolic Thickness = Epaisseur du septum en systole

STAT3 : Signal Transducer and Activator of Transcription 3 = Signal transducteur et activateur de la transcription 3

SysP : Systolic Pressure = Pression systolique

TGF : Transforming Growth Factor = Facteur de croissance transformant

TLR4 : Toll-Like Receptor 4 = Récepteur de type Toll 4

TNF : Tumor Necrosis Factor = Facteurs de nécrose tumorale

TTC : 2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride

TTE : Transthoracic echocardiography = Echocardiographie transthoracique

VEGFA : Vascular Endothelial Growth Factor A = Facteur de Croissance Endothéliale Vasculaire
A

WGA : Wheat Germ Agglutinin = Agglutinine de germe de blé

Table des Figures

Figure 1 : **Schéma représentatif d'un chromosome, des histones, de la double hélice d'ADN et de la réaction de méthylation de l'ADN par les DNMT 3** (d'après Lorenzen et al., 2012).....13

Figure 2 : **Schéma représentatif des extrémités N- et C-terminales des histones du nucléosome et exemples de modifications épigénétiques possibles selon les résidus** (adapté d'après Gräff and Mansuy, 2008).14

Figure 3 : **Représentation schématique des trois principaux mécanismes impliqués dans la régulation épigénétique** (d'après Kim et al., 2011).15

Figure 4 : **(a) Représentation schématique de la vascularisation du foie humain.** Illustration issue de **The American Cancer Society** (<https://www.cancer.org/cancer/liver-cancer/treating/embolization-therapy.html>), 2019. **(b) Représentation schématique des 4 lobes d'un foie de rat en face ventrale (vue du dessus – image supérieure, vue du dessous – image inférieure)** (d'après Rogers and Dintzis, 2018).19

Figure 5 : **Schéma représentant les actions des hormones pancréatiques insuline et glucagon sur les principales voies métaboliques du glucose (WAT : White Adipose Tissue)** (adapté d'après Ruud et al., 2017).21

Figure 6 : **Représentation schématique des modifications de l'expression des adipokines dans le cas de l'obésité (différence entre tissu adipeux sous-cutané et viscéral)** (d'après González-Muniesa et al., 2017).26

Figure 7 : **Effets programmateurs d'un environnement utérin inadéquat sur la croissance fœtale, et sur le développement d'anomalies pouvant conduire à un éventuel syndrome métabolique** (d'après Symonds et al., 2009).28

Figure 8 : **Schéma représentatif de la structure interne du cœur humain.** Illustration issue de **Anatomy and physiology**, chapitre 19.1 : Heart anatomy (OpenStax, Anatomy & Physiology. OpenStax CNX. Feb 26, 2016. <http://cnx.org/contents/14fb4ad7-39a1-4eee-ab6e-3ef2482e3e22@8.24.>)30

Figure 9 : **Schéma représentatif des différentes couches composant la paroi cardiaque.** Illustration issue de **Anatomy and physiology**, chapitre 19.1 : Heart anatomy (OpenStax, Anatomy & Physiology. OpenStax CNX. Feb 26, 2016. <http://cnx.org/contents/14fb4ad7-39a1-4eee-ab6e-3ef2482e3e22@8.24.>)31

Figure 10 : **Schéma représentatif de la double circulation du sang dans le corps humain et au niveau des différentes cavités cardiaques. Les flèches indiquent le sens de circulation du sang (en bleu, le sang désoxygéné ; en rouge, le sang oxygéné).** Illustration issue de **Anatomy and physiology**, chapitre 19.1 : Heart anatomy (OpenStax, Anatomy & Physiology. OpenStax CNX. Feb 26, 2016. <http://cnx.org/contents/14fb4ad7-39a1-4eee-ab6e-3ef2482e3e22@8.24.>)32

Figure 11 : Schéma représentatif de la transmission du potentiel d'action depuis le nœud sinusal (SA node) vers les cardiomyocytes (à gauche) et les composants d'un disque intercalaire entre deux cellules (à droite). © 2011 Pearson Education, Inc.	34
Figure 12 : Schéma représentatif des principales structures d'un sarcomère, et des interactions entre filaments fins et épais lors d'une contraction cardiaque (d'après Katz, 1992). A) Le sarcomère est au repos. B) Lors d'une contraction, les filaments épais s'accrochent aux filaments fins et les tirent vers le centre du sarcomère, rapprochant les deux lignes Z. C) Les filaments fins se chevauchent pour permettre le raccourcissement maximal du sarcomère.	35
Figure 13 : Schéma représentatif des interactions actine-myosine aboutissant au raccourcissement des sarcomères des cardiomyocytes lors d'une contraction cardiaque (d'après Cooper, 2000). La liaison d'un ATP sur la myosine décroche cette dernière de l'actine. L'hydrolyse de l'ATP induit un changement de conformation de la tête de myosine, avant qu'elle ne se fixe un peu plus loin sur l'actine. Le départ de l'ADP et Pi induit le changement de conformation de la myosine, qui va retourner à sa position de repos tout en tractant le filament fin.	37
Figure 14 : Schéma représentant le cytosquelette des CMLs. A) CML et son réseau hexagonal de filaments cytosquelettique. B) L'actine contractile (CA) est localisée autour de la myosine (My) ; ils forment l'appareil contractile. Certains filaments d'actine sont ancrés à la membrane plasmique (M) au niveau des plaques d'adhérence (DP) et au reste du réseau via les corps denses (DB). Les filaments d'actines non contractiles (CskA) relient les corps denses entre eux. C) Cycles de polymérisation/dépolymérisation de l'actine et fixation aux protéines de la plaque d'adhérence (d'après Tang and Anfinogenova, 2008).	42
Figure 15 : Schéma représentant la régulation de la contraction des CMLs via les RCPG. DG : diacylglycerol ; IP3 : inositol 1,4,5-trisphosphate ; MLC Kinase : myosin light chain kinase ; PKC : Protéine kinase C ; RhoGEF : guanine nucleotide exchange factor (d'après Webb, 2003).	43
Figure 16 : Schéma représentant la formation de ROS impliqués dans la vasoréactivité (adapté d'après Wong and Vanhoutte, 2010).	44
Figure 17 : Schéma représentant les différents mécanismes régulant la vasorelaxation endothélium-dépendante. Phospholipase A2 : PLC ; Cytochrome P450 : CYP4502c ; Canaux potassiques calcium-dépendants : K+Ca ; Adénylate Cyclase: AC ; Adénosine Monophosphate cyclique: cAMP ; Guanosine Monophosphate cyclique: cGMP ; Guanylate Cyclase soluble: sGC ; Récepteur à la prostacycline : IP (d'après Ozkor and Quyyumi, 2011).	47
Figure 18 : Exemple d'image obtenue par échocardiographie mode M. Paramètres d'intérêt : FC : fréquence cardiaque (batt./min) ; SIVd : épaisseur du septum en diastole (mm) ; SIVs : épaisseur du septum en systole (mm) ; VGd : épaisseur du ventricule gauche en diastole (mm) ; VGs : épaisseur du ventricule gauche en systole (mm) ; PPVGd : épaisseur de la paroi postérieure du ventricule gauche	

en diastole (mm) ; PPVGs : épaisseur de la paroi postérieure du ventricule gauche en systole (mm) ;
FE : Fraction d'éjection (%) ; FR : Fraction de raccourcissement (%).89



Table des Tableaux

Tableau 1 : **Exemples d'associations entre des atteintes périnatales et des maladies de l'adulte** (adapté d'après **Bloch et al., 2007**).**11**

Tableau 2 : **Liste de facteurs potentiels impliqués dans le remodelage ventriculaire et pouvant à long terme amener à une dysfonction ventriculaire** (adapté d'après **Azevedo et al., 2016**).**49**

Tableau 3 : **Degré d'obésité en fonction de l'Indice de Masse Corporelle (OMS, 2020)**.**58**

INTRODUCTION

Chapitre 1 : Programmation fœtale de maladies métaboliques et cardiovasculaires

1. Programmation fœtale

1.1. Origine du concept de « programmation fœtale »

Au cours de la grossesse, le fœtus va pouvoir voir son développement modifié par les différents stimuli du milieu intra-utérin avec lequel il sera en contact jusqu'à sa naissance. L'état de santé de la mère joue en effet un rôle important dans le développement fœtal. Plusieurs facteurs peuvent rendre l'environnement utérin défavorable au bon développement du fœtus : un déséquilibre nutritionnel (sous- ou suralimentation/obésité, induisant carences ou au contraire, hyperglycémie et hyperlipidémie), une consommation d'alcool, un surdosage de médicaments, le tabagisme, l'exposition à des toxines environnementales, à des maladies chroniques de la mère (diabète, hypertension, infections virales comme le VIH ou le Zika) ou encore des accidents gestationnels (hypoxie intra-utérine, décollement ou lésion placentaire, pré-éclampsie). Le fœtus doit alors s'adapter pour garder un développement optimal dans ce nouveau milieu. Cette adaptation, généralement anormale, provoque des changements d'ordre structurel et fonctionnel de certains organes du fœtus qui pourront se prolonger jusqu'à l'âge adulte, et influencer son état de santé sur le long terme. Plusieurs études ont ainsi mis en avant un lien entre des conditions de développement fœtal défavorables, voire délétères, et l'apparition de pathologies, notamment cardiovasculaires et métaboliques, à l'âge adulte (Ramirez-Velez, 2012).

De ces différentes observations est née l'hypothèse de « **programmation fœtale** » selon laquelle un développement fœtal perturbé par des stimuli intra-utérins anormaux est susceptible d'induire une adaptation structurelle et fonctionnelle irréversible du fœtus, dont les effets perdureraient jusqu'à l'âge adulte en favorisant l'apparition, parfois précoce, de diverses pathologies.

En 1989, David Barker fut le premier à évoquer une potentielle origine fœtale de l'apparition de pathologies de l'adulte. Dans une première étude, il émit l'hypothèse selon laquelle les conditions environnementales ayant un effet négatif sur la croissance et le développement prénatal pourraient être des facteurs de risque dans le développement de troubles ischémiques cardiaques. Pour étayer cette hypothèse, lui et son équipe ont étudié 5654 hommes nés entre 1911 et 1930 dans le comté d'Hertfordshire en Angleterre et ont mis en évidence que ceux nés à terme avec un plus faible poids de naissance (inférieur à 2,5 kg) avaient trois fois plus de risques de décéder de pathologies ischémiques cardiaques (Barker et al., 1989a). Ce faible poids de naissance, malgré une naissance à terme, semblait aussi indiquer un retard de croissance au stade fœtal. Ces premiers travaux permirent par la suite d'associer le faible poids de naissance à plusieurs type de pathologies à l'âge adulte, telle que l'hypertension (Barker and Osmond, 1988 ; Barker et al., 1993 ; Manning and Vehaskari,

2001), le diabète de type 2 (Barker et al., 1993 ; Burke et al., 2004), les troubles cardiovasculaires (Rich-Edwards et al., 1997 ; Barker, 1997) ou encore le cancer (Spector et al., 2009 ; Spracklen et al., 2014).

Les travaux de Barker mirent ainsi en lumière un lien entre milieu fœtal et développement de multiples pathologies au cours de la vie adulte, ce qui a donné naissance au concept de la « programmation fœtale » de diverses maladies de l'adulte.

1.2. Hypothèse mécanistique de la programmation fœtale

1.2.1. Hypothèse de Barker

Aussi connue sous le nom de « **phénotype d'épargne** », cette hypothèse a vu le jour en 1992 grâce aux travaux de Hales et Barker (Hales and Barker, 1992). Ils ont proposé l'idée qu'une nutrition fœtale insuffisante au cours de la grossesse aurait pour effet à long terme le sous-développement du système endocrinien du pancréas et de fortes chances de développer une insulino-résistance et un diabète de type 2 à l'âge adulte. Cette sous-nutrition maternelle, notamment de type hypoglycémique, induirait chez le fœtus une diminution de la production d'insuline afin de préserver au maximum le développement d'organes considérés comme vitaux, comme le cœur et le cerveau, mais provoquerait aussi un déficit en cellules β des îlots de Langerhans, puisque ces dernières sont moins stimulées et leur rôle est moins important dans ces conditions. Ces modifications métaboliques rendraient ainsi le fœtus plus adapté à ce milieu intra-utérin différent, augmentant ses chances de survie, mais pourraient perdurer à l'âge adulte et le rendrait plus susceptible de développer une insulino-résistance et un diabète de type 2.

Cette étude a ainsi montré que le fœtus était capable de s'adapter aux carences nutritionnelles de son environnement intra-utérin. En réduisant la croissance de certains organes au profit de ceux considérés comme essentiels à sa survie immédiate, il a pu optimiser l'utilisation des nutriments par son organisme, économisant les ressources à sa disposition. Ainsi, ces réponses adaptatives auraient permis de « préparer » le fœtus à vivre dans un deuxième contexte de sous-nutrition, post-natal cette fois.

1.2.2. Théories du « mismatch » et des 1000 jours

Par la suite, l'hypothèse de Barker a été étendue. La théorie du « **mismatch** » (ou hypothèse d'incompatibilité) a vu le jour en comparant les conséquences métaboliques sur les fœtus nés soit lors de la grande famine des Pays-Bas (1944-1945) (Ravelli et al., 1998), soit durant la grande famine de Leningrad (1941-1944) (Stanner et al., 1997). L'étude de 702 personnes par Ravelli a pu montrer qu'une exposition *in utero* à la famine était liée à une intolérance au glucose à l'âge adulte, et ce, malgré un poids moyen de naissance supérieur à 2,5 kg (3351 g). A l'inverse, l'étude sur 357 personnes par Stanner n'a pas mis en évidence de lien entre sous-nutrition fœtale liée à la famine, et intolérance au glucose, dyslipidémie, hypertension ou pathologies cardiovasculaires à l'âge adulte. Ces différences de résultats seraient dues à la durée de chaque famine. Celle de Leningrad a duré 4 ans, la sous-nutrition présente durant le développement utérin des fœtus a ensuite perduré après leur naissance. Leur organisme était donc adapté à ce milieu post-natal hypo-calorique, pourtant généralement défavorable. La famine des Pays-Bas a, quant à elle, duré un hiver (Septembre 1944 à Mai 1945), suffisamment longtemps pour induire une restriction calorique intra-utérine chez les fœtus en développement

durant cette période. Cependant, la fin de la famine est arrivée assez vite pour que les apports nutritionnels redeviennent normaux, voire élevés, créant un milieu nutritionnel post-natal très différent du milieu utérin. De ce fait, l'organisme des nouveau-nés n'était plus adapté à cette alimentation riche ; le sous-développement du pancréas ne permettant plus une gestion adéquate du glucose, ceci explique les problèmes métaboliques observés chez les adultes.

Ainsi, ce « mismatch », ce décalage trop important entre l'environnement pré- et post-natal, rendrait la mise en place du phénotype d'épargne inappropriée, incompatible avec la vie post-natale du fœtus et serait la cause du développement de pathologies métaboliques à l'âge adulte.

Une seconde théorie, appelée **théorie des 1000 jours**, est apparue il y a quelques années. Des études récentes ont en effet pu montrer que la période de la petite enfance était elle aussi un moment clé dans l'induction de pathologies tardives, au travers de l'environnement biologique et socio-économique dans lequel évoluait l'enfant (Mameli et al., 2016 ; Moore et al., 2017 ; Díaz-Rodríguez et al., 2020). Ainsi, les 1000 premiers jours de vie de l'enfant, de sa conception à ses 2 ans, ont été décrits comme la période charnière dans le développement de l'enfant et dans l'apparition future de pathologies (Woo Baidal et al., 2016 ; Taveras, 2016 ; Blake-Lamb et al., 2016).

Les résultats mis en avant par l'hypothèse de Barker, les théories du « mismatch » et des 1000 jours sont aujourd'hui rassemblés par l'Organisation Mondiale de la Santé sous une même dénomination officielle : le concept de la **DOHaD** (« Developmental Origins of Health and Diseases » ou « origines développementales de la santé et des maladies ») mettant en avant, durant cette fenêtre de 1000 jours à partir de la conception, le rôle de l'environnement sous toutes ses formes (nutritionnel, écologique, socio-économique) dans l'induction des maladies de l'adulte (Tableau 1).

Facteurs environnementaux responsables de la programmation fœtale	Pathologies liées à la programmation fœtale
<ul style="list-style-type: none"> • Restriction alimentaire maternelle <ul style="list-style-type: none"> – Restriction calorique – Restriction protéique – Restrictions en micronutriments • Substances exogènes <ul style="list-style-type: none"> – Glucocorticoïdes – Nicotine • Perturbations de la circulation utéro-placentaire 	<ul style="list-style-type: none"> Mortalité par accidents cardiovasculaires Maladie coronarienne Diabète (type 1 et 2) Hypertension Dyslipidémie Obésité Ostéoporose Schizophrénie Cancers (sein ; testicule ; leucémies...)
<ul style="list-style-type: none"> Hypoxie périnatale Prééclampsie 	<ul style="list-style-type: none"> Hypertension artérielle pulmonaire

Tableau 1 : **Exemples d'associations entre des atteintes périnatales et des maladies de l'adulte** (adapté d'après **Bloch et al., 2007**).

Cette programmation met en place des régulations épigénétiques pendant le développement du fœtus (Tang and Ho, 2007).

1.3. Mécanismes épigénétiques impliqués

Dans chaque cellule de notre corps se trouve l'ADN, support de l'information génétique répartie sur environ 25 000 gènes. Bien que cette information soit la même dans toutes les cellules, celles-ci n'ont pas toutes le même rôle au sein de l'organisme. De ce fait, tous les gènes d'une cellule ne sont pas activés ou inhibés simultanément, ni en permanence. Ce niveau d'expression peut être modifié par divers signaux, qui permettront alors à la cellule de se différencier au cours du développement ou bien d'ajuster son activité selon les besoins de l'organisme.

Ces modifications sont dites « **épigénétiques** ». L'épigénétique est aujourd'hui décrite comme l'étude des mécanismes modifiant de manière réversible et transmissible l'expression des gènes, sans pour autant modifier directement leur séquence ADN, permettant ainsi, à partir d'une seule cellule, d'obtenir plusieurs phénotypes cellulaires différents.

Les modifications épigénétiques sont induites par l'environnement (alimentation, stress,...) et les cellules y sont sensibles, notamment durant le développement embryonnaire et fœtal puis de manière décroissante avec l'âge (Rodríguez-Rodero et al., 2010). Bien que ces modifications soient généralement réversibles, il arrive cependant que certaines persistent dans le temps, même lorsque le signal qui les a induits a disparu. En 2005, Fraga a ainsi pu montrer que deux jumeaux homozygotes, bien qu'ayant le même patrimoine génétique lors de leur conception, ont à l'âge adulte un épigénome différent l'un de l'autre, et que ces différences épigénétiques s'accumulaient de manière âge-dépendante. Malgré leur génome identique, ces deux individus peuvent donc avoir un phénotype général différent, ce qui pourra à long terme modifier leur sensibilité à certaines pathologies (Fraga et al., 2005).

L'impact de l'environnement intra-utérin, et notamment la nutrition, est donc d'autant plus grand que les modifications épigénétiques induites durant le développement fœtal pourront potentiellement perdurer à l'âge adulte. Plusieurs études semblent d'ailleurs indiquer que certaines de ces modifications peuvent être conservées d'une génération à l'autre (Kaati et al., 2007 ; Jablonka and Raz, 2009 ; Perez and Lehner, 2019).

La chromatine correspond à la structure au sein de laquelle l'ADN est condensé, en association avec des ARN et deux types de protéines : histones et non-histones, dans le volume restreint du noyau eucaryote. Son niveau de condensation peut être modifié par l'épigénétique, permettant de moduler l'expression des gènes en facilitant ou empêchant leur accès à la machinerie transcriptionnelle. L'épigénétique peut s'appliquer de plusieurs façons sur les différents composants de la chromatine : la **méthylation de l'ADN**, les **modifications des histones** et les **régulations par des ARN non codants** sont les mécanismes épigénétiques les mieux décrits à ce jour.

1.3.1. Méthylation de l'ADN

La méthylation de l'ADN est un mécanisme qui consiste à ajouter de manière covalente un groupement méthyl sur une cytosine précédant une guanine, au niveau de ce qu'on appelle un îlot CpG. Il s'agit de régions nucléotidiques riches en Cytosine et Guanine qui sont fréquemment trouvées à proximité, voire directement dans les promoteurs des gènes. La structure de la chromatine adjacente à ces îlots CpG facilite la transcription du

gène. A l'inverse, les îlots CpG méthylés au niveau des régions promotrices de gènes vont induire une compaction de la chromatine. Sous cette forme, elle sera alors inaccessible aux enzymes de la transcription, empêchant l'expression des gènes (Kanherkar et al., 2014).

Cette méthylation peut être effectuée par 3 enzymes, appelées DNA methyltransferases (DNMTs) (Kouzaride, 2007 ; Kanherkar et al., 2014 ; Jeltsch et al., 2017 ; Lorenzen et al., 2012 ; Marousez et al., 2019):

- la DNMT 1 est responsable du maintien du profil de méthylation, en recopiant chaque site méthylé d'une cellule à l'autre au cours de la mitose ;
- la DNMT 2 est associée aux cellules souches embryonnaires et potentiellement à la méthylation des ARN ;
- les DNMT 3a et 3b sont impliquées dans la méthylation *de novo* de l'ADN au niveau des îlots CpG (Figure 1).

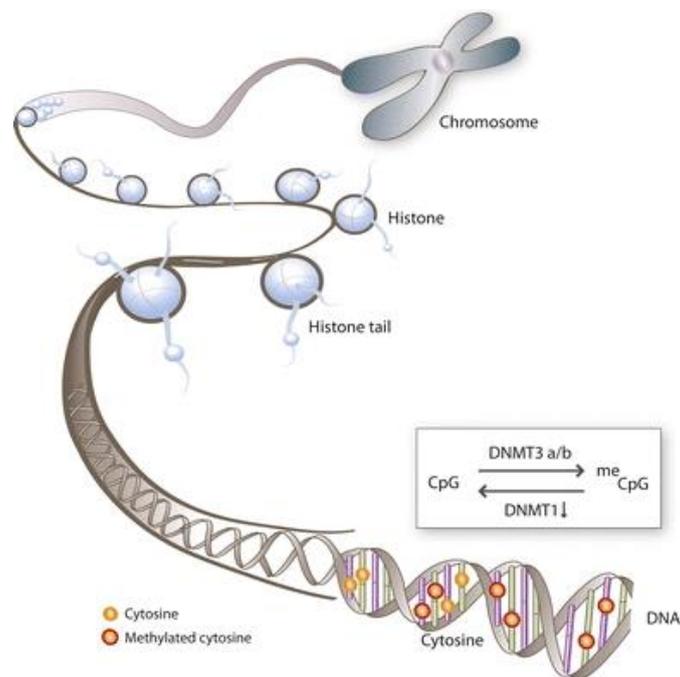


Figure 1 : **Schéma représentatif d'un chromosome, des histones, de la double hélice d'ADN et de la réaction de méthylation de l'ADN par les DNMT 3** (d'après Lorenzen et al., 2012).

1.3.2. Modifications des histones

Les histones sont des protéines essentielles à la structure de base de la chromatine. Elles vont s'associer à l'ADN par groupe de huit (H2A, H2B, H3 et H4) pour le compacter, celui-ci s'enroulant autour de cet octamère d'histones et créant ainsi de plus grosses structures globulaires appelées nucléosomes. Le degré de condensation de l'ADN autour des nucléosomes n'est pas toujours le même le long de la chromatine : sous forme d'euchromatine, l'ADN est décondensé, ce qui rend les gènes accessibles aux protéines de la transcription ; à l'inverse, sous forme d'hétérochromatine, le niveau de compaction de la chromatine est plus élevé, les gènes sont peu accessibles et donc peu ou pas exprimés.

Les modifications des histones sont le deuxième grand mécanisme épigénétique connu aujourd'hui. Elles sont post-traductionnelles et s'effectuent au niveau des extrémités N- ou C-terminales qui dépassent du noyau octamérique d'histones. Elles incluent notamment : **la méthylation de lysines et d'arginines, la phosphorylation de sérines et thréonines, l'acétylation et l'ubiquitinylation de résidus lysines** (Figure 2), ou encore l'ADP-ribosylation sur la queue des histones. Ces diverses modifications, effectuées par des enzymes spécifiques, ont des effets variables sur le niveau de compaction de la chromatine et donc sur la transcription des gènes. Par exemple, l'acétylation des histones par les histone acétyltransférases (HATs) va généralement décompacter la chromatine pour permettre la transcription de gènes cibles. La déacétylation de lysines par les histones déacétylases (HDAC) va au contraire avoir tendance à recondenser la chromatine et inactiver la transcription (Kanherkar et al., 2014).

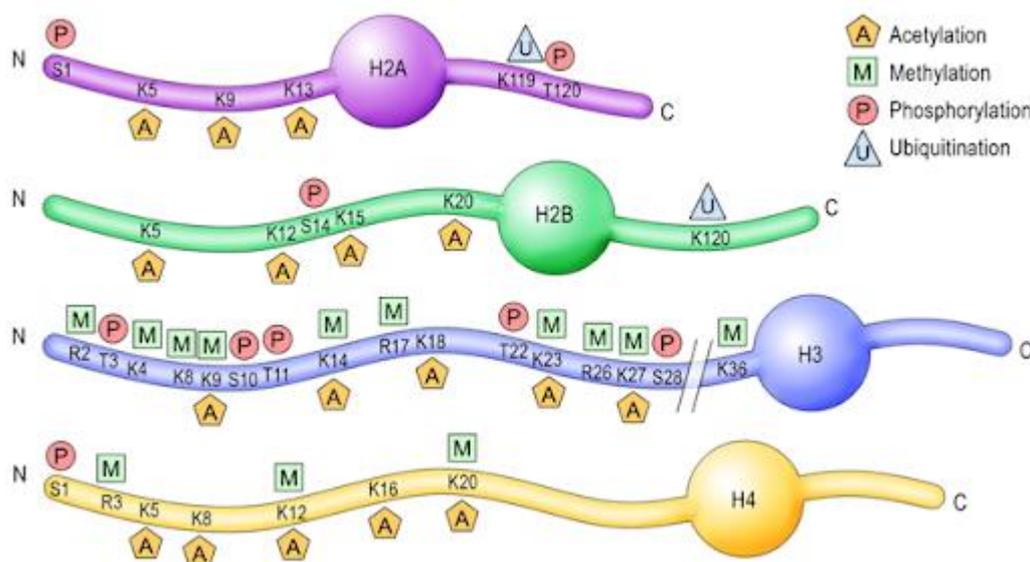


Figure 2 : **Schéma représentatif des extrémités N- et C-terminales des histones du nucléosome et exemples de modifications épigénétiques possibles selon les résidus** (adapté d'après **Gräff and Mansuy, 2008**).

1.3.3. ARN non codants

Les ARN non codants sont des ARN qui ne seront pas transcrits en protéines. Certains, appelés ARN interférants, sont capables de se lier à des ARNm de manière hautement spécifique et ainsi de limiter voire d'empêcher complètement l'expression d'un ou plusieurs gènes. Deux grands types d'ARN interférants sont connus en tant que modulateurs épigénétiques post-transcriptionnels : les **petits ARN interférants (siRNA)** et les **micro-ARN (miRNA)**.

Ces deux types d'ARN sont de petites tailles : 21 à 24 nucléotides de longs en moyenne. Les miRNA sont simple brin et ont une complémentarité partielle avec leur ARNm cible, tandis que les siRNA sont double brin et sont 100% complémentaire à leur ARNm cible (Bartel, 2004). Dans les deux cas, un complexe protéique appelé RISC est nécessaire pour dégrader l'ARNm cible une fois que celui-ci est lié à un miRNA ou siRNA (Rana, 2007). La plus faible complémentarité des miRNA leur permet de se lier à plusieurs ARNm différents et donc de réguler

l'expression de plus de gènes, ce qui fait qu'ils sont capables d'intervenir dans de nombreux processus biologiques, notamment le développement fœtal.

Ainsi, ces ARN interférants sont, au même titre que la méthylation de l'ADN et les modifications des histones, des éléments clés dans les mécanismes épigénétiques liés à la programmation fœtale (Figure 3). L'expression aberrante de certains miRNA et siRNA est d'ailleurs associée à de nombreuses pathologies (Girardot et al., 2012 ; Baer et al., 2013).

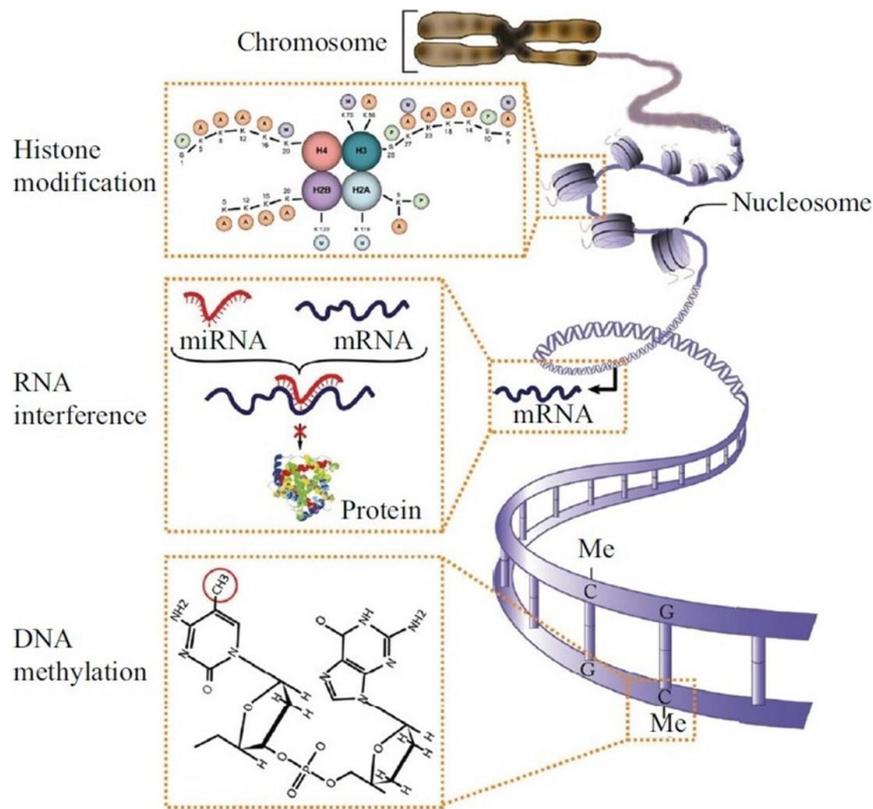


Figure 3 : **Représentation schématique des trois principaux mécanismes impliqués dans la régulation épigénétique** (d'après Kim et al., 2011).

1.4. Dimorphisme sexuel dans la programmation fœtale

Un des aspects nécessitant d'être exploré dans le cadre des études de programmation fœtale concerne les différences liées au sexe chez la descendance. En effet, la prévalence de plusieurs pathologies, notamment l'obésité, le diabète et l'hypertension, est différente selon le sexe des individus (Hales et al., 2017 ; Li et al., 2021 ; Ramirez and Sullivan, 2018). D'après des hypothèses évolutionnistes, la croissance fœtale des mâles aurait un coût énergétique supérieur aux femelles. Ces dernières seraient mieux protégées, ce qui leur procurerait un avantage sélectif pour la survie. Mais depuis, des études scientifiques ont pu montrer que ces anomalies étaient plutôt dépendantes de l'atteinte du milieu intra-utérin (Grigore et al., 2008). Au niveau de la programmation fœtale, cela signifie que les changements pathologiques du milieu intra-utérin n'affecteraient pas les mâles et les femelles de la même manière.

1.4.1. Dimorphisme sexuel et conséquences sur les fonctions métaboliques et cardiovasculaires

Le développement cardio-métabolique de la descendance est influencé de façon sexe-dépendante par l'environnement intra-utérin. Il a été montré que l'hypoxie prénatale ou une sous-alimentation maternelle au cours de la grossesse avaient un impact négatif plus important chez la descendance mâle que chez la descendance femelle alors qu'une suralimentation maternelle ou de l'obésité avaient l'effet inverse sur la descendance à long terme.

En effet, une hypoxie prénatale est capable d'altérer la fonction mitochondriale cardiaque chez les mâles dans un modèle expérimental d'hypoxie prénatal chez le cochon d'inde. Cette altération se manifeste par une baisse du contenu en ADN mitochondrial au niveau du ventricule gauche, une diminution de l'expression du complexe mitochondrial IV associé à une diminution d'activité. Ces perturbations, uniquement retrouvées chez les mâles, pourraient affecter la contractilité cardiaque (Thompson et al., 2019).

D'autre part, des études épidémiologiques menées sur les données collectées lors la famine d'Amsterdam durant l'hiver 1944 ont mis en évidence qu'en cas de sous-nutrition maternelle durant la grossesse, les femmes nées de ces mères présentaient une adiposité plus élevée, associée à un profil lipidique perturbé (cholestérol et triglycérides élevés) (Stein et al., 2007 ; Lumey et al., 2009), tandis que les hommes développaient une plus grande vulnérabilité à des atteintes neurologiques (Brown and Susser, 1997 ; de Rooij et al., 2016). Cependant, un modèle expérimental de restriction nutritionnelle chez le rat a montré des différences par rapport à ces études épidémiologiques puisqu'une hyperphagie et une obésité étaient observées chez la descendance mâle mais pas chez les femelles (Dearden et al., 2018). Il a également été noté, dans plusieurs modèles animaux, des altérations sexe-spécifiques du nombre de néphrons, de la réactivité vasculaire et du système rénine-angiotensine-aldostérone favorisant la survenue d'une hypertension, majoritairement chez les mâles (Grigore et al., 2008 ; Aiken and Ozanne, 2013).

Enfin, à l'inverse, en cas d'obésité maternelle, la descendance femelle serait plus sensible à la programmation de l'homéostasie du glucose, tandis que les mâles seraient plus sensibles à des modifications de poids corporel et d'adiposité, associées à une inflammation de l'hypothalamus (Dearden et al., 2018).

1.4.2. Mécanismes impliqués

Ces différences peuvent avoir pour origine l'action des hormones sexuelles et métaboliques, des modifications épigénétiques et la manière dont le placenta répond aux altérations nutritionnelles pendant la grossesse.

a) Rôle des hormones sexuelles

L'œstradiol serait capable de réguler la neurogenèse, la migration et la mort cellulaire dans plusieurs parties du cerveau, très tôt au cours du développement. Une sur- ou sous-expression des hormones sexuelles durant le développement foetal peut alors provoquer des changements permanents dans l'architecture neuronale (McCarthy, 2008). Une des régions touchée, et hautement sexuellement dimorphique, est l'hypothalamus. Son rôle est essentiel dans la régulation de l'appétit et dans l'homéostasie énergétique grâce à la présence de neurones

spécifiques (POMC par exemple) et de nombreux récepteurs dont celui de la leptine. En effet, la leptine est une hormone capable d'inhiber la prise alimentaire et d'augmenter les dépenses énergétiques en se fixant sur ses récepteurs spécifiques situés dans l'hypothalamus (Meister, 2000). Une restructuration de l'hypothalamus, suite à des changements œstrogéniques, peut donc perturber les effets de la leptine et de plusieurs autres hormones sur la gestion de l'énergie et l'alimentation.

Il a notamment été observé que les souris mâles possédaient moins de neurones POMC que les femelles (Nohara et al., 2011) et que les œstrogènes avaient des effets inhibiteurs sur la prise alimentaire des femelles (Chen et al., 2015), ce qui peut expliquer que les mâles aient une prise alimentaire plus élevée que les femelles. La sensibilité au glucose au niveau hypothalamique seraient également sexe-dépendante, via la régulation par les œstrogènes (Santiago et al., 2016).

Les taux de leptine circulants sont aussi différents entre mâles et femelles ; chez les rongeurs, le taux de leptine est supérieur chez les mâles, tandis que chez l'être humain, ce taux est plus élevé chez la femme proportionnellement à son adiposité (Asarian and Geary, 2013 ; Saad et al., 1997). Dans les deux espèces, les femelles sont plus insulino-résistantes et possèdent des taux d'insuline circulants plus élevés que les mâles dès la naissance (Hawkes et al., 2011 ; Manios et al., 2014). Enfin, de par l'action des œstrogènes, les femelles possèderaient une gestion de l'adiposité ainsi qu'une sensibilité à l'insuline, au glucose et à la leptine différentes des mâles, avec en plus des effets protecteurs contre l'inflammation de l'hypothalamus et contre les troubles de la vasoréactivité (Dearden et al., 2018 ; Grigore et al., 2008). Ces différences dans la sensibilité aux nutriments et au niveau neuronal au cours du développement fœtal peuvent rendre les mâles et les femelles plus ou moins vulnérables à la programmation fœtale par l'environnement nutritionnel.

b) Rôle des modifications épigénétiques

Un lien entre hormones sexuelles et mécanismes épigénétiques a été établi : l'œstradiol modifierait l'expression de certaines DNMTs (Galetzka et al., 2007) et HDACs (Zhao et al., 2010) dans certains organes fœtaux (dont l'hypothalamus) et à plusieurs étapes du développement. Ces différences d'expression peuvent expliquer certains changements épigénétiques sexe-dépendants, en termes de méthylation de l'ADN et de modification des histones. Des altérations nutritionnelles au cours de la grossesse pourront donc influencer les motifs épigénétiques et ainsi affecter plusieurs fonctions biologiques à l'âge adulte. Ce qui pourrait expliquer le dimorphisme sexuel dans les prévalences de certaines pathologies comme l'obésité ou le diabète.

c) Rôle du placenta

Le placenta joue un rôle clé dans la croissance et le développement du fœtus, en particulier dans des conditions défavorables. Le placenta des mâles et des femelles ne possède pas les mêmes gènes ni les mêmes expressions protéiques, en partie car les gènes présents sur les chromosomes sexuels sont fortement impliqués dans la placentogenèse (Alur, 2019 ; Gabori et al., 2013). Chez la souris mâle, le placenta serait de plus petite taille et serait moins bien préparé à faire face à certains changements de l'environnement fœtal (Eriksson et al., 2010). A l'inverse, le placenta des femelles aurait de manière générale de meilleures capacités d'adaptation à de nombreuses conditions défavorables (Dearden et al., 2018 ; Alur, 2019).

Ainsi, il est important de prendre en compte le sexe des individus étudiés dans le cadre de la programmation fœtale d'anomalies métaboliques et cardiovasculaires, afin de pouvoir mettre en place les traitements thérapeutiques appropriés et pouvoir faire des suivis adaptés.

2. Fonction métabolique

Le métabolisme rassemble les processus biochimiques qui produisent ou consomment de l'énergie au sein d'un être vivant (DeBerardinis and Thompson, 2012). Les voies métaboliques sont nombreuses et complexes, mais peuvent être classées dans deux grandes catégories : d'une part, l'ensemble des réactions chimiques permettant la biosynthèse de constituants cellulaires et leur stockage, appelé **anabolisme** ; d'autre part, celles permettant de dégrader ces constituants pour en libérer l'énergie ou pour les réutiliser afin de construire d'autres constituants, appelé **catabolisme**. Les glucides et les lipides sont les deux principales sources d'énergie de l'organisme et sont soit dégradés, soit stockés, en fonction des besoins énergétiques (Bouché et al., 2004 ; Jo et al., 2016).

2.1. Métabolisme du glucose

2.1.1. Le foie et le pancréas

Ces deux organes sont des glandes amphicrines, c'est-à-dire à la fois exocrines et endocrines.

Le **foie** est le plus gros organe abdominal et organe sécréteur du corps. Il est caché sous les côtes dans la partie supérieure de l'abdomen, sous le diaphragme et à droite de l'estomac. Ses fonctions principales sont le transport, le stockage et l'épuration du sang, la biosynthèse de la bile (rôle exocrine) et il joue un rôle dans le métabolisme des glucides et lipides (rôle endocrine). La bile favorise la digestion des lipides grâce à des sels biliaires, et elle permet l'excrétion des déchets métaboliques, des toxines dégradées par les cellules hépatiques ainsi que des excédents de cholestérol qui seront par la suite évacués dans les fèces. Le sang arrive au foie par l'artère hépatique propre (sang oxygéné) et par la veine porte (riche en nutriments après la digestion) qui vont se ramifier en de nombreux capillaires autour des structures fonctionnelles du foie, les lobules hépatiques, afin de permettre les échanges avec le sang. Une fois filtré, le sang est renvoyé dans la circulation via les veines hépatiques, qui rejoignent ensuite la veine cave inférieure (Figure 4a). Chez l'homme, le foie est composé de deux « lobes » principaux (droit et gauche, séparés par le ligament falciforme), de deux plus petits lobes (lobe caudé et lobe carré, situés sur la face ventrale) et d'une vésicule biliaire, reliés au duodénum par le canal cholédoque (Figure 4a). Chez le rat, le foie est divisé quatre lobes principaux et ne possède pas de vésicule biliaire (Figure 4b) (Vdoviaková et al., 2016). Au niveau cellulaire, le foie est composé à 70 % d'hépatocytes rassemblés en lobules hépatiques, dont le rôle est entre autre de stocker ou produire du glucose, sécréter la bile ainsi que de détoxifier le sang. Les 30 % restants sont repartis entre des cholangiocytes, des cellules endothéliales, des cellules de Küppfer, ainsi que des cellules stellaires. Ce sont les hépatocytes qui se chargent du métabolisme du glucose (Adeva-Andany et al., 2016) : sous l'effet des hormones pancréatiques, ils peuvent soit synthétiser (glycogénogenèse), soit dégrader (glycogénolyse) le glycogène, qui est une forme de stockage à court terme du

glucose, en période de digestion et de jeûne respectivement. Si les stocks de glycogène sont épuisés, le foie est capable d'utiliser des protéines, du lactate ou du glycérol pour re-synthétiser du glucose (gluconéogenèse). A l'inverse, lorsque le foie ne parvient plus à stocker de glycogène, le glucose en excès est transformé en acide gras par lipogenèse.

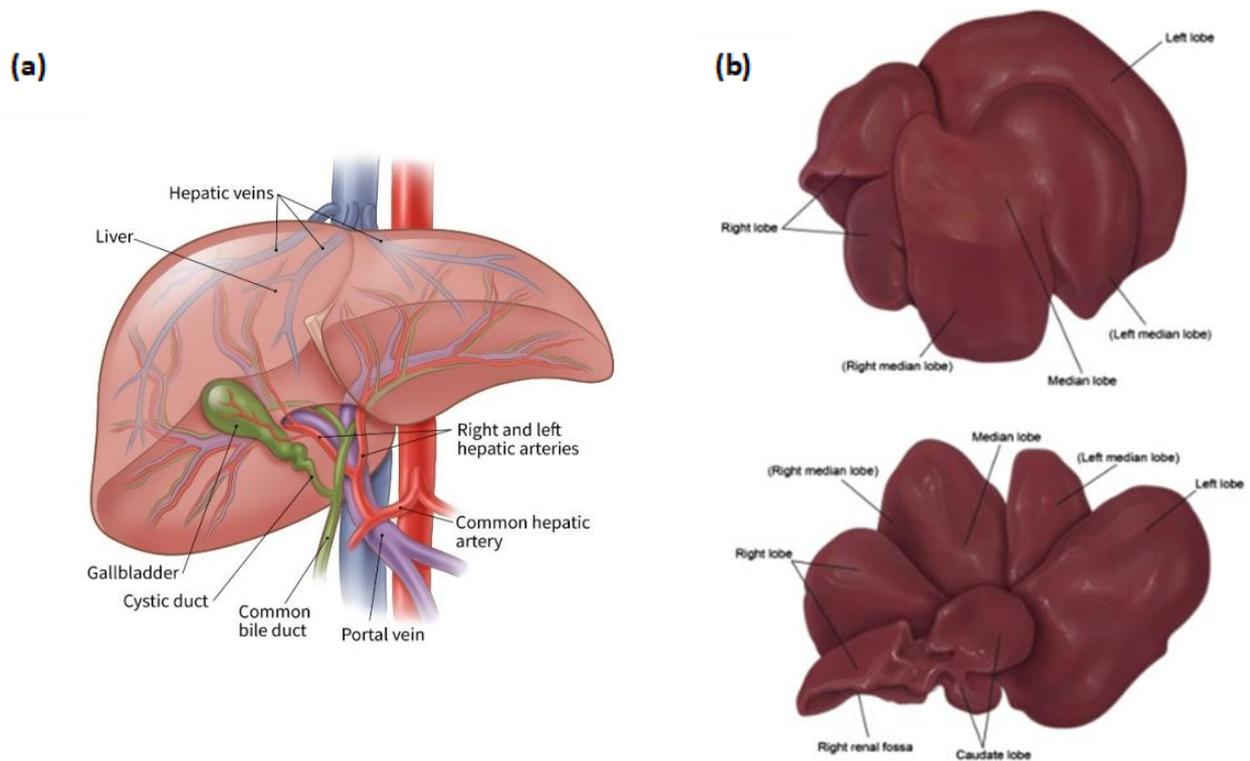


Figure 4 : **(a) Représentation schématique de la vascularisation du foie humain.** Illustration issue de **The American Cancer Society** (<https://www.cancer.org/cancer/liver-cancer/treating/embolization-therapy.html>), 2019. **(b) Représentation schématique des 4 lobes d'un foie de rat en face ventrale (vue du dessus – image supérieure, vue du dessous – image inférieure)** (d'après **Rogers and Dintzis, 2018**).

Le **pancréas** est le deuxième plus gros organe sécréteur de l'organisme. Il est localisé dans la partie supérieure de l'abdomen, entre la rate et l'intestin grêle et en arrière de l'estomac. Glande annexe au tube digestif, il participe à la digestion en sécrétant dans l'intestin du suc pancréatique riche en bicarbonates et enzymes permettant la dégradation des glucides, lipides et protéines. Richement irrigué, il libère aussi des hormones directement dans la circulation sanguine, les principales étant l'insuline, le glucagon, la somatostatine et le polypeptide pancréatique. Son rôle exocrine est majoritaire et assuré par les acinis, tandis que son rôle endocrine, minoritaire mais essentielle à la régulation de la glycémie, est effectué via les îlots de Langerhans. Ces derniers sont composés d'au moins quatre types de cellules sécrétrices (Elayat et al., 1995) :

- Les cellules β (65-80 % des îlots)
- Les cellules α (15-20 % des îlots)

- Les cellules δ (3-10 % des îlots)
- Les cellules PP (1-5 % des îlots)

Le sang qui irrigue le pancréas rejoint le foie par la veine porte. Ainsi, les hormones pancréatiques sont transportées vers le foie et le reste de l'organisme pour permettre une modification de l'homéostasie du glucose en fonction des besoins du corps.

2.1.2. Homéostasie du glucose : insuline et glucagon

Le taux de glucose sanguin est un paramètre très finement régulé afin d'éviter de potentiels dysfonctionnements cellulaires (toxicité ou carence énergétique). L'insuline, hypoglycémiant, et le glucagon, hyperglycémiant, sont les deux hormones produites par le pancréas pour ajuster la glycémie ; une modification du ratio insuline/glucagon permet qu'elle reste entre 0,80 et 1,10 mg/dL environ.

L'**insuline** est produite par les cellules β des îlots de Langerhans, essentiellement lorsque celles-ci détectent une concentration élevée de glucose (supérieure à 1 mg/dL). Elle est initialement synthétisée sous forme d'un précurseur inactif qui sera ensuite clivé en insuline mature, avant d'être stockée sous forme de granules dans les cellules β . Lorsque la glycémie augmente, l'élévation de la concentration en glucose dans les cellules β provoque une dépolarisation liée à une entrée de calcium, qui va induire l'exocytose des granules d'insuline. Cette libération d'insuline va induire l'augmentation d'expression du transporteur GLUT4 au niveau des hépatocytes, adipocytes et des cellules musculaires squelettiques. Elle augmente ainsi l'absorption du glucose par les cellules cibles, mais aussi sa métabolisation : d'une part, elle stimule les enzymes de la glycolyse, de la glycogénogenèse, de la lipogenèse, la synthèse de protéines et augmente le transport de certains acides aminés dans les tissus ; d'autre part, elle inhibe les enzymes de la glycogénolyse, de la gluconéogenèse, de la lipolyse et de la protéolyse. Tout ceci va permettre de baisser la concentration en glucose plasmatique (Newsholme and Dimitriadis, 2001 ; Dimitriadis et al., 2011).

Le **glucagon** est quant à lui produit par les cellules α des îlots de Langerhans, et ses effets sont à l'opposé de ceux de l'insuline, augmentant le taux de glucose plasmatique quand celui-ci diminue en dessous des normes physiologiques. Sa production est relativement constante et est normalement régulée par l'insuline, ainsi que par l'amyline, une autre hormone peptidique co-sécrétée avec l'insuline par les cellules β en cas d'hyperglycémie (Young, 2005). Lorsque la glycémie diminue, la sécrétion d'insuline et d'amyline sont elles aussi réduites, le ratio insuline/glucagon diminue à son tour, ce qui stimule alors la sécrétion du glucagon. Comme l'insuline, le glucagon cible les hépatocytes (principalement), ainsi que les adipocytes et les cellules musculaires squelettiques. Il induit la glycogénolyse dans le foie et favorise la lipolyse dans les adipocytes, libérant du glycérol et des acides gras qui pourront être transformés en glucose (gluconéogenèse), tout en inhibant la glycogénogenèse, la voie de la glycolyse ainsi que la synthèse de protéine dans les muscles.

En plus des variations du taux de glucose, il existe d'autres facteurs capables d'influencer sur la sécrétion de ces deux hormones. Par exemple, certains acides aminés issus de la digestion de protéines peuvent induire la production d'insuline et de glucagon, tandis que la somatostatine produite par les cellules δ va l'inhiber.

Ainsi, l'équilibre entre insuline et glucagon permet une gestion précise de la glycémie en fonction des besoins énergétiques (Figure 5). Un déséquilibre du ratio insuline/glucagon va donc perturber l'homéostasie du glucose et peut à long terme provoquer l'apparition d'un diabète.

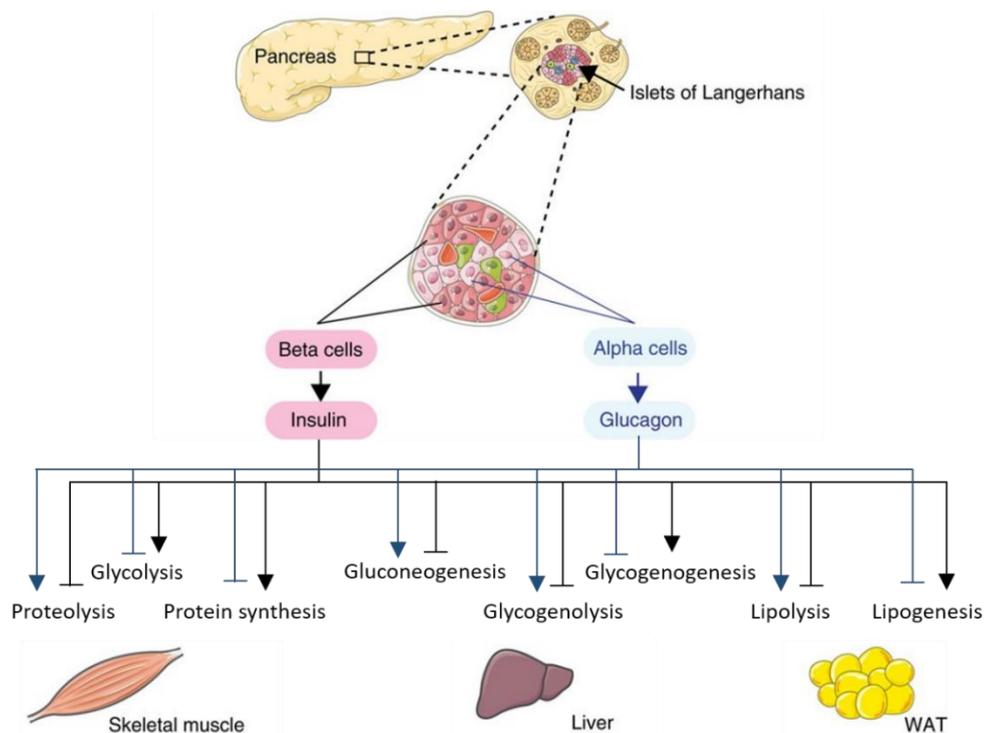


Figure 5 : Schéma représentant les actions des hormones pancréatiques insuline et glucagon sur les principales voies métaboliques du glucose (WAT : White Adipose Tissue) (adapté d'après Ruud et al., 2017).

Chez des patients hyperglycémiques (souvent diabétiques), il a été observé qu'un excès de glucose peut aboutir à un excès de glycolyse dans les cellules cardiaques avec pour conséquences une sur-activation de plusieurs voies de signalisation métaboliques (comme la voie des polyols) ainsi que de la Protéine Kinase C, le tout associé une dysfonction du cycle de Krebs mitochondrial qui aboutit à la production d'espèces réactives de l'oxygène. L'ensemble de ces facteurs peut induire un déséquilibre de l'homéostasie du calcium dans les cardiomyocytes et donc altérer la fonction contractile du cœur (Singh et al., 2018 ; Tang et al., 2010).

2.2. Métabolisme des lipides

Les lipides constituent une grande famille de molécules hydrophobes ou amphiphiles dont les rôles dans l'organisme sont nombreux : ils servent notamment d'éléments de base dans la formation de structures biologiques (cellules et organites), participent à la signalisation cellulaires et permettent le stockage de l'énergie métabolique (lipogenèse). Les lipides comprennent à la fois les acides gras et leurs dérivés mais aussi les stéroïdes, le plus connu étant le cholestérol.

2.2.1. Le tissu adipeux et le foie

Les acides gras sont principalement stockés sous forme de triglycérides dans le **tissu adipeux** et représentent la forme de stockage à long terme de l'énergie chez les animaux. Plusieurs formes de tissus adipeux existent :

- Le **tissu adipeux brun** : essentiellement retrouvé chez les mammifères hibernants et chez le nouveau-né, il est aussi présent chez l'homme adulte, bien que sa prévalence et son activité métabolique diminuent avec le temps (Gesta et al., 2007 ; Graja and Schulz, 2015). Sa fonction première est la thermorégulation : ses adipocytes sont riches en mitochondries ayant la capacité de produire beaucoup d'énergie et donc de chaleur (Enerbäck, 2009). Le tissu est aussi richement vascularisé, lui apportant oxygène et nutriments, et transportant ensuite la chaleur dans le reste du corps.
- Le **tissu adipeux blanc** : chez un individu adulte en bonne santé, il représente jusqu'à 25 % du poids corporel chez la femme, et jusqu'à 20% chez l'homme. Il est majoritairement composé d'adipocytes blancs qui sont chargés de produire, stocker et libérer les lipides. Ces cellules contiennent une seule gouttelette lipidique (98 % du volume cellulaire) composée de triglycérides. D'autres types cellulaires sont présents dans ce tissu : des pré-adipocytes, des fibroblastes, des macrophages, des cellules endothéliales ainsi que sanguines. (Ehrlund et al., 2017)

En plus de stocker les lipides, le tissu adipeux blanc participe à l'équilibre du métabolisme. En effet, les adipocytes blancs jouent le rôle de glandes endocrines et auto-paracrines, c'est-à-dire qu'ils produisent des molécules appelées **adipokines** qui vont agir sur eux-mêmes, sur les cellules voisines, ainsi qu'à distance en passant dans la circulation sanguine. Les adipokines sont nombreuses et leurs actions sont variées : contrôle de l'appétit, régulation de l'immunité, angiogenèse, métabolisme du glucose et des lipides, fonction cardiovasculaire,... (Trayhurn and Beattie, 2001 ; Halberg et al., 2008 ; Galic et al., 2010 ; Gualillo et al., 2007).

- Le **tissu adipeux beige** : ce tissu apparaît au milieu du tissu adipeux blanc en cas d'exposition au froid. Certaines adipocytes blancs vont développer des caractéristiques proches d'adipocytes bruns, avec un phénotype intermédiaire mais réversible. Au lieu de stocker de l'énergie, ils vont se mettre à en produire, comme le tissu adipeux brun (Lo and Sun, 2013).

Le **foie** est lui aussi capable de métaboliser les lipides. En cas de besoins d'énergie, il peut libérer de l'Acetyl-CoA, du NADH et du FADH₂ à partir d'acides gras par β -oxydation : l'Acetyl-CoA est combiné à

l'oxaloacétate pour former de l'acide citrique, qui est ensuite intégré au cycle de Krebs, tandis que le NADH et FADH₂ permettent la production d'ATP dans la chaîne respiratoire. Les adipocytes peuvent apporter ces acides gras au foie en hydrolysant leur réserve de triglycérides (lipolyse), libérant au passage du glycérol qui peut lui aussi être utilisé dans la glycolyse pour les besoins des hépatocytes. Pour fournir le reste de l'organisme en énergie, le foie peut aussi intégrer ce glycérol dans la gluconéogenèse pour envoyer du glucose à d'autres organes, et produire des lipoprotéines qui contiennent divers lipides et les transportent dans la circulation sanguine. Par ailleurs, le foie est un des principaux producteurs de cholestérol. A l'inverse, en cas d'excédent énergétique, le foie peut soit transformer des acides gras en triglycérides et les envoyer dans le tissu adipeux pour être stockés, soit les stocker dans ses propres hépatocytes sous forme de gouttelettes lipidiques (Wang et al., 2013).

Les différents tissus adipeux et le foie fonctionnent donc de pair dans la régulation du métabolisme des lipides. Des dysfonctionnements de ces deux systèmes dans la synthèse et le stockage des lipides, ainsi que dans la production d'hormones et d'adipokines, sont susceptibles d'induire l'apparition de pathologies : NAFLD, syndrome métabolique, obésité, diabète, troubles cardiovasculaires,... (Antunes et al., 2020 ; Schulze et al., 2016 ; Parhofer, 2016 ; Meng et al., 2013)

2.2.2. Le cholestérol

Lipide de la famille des stérols, le **cholestérol** est un composant important des membranes cellulaires et un précurseur à des molécules comme les hormones stéroïdiennes, la vitamine D ou les sels biliaires. Il peut provenir de l'alimentation, mais toutes les cellules animales sont capables de le synthétiser. Ce sont cependant les cellules du foie et de l'intestin qui en produisent la majeure partie à partir d'Acetyl-CoA. Le cholestérol est transporté depuis le foie jusqu'aux cellules par des lipoprotéines, qui sont de grands complexes lipides-protéines hydrosolubles pouvant voyager dans le sang. En plus du cholestérol, ces lipoprotéines contiennent des acides gras, des phospholipides et des triglycérides, tous en pourcentage variable selon la classe de lipoprotéine. Celles transportant une grande partie du cholestérol sont les LDL (lipoprotéines de faible densité) et les HDL (lipoprotéines de forte densité).

Lorsque les quantités de cholestérol deviennent trop importantes, la fraction contenue dans les HDL peut être transformée en sels biliaires par le foie, avant d'être évacué dans la bile, puis dans les fèces. Néanmoins, la fraction contenue dans les LDL ne peut pas être rejetée dans la bile, et va continuer de circuler dans le sang, ce qui à long terme peut provoquer une dysfonction endothéliale vasculaire avec anomalies des cellules musculaires lisses (Saini et al., 2004). Les espèces réactives de l'oxygène produites au niveau des cellules endothéliales vasculaires seraient en effet capables d'oxyder le cholestérol des LDL. La présence de LDL-cholestérol oxydé induirait alors la production de phospholipides et l'activation de monocytes en macrophages, résultant en une réaction inflammatoire au niveau des cellules endothéliales (production de molécules d'adhésion, attraction de monocytes/macrophages, activation de gènes de facteurs pro-inflammatoires et facteurs de croissance cellulaires) (Leitinger, 2003 ; Li and Mehta, 2000 ; Hermida and Balligand, 2014). Cette réaction inflammatoire favoriserait ensuite une agrégation plaquettaire, l'expression de métalloprotéases et une thrombogénèse.

L'ensemble de ces processus sont associés à une augmentation du stress oxydant et de la production d'espèces réactives de l'oxygène. Des études ont par ailleurs montrées que le LDL-cholestérol oxydé inhiberait la vasorelaxation-endothélium dépendante par inactivation du NO (Hermida and Balligand, 2014), par diminution d'expression de la eNOS (Liao et al., 1995), ou encore en modifiant l'expression de la caveoline-1 (inhibe l'activité catalytique de la eNOS lorsque les deux protéines sont associées) (Feron et al., 1999 ; Chen et al., 2018a). De fait, l'hypercholestérolémie participe activement à l'apparition de problèmes cardiovasculaires comme l'athérosclérose (Wadhwa et al., 2016). Au niveau cardiaque, il a notamment pu être montré que des taux élevés de cholestérol étaient susceptibles de fortement modifier la composition et la fluidité des membranes plasmiques et intracellulaires des cardiomyocytes (les cellules du cœur), et donc leur fonctionnement. En particulier, l'activité de multiples enzymes, canaux, pompes et échangeurs d'ions situés sur les membranes des organites de ces cellules serait sévèrement altérée, ce qui peut affecter négativement la contractilité, l'excitabilité et les propriétés conductrices du tissu cardiaque (Saini et al., 2004). Inversement, des taux très faibles de cholestérol peuvent aussi induire des dysfonctionnements contractiles du cœur (Hissa et al., 2017).

2.2.3. Les acides gras

Comme le cholestérol, les acides gras participent à la formation des membranes cellulaires, mais leur rôle est essentiellement énergétique. Les acides gras proviennent de l'alimentation ainsi que de leur synthèse *de novo* par lipogenèse dans le foie et le tissu adipeux principalement. Ils sont stockés majoritairement dans ce dernier, sous forme de triglycérides. Leur dégradation par β -oxydation produit une grande quantité d'ATP qui va fournir l'énergie aux cellules, notamment en cas d'effort prolongé. Dans le cas du cœur, qui est un organe extrêmement demandeur en énergie et ne contenant quasiment pas de réserve en glycogène, la β -oxydation des acides gras représentent 50 à 70% de la production en ATP (le reste provient du catabolisme des corps cétoniques et du glucose) (Liu et al., 2018 ; Berg et al., 2002). Néanmoins, dans des conditions pathologiques comme l'obésité et le diabète de type 2, une consommation excessive de lipides peut conduire à une accumulation de gouttelettes lipidiques dans le tissu cardiaque qui a été associé à de l'insulinorésistance, une hypertrophie cardiaque et une dysfonction contractile du cœur ; une des causes possibles serait un déséquilibre entre la biodisponibilité en acides gras et la capacité des cellules cardiaques à les cataboliser (système PPAR- α altéré), en lien avec une translocation à la membrane sarcoplasmique des transporteurs d'acides gras CD36 qui faciliterait l'accumulation de lipides intracellulaires (Liu et al., 2018 ; Angin et al., 2012 ; Young et al., 2002). Par ailleurs, le métabolisme des acides gras pourrait potentiellement devenir délétère dans des conditions telles qu'une insuffisance cardiaque ou un infarctus du myocarde, en créant un important stress oxydant (lié à la β -oxydation) qui perturberait fortement l'homéostasie du calcium, augmenterait l'apoptose ou encore l'activité des voies pro-hypertrophique, avec des effets néfastes sur la contractilité cardiaque (Martínez et al., 2018 ; Goldberg et al., 2012).

2.2.4. Les adipokines

Les adipokines influençant le métabolisme énergétique sont la leptine et l'adiponectine principalement, et, dans une moindre mesure, la résistine.

La **leptine** est principalement exprimée par les adipocytes et les entérocytes. Au niveau du tissu adipeux, elle est produite de manière constante et élevée proportionnellement au volume de tissu. Lors de la prise alimentaire, les entérocytes émettent de la leptine qui va alors d'une part, favoriser l'absorption des protéines et limiter celles des lipides dans l'intestin, et d'autre part, rejoindre le noyau arqué de l'hypothalamus. Elle va alors y inhiber la sécrétion de deux neuropeptides orexigènes, le Neuropeptide Y et l'AgRP, et stimuler celle de deux neuropeptides anorexigènes, POMC et CARC. Tout ceci aboutit à la réduction de la sensation de faim et l'augmentation de la satiété, réduisant ainsi la prise alimentaire et le stockage de lipides par les adipocytes (baisse de la lipogenèse), tout en augmentant les dépenses énergétiques (augmentation de la lipolyse) (Park and Ahima, 2014).

Dans l'obésité, l'augmentation de la masse du tissu adipeux entraîne une augmentation de la production de leptine, ce qui permet de réduire la prise alimentaire et donc la lipogenèse. Néanmoins, il a été montré que la sensibilité de l'hypothalamus à la leptine avait tendance à baisser avec le temps, provoquant une diminution, voire une perte de la sensation de satiété chez les personnes obèses. Sans frein à leur faim, ces individus voient leur consommation alimentaire augmentée, ce qui se traduit par plus de stockage des lipides par le tissu adipeux, et donc une élévation de la production de leptine. Cette boucle hyperleptinémie-hyperphagie explique la résistance à la leptine observée dans les cas d'obésité (Zhou and Rui, 2014).

Par ailleurs, la leptine aurait un rôle pro-inflammatoire en facilitant la sécrétion de cytokines comme le TNF- α et les interleukines IL-1 et IL-6. L'hyperleptinémie associée à l'obésité peut donc prédisposer à la mise en place d'une inflammation chronique et augmenter les risques de pathologies cardiovasculaires (Iikuni et al., 2008).

L'**adiponectine** est elle-aussi impliquée dans le métabolisme énergétique, ainsi que dans l'inflammation et la fonction vasculaire. Elle est connue pour augmenter la β -oxydation des acides gras et l'absorption du glucose, et diminuer la gluconéogenèse au niveau du foie et des muscles, favorisant ainsi les dépenses énergétiques (Fang and Judd, 2018 ; Nedvídková et al., 2005). Plusieurs études ont pu montrer que l'adiponectine avait aussi un rôle protecteur contre le développement de divers troubles métaboliques et cardiovasculaires associés à l'obésité. Elle apporterait par exemple une meilleure sensibilité à l'insuline, une amélioration de la fonction endothéliale vasculaire, ou encore un rôle d'anti-inflammatoire (Achari and Jain, 2017 ; Hopkins et al., 2007 ; Villarreal-Molina and Antuna-Puente, 2012).

Comme la leptine, l'adiponectine est principalement sécrétée par les adipocytes mais dans ce cas-ci, de manière inversement proportionnelle au volume de tissu adipeux, à la masse du corps et/ou au diabète de type 2. Il a notamment plusieurs fois été observé une diminution de la production d'adiponectine chez des patients obèses et ou ayant des pathologies du tissu adipeux (Ukkola and Santaniemi, 2002). Au vue des rôles protecteurs de cette adipokine, il n'est donc pas surprenant chez ces patients que la baisse de sécrétion de l'adiponectine soit souvent associée à l'insulinorésistance, des problèmes cardiovasculaires comme la dysfonction endothéliale voire

l'athérosclérose, et/ou l'inflammation (Frankenberg et al., 2017 ; Ukkola and Santaniemi, 2002 ; Díez and Igleasias, 2003).

La **résistine** est particulière. Chez les rongeurs, elle est principalement produite par les adipocytes, tandis que chez l'homme, il semblerait que ce soient majoritairement les cellules de la moelle osseuse, et les macrophages localisés dans le tissu adipeux qui l'expriment (Park and Ahima, 2013). Son rôle est encore largement débattu, elle serait capable de stimuler la différenciation des pré-adipocytes en adipocytes matures mais son expression est surtout corrélée à une augmentation de l'inflammation, l'insulinorésistance, la dysfonction endothéliale et l'athérosclérose dans le cadre de l'obésité, le diabète de type 2 et les pathologies cardiovasculaires (Jamaluddin et al., 2012). D'autres études sont nécessaires pour mieux comprendre le fonctionnement de la résistine dans le développement de ces pathologies.

En conditions physiologiques, les adipokines participent ainsi au bon fonctionnement énergétique de l'organisme. Cependant, lorsque le volume du tissu adipeux, notamment au niveau viscéral qui est métaboliquement actif, atteint un stade pathologique comme dans le cas de l'obésité, la régulation de l'expression de nombreuses adipokines est perturbée, favorisant alors la survenue de plusieurs troubles inflammatoires, métaboliques et cardiovasculaires (Figure 6). L'augmentation de la prévalence de l'obésité dans le monde est donc inquiétante du fait qu'elle amène souvent à ces complications.

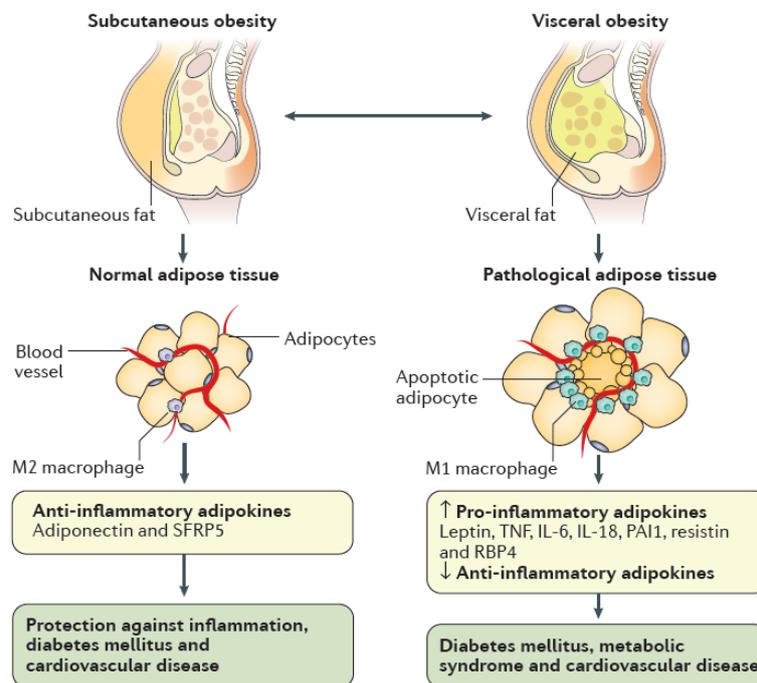


Figure 6 : **Représentation schématique des modifications de l'expression des adipokines dans le cas de l'obésité (différence entre tissu adipeux sous-cutané et viscéral)** (d'après **González-Muniesa et al., 2017**).

2.3. Syndrome métabolique

Les voies physiologiques du glucose et des lipides étant étroitement connectées, toute dysfonction est susceptible d'impacter l'ensemble du métabolisme énergétique et prédispose l'organisme à développer plusieurs types de pathologies, notamment le diabète de type 2 et les maladies cardiovasculaires. L'ensemble des signes physiologiques associés à une augmentation des risques de développer ces pathologies sont regroupés sous le terme de « **syndrome métabolique** ».

La définition du syndrome métabolique (ou syndrome X) a évolué à de nombreuses reprises au cours du temps en fonction des organismes de santé et des pays : celle de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) en 1998, de l'European Group for the study of Insulin Resistance en 1999, du National Cholesterol Education / Program-Adult Treatment Panel III (NCEP-ATP III) en 2001 ensuite modifiée en 2005, ou encore de l'International Diabetes Federation (IDF) en 2005. Elles ont abouti à la désignation selon laquelle une personne est atteinte d'un syndrome métabolique si elle présente au moins trois des problèmes suivants (Kassi et al., 2011):

- Une dyslipidémie avec un taux de HDL Cholestérol < 40mg/dL pour les hommes et 50 mg/dL pour les femmes, et un taux de triglycérides sanguin > 150 mg/dL.
- De l'hypertension (pression artérielle systolique > 130 mmHg et/ou pression artérielle diastolique > 85 mmHg).
- L'obésité abdominale (tour de taille > 102 cm pour les hommes, et > 88 cm pour les femmes) souvent associée à une insulino-résistance.
- Une hyperglycémie (glycémie à jeun > 100 mg/dL).

Ces valeurs peuvent néanmoins varier d'un pays à l'autre et d'une population à l'autre. Ainsi, les critères d'évaluation du syndrome métabolique sont encore sujets à débat, ce qui rend difficile de déterminer la réelle prévalence de ce problème dans le monde. En 2006, la Fondation Internationale du Diabète estimait que 20 à 25 % de la population adulte mondiale (soit plus d'un milliard d'individus) était atteinte du syndrome métabolique, ce qui peut en partie être expliqué par l'augmentation de la sédentarité et de la consommation d'aliments riches en sucres et lipides.

La prévalence entre hommes et femmes est là encore très dépendante de l'âge et du pays d'origine. Il semblerait qu'au début des années 2000, les hommes soient plus souvent atteints du syndrome métabolique que les femmes (Regitz-Zagrosek et al., 2006 ; Kuk and Ardern, 2010), puis que cette tendance se soit progressivement inversée (Regitz-Zagrosek et al., 2006 ; Day, 2007 ; Saklayen, 2018 ; Beigh and Jain, 2012). Ainsi en 2012, une étude estimait que le syndrome métabolique touchait environ 29% des femmes contre 23% des hommes de plus de 30 ans (Beigh and Jain, 2012). De plus, la prévalence du syndrome métabolique semble être bien plus élevée chez les individus âgés (plus de 65 ans) que chez les individus plus jeunes (moins de 65 ans) (Aguilar et al., 2015 ; Kuk and Ardern, 2010 ; Cameron et al., 2004), et serait équivalente entre hommes et femmes âgés (Kuk and Ardern, 2010). Il a aussi été noté une nette augmentation des cas de ce syndrome chez les enfants et adolescents ces dernières années (Graf and Ferrari, 2016), avec des prévalences allant de

19,2% pour les enfants non-obèses jusqu'à 29,2% chez les enfants obèses (Friend et al., 2013). Mais la sédentarité et l'alimentation ne suffisent pas à expliquer le syndrome métabolique dans toutes les populations.

2.4. Programmation fœtale du syndrome métabolique

Parmi les mécanismes possibles, la programmation fœtale peut contribuer à la pathogénicité du syndrome métabolique. En effet, Barker, Hales et Ravelli ont pu montrer qu'un déséquilibre nutritionnel (ici, la sous-nutrition) de la mère au cours de la grossesse était susceptible de modifier la fonction métabolique de la descendance afin que celle-ci soit le plus adapté à son environnement, mais la prédisposant aussi à des troubles métaboliques et d'autres pathologies associées à l'âge adulte (Barker et al., 1989b ; Ravelli et al., 1998 ; Hales and Barker, 1992). Outre la sous-nutrition, il a aussi été observé que le diabète gestationnel de type 2, l'obésité maternelle, les infections, le stress psychosocial ou encore l'exposition au cours de la grossesse à des toxines, comme certains médicaments, les perturbateurs endocriniens et le tabac, étaient capables d'induire la programmation fœtale de la fonction métabolique (Marciniak et al., 2017 ; Rinaudo and Wang, 2012) (Figure 7).

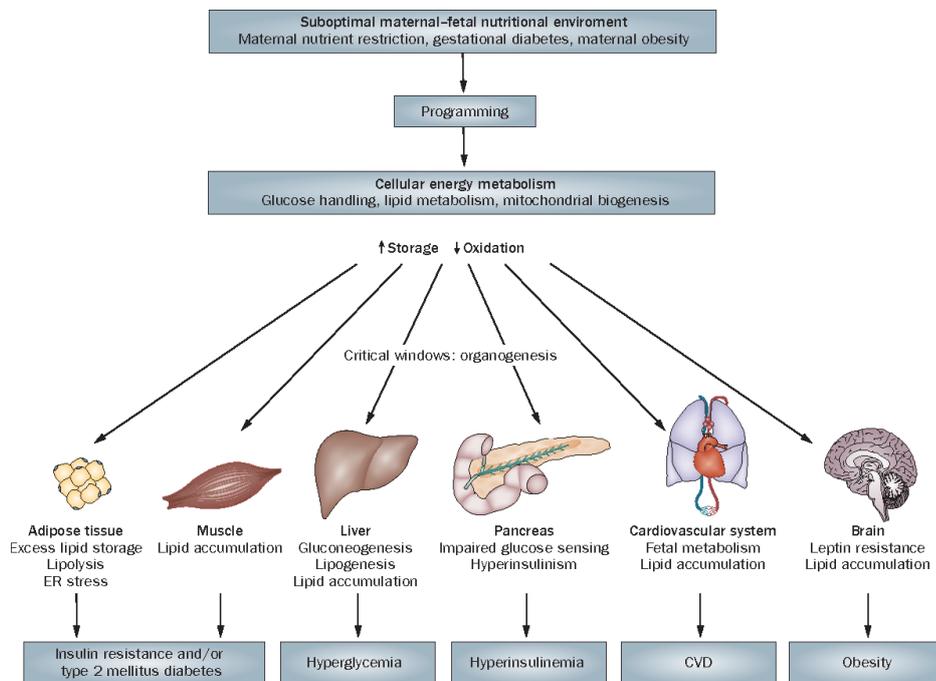


Figure 7 : **Effets programmeurs d'un environnement utérin inadéquat sur la croissance fœtale, et sur le développement d'anomalies pouvant conduire à un éventuel syndrome métabolique** (d'après Symonds et al., 2009).

3. Fonction cardiovasculaire

Pour assurer l'ensemble des fonctions physiologiques de l'organisme, les organes sont irrigués par les artères, qui transportent le sang oxygéné du cœur jusqu'aux organes, et les veines, qui acheminent le sang désoxygéné des organes jusqu'au cœur. Ce dernier joue le rôle de pompe qui va envoyer le sang dans les artères, avec un débit et une pression régulés en permanence. Ensemble, ils forment le **système cardiovasculaire** (avec les capillaires et les vaisseaux lymphatiques). Les échanges de nutriments et de gaz entre le sang et les tissus se font par diffusion au niveau des capillaires grâce à leur paroi perméable.

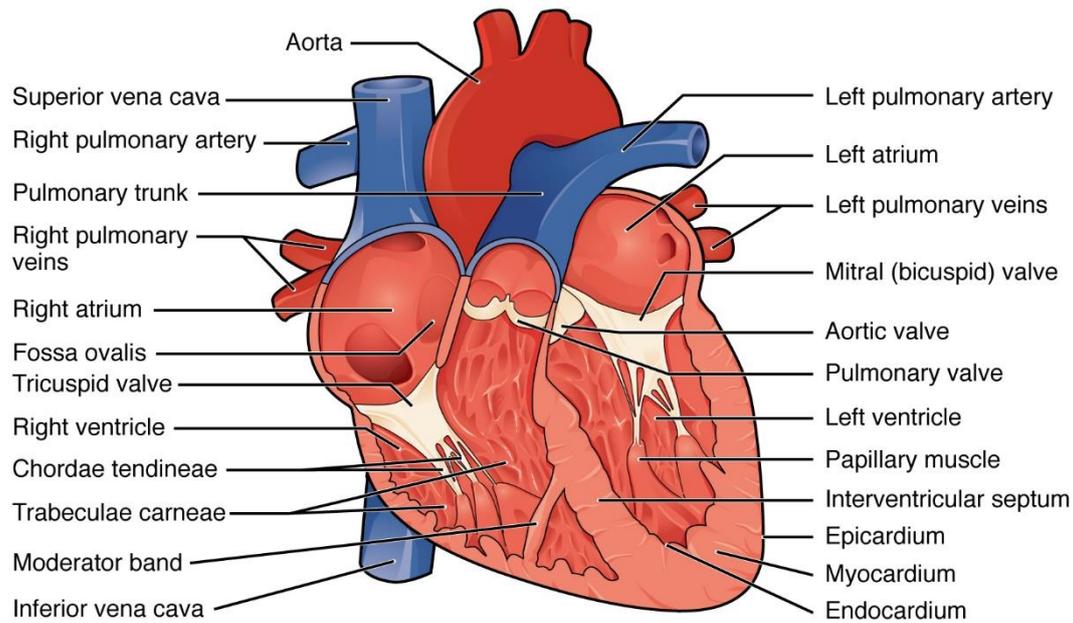
3.1. Fonction cardiaque

Le cœur est l'organe vital permettant le transport du sang dans les vaisseaux sanguins (artères et veines) jusqu'aux autres organes du corps. Il s'agit d'un organe creux et musculaire, qui se contracte de manière rythmique et autonome pour propulser le sang dans les artères. De nombreuses atteintes pathologiques du cœur augmentent les chances que celui-ci s'arrête de manière précoce, provoquant la mort de l'individu.

3.1.1. Structure et fonctionnement macroscopique

Au niveau anatomique, le cœur humain est positionné dans la poitrine, protégé par la cage thoracique en avant (face ventrale) et en arrière (face dorsale). Il se situe entre le deuxième et cinquième espace intercostal, en arrière du sternum, avec une inclinaison de sorte qu'environ les deux tiers soient à gauche du sternum dans la cage thoracique, le diaphragme juste en dessous, les deux poumons à gauche et à droite, et les artères aorte et pulmonaires au-dessus. De forme globalement conique, il possède une base et un apex qui pointe vers la gauche et légèrement vers le bas avec un angle de 45° (Moore and Dalley, 2009).

Il est composé de deux parties : le cœur gauche, qui envoie le sang sous pression et riche en oxygène et nutriments dans la circulation systémique ; et le cœur droit, qui envoie du sang pauvre en oxygène vers les poumons (Kenny et al., 2011). Elles sont accolées l'une à l'autre par une cloison appelée septum, orientée dans l'axe base-apex. Chaque moitié est elle-même subdivisée en deux parties : une **oreillette** (ou atrium), côté base, et un **ventricule**, côté apex. Le cœur est donc composé de quatre chambres. De plus, quatre valves anti-reflux séparent oreillettes et ventricules, ainsi que ventricules et artères sortant du cœur. Côté droit, la **valve tricuspide** se trouve donc entre l'oreillette et le ventricule, et la **valve pulmonaire** entre le ventricule et l'artère pulmonaire (tronc principal). Côté gauche, c'est la **valve mitrale** qui sépare oreillette et ventricule, et la **valve aortique** qui empêche le retour sanguin depuis l'aorte vers le ventricule gauche (Gavaghan, 1998). L'organisation du cœur (Figure 8) est donc symétrique, bien que les parties gauche et droite soient de taille et de volume différents : le ventricule gauche est plus volumineux, de forme plutôt conique (ronde ou ovale en coupe transversale) et possède une paroi plus épaisse que le ventricule droit ; le ventricule droit est de forme triangulaire ou pyramidale (en croissant de lune en coupe transversale) et s'incurve autour du ventricule gauche (Ho and Nihoyannopoulos, 2006 ; Choudhary et al., 2016). Les deux oreillettes sont de forme relativement cubique, l'oreillette gauche est plus large que l'oreillette droite et ses parois sont plus épaisses (Laukkanen et al., 2005 ; Malik et al., 2015).



Anterior view

Figure 8 : **Schéma représentatif de la structure interne du cœur humain.** Illustration issue de **Anatomy and physiology**, chapitre 19.1 : Heart anatomy (OpenStax, Anatomy & Physiology. OpenStax CNX. Feb 26, 2016. <http://cnx.org/contents/14fb4ad7-39a1-4eee-ab6e-3ef2482e3e22@8.24.>)

La paroi du cœur est composée de plusieurs couches (Shah et al., 2009 ; Malouf et al., 2001 ; Gavaghan, 1998) (Figure 9) :

Le **péricarde** : il s'agit de la couche la plus externe du cœur ; elle est composée de deux feuillets. Le feuillet le plus externe est fibreux et directement collé aux grands vaisseaux sanguins, au sternum et au diaphragme. Il est suffisamment rigide pour limiter de trop grandes distensions du cœur quand celui-ci se dilate, tout en maintenant sa position dans la cage thoracique. Le feuillet le plus interne est séreux et est lui-même subdivisé en deux sous-feuillets séparés par une cavité : un feuillet pariétal, au contact du feuillet externe fibreux, et un feuillet viscéral qui entoure l'intégralité du cœur et des grands vaisseaux. La cavité qui sépare les feuillets pariétal et viscéral contient 30 à 50 mL (chez l'homme) de liquide séreux qui joue un rôle de lubrifiant. Il limite ainsi les frictions occasionnées par les contractions et relaxations du cœur.

Le **myocarde** : c'est la couche intermédiaire de la paroi cardiaque et la plus épaisse. Elle est musculieuse, principalement composée de cellules appelées **cardiomyocytes** qui ont la capacité de se contracter de manière autonome et rythmique, ainsi que de se transmettre des impulsions nerveuses les unes aux autres. C'est grâce à ces cellules que les oreillettes et ventricules peuvent se contracter pour pomper le sang. Elles effectuent peu de mitose (division cellulaire), ce qui limite fortement leur remplacement en cas de lésion cellulaire. En outre, le myocarde contient de nombreuses fibres de collagène à rôle structurel, des vaisseaux coronaires qui alimentent

les cellules, et des fibres nerveuses qui permettent la régulation du rythme cardiaque. La partie la plus externe du myocarde est l'épicaarde.

L'**endocarde** : la couche la plus interne, en contact avec le myocarde d'une part, et avec le sang à l'intérieur des cavités cardiaques d'autre part. C'est une fine membrane séreuse qui recouvre toute la surface interne du cœur, les valves ainsi que les cordages tendineux qui relient les muscles papillaires aux valves atrio-ventriculaires (tricuspide et mitrale). Elle est aussi en contact continu avec l'intima des artères quittant le cœur.

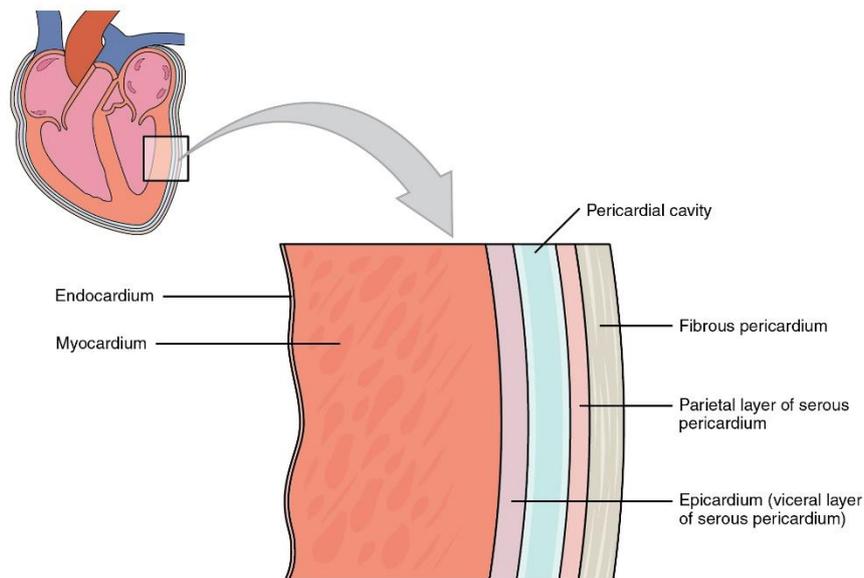


Figure 9 : **Schéma représentatif des différentes couches composant la paroi cardiaque.** Illustration issue de **Anatomy and physiology**, chapitre 19.1 : Heart anatomy (OpenStax, Anatomy & Physiology. OpenStax CNX. Feb 26, 2016. <http://cnx.org/contents/14fb4ad7-39a1-4eee-ab6e-3ef2482e3e22@8.24.>)

Le cycle cardiaque correspond à la suite d'évènements qui se déroulent entre deux battements de cœur. Chaque cycle débute par la génération spontanée d'un potentiel d'action au sein du nœud sinusal. Ce nœud est composé d'un groupe de cellules générant des potentiels d'action de manière spontanés et rythmique, et est situé dans le myocarde de l'oreillette droite, au niveau de l'ouverture de la veine cave supérieure. Le potentiel d'action traverse d'abord les deux oreillettes, puis les deux ventricules, avec un décalage de plus de 0,1 seconde entre les deux. Ce décalage permet aux oreillettes de se contracter en premiers et de compléter le remplissage des ventricules avant que la puissante contraction ventriculaire ne démarre (Guyton and Hall, 2015). C'est grâce à ces contractions décalées que les ventricules peuvent jouer le rôle de pompes principales, propulsant le sang dans les artères, du côté des poumons pour le ventricule droit (**circulation pulmonaire**), et du côté des autres organes du corps pour le ventricule gauche (**circulation systémique**) (Gordan et al., 2015) (Figure 10). Dans les deux cas, le sang revient aux oreillettes par les veines et le cycle recommence. Des jeux de pressions entre les quatre chambres et les artères permettent un remplissage efficace du cœur, chaque cycle cardiaque étant composé d'un temps de relaxation (**diastole**) où le cœur se remplit de sang, et d'un temps de contraction (**systole**).

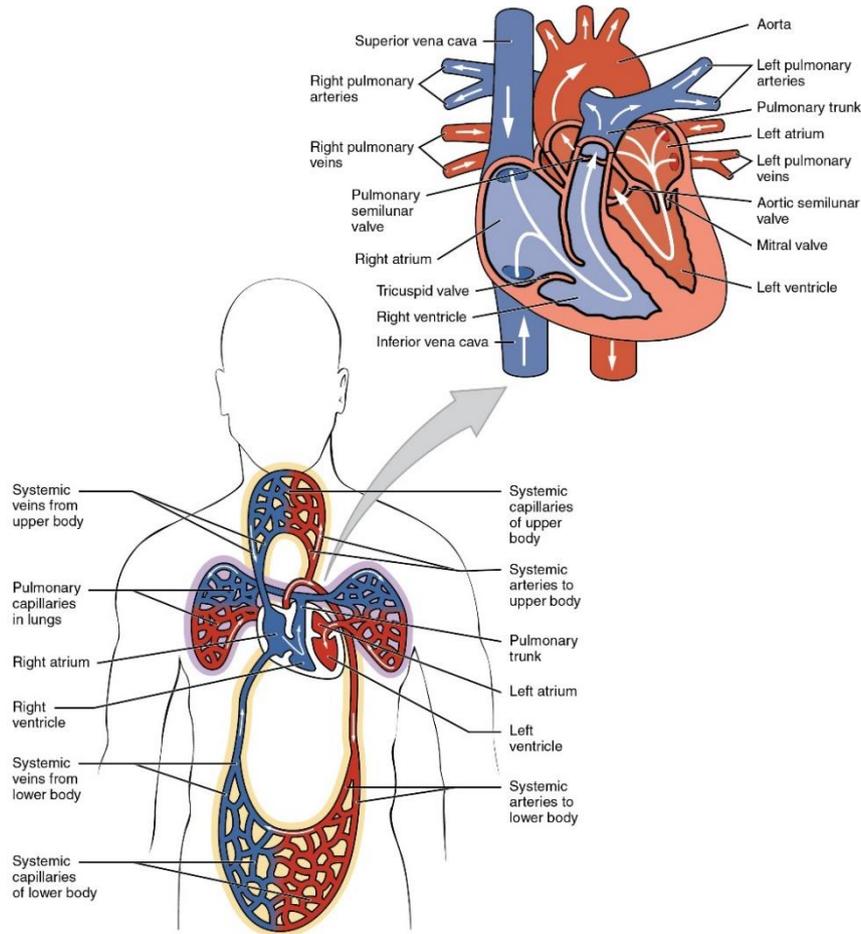


Figure 10 : **Schéma représentatif de la double circulation du sang dans le corps humain et au niveau des différentes cavités cardiaques. Les flèches indiquent le sens de circulation du sang (en bleu, le sang désoxygéné ; en rouge, le sang oxygéné).** Illustration issue de **Anatomy and physiology**, chapitre 19.1 : Heart anatomy (OpenStax, Anatomy & Physiology. OpenStax CNX. Feb 26, 2016. <http://cnx.org/contents/14fb4ad7-39a1-4eee-ab6e-3ef2482e3e22@8.24.>)

Le sang arrivant des veines caves dans les oreillettes passe très rapidement dans les ventricules sans contraction des oreillettes, via un mécanisme « d'aspiration » du sang (possible grâce à la compliance ventriculaire). Ensuite, les deux oreillettes se contractent l'une après l'autre de façon pratiquement simultanée (l'oreillette droite d'abord, puis la gauche): ce sont les systoles auriculaires (droite et gauche). La pression dans les oreillettes dépasse celle des ventricules qui sont au repos (diastole ventriculaire), ce qui envoie le sang restant dans les ventricules. Ces derniers se remplissent de sang puis se contractent simultanément et à volume constant (systole ventriculaire). Quand les pressions intra-ventriculaires dépassent celles des oreillettes, les deux valves auriculoventriculaires se ferment et empêchent tout reflux dans les oreillettes, qui sont momentanément relaxées (diastole auriculaire). Les ventricules continuent de se contracter à volume constant jusqu'à ce que la pression dépasse celle des artères (pulmonaire à droite, aorte à gauche). Les deux valves ventriculo-artérielles s'ouvrent alors, envoyant le sang dans les artères. Une fois que la pression artérielle est supérieure à la pression intra-ventriculaire, les valves se referment. Les ventricules entrent alors en diastole, tandis que les oreillettes se

remplissent de sang pour le cycle suivant (Guyton and Hall, 2015). Le débit sanguin moyen chez un adulte en bonne santé au repos est 5 L/minute, ce qui équivaut à environ 72 battements/minute.

Pendant le remplissage normal du cœur, les pressions ventriculaires varient et sont mesurée en millimètre de mercure (mmHg). Chez l'homme, la pression dans le ventricule droit passe de 3-8 mmHg en diastole à 14-30 mmHg en systole, tandis que la pression dans le ventricule gauche passe de 3-12 mmHg en diastole à 100-140 mmHg en systole (Klingensmith et al., 2008). Ces valeurs peuvent néanmoins changer selon le sexe, l'âge, l'état de santé et l'activité physique de l'individu. En termes de poids, le cœur d'un homme adulte pèse entre 280-300 et 350 g, celui d'une femme entre 230 et 280-300 g, encore un fois variables selon l'âge, l'état de santé et l'activité physique de l'individu (Balaban and Bobick, 2008 ; Shah et al., 2009).

Bien que le cœur soit capable de se contracter de manière autonome, il est quand même innervé afin de moduler sa fréquence cardiaque, la force de contraction des oreillettes et ventricules, ainsi que la vasomotricité des artères coronaires. Un groupe de fibres nerveuses autonomes sympathiques et parasympathiques forment **le plexus cardiaque**, situé au niveau de la crosse aortique. Les fibres parasympathiques (issues du nerf Vague) maintiennent un rythme cardiaque lent et régulier. Leur stimulation provoque un ralentissement du cœur, une baisse des forces de contraction, et une vasoconstriction des artères coronaires. A l'inverse, la stimulation des fibres sympathiques induit une accélération de la fréquence cardiaque, une augmentation des forces de contractions et une vasodilatation des artères coronaires (Brown, 2019 ; Chaudhry and Law, 2020 ; Klabunde, 2012 ; Kingma et al., 2017 ; Drake et al., 2015 ; Shah et al., 2009). Les variations de pression dans l'aorte induites par ces changements sont détectées par le plexus cardiaque, et des fibres afférentes sympathiques et parasympathiques amènent l'information au système nerveux central, ce qui permet un rétrocontrôle de la fonction cardiaque.

Il est important de noter que les ventricules ne se vident jamais complètement pendant la systole : le volume de sang réellement éjecté par les ventricules (appelé volume d'éjection systolique) ne représente qu'une partie (**fraction d'éjection**) du volume de sang contenu par chaque ventricule juste avant la systole (volume télédiastolique). Il reste ainsi toujours du sang résiduel dans les ventricules, appelé volume télésystolique. Le volume télédiastolique des deux ventricules est d'environ 110 à 120 millilitres chez l'homme, et le volume télésystolique est d'environ 40 à 50 millilitres ; la fraction d'éjection équivaut à environ 60% du volume télédiastolique (Guyton and Hall, 2015). La fraction d'éjection, ainsi que **la fraction de raccourcissement**, sont souvent utilisées pour évaluer la bonne fonction contractile du ventricule gauche, et par extension, la sévérité d'une pathologie cardiaque. Ces deux paramètres peuvent être mesurés grâce à une technique d'imagerie médicale appelée échocardiographie.

3.1.2. Le cardiomyocyte : unité contractile du cœur

La fonction contractile du cœur est assurée par le myocarde, qui constitue la majorité de l'épaisseur de ses parois. Le myocarde est un muscle strié et est composé de cellules appelées **cardiomyocytes**, mesurant chez l'homme environ 100 µm de long pour 10-25 µm de large (Göktepe et al., 2010) et principalement à fonction

contractile. Elles sont longiformes et possèdent à leurs extrémités plusieurs branches reliées à d'autres cardiomyocytes, formant un réseau dense et continu de cellules. La zone de contact entre les branches de deux cardiomyocytes est appelée disque intercalaire et est composé essentiellement de desmosomes et de jonctions communicantes (ou jonctions *gap*) (Zhao et al., 2019). Les desmosomes sont des protéines membranaires permettant une liaison forte entre la membrane de deux cellules, rendant le tissu résistant ; les jonctions *gap* forment des canaux connectant les cytoplasmes de deux cellules, ce qui permet la diffusion d'ions (notamment, des ions calcium) entre les cytoplasmes. C'est grâce à ces jonctions *gap* que les cardiomyocytes se contractent de manière synchronisée : lorsqu'une cellule est excitée, le potentiel d'action est rapidement transmis à toutes les autres (Walker and Spinale, 1999) (Figure 11).

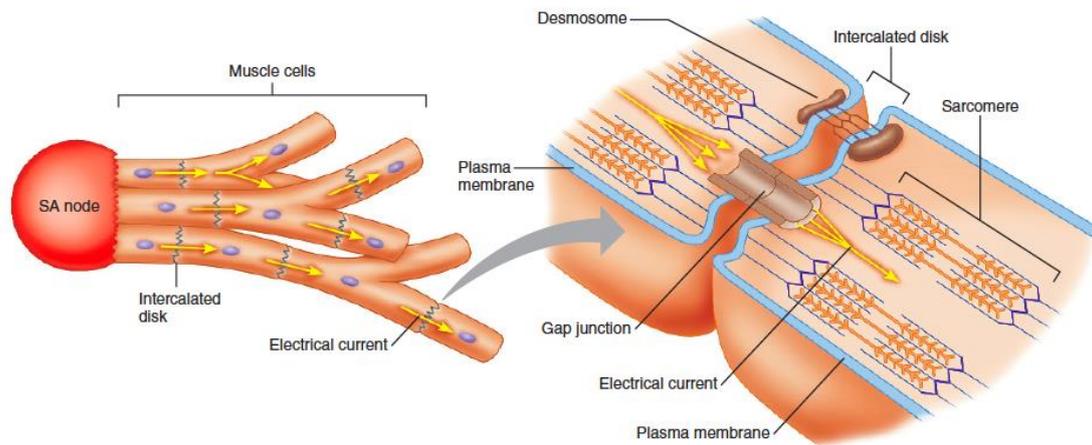


Figure 11 : Schéma représentatif de la transmission du potentiel d'action depuis le nœud sinusal (SA node) vers les cardiomyocytes (à gauche) et les composants d'un disque intercalaire entre deux cellules (à droite). © 2011 Pearson Education, Inc.

Les cardiomyocytes possèdent de nombreuses mitochondries, qui vont leur fournir l'énergie nécessaire à leur contraction et relaxation, ainsi que des myofibrilles (Braile et al., 2020). Celles-ci consistent en de longues sections répétées de sarcomères, qui sont eux-mêmes constitués de longues protéines, formant ce que l'on nomme les **filaments fins** et les **filaments épais**. Le sarcomère est délimité par deux structures appelées lignes Z, entre lesquelles sont perpendiculairement attachés les filaments fins et épais, de telle sorte qu'ils peuvent glisser les uns sur les autres grâce à des interactions chimiques et mécaniques (Figure 12).

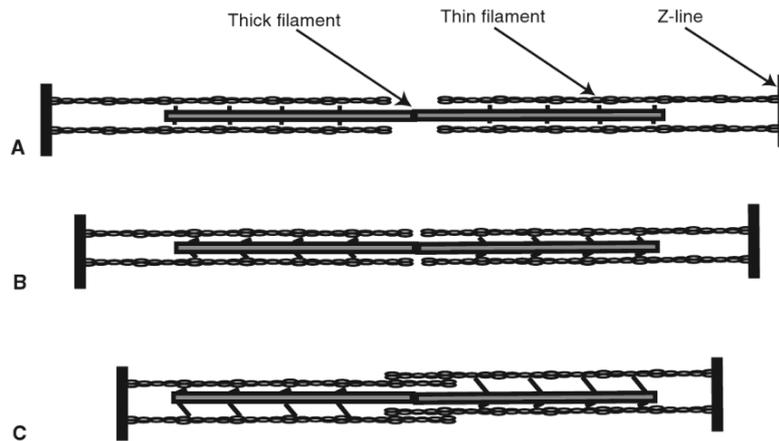


Figure 12 : **Schéma représentatif des principales structures d'un sarcomère, et des interactions entre filaments fins et épais lors d'une contraction cardiaque** (d'après Katz, 1992). **A) Le sarcomère est au repos. B) Lors d'une contraction, les filaments épais s'accrochent aux filaments fins et les tirent vers le centre du sarcomère, rapprochant les deux lignes Z. C) Les filaments fins se chevauchent pour permettre le raccourcissement maximal du sarcomère.**

Parmi toutes les protéines formant un sarcomère, les plus importantes sont la **myosine**, l'**actine**, la **tropomyosine** et le **complexe troponine** (Berne, 1981). Les interactions entre ces protéines impliquent une augmentation du taux intracellulaire en ion Ca^{2+} ainsi que l'hydrolyse de l'ATP (Adénosine Triphosphate). Les filaments épais sont faits de polymères de myosines, chacune possédant une queue filamenteuse et une tête globulaire. Cette tête contient un site de fixation à l'actine, ainsi qu'un site ATPase pouvant hydrolyser un ATP. Au repos, elle est liée à un ADP (Adénosine Diphosphate) et un Pi (phosphate inorganique). L'actine est la protéine principale des filaments fins et existe sous forme polymérique (filamenteuse, F) ou monomérique (globulaire, G). L'actine-F sert de support structurel pour le filament fin, et l'actine-G joue plutôt un rôle de protéine stabilisatrice et possède les sites de liaison à la myosine. C'est l'interaction entre les monomères d'actine-G et les têtes globulaires de myosines en présence d'ATP qui va créer un pont entre les filaments fins et épais, et permettre ainsi le raccourcissement du sarcomère. L' α -actinine est le composant principal de la ligne Z et joue un rôle de protéine de pontage des filaments d'actine. La tropomyosine se situe quant à elle de chaque côté des filaments d'actine et renforce la rigidité des filaments fins. De plus, elle se situe au niveau du site d'interaction entre actine et myosine, les empêchant de se fixer l'un sur l'autre en absence de Ca^{2+} (Katz, 1992). Enfin, le complexe troponine est un autre composant des filaments fins, à rôle à la fois de maintien de la structure du sarcomère mais aussi de régulateur dans la formation des ponts transversaux inter-filaments. Ce complexe est formé de trois protéines : les troponines T, I et C (Walker and Spinale, 1999 ; Layland et al., 2005 ; Cheng and Regnier, 2016):

- La troponine T lie le complexe troponine à la tropomyosine et au filament fin lui-même, formant le **complexe troponine-tropomyosine**.
- La troponine I, normalement sous forme phosphorylée, joue un rôle inhibiteur en se liant à l'actine au niveau du site de fixation de la myosine et baisse l'affinité du Ca^{2+} pour la troponine C.

- La troponine C peut fixer le Ca^{2+} , ce qui induit un changement de conformation de l'ensemble du complexe troponine pour aboutir à l'interaction actine-myosine.

Le Ca^{2+} nécessaire à ces interactions entre dans le cytosol du cardiomyocyte en grande quantité suite à l'arrivée d'un potentiel d'action, et le mécanisme selon lequel un potentiel d'action amène à la contraction du myocyte est appelé « couplage excitation-contraction » (Shah et al., 2009 ; Walker and Spinale, 1999). Ce potentiel d'action va provoquer une vague de dépolarisation qui va aboutir à l'activation de canaux Ca^{2+} voltage-dépendant de type L (Ca_v), puis à l'activation de récepteurs de la ryanodine de type 2 (RyR2), qui sont des canaux Ca^{2+} du réticulum sarcoplasmique. Le réticulum sarcoplasmique étant l'organelle du cardiomyocyte stockant le Ca^{2+} , l'activation des RyR2 résulte donc en une entrée massive de Ca^{2+} dans le cytosol, sa concentration passant de 10^{-7} à 10^{-5} mol/L (Berne, 1981 ; Balke and Shorofsky, 1998). Lorsque la cellule est au repos, les taux de Ca^{2+} sont normalement faibles, et la troponine I a une plus grande affinité pour les filaments d'actine que pour la troponine C, de telle sorte que le complexe troponine-tropomyosine masque le site de fixation actine-myosine.

Cette augmentation de Ca^{2+} cytosolique va permettre la liaison du Ca^{2+} à la troponine C, augmentant alors l'affinité de la troponine I pour la troponine C, au dépend de l'actine. Le complexe troponine-tropomyosine va alors changer de conformation et démasquer le site de fixation actine-myosine pour induire la formation des ponts transversaux : les têtes de myosine, couplées au repos à un ADP et P_i , se lient à l'actine dans une position de tension. Ces ponts possèdent un point charnière qui permet aux têtes de myosine de pivoter le long des filaments fins. Le mouvement est initié lorsque l'ADP et le P_i sont libérés de la myosine, ce qui est associé à un changement de conformation de la tête globulaire. Toujours fixée à l'actine, la tête de myosine bascule et, par traction mécanique, déplace le filament fin de quelques nanomètres le long du filament épais, en direction du centre du sarcomère. Myosine et actine restent liés de manière stable jusqu'à l'arrivée d'un nouvel ATP. Celui-ci se lie à la tête de myosine, qui relâche alors l'actine. Ensuite, l'hydrolyse de cet ATP en ADP et P_i va fournir l'énergie nécessaire pour que la myosine retourne à sa conformation de repos. Pour finir, la myosine se fixe à nouveau à l'actine, prête pour le cycle de traction suivant (Cooper, 2000 ; Squire, 2019) (Figure 13). Ces cycles de formation/rupture des ponts transversaux continuent jusqu'à ce que le Ca^{2+} soit retiré du cytosol (la troponine I reprend sa fonction inhibitrice et le complexe troponine-tropomyosine couvre alors le site de fixation actine-myosine) ou jusqu'à épuisement des stocks d'ATP. Comme les lignes Z de sarcomères voisins sont reliées entre elles grâce à la protéine Desmine, et au sarcolemme (la membrane cellulaire d'une cellule musculaire striée) par le costamère (un complexe multiprotéique) (Brodehl et al., 2018), la contraction des sarcomères induit la contraction de l'ensemble du cardiomyocyte dans le sens de la longueur.

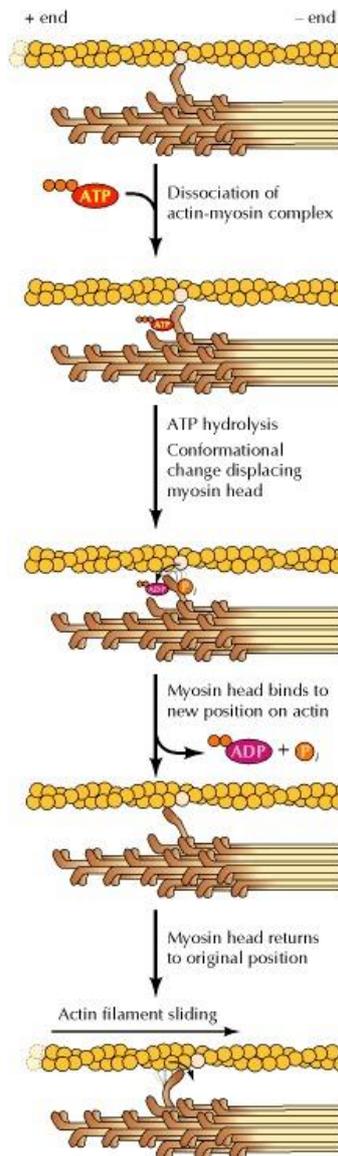


Figure 13 : **Schéma représentatif des interactions actine-myosine aboutissant au raccourcissement des sarcomères des cardiomyocytes lors d'une contraction cardiaque (d'après Cooper, 2000). La liaison d'un ATP sur la myosine décroche cette dernière de l'actine. L'hydrolyse de l'ATP induit un changement de conformation de la tête de myosine, avant qu'elle ne se fixe un peu plus loin sur l'actine. Le départ de l'ADP et Pi induit le changement de conformation de la myosine, qui va retourner à sa position de repos tout en tractant le filament fin.**

C'est généralement le retour à la valeur initiale du taux cytosolique en Ca^{2+} qui va permettre le relâchement des cardiomyocytes. Plusieurs mécanismes permettent ce retour rapide à la situation initiale (Walker and Spinale, 1999 ; Lechat et al., 1986 ; Baldi et al., 2016):

- La protéine linéaire Titine, qui connecte les filaments épais de myosine à la ligne Z. Lors de la contraction, cette protéine élastique est mise sous tension, telle un ressort. Cette tension est relâchée en fin de contraction lorsque la Titine reprend sa forme initiale, ce qui facilite ensuite le rallongement du sarcomère.

- Le repompage du Ca^{2+} dans le réticulum sarcoplasmique via une ATPase calcium-dépendante appelée SERCA2 (Sarcoplasmic reticular Ca^{2+} -ATPase 2), qui est activée lorsque son inhibiteur, le phospholambdan, devient phosphorylé.
- La sortie active du Ca^{2+} hors du cytosol grâce à l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (NCX) et aux pompes Ca^{2+} -ATPase du sarcolemme.
- La liaison du Ca^{2+} sur plusieurs protéines, comme la calmoduline et la calséquestrine (Feher and Fabiato, 1990 ; Sheu and Blaustein, 1986) qui possèdent une forte affinité pour le Ca^{2+} . Une fois formé, le complexe Ca^{2+} -Calmoduline peut aller activer la pompe Ca^{2+} -ATPase du sarcolemme ainsi que stimuler la phosphorylation du phospholambdan par la Protéine Kinase A (PKA) qui est dépendante de l'AMPc. Elle stimule par ailleurs l'Adénylate Cyclase et la Phosphodiesterase contrôlant le taux d'AMPc intracellulaire, renforçant d'avantage ses effets activateur de la PKA. La calséquestrine peut fixer jusqu'à 50 ions Ca^{2+} au sein du réticulum sarcoplasmique.
- Enfin, la chute du taux de Ca^{2+} favorise sa dissociation avec la troponine C, baissant l'affinité de cette dernière pour la troponine I qui pourra alors retourner se fixer sur le site d'interaction actine-myosine.

L'ensemble de ces interactions favorisent le relâchement du sarcomère et donc la relaxation du cardiomyocyte.

Que ce soit pour la contraction ou pour la relaxation du cardiomyocytes, l'ensemble des processus impliqués nécessitent une grande quantité d'énergie. Ces cellules sont donc riches en mitochondries (l'organelle productrice d'ATP) qui occupent jusqu'à 40% du volume de la cellule (Katz, 1992). La source principale de cet ATP est le catabolisme des acides gras. Elles sont aussi capables de stocker de grandes quantités de Ca^{2+} , jouant un rôle de tampon en cas de surcharge en Ca^{2+} (Crompton, 1990 ; Dedkova and Blatter, 2013).

3.2. Fonction vasculaire

3.2.1. Structure d'un vaisseau

Les artères et les veines possèdent une paroi divisée en 3 tuniques :

L'**intima** : La tunique la plus interne de la paroi et touchant la lumière du vaisseau. Elle est constituée d'un endothélium, formé d'une monocouche de cellules endothéliales, et d'une couche fine de tissu conjonctif, séparés tous les deux par une lame basale. Une limitante élastique interne sépare l'intima de la média.

La **media** : La tunique intermédiaire, composée exclusivement de cellules musculaires lisses (CMLs), de collagène et d'élastine, en proportions variables selon le type de vaisseau. Dans les artères de gros calibre, une limitante élastique externe sépare la média de l'adventice.

L'**adventice** : La tunique la plus externe, principalement constituée de tissu conjonctif, de fibres de collagène et d'élastine, de fibroblastes et d'adipocytes périphériques. Elle est vascularisée par des capillaires (*vasa vasorum*) et innervée par des fibres nerveuses du système autonome sympathique et parasymphatique (*nervi vasorum*).

La proportion de chacune de ces tuniques est différente selon que l'on est dans une artère ou une veine. Par exemple, à calibre égal, une artère aura tendance à être plus riche en CMLs qu'une veine, tandis que cette veine contiendra plus de fibres élastiques.

3.2.2. Types de vaisseaux

Selon le type de vaisseau, ces différences de compositions font que les vaisseaux, et notamment les artères, ne réagissent pas de la même façon aux contraintes liées à la circulation sanguine. Ainsi, il existe deux principaux types d'artères dans le corps : les **artères de compliance** (élastiques) et les **artères de résistance** (musculaires). Les artères de compliance distribuent du sang à haute pression (sortie du cœur) et doivent pouvoir répondre à de grandes variations de la pression artérielle, liée à l'activité cardiaque. Pour ce faire, elle possède une media particulièrement riche en élastine et collagène, lui donnant la capacité de se distendre puis de reprendre sa forme initiale. Grâce à une media riche en CMLs, les artères de résistance, quant à elles, sont capables de rapidement modifier leur diamètre pour réguler le débit sanguin au niveau des organes en fonction de leurs besoins et de les protéger des trop grands changements de pression. Ces artères sont principalement innervées par le système nerveux sympathique (Tucker et al., 2021).

a) Artères de compliance : l'aorte

L'aorte est la plus grosse artère du corps humain (environ 2 à 3 cm de diamètre) (Gasser, 2017). Elle émerge du ventricule gauche (aorte ascendante), forme une crosse (crosse aortique) puis plonge vers l'abdomen (aorte descendante puis aorte abdominale) et est chargée d'apporter le sang oxygéné vers l'ensemble de l'organisme (Shahoud et al., 2021). Il s'agit de la plus large artère de compliance du corps : étant la plus proche du cœur, elle est la première à subir la pression induite par les puissantes pulsations du ventricule gauche lors de la systole. Son intima contient des cellules endothéliales, un réseau de glycosaminoglycanes, du collagène et quelques CMLs éparses (Whitlock and Hundley, 2015). Son adventice est principalement composée de quelques fibres élastiques, de collagène, de fibroblastes, de fibrocytes et maintient l'aorte fixement ancrée au tissu alentour tout en limitant une distension excessive (Whitlock and Hundley, 2015). Enfin, sa media contient des CMLs, mais elle est surtout riche en élastine (élasticité de la paroi en cas de haute pression) et collagène (rigidité de la paroi pour éviter une trop grosse dilatation de l'artère) dans le but de réduire au maximum l'onde de pulsation du cœur. Ces fibres élastiques et collagèneuses (environ 60% de la paroi aortique) (Wolinsky and Glagov, 1967) emmagasinent l'énergie de la pulsation cardiaque pendant la systole puis la restitue en diastole, permettant ainsi le maintien de la pression artérielle et l'écoulement continu du sang. Elle joue donc un rôle essentiel dans la régulation globale de la pression et du flux sanguin.

b) Artères de résistance : les artères mésentériques

A partir de l'aorte abdominale (8mm de diamètre) naissent les artères mésentériques (diamètres allant jusqu'à 300 µm de diamètre pour les plus petits calibres) (Milnerowicz et al., 2012) qui vascularisent une grande partie de l'intestin ainsi que le pancréas. Ce sont des artères de résistance pourvues d'une vasomotricité ; en effet, elles ont la capacité de se dilater et de se contracter rapidement afin de maintenir une perfusion sanguine optimale au niveau intestinal en fonction des besoins, en réponse à des facteurs chimiques, neurohormonaux, ainsi qu'aux variations de pression ou de débit sanguin (Loufrani et al., 2008). Une trop forte élévation de pression sanguine va en l'occurrence induire une constriction des artères mésentériques pour amortir cette pression au niveau des organes (tonus myogénique), tandis qu'un débit sanguin trop important va provoquer une vasodilatation (dilatation flux-dépendante) (Loufrani et al., 2008 ; Bevan and Laher, 1991). Une telle réactivité est permise grâce à la composition de leur paroi : l'intima est formée d'une monocouche de cellules endothéliales ; l'adventice est ici proportionnellement plus épaisse que dans la paroi de l'aorte et contient quelques fibres élastiques, du collagène et des fibroblastes (Robertson and Watton, 2013) ; la media est particulièrement riche en CMLs (Ostadfar, 2016) positionnées de façon concentrique, et possède moins de fibres élastiques comparé aux artères de compliance telle que l'aorte. Elle est aussi innervée par des fibres sympathiques jouant elles aussi sur la vasoréactivité de ces artères (Bevan et al., 1993 ; Aalkjær et al., 2021).

c) Artères mixtes : les artères coronaires

Les artères coronaires sont les vaisseaux sanguins qui irriguent et nourrissent le cœur. Par rapport aux autres artères, elles sont particulières. Les artères coronaires droite et gauche forment les deux branches principales, qui courent à la surface du cœur et se subdivisent ensuite en artères de plus en plus petites jusqu'à l'apex du cœur, avec des ramifications qui plongent en profondeur dans le muscle cardiaque jusqu'aux cardiomyocytes. Sur les premiers centimètres, leur diamètre est d'environ 2 à 4 mm pour les artères coronaires droite et gauche (un peu plus faible chez la femme) puis il diminue en s'éloignant vers l'apex (Hiteshi et al., 2014). L'organisation structurelle de la paroi artérielle coronaire est quelque peu atypique, avec une paroi à la fois élastique et riche en CMLs. Ces artères semblent donc être de type musculo-élastique, afin de réguler le débit sanguin et l'apport en oxygène au niveau du myocarde, tout en étant flexibles pour retrouver leur forme initiale lors de la diastole (en systole, la contraction du cœur comprime les artères coronaires qui perfusent l'endocarde) (Chaudhry and Law, 2020). L'intima est composée d'une monocouche de cellules endothéliales alignées dans le sens du flux sanguin, de tissu conjonctif ainsi que de CMLs. Elle est sensible aux changements pathologiques normalement observés dans les artères élastiques comme l'aorte, tel que l'athérosclérose. Elle est séparée de la media par une limitante élastique interne. La media est constituée de plusieurs couches de CMLs concentriques ou hélicoïdales, de fibres élastiques, de collagène et de protéoglycanes. Une limitante élastique externe la sépare de l'adventice, comme dans les artères élastiques. Enfin, l'adventice consiste en du collagène essentiellement longitudinal avec des fibres élastiques, la structure étant assez « lâche » pour permettre des modifications de diamètre, ainsi que des *vasa vasorum*, des nerfs et des vaisseaux lymphatiques (Waller et al., 1992).

De nombreux signaux sont capables de modifier la vasomotricité (Tucker and Mahajan, 2020).

3.2.3. Vasoréactivité

Les CMLs vasculaires ont la capacité de se contracter et de se relaxer en réponse à de nombreux facteurs provenant de leur environnement, notamment en interagissant avec les cellules endothéliales de l'intima. Le système contractile des CMLs est compris de **filaments fins** (composés d'actine) entourant des **filaments épais** (composés de myosine) et est globalement orientés dans l'axe longitudinal (Tang and Anfinogenova, 2008). A l'inverse des cardiomyocytes, ces protéines contractiles ne sont pas organisées en sarcomères mais forment plutôt un réseau cytosquelettique hexagonal qui remplit une grande partie du cytoplasme (Figure 14). Les filaments fins sont des polymères d'actines G et F qui interagissent avec les filaments épais à une extrémité ; la seconde extrémité peut soit être ancrée à une structure cytoplasmique appelé « **corps dense** » formée d'actine- α et de filaments intermédiaires (vimentine et desmine) (Aguilar and Mitchell, 2010), soit à la membrane plasmique via une autre structure appelée « **plaque d'adhérence** » composée d'intégrine transmembranaire, de taline et de vinculine (Tang and Anfinogenova, 2008) (Figure 14). Un second réseau d'actine « non contractile » n'interagit pas directement avec la myosine et joue un rôle plutôt structurel en connectant les corps denses entre eux (Small and Gimona, 1998). Grâce à la densité de ce réseau, les CMLs peuvent se contracter efficacement et rapidement.

Une entrée de Ca^{2+} dans la CML induit la phosphorylation des chaînes légères de myosine (Webb, 2003) ; en présence d'ATP, l'ensemble des têtes de myosine peuvent alors se tracter le long des filaments fins et provoquer le raccourcissement général de l'appareil contractile. Les filaments étant étroitement interconnectés, l'ensemble de la cellule se contracte dans le sens de la longueur. Par ailleurs, les cycles de polymérisation/dépolymérisation des filaments d'actine permettraient aussi de développer une tension nécessaire à la contraction des CMLs (Gunst and Zhang, 2008 ; Tang and Anfinogenova, 2008) (Figure 14).

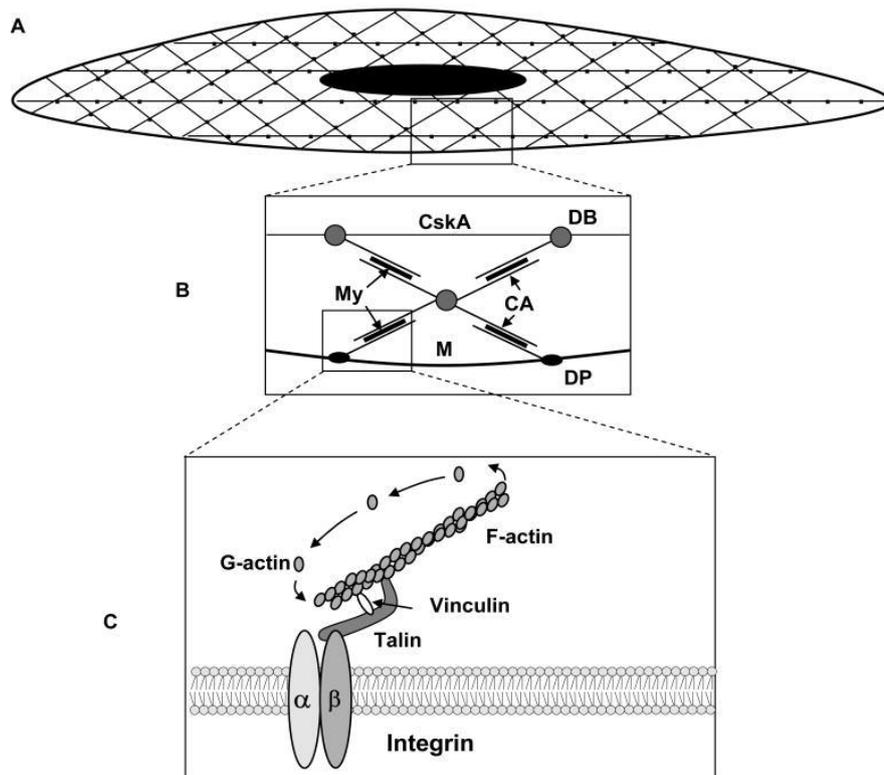


Figure 14 : **Schéma représentant le cytosquelette des CMLs. A) CML et son réseau hexagonal de filaments cytosquelettique. B) L'actine contractile (CA) est localisée autour de la myosine (My) ; ils forment l'appareil contractile. Certains filaments d'actine sont ancrés à la membrane plasmique (M) au niveau des plaques d'adhérence (DP) et au reste du réseau via les corps denses (DB). Les filaments d'actines non contractiles (CskA) relient les corps denses entre eux. C) Cycles de polymérisation/dépolymérisation de l'actine et fixation aux protéines de la plaque d'adhérence (d'après Tang and Anfinogenova, 2008).**

a) Vasoconstriction

Il existe plusieurs voies biochimiques impliquées dans la contraction de vaisseaux. Les voies couplées aux protéines G ainsi que les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont parmi les principales (Touyz et al., 2018).

Divers agents biologiques et pharmacologiques sont capables d'induire une vasoconstriction au travers de différents **récepteurs couplés aux protéines G (RCPG)**. Les catécholamines naturelles (adrénaline, noradrénaline) ou de synthèse (phényléphrine) peuvent se lier au récepteur α_1 -adrénergique au niveau de la membrane plasmique des CMLs. De plus, les cellules endothéliales sous-jacentes peuvent libérer des molécules comme le Thromboxane A₂, l'Endothéline 1, la Prostaglandine H₂ et l'Angiotensine II, qui vont-elles-aussi se lier à leur RCPG au niveau des CMLs. Cela va ensuite déclencher des cascades de signalisation cellulaire aboutissant à une entrée de calcium dans le cytosol, et *in fine*, à la phosphorylation des chaînes légères de myosine, qui sont responsables de la contraction des CMLs (Figure 15) (Webb, 2003).

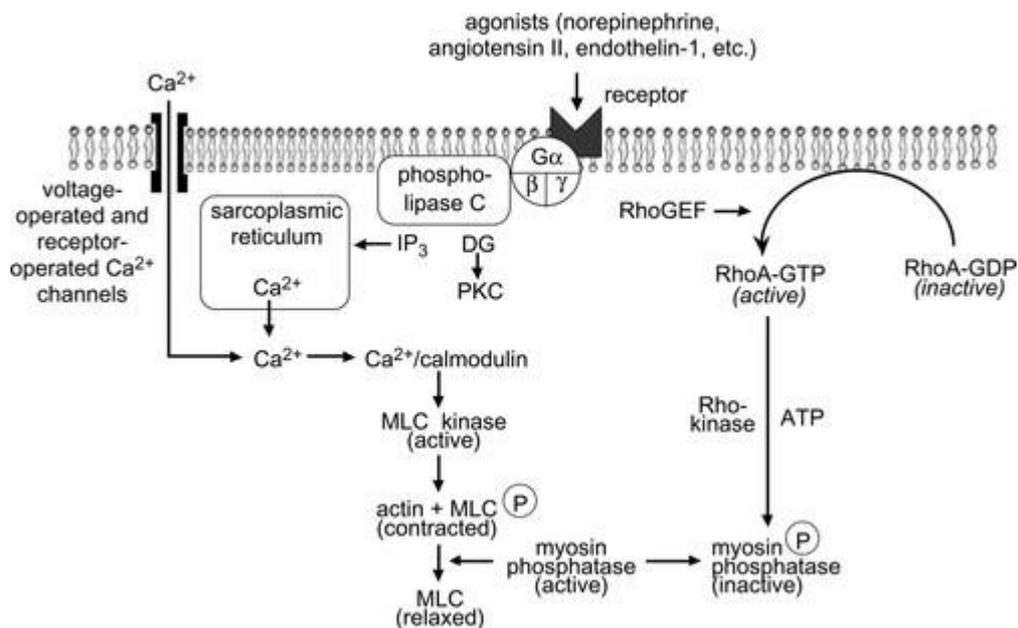


Figure 15 : **Schéma représentant la régulation de la contraction des CMLs via les RCPG. DG : diacylglycerol ; IP₃ : inositol 1,4,5-trisphosphate ; MLC Kinase : myosin light chain kinase ; PKC : Protéine kinase C ; RhoGEF : guanine nucleotide exchange factor** (d'après **Webb, 2003**).

Les **espèces réactives de l'oxygène (ROS)** sont des molécules oxygénées particulièrement réactives, naturellement produites par le métabolisme de l'O₂ des cellules et de leurs organites, ou encore par des sources exogènes (métaux lourds, tabac, rayons X,...). Parmi les ROS existants, on trouve notamment l'anion superoxyde (O₂^{•-}, souvent précurseur aux autres ROS), l'ozone (O₃), le radical hydroxyle (HO[•]) ainsi que le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (Figure 16). Ces ROS agissent souvent de concert avec les espèces réactives de l'azote, comme le peroxynitrite (ONOO⁻) et le monoxyde d'azote (NO). Les ROS sont souvent cytotoxiques car elles ont la possibilité d'interagir avec de nombreuses autres molécules et de les dégrader, la plupart du temps de manière non spécifique, ce qui nécessite des mécanismes de protection pour éviter un dérèglement du métabolisme cellulaire. La Superoxyde Dismutase (SOD), la Catalase et la Glutathion Peroxydase (GPx) sont parmi les enzymes antioxydantes les plus connues. La SOD est souvent la première ligne de défense contre les ROS et elle existe notamment sous trois formes, selon sa localisation : SOD 1 (Cu/Zn-SOD) est cytosolique, SOD 2 (Mn-SOD) est mitochondriale et SOD 3 (Ec-SOD) est extracellulaire (Fukai and Ushio-Fukai, 2011). Elles transforment l'O₂^{•-} en H₂O₂, que la Catalase se charge ensuite de transformer en H₂O. Lorsque ce système de protection est submergé (excès de ROS et/ou déficience en enzymes antioxydantes), les ROS dégradent les constituants cellulaires et induisent ce qu'on appelle alors le stress oxydant (Preiser, 2012).

Comme beaucoup de cellules, les CMLs et les cellules endothéliales vasculaires possèdent des enzymes dont l'activité métabolique physiologique libère des ROS ; leurs effets sur la vasoréactivité sont variables : l'O₂^{•-} semble inhiber la vasodilatation (au profit de la vasoconstriction) en étant transformé en même temps que le NO (vasodilatateur) en peroxynitrite (Figure 16) (Touyz and Briones, 2010 ; Chen et al., 2018b). Le NO ainsi consommé ne peut donc plus jouer son rôle vasorelaxant. A l'inverse, l'H₂O₂ est plutôt impliqué dans la vasorelaxation en stimulant notamment la production de NO (Chen et al., 2018b).

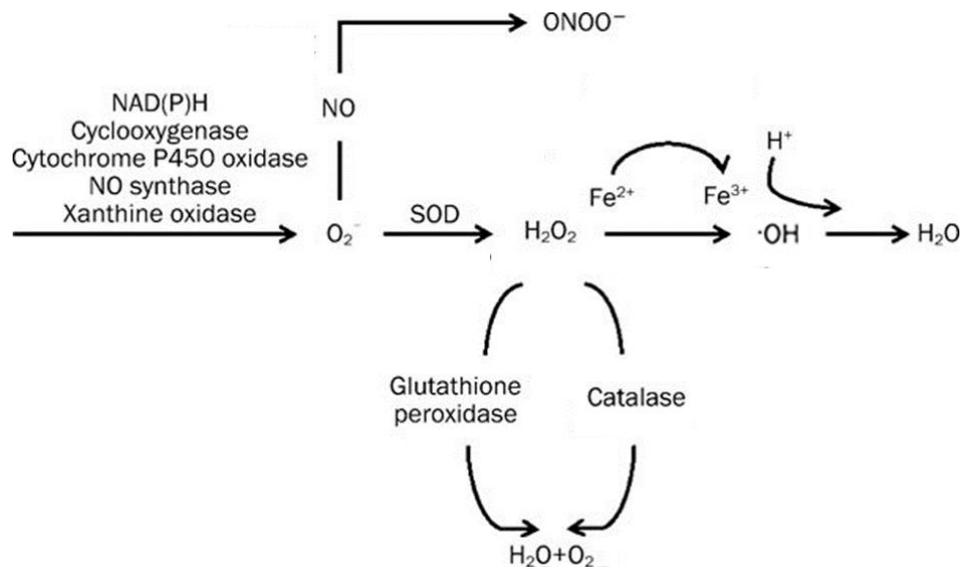


Figure 16 : **Schéma représentant la formation de ROS impliqués dans la vasoréactivité** (adapté d'après **Wong and Vanhoutte, 2010**).

b) Vasorelaxation

Comme pour la vasoconstriction, plusieurs voies de signalisation sont impliquées dans la relaxation des vaisseaux. Elles peuvent être activées par des facteurs environnementaux tels que l'hypoxie, les forces de cisaillement (« shear stress »), divers médicaments antihypertenseurs ou encore des molécules naturelles (acétylcholine, bradykinine, adénosine...), qui peuvent induire la libération d'agents vasodilatateurs par les cellules endothéliales vasculaires afin de provoquer la relaxation des CMLs adjacentes. Les 3 principales voies de relaxation dépendantes de l'endothélium sont : (1) la voie du monoxyde d'azote (NO), (2) la voie de la prostacycline (PGI₂), et (3) la voie des facteurs hyperpolarisants dérivés de l'endothélium (EDHFs) (Cohen et al., 1999 ; Mitchell et al., 2008 ; Ozkor and Quyyumi, 2011 ; Oyama and Node, 2013 ; Losordo et al., 2016).

- Le **monoxyde d'azote (NO)** est le plus puissant vasodilatateur. Il est produit par les cellules endothéliales via l'enzyme eNOS à partir de L-arginine et d'O₂. La eNOS peut être activée par phosphorylation, de manière calcium-dépendante (par couplage avec la calmoduline) ou calcium-indépendante (via la voie PI3K/Akt), mais nécessite ensuite la présence de cofacteurs (comme la tétrahydrobioptérine, BH₄) pour catalyser la synthèse de NO (Fleming and Busse, 1999 ; Mount et al., 2007 ; Vincent et al., 2003 ; Förstermann and Münzel, 2006). Ce NO va alors diffuser au niveau des CMLs pour activer la Guanylate Cyclase qui transforme la Guanosine Triphosphate (GTP) en Guanosine Monophosphate cyclique (GMPc). Ce GMPc va à son tour activer les phosphatases responsables de la déphosphorylation des chaînes légères de myosine (au niveau de la Sérine-19), appelées Myosin-light-chain phosphatase (MLCP), induisant alors la relaxation des CMLs et donc du vaisseau (Etter et al., 2001 ; Cornwell and Lincoln, 1989 ; Bolz et al., 2003).

En présence de ROS, les taux des différents cofacteurs peuvent cependant être diminués, amenant au découplage de la eNOS qui va alors produire plus d'O₂^{•-} que de NO (Birukov, 2009). Cet O₂^{•-} peut ensuite être transformé en peroxy-nitrite ONOO⁻, baissant ainsi la biodisponibilité en NO (Touyz and Briones, 2010 ; Chen et al., 2018b). Ce découplage de la eNOS a été associée à la dysfonction endothéliale vasculaire qui est souvent observée dans des pathologies telles que l'athérosclérose, la maladie coronarienne et l'hypertension (Takaya et al., 2007 ; Higashi et al., 2002 ; Heitzer et al., 2001).

- La voie de la **prostacycline** est la deuxième voie impliquée dans la vasorelaxation dépendante de l'endothélium. Il s'agit d'un lipide de la famille des eicosanoïdes, et est aussi connue sous le nom de **Prostaglandine I₂ (PGI₂)**. Les eicosanoïdes sont des produits issus du métabolisme de l'acide arachidonique, qui est un élément des membranes cellulaires. Sous l'effet de l'enzyme Phospholipase A₂, dont l'activité est régulée par le taux de calcium intracellulaire, l'acide arachidonique est libéré des membranes et devient le précurseur de divers eicosanoïdes, l'un des principaux étant la Prostaglandine G₂ (Lee et al., 2020).

La transformation de l'acide arachidonique en Prostaglandine G₂ est catalysée par les cyclo-oxygénases COX-1 (activité constitutive) et COX-2 (activité induite par de l'inflammation) (Lee et al., 2020). Une peroxydase se charge ensuite de transformer la Prostaglandine G₂ en Prostaglandine H₂, et cette dernière peut à son tour donner d'autres prostaglandines à rôles vasoactifs, notamment la PGI₂ synthétisée par la Prostacycline Synthase (Seo and Oh, 2017). Cette enzyme est naturellement produite par les cellules endothéliales vasculaires. Comme le NO, la PGI₂ est alors libérée de manière paracrine jusqu'aux CMLs où elle se fixe sur son récepteur IP, ce qui déclenche une cascade de signalisation aboutissant à la production d'AMPc (Adénosine Monophosphate cyclique) par l'Adénylate Cyclase, et enfin à la vasodilatation (Nakayama, 2006 ; Majed and Khalil, 2012).

- Enfin, la troisième voie de signalisation principale impliquée dans la vasodilatation endothélium-dépendante est la voie des **facteurs hyperpolarisants dérivés de l'endothélium** (EDHFs). Cette voie, agissant en parallèle des deux autres, met en jeu plusieurs agents différents et est dépendante de la concentration en calcium intracellulaire des cellules endothéliales. Un de ces agents est le potassium. En effet, lorsqu'un facteur vasodilatateur (comme l'acétylcholine) provoque l'entrée de Ca²⁺ dans la cellule endothéliale, ce dernier va activer les canaux potassiques calcium-dépendants SKca et IKca au niveau de la membrane cellulaire, ce qui induit une sortie d'ions potassium hors de la cellule. La concentration en potassium extracellulaire augmente, ce qui active alors les canaux K⁺_{IR} ainsi que les pompes Na⁺/K⁺-ATPase au niveau de la membrane plasmique des CMLs adjacentes et induit leur relaxation (Haddy et al., 2006 ; Webb and Bohr, 1978 ; Féléto and Vanhoutte, 2006 ; Jackson, 2000).

Les jonctions intercellulaires appelées jonctions communicantes (ou jonctions *gap*) sont elles aussi des agents de la voie des EDHFs puisqu'elles mettent en contact direct les cytoplasmes des cellules endothéliales et des CMLs en formant un tunnel, facilitant ainsi le transport d'ion (Figuroa and Duling, 2009). Leur nombre est inversement proportionnel au diamètre du vaisseau, faisant que la voie des EDHFs n'a pas la même importance dans la vasorelaxation selon qu'il s'agit d'artères de résistance (forte influence) ou de conductance (faible influence) (Shadow and Hill, 2000 ; Shimokawa et al., 1996).

Les troisièmes agents de cette voie sont les acides époxyeicosatriénoïques (EETs), issus du métabolisme de l'acide arachidonique via l'époxygénase du cytochrome P450 (Fleming, 2001). Ils peuvent, entre autres, directement activer des canaux potassiques calcium-dépendants, les jonctions *gap* et les récepteurs TRP, aboutissant *in fine* à la relaxation des CMLs. Enfin, le dernier acteur majeur connu participant dans la voie des EDHFs est le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Son influence exact sur la vasoréactivité est variable (Lucchesi et al., 2005), mais il semble avoir un effet plutôt vasodilatateur.

En effet, les cellules endothéliales possèdent de nombreuses enzymes produisant naturellement des ROS, qui doivent en permanence être transformés pour éviter les dommages cellulaires. Notamment, l' $O_2^{\bullet-}$ joue un rôle plutôt anti-vasodilatateur en consommant le NO lors de sa transformation en ion peroxydite. Les enzymes SOD permettent d'éviter cette perte de NO en transformant alors l' $O_2^{\bullet-}$ en H_2O_2 (Touyz and Briones, 2010). La catalase est ensuite capable de transformer ce H_2O_2 en $H_2O + O_2$ et il a été montré qu'en cas d'inhibition de la eNOS et des COX, l'activité de la catalase suffisait à inhiber la vasodilatation endothélium-dépendante, mettant en avant le rôle du H_2O_2 dans la voie des EDHFs (Matoba et al., 2002). Par ailleurs, il a été aussi rapporté que le H_2O_2 était susceptible d'activer directement plusieurs types de canaux potassiques calcium-dépendant et les jonctions *gap*, ainsi que de stimuler la production du NO via activation de la voie PI3K/Akt, favorisant de ce fait la vasorelaxation (Chen et al., 2018b ; Matoba et al., 2002 ; Barlow et al., 2000 ; Hayabuchi et al., 1998 ; Ozkor and Quyyumi, 2011 ; Sung et al., 2012 ; Thomas et al., 2002).

Ainsi, ces trois voies de signalisation travaillent en tandem afin d'induire la vasorelaxation principalement endothélium-dépendante (Figure 17) et le dérèglement de l'une ou plusieurs d'entre elles aura des effets néfastes sur la fonction vasculaire.

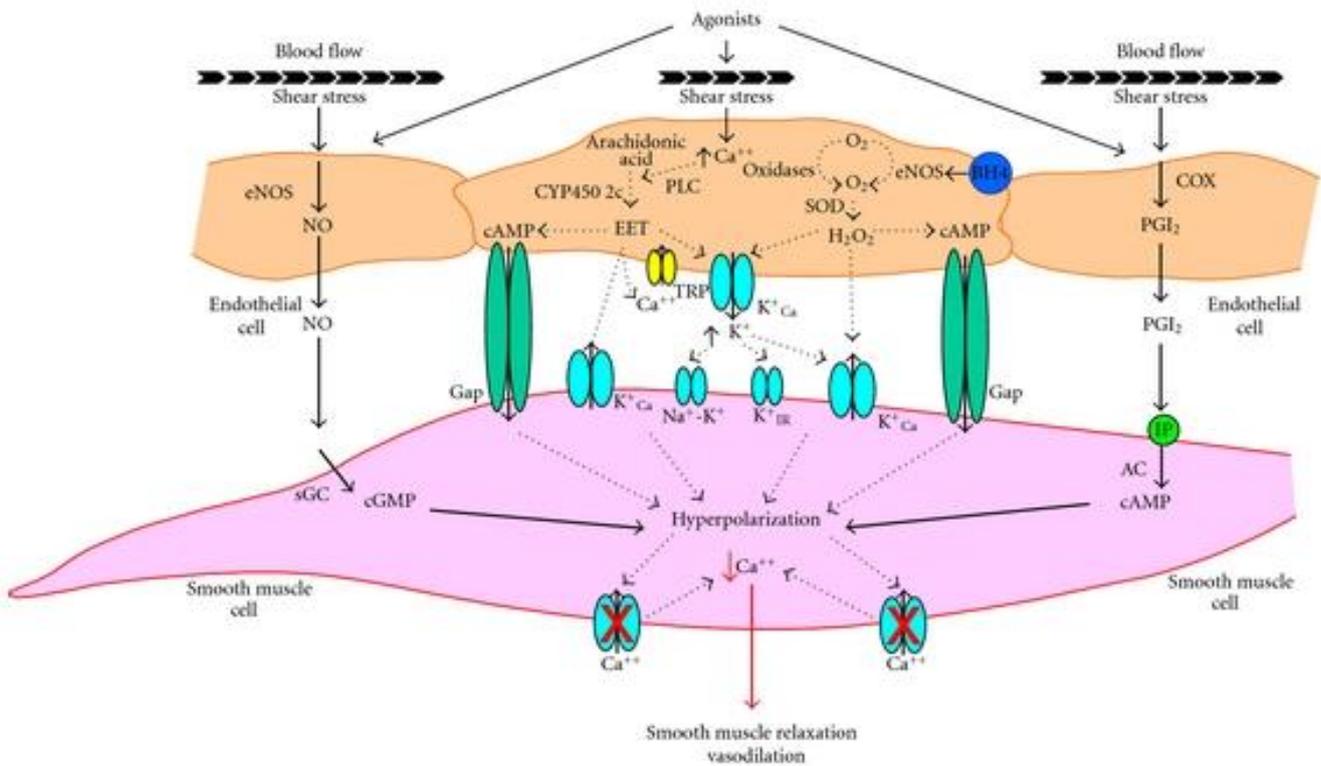


Figure 17 : Schéma représentant les différents mécanismes régulant la vasorelaxation endothélium-dépendante. Phospholipase A₂ : PLC ; Cytochrome P450 : CYP4502c ; Canaux potassiques calcium-dépendants : K⁺Ca ; Adénylate Cyclase: AC ; Adénosine Monophosphate cyclique: cAMP ; Guanosine Monophosphate cyclique: cGMP ; Guanylate Cyclase soluble: sGC ; Récepteur à la prostacycline : IP (d'après Ozkor and Quyyumi, 2011).

3.3. Programmation fœtale d'anomalies cardiovasculaires

3.3.1. Programmation fœtale d'anomalies cardiaques

Tout comme les fonctions métabolique et vasculaire, la fonction cardiaque est susceptible d'être altérée au cours de la croissance fœtale par des changements néfastes de l'environnement utérin. A l'âge adulte, cela peut amener précocement à l'apparition de la maladie coronarienne et à un remodelage cardiaque, le tout associé à de plus grands risques de faire un infarctus du myocarde. Ces anomalies peuvent favoriser l'apparition d'une dysfonction puis d'une insuffisance cardiaque, qui se termine bien souvent par la mort subite de l'individu.

a) Maladie coronarienne

La **maladie coronarienne** est une sous-catégorie de pathologies cardiaques qui affecte les vaisseaux irriguant le cœur, les artères coronaires, et dont la cause principale est l'athérosclérose, c'est-à-dire la formation d'une plaque d'athérome (accumulation anormale entre autres de lipides, de collagène et de cellules immunitaires) dans la paroi d'une ou plusieurs artères coronaires (Mendis et al., 2011 ; Athanasiou et al., 2017).

Cette plaque va obstruer partiellement ou totalement les coronaires tout en les rigidifiant, avec pour conséquence principale une ischémie des zones vascularisées par les coronaires atteintes. Cette ischémie peut rapidement amener à la mort des cellules cardiaques lorsque l'irrigation est totalement coupée, puis la nécrose du tissu cardiaque avec comme risque majeur l'infarctus du myocarde (Endler, 2001). C'est donc pour cela que la maladie coronarienne est l'une des premières causes de mortalité dans le monde, les maladies ischémiques cardiaques ayant tuées plus de 8,9 millions de personnes en 2019 (chiffres OMS). Plusieurs études ont pu montrer que les changements de l'environnement utérin au cours de la gestation pouvaient favoriser le remodelage des artères coronaires ainsi que le développement de l'athérosclérose dans ces dernières, prédisposant le fœtus à cette maladie coronarienne et ses conséquences sur le cœur.

b) Remodelage cardiaque

Le **remodelage cardiaque** correspond aux mécanismes aboutissant à des changements d'ordre morphologiques et fonctionnels du cœur. L'activité physique peut favoriser le remodelage du cœur, ce qui améliore ses performances et diminue les chances de développer des pathologies cardiovasculaires, mais dans de nombreux cas, ce sont des anomalies sous-jacentes qui provoquent le remodelage pathologique du cœur.

Parmi les changements, il peut être noté une modification de diamètre, de masse (hypertrophie et atrophie), de géométrie (épaisseur et forme des parois) des cavités cardiaques, ainsi que des changements fonctionnels. Ils peuvent être dus à une augmentation de pression ou du volume sanguin cardiaque (hypertension chronique, anomalies congénitales des cavités ou des valves cardiaques) ainsi qu'à la cicatrisation du tissu cardiaque qui serait provoquer par un infarctus du myocarde, de la fibrose, du stress oxydant ou de l'inflammation par exemple (Azevedo et al., 2016). La conséquence majeure d'un remodelage cardiaque pathologique est la dysfonction cardiaque, et plus particulièrement, celle du ventricule gauche. Lorsque les problèmes cardiaques précédents se développent chez le fœtus au cours de la gestation, il peut y avoir une réexpression des gènes fœtaux qui aboutiront à des modifications moléculaires, cellulaires et structurelles du cœur potentiellement néfastes (Tableau 2).

La perte de la fonction ventriculaire est initialement asymptomatique et commence souvent par une hypertrophie (liée à une réorganisation des cardiomyocytes de sa paroi), puis elle s'aggrave progressivement, avec une diminution de la fonction contractile (systolique notamment) et une réduction du volume d'éjection. Les performances du cœur sont alors altérées, ce qui a pour effet un épuisement du muscle qui tend ensuite vers une insuffisance cardiaque. Celle-ci a de nombreuses répercussions sur le reste de l'organisme et est souvent fatale car irréversible.

Mécanisme	Changements principaux	Conséquences
Mort cellulaire	<ul style="list-style-type: none"> • ↗ apoptose et nécrose • ↘ autophagie 	<ul style="list-style-type: none"> • Perte progressive des myocytes
Métabolisme énergétique	<ul style="list-style-type: none"> • β-oxydation • Accumulation de triglycérides • ↗ glycolyse • Dysfonction et atrophie mitochondriale 	<ul style="list-style-type: none"> • Lipotoxicité • ↘ énergie • ↗ stress oxydant
Stress oxydant	<ul style="list-style-type: none"> • ↗ NADPH oxydase • ↗ dégradation des catécholamines • ↗ Xanthine oxydase • ↗ dysfonction mitochondriale • ↘ systèmes antioxydants 	<ul style="list-style-type: none"> • Peroxydation des lipides • Oxydation des protéines • Dégâts de l'ADN • Dysfonction cellulaire • Prolifération des fibroblastes • Activation des métalloprotéases • ↗ apoptose • ↗ voies de signalisation de l'hypertrophie
Inflammation	<ul style="list-style-type: none"> • Réponse innée • Dysfonction de la réponse adaptative 	<ul style="list-style-type: none"> • ↗ cytokines pro-inflammatoires • Dysfonction des macrophages, lymphocytes T et B
Collagène	<ul style="list-style-type: none"> • Prolifération des fibroblastes • ↗ métalloprotéases 	<ul style="list-style-type: none"> • Dégradation du collagène physiologique • Fibrose
Protéines contractiles	<ul style="list-style-type: none"> • ↗ myosine β • ↘ myosine α • ↘ troponine T de type 2 • ↘ phosphorylation de la troponine I 	<ul style="list-style-type: none"> • ↘ contractilité
Transport du calcium	<ul style="list-style-type: none"> • ↘ phosphorylation phospholamban • ↘ canaux calciques de type L, ryanodine, calséquestrine, calmoduline, SERCA 2a 	<ul style="list-style-type: none"> • ↘ calcium lors de la systole • ↗ calcium lors de la diastole
Géométrie	<ul style="list-style-type: none"> • ↗ cavité du ventricule gauche • ↘ épaisseur pariétale • Forme elliptique → forme sphérique 	<ul style="list-style-type: none"> • ↗ stress pariétal du ventricule gauche
Activation neurohormonale	<ul style="list-style-type: none"> • ↗ système rénine-angiotensine-aldostérone • ↗ système nerveux sympathique 	<ul style="list-style-type: none"> • ↗ mort cellulaire, stress oxydant, inflammation, métalloprotéases et fibroblastes • Hypertrophie • Vasoconstriction

Tableau 2 : **Liste de facteurs potentiels impliqués dans le remodelage ventriculaire et pouvant à long terme amener à une dysfonction ventriculaire** (adapté d'après **Azevedo et al., 2016**).

c) Infarctus du myocarde

L'**infarctus du myocarde** est défini comme la mort d'une zone de taille variable du tissu cardiaque, suite à l'obstruction prolongée d'une ou plusieurs artères coronaires. Le mécanisme sous-jacent à l'obstruction d'une artère coronaire est souvent la rupture d'une plaque d'athérome dans le cadre de la maladie coronarienne (Endler, 2001). Par ailleurs, les individus atteints d'hypertension seraient bien plus susceptibles de faire un infarctus du myocarde que la moyenne (Oh and Cho, 2020). La zone de myocarde en aval de l'artère obstruée n'est alors plus irriguée correctement, provoquant une ischémie qui finit par aboutir à sa nécrose. Le tissu cardiaque nécrosé est perdu définitivement ; il est souvent remplacé par du tissu fibrosé collagèneux, créant une cicatrice permanente et non contractile (Colledge et al., 2010). La propagation des potentiels d'action dans cette zone est alors altérée, et avec la perte de cardiomyocytes, elle n'est plus capable de se contracter correctement, ce qui se manifeste fréquemment par des troubles du rythme cardiaque (Henkel et al., 2006). De plus, cette perte du myocarde fonctionnel peut résulter en une surcharge de remplissage abrupte du ventricule gauche ainsi qu'en une inflammation de la zone infarctée (via l'apoptose des myocytes) et une activation neurohormonale. Ces altérations vont déclencher un remodelage ventriculaire (droit et gauche) afin de normaliser le stress appliqué

sur la paroi du myocarde. Il est ainsi observé une dilatation du ventricule avec hypertrophie de sa paroi et des cardiomyocytes, et une réorganisation de la matrice extracellulaire pour distribuer le stress pariétal plus équitablement sur la zone infarctée (St John Sutton and Sharpe, 2000). A long terme et selon la gravité et la localisation de l'infarctus, ce remodelage peut ne pas être suffisant pour conserver la fonction d'éjection et réduire le stress pariétal. Cela peut avoir de graves conséquences : la rupture de la paroi ventriculaire gauche, du muscle papillaire ou encore du septum ventriculaire (Kutty et al., 2013), la détérioration de la fonction contractile (stress oxydant et homéostasie du Ca^{2+} perturbé) avec augmentation des risques de développer une insuffisance cardiaque (Dhalla et al., 2019 ; Morrow and Bohula, 2016), voire d'une mort subite (Blumenthal and Margolis, 2007). Comme pour la maladie coronarienne, des changements de l'environnement utérin au cours de la gestation peuvent favoriser le développement de l'athérosclérose, responsable dans de nombreux cas de l'infarctus du myocarde et de ses conséquences.

d) **Insuffisance cardiaque**

L'insuffisance cardiaque correspond à l'incapacité du cœur à éjecter le sang dans les artères avec suffisamment de force pour le transporter dans le reste du corps, suite à des modifications structurelles et/ou fonctionnelles. Elle est différente d'une crise cardiaque/infarctus du myocarde (mort d'une partie du tissu cardiaque) et d'un arrêt cardiaque (arrêt total de la circulation sanguine), mais peut être induit par le premier et aboutir au second. Elle apparaît souvent avec l'âge, le cœur perdant progressivement son élasticité et sa capacité à se contracter (Feridooni et al., 2015). Mais elle peut également être causée par des pathologies cardiaques, comme l'hypertension artérielle, la maladie coronarienne, les malformations congénitales, les problèmes associés aux valves cardiaques, le diabète, l'obésité ou encore le remodelage pathologique du cœur (survenant après un infarctus du myocarde ou une inflammation par exemple) (Dassanayaka and Jones, 2015 ; Oikonomou et al., 2011 ; Dunlay et al., 2009 ; Marti et al., 2013 ; Malik et al., 2020). Suite à l'apparition de ces problèmes, le cœur peut mettre en place des mécanismes compensatoires, avec notamment un remodelage ventriculaire hypertrophique qui lui permet d'augmenter sa force de contraction, c'est-à-dire sa pression d'éjection, et donc de maintenir le débit cardiaque efficacement à court terme. Cependant, à long terme, cela a pour effet négatif un épuisement du muscle ; en effet, plusieurs études mettent en avant une altération de l'homéostasie du Ca^{2+} indispensable à la contraction (Francis, 2001), ainsi qu'une perte d'élasticité avec des dépenses énergétiques augmentées alors que les apports en nutriments et oxygène sont réduits (ischémie du myocarde avec apoptose des myocytes associée à une perturbation du flux sanguin coronaire, notamment via une dysfonction endothéliale coronaire) (Bauersachs and Widder, 2008 ; Ritter and Neyses, 2003). La distension du ventricule aboutit à une surcharge de ce dernier, rendant ses contractions moins efficaces (Boron and Boulpaep, 2005 ; Jackson et al., 2000). Cet effort prolongé finit par ne plus suffire pour avoir un pompage sanguin efficace. Il aboutit à une baisse de performance du cœur liée à une altération de la capacité contractile d'un ou des ventricules (diminution, voire perte de fonction ventriculaire), à des baisses de pression diastolique et/ou systolique, de volumes de remplissage ou d'éjection ventriculaire (dus à la rigidification et/ou la dilatation du ou des ventricules non compensés) (Hajouli and Ludhwani, 2020 ; Malik et al., 2020 ; Luchi and Taffet, 2007).

L'insuffisance cardiaque apparaît généralement d'abord dans le ventricule gauche, puis le ventricule droit finit par être touché suite aux retentissements hémodynamiques. On distingue deux types d'insuffisance liée au ventricule gauche, selon l'état de la fraction d'éjection : soit elle est inférieure à 50%, et est dite réduite (HF_rEF: heart failure with reduced ejection fraction), soit elle est supérieure à 50%, et est dite préservée (HF_pEF : heart failure with preserved ejection fraction). La fraction d'éjection est préservée lors d'une insuffisance aigüe, avec une dysfonction au niveau diastolique (trouble de la relaxation, de compliance ou du remplissage ventriculaire avec augmentation de la pression atriale pour compenser, implique une hypertrophie des cardiomyocytes, de l'inflammation et de la fibrose), et devient réduite lorsque l'insuffisance devient chronique, avec une dysfonction systolique (caractérisée par une perte de cardiomyocytes et de la fibrose, impactant la capacité du ventricule à se contracter) (Singh and Mehta, 2018 ; Simmonds et al., 2020). Ainsi, le cœur se remplit et se vide moins bien, et bien souvent, les fonctions systolique et diastolique sont toutes les deux touchées.

Les conséquences de l'insuffisance cardiaque les plus observées sont alors un essoufflement, une fatigue excessive, une congestion (notamment pulmonaire), des œdèmes au niveau des membres inférieurs, et dans de nombreux cas, un arrêt cardiaque suite à l'épuisement du cœur et d'autres facteurs secondaires. Le cœur étant globalement moins performant, le sang met plus de temps à traverser le corps et tend à stagner dans les veines (congestion). Des œdèmes (gonflements liés à une rétention de liquide dans les tissus) peuvent se former au niveau des périphéries, ou encore dans l'abdomen (ascite). Les effets de l'insuffisance du ventricule gauche sont particulièrement visibles au niveau pulmonaire, où l'effet de congestion peut être empiré par la dysfonction systolique qui induit une augmentation de pression atriale: à cause des jeux de pression dans les alvéoles, du liquide finit par fuir des capillaires dans l'espace interstitiel et les alvéoles, causant une rigidification des poumons avec accumulation de fluide, et peut aboutir à de l'hypertension pulmonaire. Du sang artériel pulmonaire désoxygéné passe dans des alvéoles mal ventilées, diminuant l'oxygénation artérielle systémique et causant une dyspnée (essoufflement, gêne respiratoire). Les effets de l'insuffisance du ventricule droit se manifestent plutôt dans l'abdomen, car le sang est retenu plus facilement dans les veines cave inférieure et hépatique : en plus de l'ascite, le foie, l'estomac, l'intestin ainsi que les reins peuvent être gravement endommagés, provoquant malabsorption des nutriments, métabolisme altéré, anorexie, rétention sodique et aqueuse rénale via l'activation du système rénine-angiotensine-aldostérone (qui aura pour effet d'empirer l'insuffisance cardiaque en augmentant la pression sanguine et donc le travail du cœur), ou encore foie cardiaque (dysfonction du foie avec fibrose, nécrose, dérèglement métabolique et hypertrophie du foie, appelée hépatomégalie). Enfin, le cœur ne pouvant souvent plus procurer un volume d'éjection adéquat, les muscles ne sont plus correctement perfusés, il est donc fréquemment observé une fatigue importante et disproportionnée lors d'un effort physique. (Inamdar and Inamdar, 2016 ; Dickstein et al., 2008 ; Lappas and Filippatos, 2011 ; Metra et al., 2012 ; Keller-Ross et al., 2019 ; Megalla et al., 2011).

3.3.2. Programmation fœtale d'anomalies vasculaires

La vasoréactivité est un mécanisme régulé, entre autres, par plusieurs voies de signalisation activées dans les cellules endothéliales et les CMLs des parois vasculaires. Lorsque une ou plusieurs de ces voies est perturbée au sein de l'endothélium, cela peut aboutir à une surproduction de ROS, qui aura pour conséquence

l'apparition d'une **dysfonction endothéliale**. Celle-ci est caractérisée par un déséquilibre entre la production des facteurs vasoconstricteurs et vasodilatateurs, ce qui aboutit à une perturbation de la vasorelaxation endothélium-dépendante et une baisse de la biodisponibilité en NO. Elle peut toucher tous les types de vaisseaux, dont les artères coronaires, et est souvent une des premières étapes aboutissant à la survenue de pathologies comme l'athérosclérose et l'hypertension (Puddu et al., 2000).

Plusieurs études, dont celle de Stanner en 1997, ont pu mettre en évidence que la dysfonction endothéliale pouvait être programmée au stade fœtal en cas de malnutrition gestationnelle (Stanner et al., 1997 ; Leduc et al., 2010), et plus récemment, en cas d'obésité et/ou de diabète de type 2 (Leiva et al., 2011 ; Carmela, 2020). En effet, ces pathologies maternelles sont susceptibles d'induire chez le fœtus de l'inflammation associée à un stress oxydant, qui, au niveau vasculaire, augmentent les risques de développer une dysfonction endothéliale, favorisant la vasoconstriction au détriment de la vasorelaxation.

De par son activité élevée, le cœur est l'un des organes les plus demandeurs en oxygène, et est donc une source importante de ROS, notamment via ses artères coronaires. Cela le rend ainsi plus favorable aux dégâts associés au stress oxydant induit par des conditions de développement intra-utérines défavorables, comme l'hypoxie, la malnutrition (sous- et surnutrition), ou encore le tabagisme (Rodríguez-Rodríguez et al., 2018). En plus des impacts directs sur l'état général du cœur (dysfonction thrombotique, prolifération et migration des CMLs amenant à une hypertrophie du cœur, inflammation,...) (Matsuzawa and Lerman, 2014 ; Louey and Thornburg, 2005), ce stress oxydant induit par la programmation fœtale peut aboutir à une dysfonction endothéliale au niveau des artères coronaires, ce qui les rend plus sensibles à l'athérosclérose coronaire, qui est une cause majeure d'infarctus du myocarde, mais va aussi perturber la perfusion générale du cœur (Gutiérrez et al., 2013), ce qui contribue à long terme à des dommages d'ischémie.

3.3.3. Facteurs environnementaux impliqués

Plusieurs facteurs environnementaux peuvent induire la programmation fœtale de ces pathologies cardiovasculaires : la nutrition, le placenta et la consommation de drogues, de médicaments et de tabac de la mère sont les principaux étudiés. Ainsi, de nombreuses études ont mis en avant **l'obésité maternelle**, le **diabète**, le **tabagisme**, les **glucocorticoïdes** (maternels ou par traitements) ou encore la **restriction de croissance** (sous-nutrition et hypoxie) étroitement liée à des désordres gestationnels telle qu'une insuffisance placentaire, comme facteurs environnementaux majeurs et très répandus dans les populations humaines. La plupart de ces facteurs étant fréquemment présents simultanément chez la mère, il est donc souvent difficile d'identifier la véritable cause d'apparition d'anomalies cardiovasculaires chez le fœtus.

Récemment, Balistreri a pu mettre en évidence que l'obésité, le diabète, le tabagisme, l'exposition à des polluants et un régime riche en cholestérol chez la femme enceinte pouvaient provoquer la programmation d'une dysfonction endothéliale, des artères coronaires de petite taille, la rigidification du système vasculaire, des cardiomyocytes moins nombreux, des coagulopathies ainsi qu'un profil lipidique athérogène chez le fœtus, avec

pour conséquence majeure le risque de développer de l'athérosclérose et donc la maladie coronarienne puis infarctus et insuffisance cardiaque chez cette descendance à l'âge adulte (Balistreri, 2020).

En 1995, Barker démontra que la sous-nutrition fœtale était potentiellement associée à des risques plus élevés de développer la maladie coronarienne à l'âge adulte, de par l'hypertension et le diabète de type 2 (insulinorésistance, pressions sanguines et taux de coagulation élevés, et taux plasmatiques anormaux d'hormones et de cholestérol) chez ces individus adultes (Barker, 1995). Par la suite, la restriction de croissance fœtale liée à une insuffisance placentaire (due au tabagisme, à la consommation de drogues, de médicaments, d'alcool, une pré-éclampsie ou encore de l'hypertension maternelle) (Wardinger and Ambati, 2020) a été associée au remodelage cardiaque et des problèmes ischémiques chez le fœtus.

En effet, le nombre de cardiomyocytes fœtaux peut être régulé par plusieurs paramètres : l'IGF-1 (Insulin-like Growth Factor), l'angiotensine II, le cortisol et une pression artérielle physiologique peuvent stimuler leur prolifération, tandis que le tri-iodo-L-thyronine, le peptide natriurétique atrial, une baisse de la charge de remplissage systolique associée à une augmentation du stress pariétal ventriculaire semblent avoir un impact négatif sur cette prolifération. Une diminution du nombre total de cardiomyocytes induit une augmentation du stress mécanique et demande une force de contraction supérieure à la normale pour compenser, résultant en une hypertrophie des cardiomyocytes restants (Roberts et al., 2015). Or, l'insuffisance placentaire réduit l'apport en nutriments (sous-nutrition) et oxygène (hypoxie) du fœtus tout en augmentant de manière chronique la charge de remplissage cardiaque. Plusieurs modèles ont pu montrer que cela induisait une réduction du nombre de cardiomyocytes, de la micro-vascularisation du myocarde, des cardiomyocytes hypertrophiés avec des sarcomères plus courts, un réarrangement des mitochondries, une modification de l'expression de gènes fœtaux impliqués dans l'homéostasie énergétique et de l'oxygène, de plus grandes quantités de collagène, des modifications de la prolifération et de l'apoptose des cardiomyocytes et des changements post-natals d'isoformes de protéines comme la titine et les myosines, rendant le fœtus plus susceptible à des problèmes ischémiques à l'âge adulte (Crispi et al., 2018 ; Roberts et al., 2015).

Dans son étude, Thornburg a aussi fait le lien entre cette insuffisance placentaire au cours du développement fœtal et une réduction des taux circulants d'IGF-1 (Insulin-like Growth Factor 1) ainsi qu'une augmentation des taux circulants de cortisol et du peptide natriurétique atrial, tous associés à des cardiomyocytes fœtaux moins nombreux et moins matures (Thornburg et al., 2011). En 2005, l'équipe de Battista a plus particulièrement mis en évidence que la restriction intra-utérine en nutriments induisait chez la descendance femelle de rat, entre autre : une hypertrophie du ventricule gauche, une surexpression du peptide natriurétique atrial et de la chaîne légère de myosine atriale 1, une sous-expression de l'ATPase Na^+/K^+ β 1, une hypertrophie des cardiomyocytes avec une baisse de leur contractilité, une élongation des sarcomères et une baisse de l'activité de l'aconitase (une protéine du cycle de Krebs, suggérant l'implication de stress oxydant dans l'hypertrophie). Ils ont corrélé l'ensemble de ces paramètres à une hypertrophie cardiaque précoce (Battista et al., 2005). Dans le même registre, un modèle de rate gestante suggère que chez la femme enceinte, une restriction en nutriments (protéines et sodium, notamment), l'hypoxie, les glucocorticoïdes et la consommation de drogue induiraient une

surexpression de gènes du cœur fœtal (via méthylation de l'ADN) qui seraient impliqués dans le développement d'une hypertrophie et d'une insuffisance cardiaque, et augmenteraient les risques d'infarctus du myocarde chez la descendance adulte (Meyer and Zhang, 2007). Il a aussi été montré qu'une hypoxie prolongée *in utero* peut altérer l'expression de gènes fœtaux cardioprotecteurs comme la Protéine Kinase C epsilon (via méthylation de son site promoteur SP-1), la Heat Shock Protein 70 et la NO synthase endothéliale, et rendre le fœtus plus sensible à des troubles ischémiques à l'âge adulte, et donc à un infarctus du myocarde (Patterson and Zhang, 2010).

A l'inverse de la sous-nutrition et de la restriction en nutriments et oxygène, l'obésité maternelle chez la femme enceinte est aussi l'une des plus grandes causes de programmation fœtale d'anomalies cardiovasculaires, souvent en association avec d'autres facteurs comme le diabète maternel gestationnel. En 2013 et 2014, deux grandes études sur des cohortes humaines ont rapporté que les enfants nés de mères ayant un indice de masse corporelle élevé avaient de plus grands risques de développer des pathologies cardiovasculaires à l'âge adulte (Reynolds et al., 2013 ; Eriksson et al., 2014).

Les dérèglements métaboliques observés chez les mères obèses peuvent directement impacter le fœtus via les taux circulants en lipides qui peuvent être transférés via le placenta, mais les mécanismes sous-jacents sont encore mal connus (Heerwagen et al., 2010). Les enfants nés de mères obèses présentent néanmoins souvent un profil lipidique athérogène, ce qui les rend particulièrement sensibles aux pathologies cardiovasculaires telles que la maladie coronarienne et l'infarctus du myocarde, avec les conséquences associées (Roberts et al., 2015). De plus, plusieurs modèles d'obésité maternelle ont pu mettre en évidence qu'elle était associée à une dysfonction cardiaque (Blackmore et al., 2014 ; Wang et al., 2019 ; Loche et al., 2018), une hypertrophie ventriculaire (Fernandez-Twinn et al., 2012 ; Wang et al., 2010), une inflammation et une fibrose du myocarde (Huang et al., 2010 ; Ghnenis et al., 2017 ; Kandadi et al., 2013) ainsi que des pressions artérielles élevées (Mamun et al., 2009 ; Lawlor et al., 2004) chez leur descendance, visibles dès le plus jeune âge.

- L'équipe de Blackmore avait pu noter une augmentation d'expression du récepteur adrénergique β_1 et de l'isoforme β de la chaîne lourde de myosine (β -MHC, connu pour ralentir le raccourcissement des sarcomères de par son activité ATPase lente), et une baisse d'expression de l'isoforme α de la chaîne lourde de myosine (α -MHC, connu pour accélérer le raccourcissement des sarcomères grâce à son activité ATPase élevée) et de SERCA2a (nécessaire à la gestion du Ca^{2+} dans la contraction/relaxation des cardiomyocytes) dans le cœur de souris de 12 semaines nées de mères obèses (Blackmore et al., 2014). Par la suite, Loche avait noté le même déséquilibre entre α -MHC et β -MHC chez des souris de 8 semaines nées de mères obèses (Loche et al., 2018).

Ces deux études en ont déduit une dysfonction cardiaque persistante, les MHC étant directement liés à la performance et l'efficacité du cœur, qui est donc susceptible d'induire une insuffisance cardiaque précoce une fois atteint l'âge adulte. L'année suivante, les travaux de Wang avaient en plus montré, cette fois chez le mouton, une sur-activation de la PKA et de la Protéine Kinase dépendante de la Ca^{2+} -calmoduline II (CaMKII) avec surexpression de la troponine cardiaque T, de la tropomyosine et phosphorylation de la troponine cardiaque I. Il en a conclu que l'obésité maternelle provoquait une

dysfonction contractile des cardiomyocytes liée à un dérèglement de l'homéostasie du Ca^{2+} intracellulaire et une composition aberrante des protéines des myofilaments (Wang et al., 2019).

- Fernandez-Twinn a associé une hypertrophie cardiaque chez la descendance de mère obèse avec une hyper-insulinémie et l'activation de voies de signalisations dépendantes de l'insuline, et potentiellement du stress oxydant comme mécanisme déclencheur. L'hypertrophie serait initiée suite à l'activation de la voie AKT-ERK-mTOR par l'insuline, et les voies de la PI3K et des p38MAPK participeraient ensuite au remodelage pathologique du cœur. La surexpression de mir-133 et la sous-expression de GATA-4, des micro-ARN, dans ce modèle est associée à l'hypertrophie cardiaque, ce qui renforce le potentiel rôle de l'insuline et met en avant l'impact du stress oxydant dans l'activation des voies de signalisation précédentes (mir-133 pourrait être activé par le stress oxydant) (Fernandez-Twinn et al., 2012). Néanmoins, Wang avait suggéré l'inverse : une baisse d'activité des voies PI3K et AKT, toujours avec le stress oxydant (potentiellement via activation de la voie JNK), rendrait le myocarde plus sensible au stress et au remodelage (Wang et al., 2010). Bien qu'un lien soit clairement établi entre remodelage cardiaque chez la descendance et obésité maternelle, les mécanismes sous-jacents nécessitent encore d'être approfondis.
- Inflammation et fibrose sont étroitement liées puisque la fibrose se manifeste en réponse à de l'inflammation. Au niveau cardiaque, il est connu que des mécanismes inflammatoires contribuent à la progression des problèmes ischémiques, du remodelage ventriculaire pathologique et de l'insuffisance cardiaque (Kaya et al., 2008) en stimulant notamment la fibrose. Kandadi a pu démontrer que le cœur fœtal de la descendance de brebis obèse présentait une accumulation de gouttelettes lipidiques, une hypertrophie ventriculaire et des fibres cardiaques irrégulières, le tout associé à une surexpression de protéines inflammatoires (récepteur TLR-4 et interleukines IL-1 α , IL-1 β et IL-6), la phosphorylation de I κ B, une baisse des taux cytoplasmiques de NF- κ B, et une infiltration de cellules immunitaires (neutrophiles et monocytes). Les auteurs de cette étude en ont conclu que l'obésité maternelle pouvait provoquer une inflammation dans le cœur fœtal avec pour conséquence une altération de la morphométrie cardiaque potentiellement délétère (Kandadi et al., 2013).
Sur ce même modèle animal, Huang avait mis en évidence que l'obésité maternelle provoquait une accumulation de collagène en activant la voie de signalisation des p38MAPK (comme pour le remodelage cardiaque, qui implique une part de fibrose) puis celle du TGF- β , nécessaire au développement de la fibrose via des changements d'expression de métalloprotéases et de leurs inhibiteurs dans le tissu cardiaque ; ces résultats ont été corroborés par l'étude de Ghnenis qui avait en plus noté une augmentation d'expression d'autres cytokines pro-inflammatoires (CD-68 et TNF- α) ainsi qu'une surexpression des récepteurs aux glucocorticoïdes et des taux plasmatiques en cortisol anormalement élevés. L'ensemble de ces résultats indiquent que l'obésité maternelle programmerait une inflammation et une fibrose cardiaque chez le fœtus via l'activation de voies de signalisation pro-inflammatoires, et ceci prédisposerait le fœtus à une dysfonction cardiaque précoce à l'âge adulte (Huang et al., 2010 ; Ghnenis et al., 2017).

- Enfin, d'autres études ont pu montrer que l'obésité maternelle pouvait induire de l'hypertension chez la descendance adulte (Loche et al., 2018). Lawlor et Mamun ont en plus associé l'obésité maternelle gestationnelle à une augmentation de l'Indice de Masse Corporelle et de la pression artérielle systolique chez la descendance âgée respectivement de 5 et 21 ans (Lawlor et al., 2004 ; Mamun et al., 2009). Cette pression artérielle élevée chez des enfants et des jeunes adultes pourrait expliquer l'hypertension artérielle chronique et précoce observée chez les individus nés de mère obèse, et les rendre plus susceptibles au remodelage ventriculaire et à l'insuffisance cardiaque (Nadruz, 2014 ; Oh and Cho, 2020), notamment en déclenchant une réponse inflammatoire qui peut à son tour favoriser l'athérosclérose, le remodelage et de la fibrose cardiaque (Brasier et al., 2002 ; Kai et al., 2005).

Comme pour l'obésité maternelle, le diabète maternel au cours de la gestation est capable de programmer l'apparition d'anomalies cardiovasculaires chez le fœtus. De nombreuses études mettent en avant que le diabète, au travers de son impact sur le métabolisme maternel (hyper-insulinémie, hyperglycémie), est responsable du développement de malformations cardiaques chez la descendance, bien que les mécanismes soient encore assez mal connus. Les risques de problèmes cardiovasculaires chez la descendance semblent survenir plus fréquemment si la mère diabétique développe une hyperglycémie pendant son premier trimestre et une insulino-résistance au cours de son troisième trimestre de gestation (Narchi and Kulaylat, 2000 ; Bogo et al., 2020). La cardiomyopathie hypertrophique semble être une des anomalies cardiaques la plus fréquente chez la descendance de mère diabétique. Elle correspond à un remodelage cardiaque et est caractérisée par une augmentation d'épaisseur des parois ventriculaires et septale, réduisant ainsi le diamètre des ventricules et pouvant provoquer une altération des fonctions systolique et diastolique susceptibles d'amener à une insuffisance cardiaque précoce puis le décès (Palmieri et al., 2017). Sa prévalence est élevée : 30% des enfants nés de mères diabétiques sont atteints, dont 13% asymptomatiques (Tabib et al., 2013).

Les fœtus de mères diabétiques semblent être prônes à développer une hyperglycémie et une hyper-insulinémie (secondaire à l'hyperglycémie maternelle) ; or, le cœur est l'une des cibles de l'insuline et les cardiomyocytes exprimeraient des récepteurs à l'insuline. Des études ont ainsi suggéré que la survenue de la cardiomyopathie hypertrophique était liée à un excès d'insuline ainsi que de l'expression de ses récepteurs dans le cœur fœtal qui déclencheraient une hyperplasie et une hypertrophie des cardiomyocytes fœtaux au niveau des parois et du septum ventriculaires, provoquant donc leur hypertrophie (Raafat et al., 2020 ; Miranda et al., 2018 ; Bayoumy et al., 2020 ; Bogo et al., 2020 ; Lin et al., 2017 ; Narchi and Kulaylat, 2000 ; Garcia-Flores et al., 2011). Par ailleurs, certaines de ces études ont aussi directement noté une dysfonction diastolique et/ou systolique (Balli et al., 2014 ; Bayoumy et al., 2020 ; Dervisoglu et al., 2018), ainsi que de la fibrose au niveau du septum ventriculaire (Lin et al., 2017) chez le fœtus.

Très peu est encore connu sur les potentiels mécanismes impliqués. En 2019, Musikant a observé une augmentation de production de collagène ainsi que de l'expression du facteur de transcription FOXO1 et de deux

de ses gènes cibles, Mmp-2 et Cgft (impliqués dans le remodelage de la matrice extracellulaire), et une baisse des taux de connexine 43 (protéine des jonctions communicantes la plus fréquente au niveau ventriculaire) dans le cœur fœtal de descendance de rates diabétiques. Il en a déduit que FOXO1 jouerait un rôle important dans la programmation fœtale d'altérations morphologiques et fonctionnelles par le diabète maternel gestationnel (Musikant et al., 2019). Enfin, Lin et ses collègues ont aussi émis l'hypothèse que l'hypertrophie cardiaque observée chez des embryons et fœtus de mères diabétiques était liée à l'activation des voies de signalisation de JNK, des MAPK impliquées dans les phénomènes d'apoptose et de fibrose pathologiques dans le cœur (Lin et al., 2017). Beaucoup reste à faire pour comprendre comment le diabète de la mère affecte le cœur fœtal afin de prévenir la survenue de pathologies cardiaques chez ces individus.

Parmi tous les facteurs environnementaux étudiés dans le cadre de la programmation fœtale d'anomalies cardiaques, l'obésité maternelle au cours de la gestation est prédominante.

Chapitre 2 : Obésité maternelle, changement d'alimentation post-natale et effets trans-générationnels

1. Obésité : définition et données épidémiologiques

D'après l'OMS, l'obésité est définie comme une accumulation anormale ou excessive de graisse corporelle pouvant nuire à la santé, et est déterminée grâce à l'Indice de Masse Corporelle (IMC). Une personne est considérée comme obèse si son IMC est supérieure ou égale à 30 kg/m². Au-delà de cette valeur, l'obésité peut être classée en 3 degrés de sévérité (I : obésité modérée ; II : obésité sévère ; III : obésité massive ou morbide) (Tableau 3) avec des risques de développer des maladies de plus en plus élevés (WHO, 2000). Dans le monde, la prévalence de l'obésité a presque été triplée entre 1975 et 2016, où l'on estimait le nombre d'adulte (personne de 18 ans et plus) en surpoids à plus de 1,9 milliard, parmi lesquels plus de 650 millions étaient obèses (environ 13 % de la population mondiale – 11% des hommes, 15% des femmes). C'est pour cette raison que l'obésité est aujourd'hui considérée comme un problème de santé publique mondial aux proportions épidémiques (Hales et al., 2017).

Classification en fonction de l'indice de masse corporelle	
Insuffisance pondérale	< 18.5
Éventail normal	18.5 - 24.9
Surpoids	≥ 25.0
Préobésité	25.0 - 29.9
Obésité	≥ 30.0
Obésité, classe I	30.0 - 34.9
Obésité, classe II	35.0 - 39.9
Obésité, classe III	≥ 40.0

Tableau 3 : **Degré d'obésité en fonction de l'Indice de Masse Corporelle (OMS, 2020).**

En effet, l'augmentation de l'IMC est associée à une augmentation des risques de développer des pathologies chroniques comme les maladies cardiovasculaires, le diabète, les troubles musculo-squelettiques, différents types de cancers et le NAFLD (Khan et al., 2018 ; Iliodromiti et al., 2018 ; Al-Goblan et al., 2014 ; King et al., 2013 ; Tomlinson et al., 2016 ; Vucenic and Stains, 2012 ; Polyzos et al., 2019). L'accumulation de tissu adipeux chez ces personnes tend à induire une inflammation chronique et un métabolisme du glucose et des lipides altéré, qui sont des mécanismes clés dans le développement de problèmes cardiovasculaires, avec notamment des taux de lipides, d'adipokines et de cytokines pro-inflammatoires circulants anormaux. Ainsi, il est aujourd'hui connu que l'augmentation des risques cardiovasculaires chez les personnes obèses serait liée à des taux élevés de triglycérides, de LDL cholestérol, de glucose et d'insuline plasmatiques, des cytokines pro-inflammatoires comme l'Interleukine-6 et la protéine C-réactive, de faibles concentrations en HDL cholestérol et en cytokines anti-inflammatoires comme l'adiponectine, et une pression sanguine élevée (Ellulu et al., 2017 ; Klop et al., 2013 ; Orlando et al., 2019). Par ailleurs, cet état inflammatoire chronique et le dérèglement du métabolisme énergétique ne sont pas sans conséquences pour la descendance de femmes obèses.

2. Obésité maternelle : problèmes métaboliques chez la mère et effets sur la descendance

2.1. Prévalence et problèmes gestationnels

La prévalence de l'obésité dans le monde étant en croissance constante, il n'est pas surprenant d'observer une augmentation du nombre de femmes en âge de procréer et étant obèses. En 2016, l'OMS estimait en effet que 40% des femmes de 18 ans et plus étaient en surpoids, et 13% étaient obèses. Les conséquences de cette augmentation d'IMC sur la santé de la femme sont nombreuses et font aujourd'hui encore l'objet de plusieurs études cliniques. Notamment, un aspect important de l'obésité maternelle est son impact sur la gestation et sur la santé de la descendance, du fait de taux circulants élevés de lipides et/ou glucides, d'hormones et de cytokines pro-inflammatoires. Les femmes en surpoids ou obèses sont souvent confrontées à des problèmes de fertilité (menstruations irrégulières, anovulations, ovocytes de mauvaise qualité, mal développés,...) (Reynolds and

Gordon, 2018) ainsi que des complications gestationnelles, natales et post-partum. Il a été observé que les femmes obèses sont plus à risque de développer de l'hypertension artérielle et du diabète gestationnel, de faire une pré-éclampsie, une dépression prénatale, un accident thromboembolique, d'avoir un déclenchement du travail et une césarienne (2 à 3 fois plus de risques comparé aux femmes non obèses) (Kalliala et al., 2017 ; Chu et al., 2007 ; Sebire et al., 2001). Comparé à des mères non obèses, elles ont aussi plus de risques que leur enfant soit mort-né ou qu'il décède peu de temps après la naissance, à cause de taux accrus de naissances prématurées (multiplié par 3 chez les femmes obèses), d'asphyxies à la naissance, de morts subites du nourrisson et d'anomalies congénitales (Nohr et al., 2005 ; McDonald et al., 2010 ; Persson et al., 2014 ; Johansson et al., 2014 ; Stothard et al., 2009). Par ailleurs, les risques de macrosomie (poids de naissance supérieur à 4000 g) sont plus élevés chez la descendance de mères obèses (Gaudet et al., 2014). L'obésité maternelle présente donc non seulement un risque sérieux pour la santé de la mère, mais aussi pour celle de sa descendance au cours de la gestation. Mais des données cliniques et expérimentales ont aussi mis en avant que cette obésité maternelle pouvait avoir des effets plus durables sur la santé de cette descendance, avec de nombreuses pathologies apparaissant de manière précoce.

Plusieurs modèles expérimentaux ont été mis au point afin de mieux comprendre l'impact de l'obésité maternelle sur la descendance, complétant ainsi les études cliniques.

2.2. Modèles animaux d'obésité

Plusieurs modèles animaux sont utilisés pour étudier l'obésité maternelle et ses effets sur la descendance : les rongeurs et le mouton sont les plus fréquemment utilisés, mais il existe aussi des modèles de cochon et de primates non-humains. L'avantage des rongeurs est qu'ils sont capables de devenir obèse rapidement en réponse à un régime obésogène, les portées nombreuses permettent l'étude du dimorphisme sexuel, les périodes de gestation et de lactation courtes permettent d'avoir des individus matures et plusieurs générations en peu de temps, et les modifications métaboliques, anatomiques, comportementales et physiologiques observées sont relativement proches de l'Homme. Pour la souris, la souche *C57Bl6* est couramment utilisée, tandis que chez le rat, ce sont les souches *Sprague-Dawley* et *Wistar* qui sont fréquemment étudiées, suivis de près par les souches *Long-Evans* et *Zucker*. Un régime riche en lipides (HF : High Fat) induira une obésité sans syndrome métabolique, tandis qu'un régime riche en lipides et graisse (HFHS: High Fat High Sugar) amènera plutôt à une obésité couplée à un syndrome métabolique (Fernandes et al., 2016). Des modèles génétiquement modifiés ont aussi été développés pour obtenir des individus obèses rapidement, souvent en modifiant l'expression de la leptine (qui est régulatrice de l'appétit et des réserves de graisses) ou de son récepteur : en l'occurrence, les souris *ob/ob* sont déficientes en leptine (gène *ob*), tandis que les souris *db/db* et les rats *Zucker*, *Koletsky*, *ZDF* et un croisement *Wistar-Kyoto/Zucker* (dit « *Wistar-Kyoto fatty* ») possèdent une mutation sur le gène du récepteur à la leptine. Dans ces cas, les animaux tendent à développer une obésité, notamment via une hyperphagie qui conduit à une prise de poids importante et rapide (Lutz and Woods, 2012). Un régime HF au cours de la gestation chez le rongeur est aussi susceptible d'activer la programmation fœtale

d'un déséquilibre métabolique et énergétique chez la descendance, avec pour effet une hyperphagie qui amènera à une obésité chez ces individus nés de mères obèses (Lutz and Woods, 2012). Il est cependant important de noter que le développement neuronal chez le rongeur s'effectue tôt durant la période post-natale et est fortement stimulé par la leptine, à la différence de l'Homme et des autres modèles de mammifères de grande taille où il se fait au stade fœtal. Or la descendance de mère obèse tend à avoir une hypoleptinémie plus ou moins prolongée après la naissance, ce qui peut influencer leur développement (notamment le système hypothalamique qui contrôle l'homéostasie énergétique et l'appétit) et créer un biais comparé à l'Homme (Reynolds et al., 2017).

Les modèles ovins sont moins utilisés que les rongeurs, mais de nombreuses données obtenues concernant l'obésité maternelle et ses effets sur la descendance se rapprochent fortement de celles obtenues chez divers modèles de souris et de rats. Le mouton présente des caractéristiques proches de l'Homme qui sont intéressantes pour ce type d'étude : une durée de gestation moyenne (environ 147 jours), des portées de un à deux petits en moyenne, des fœtus de tailles et de résistance suffisantes pour de multiples prélèvements et mesures (de la gestation à l'âge adulte), ainsi qu'une organogenèse et une maturité des organes et systèmes similaires à l'Homme. En revanche, le mouton est un ruminant et son système digestif est de fait différent de l'Homme, avec une glycémie plus faible ; leur placenta est aussi structurellement différent, de type « cotylédon », tandis que l'Homme et les rongeurs ont un placenta de type « discoïde » rendant la gestation plus comparable (Chavatte-Palmer et al., 2016). L'obésité maternelle est généralement induite via une augmentation du volume des rations ou de l'apport calorique, souvent avant et/ou pendant la gestation (Mühlhausler et al., 2007), et la souche la plus utilisée est un croisement *Rambouillet/Columbia*. Ainsi, plusieurs effets ont déjà été observés sur les fonctions métaboliques et cardiovasculaires de la descendance au stade fœtal ou dans les premiers jours à premiers mois après la naissance. Néanmoins, encore très peu d'études ont été effectuées sur ce modèle décrivant les effets de l'obésité maternelle sur une descendance adulte, notamment concernant l'hypertension, l'obésité, les problèmes cardiaques et l'insulinorésistance.

Enfin, le dernier modèle d'obésité maternelle très utilisé ces dernières décennies est le modèle de primate non-humain. La proximité génétique et le développement de l'obésité chez ces modèles permettent les meilleures approximations possibles des effets de l'obésité maternelle chez l'Homme, notamment au niveau de la programmation fœtale et des gènes impliqués, et ce, malgré des coûts associés, des durées de gestation et des espérances de vie élevés, et de nombreux autres problèmes possibles liés à chaque espèce. L'obésité peut être induite via des lésions chirurgicales au niveau de l'hypothalamus (qui provoquent une prise de poids et des syndromes diabétiques), des traitements hormonaux, l'utilisation de certaines drogues ou encore le gavage forcé, mais c'est aujourd'hui l'utilisation de régimes contrôlés ou hypercaloriques (Mubiru et al., 2011) qui est préférée, depuis qu'il a été découvert que ces animaux pouvaient devenir spontanément obèse avec l'âge en laboratoire (Hansen, 2014). Ainsi, les macaques rhésus (*Macaca mulatta*) et cynomolgus (*Macaca fascicularis*), les vervets (*Chlorocebus pygerythrus*) et les saïmiris (*Saimiri*) sont parmi les meilleurs modèles d'obésité spontanée (Vaughan and Mattison, 2016) et un panel d'études a déjà montré des modifications métaboliques et comportementales chez des modèles de descendance de mères obèses (Mubiru et al., 2011 ; Bremer et al., 2011 ; Kavanagh et al., 2007 ; Astuti et al., 2014).

2.3. Données cliniques et expérimentales : impact sur la descendance

Pour les modèles animaux, l'obésité maternelle est généralement instaurée par un régime HF pendant plusieurs semaines (voir plusieurs mois), puis ces femelles sont mises en reproductions avec des mâles non obèses afin de ne pas avoir les effets de l'obésité paternelle, qui peut elle aussi influencer le développement fœtal (Sharp and Lawlor, 2019). Les femelles sont ensuite maintenues sous régime HF pendant la gestation et la lactation, puis la descendance suit un régime contrôle d'animalerie pour ne voir uniquement que les effets de l'obésité maternelle sur leur santé. Ainsi, grâce aux modèles expérimentaux et aux études cliniques, le suivi de cette descendance de mères obèses a permis de mieux en mieux cerner le développement de troubles chroniques métaboliques et cardiovasculaires chez ces individus, du stade fœtal jusqu'à l'âge adulte.

2.3.1. Fonction métabolique de la descendance

a) Données cliniques

Il a été montré qu'en plus de risque de macrosomie, de mort-né et de décès prématuré à la naissance (Kalliala et al., 2017), la descendance de mère obèse était prédisposée à développer précocement de l'obésité, de l'intolérance au glucose, de l'insulinorésistance et une dyslipidémie à des âges particulièrement jeunes (enfance et jeunes adultes) ainsi qu'au stade fœtal (Hochner et al., 2012 ; Reynolds et al., 2013 ; Eriksson et al., 2001 ; Woo Baidal et al., 2016 ; Catalano et al., 2009), le tout associé à des problèmes d'hypertension et d'accidents cardiovasculaires.

b) Données expérimentales

Plusieurs modèles expérimentaux ont appuyé ces résultats : divers modèles d'obésité maternelle sur rongeurs ont montré le développement d'une insulinorésistance, une hyperphagie, de l'hypertension, une stéatose hépatique et une adiposité élevée chez leur descendance (Samuelsson et al., 2008 ; Samuelsson et al., 2013 ; Nivoit et al., 2009 ; Saad et al., 2016 ; Stocker et al., 2005 ; Elahi et al., 2009). Au niveau hypothalamique, une des voies de signalisation impliquée serait la voie de POMC (Kuehnen et al., 2012), dont le gène serait hyperméthylé et la protéine sous-exprimée chez la descendance de mère obèse, et ce, dès le stade fœtal, indiquant une altération de voies régulatrices de l'appétit (sous-expression de NPY et AgRP qui freinent normalement l'appétit) avant la naissance (Prior et al., 2011 ; Marco et al., 2014). Une hyperleptinémie associée à des changements de méthylation du gène de la leptine et une résistance à la leptine ont aussi été rapporté (Reynolds et al., 2017 ; Lecoutre et al., 2017 ; Milagro et al., 2009), ainsi qu'une augmentation de marqueurs pro-inflammatoires et d'insulinorésistance (Fante et al., 2016 ; Taylor et al., 2005 ; Segovia et al., 2014). Les voies de signalisation de JNK et IKK seraient aussi impliquées, notamment concernant le syndrome hépatique NASH (Williams et al., 2014). Des résultats similaires et complémentaires ont été obtenus chez les modèles d'obésité maternelle de mouton (Long et al., 2015 ; Nathanielsz et al., 2013 ; Ford et al., 2009 ; Zhang et al., 2011 ; Mühlhausler et al., 2007 ; McMillen et al., 2005 ; Prior et al., 2011) et de primates non-humain (Grayson et al., 2010 ; Aagaard-Tillery et al., 2008 ; Li et al., 2011 ; McCurdy et al., 2009 ; Ganu et al., 2012 ; Suter et al., 2011 ; Puppala et al., 2018).

Toutes ces études ont là encore permis de valider l'implication de phénomènes épigénétiques dans l'apparition de problèmes métaboliques chez la descendance de mère obèse.

2.3.2. Fonction cardiovasculaire de la descendance

a) Données cliniques

En association avec ces problèmes métaboliques, la descendance de mère obèse est susceptible de développer des troubles cardiovasculaires : il a notamment été observée chez des enfants de mère obèse une dysfonction endothéliale et de l'hypertension artérielle associées à une augmentation des marqueurs pro-inflammatoires (Mamun et al., 2009 ; Lawlor et al., 2004 ; Brunton et al., 2021) ainsi que des anomalies cardiaques de type hypertrophie ventriculaire et dysfonction contractile du myocarde, qui pourront favoriser le développement de la maladie coronarienne et augmenter les risques d'infarctus et d'insuffisance cardiaque précoces (Rankin et al., 2010 ; Brite et al., 2014 ; Madsen et al., 2013 ; Persson et al., 2019 ; Ingul et al., 2016 ; Guzzardi et al., 2018 ; Toemen et al., 2016), et ce, chez des individus encore jeunes. Néanmoins, encore peu d'études cliniques effectuées chez l'homme ont permis de suivre la descendance de femmes obèses de la naissance à l'âge adulte afin d'identifier les mécanismes contribuant à l'apparition précoce de ces problèmes cardiovasculaires ; plusieurs hypothèses ont été établies grâce aux modèles d'obésité maternelle animaux mais elles nécessitent encore d'être confirmées chez des patients humains.

De manière générale chez l'homme, quelques études sur la descendance de mères obèses ont permis d'identifier des ARNm dont les expressions chez l'adulte, altérées à cause de l'obésité maternelle, sont associées à la survenue de pathologies cardiovasculaires : l'hypertrophie cardiaque (*miR-21*, *miR-143* et *miR-499*) et l'infarctus du myocarde (*miR-30c*, *miR-139* et *miR-451*) (Da Costa Martins and De Windt, 2012) ; l'insuffisance cardiaque (*miR-21* et *miR-223*) (Han et al., 2011) ; la fibrose cardiaque (*miR-21*, *miR-499*, famille *miRs-30* et famille *miRs-133*) (Bauersachs, 2010) et enfin le remodelage cardiaque (famille *miRs-30*) (Duisters et al., 2009).

b) Données expérimentales

Des données expérimentales ont aussi été obtenues. Chez le rongeur, il a été montré une corrélation entre une exposition intra-utérine à l'obésité maternelle et le développement d'une hypertrophie ventriculaire, de l'hypertension, une dysfonction endothéliale vasculaire et une dysfonction systolique et diastolique chez la descendance (Fernandez-Twinn et al., 2012 ; Blackmore and Ozanne, 2015 ; Poston, 2011 ; Loche et al., 2018 ; Blackmore et al., 2014). Les principaux mécanismes aboutissants à l'apparition de ces anomalies sont encore sujets à débats quant à leurs rôles exacts, mais les plus probants seraient les effets cumulés de l'insulinorésistance, l'hyperleptinémie, un état inflammatoire chronique, une augmentation du tonus nerveux sympathique et des modifications épigénétiques multiples qui amèneraient à un profil lipidique athérogénique, à un développement aberrant des cardiomyocytes (rendant le cœur plus sensibles à de nombreux problèmes hémodynamiques précoces) et à une altération de la vasorelaxation endothélium-dépendante, avec une diminution du nombre de cellules musculaires lisses vasculaires, des artères plus rigides ainsi qu'une dysfonction

endothéliale (souvent à l'origine de l'hypertension artérielle, elle-même source des changements hémodynamiques néfastes du cœur) (Poston et al., 2011 ; Armitage et al., 2005 ; Taylor et al., 2004 ; Van De Maele et al., 2018 ; Ojala et al., 2009 ; Samuelsson et al., 2008 ; Drake and Reynolds, 2010). Au niveau épigénétique, encore assez peu de gènes ont été identifiés en particulier, mais plusieurs voies semblent être impliquées : la descendance de rates obèses développeraient de l'hypertension avec une réduction de l'expression du gène de l'AgRP (dont l'expression freine l'appétit) et de STAT 3 au niveau hypothalamique, signes indicateurs d'une hyperactivité du système nerveux sympathique qui peut altérer le tonus rénal et favoriser l'hypertension artérielle (Henry et al., 2012). Un modèle de descendance de souris obèses aurait aussi présenté une dysfonction endothéliale à 3 mois, une hypertrophie ventriculaire à 2 mois et une hypertension à 6 mois, le tout associé à une hyperphosphorylation de protéines impliquées dans les voies de signalisation de l'insuline, dont Akt, mTOR, ERK et p38MAPK (Blackmore and Ozanne, 2013 ; Fernandez-Twinn et al., 2012), ainsi qu'à une augmentation du ratio β -MHC/ α -MHC et une sous-expression de SERCA2a au niveau cardiaque, indicateurs d'une dysfonction contractile précoce des cardiomyocytes (Blackmore et al., 2014 ; Loche et al., 2018).

A ce jour, le modèle rongeur est le plus aboutit car encore très peu d'études ont été effectuées sur les modèles ovins et de primates non humains, et encore moins se sont focalisées en particulier sur les origines épigénétiques des problèmes cardiovasculaires de la descendance de mère obèse. Parmi tous les mécanismes sous-jacents évoqués précédemment chez le rongeur, seules une insulino-résistance et une hyperleptinémie ont été observées chez le mouton né de brebis obèse (Nicholas et al., 2016 ; Shasa et al., 2015) potentiellement en lien avec des concentrations plasmatiques élevées de cortisol ainsi qu'une augmentation d'expression de ses récepteurs cardiaques (Long et al., 2011 ; Ghnenis et al., 2017). Seule l'insulino-résistance a été mise en avant chez les primates non humains (Fan et al., 2013 ; Nicholas et al., 2016). Néanmoins, des résultats montrant une réduction de l'expression du gène de l'AgRP et de STAT 3 au niveau hypothalamique chez le modèle rongeur de descendance de mère obèse ont été corroborés chez le mouton (Mühlhausler et al., 2006), ainsi que chez les primates non humains (Grayson et al., 2010), où il a aussi été observée une dysfonction endothéliale (altération de la vasorelaxation endothélium-dépendante et de la morphologie vasculaire) associée à une surexpression des ARNm de protéines comme le facteur de croissance endothéliale vasculaire A (VEGFA), le TNF- α et la molécule d'adhésion intercellulaire 1 (ICAM-1) (Fan et al., 2013).

Au niveau purement cardiaque, des études effectuées sur des fœtus issus de brebis obèses ont révélé une accumulation de gouttelettes lipidiques dans le myocarde, une altération de la fonction contractile cardiaque et des changements morphométriques du cœur de type hypertrophique, avec de la fibrose et de l'inflammation. Certaines de ces études ont par ailleurs pu mettre en évidence l'implication de nombreuses voies de signalisation : les changements morphométriques ont été associés à des expressions élevées des gènes codant pour mTOR, NFATc3 et la calcineurine A, et à une hyperphosphorylation de Foxo3a, mTOR et NFATc3, qui sont des gènes fœtaux dont l'activation contribuerait au développement de l'hypertrophie cardiaque (Fan et al., 2011) ; une orientation aberrantes des myofibres cardiaques et une inflammation pourraient être la conséquences d'une surexpression des protéines inflammatoires TLR-4, des interleukines IL-1 α , IL-1 β et IL-6, d'une sous-expression de NF- κ B, et d'une hyperphosphorylation de I κ B (Kandadi et al., 2013) ; la fibrose cardiaque fœtale a été corrélée

à une sur-activation de la voie du TGF- β (Huang et al., 2010) ; enfin, les anomalies contractiles semblent être provoquées en partie par une sur-activation de la PKA et de la CaMKII, par une surexpression de la troponine cardiaque T et de la tropomyosine, ainsi que par une hyperphosphorylation de la troponine cardiaque I, qui sont des facteurs indicateurs d'une homéostasie du Ca²⁺ intracellulaire altérée et d'une composition anormale des myofilaments (Wang et al., 2019). Il est intéressant de noter que malgré ces modifications visibles au stade fœtal, le cœur de ces fœtus n'a commencé à montrer des dysfonctions contractiles qu'en cas de surcharge du travail cardiaque et pas à l'état basal (Wang et al., 2010).

Enfin, les rares études épigénétiques effectuées sur le cœur de descendance de primates obèses n'ont pas encore pu mettre en évidence de voies de signalisation précises. Une étude a révélé que des primates juvéniles nés de mères obèses et âgés de 13 mois avaient un cœur plus gros comparé à des juvéniles nés de mères non obèses, de même âge et de même poids corporel ; cette hypertrophie aurait été associée à une expression anormale de gènes associés à l'hypertrophie et la contractilité cardiaque (Roberts et al., 2015) mais les résultats n'ont pas été publiés. Une seconde étude effectuée chez le babouin (*Papio hamadryas*) a aussi pu révéler une dérégulation de l'expression de plusieurs ARNm cardiaques fœtaux en réponse à l'obésité maternelle, dont certains (*miR-133a*, *miR-197*, *miR-30a*, *miR-499*, et *miR-451*) avaient auparavant été identifiés dans certaines pathologies cardiovasculaires humaines, notamment l'hypertrophie cardiaque et l'infarctus du myocarde (Maloyan et al., 2013).

*Ainsi, malgré le manque de nombreuses données chez l'homme, toutes ces études ont permis de mettre en lumière les impacts, dont nombreux sont néfastes, de l'obésité maternelle sur la santé de la descendance du stade fœtal à l'âge adulte et les potentiels mécanismes de programmation fœtale qui sont impliqués. Mais ces dernières années, des observations cliniques ont pu mettre en évidence qu'un **changement d'alimentation post-natale** précoce était lui-aussi susceptible de modifier la santé de la descendance à l'âge adulte, notamment chez les enfants nés de mère obèse.*

3. Changements d'alimentation post-natale

Plusieurs études récentes ont rapporté que les femmes obèses avaient tendance à moins souvent allaiter leur enfant : d'une part, l'initiation et l'intensité de production de leur lait sont souvent altérées, avec du lait de moins bonne qualité nutritionnelle et en plus faible quantité, et d'autre part, ces femmes tendent à avoir une perception négative d'elles-mêmes, réduisant leur volonté d'allaiter (Jevitt et al., 2007 ; Krause et al., 2011 ; Wojcicki, 2011 ; Amir and Donath, 2007 ; Massov, 2015 ; Hauff et al., 2014). En conséquence, leur enfant doit être précocement nourri avec du lait infantile, dont la composition va différer du leur, et il a aussi par la suite plus de chance d'être exposé au même environnement obésogène que sa mère (Schrempft et al., 2016), ce qui peut créer un décalage important entre la nutrition intra-utérine et la nutrition périnatale. Les effets de ce décalage sur la santé de la descendance de mère obèse étant encore mal connus, des études se sont donc

consacrées à comprendre l'impact d'un changement d'alimentation post-natale précoce sur la programmation de pathologies qui pourraient s'ajouter à celles déjà induites par l'obésité maternelle seule.

Chez le rongeur, le changement d'alimentation post-natale observé chez l'homme est souvent reproduit en faisant une adoption croisée entre des petits nés de femelles contrôles et ceux nés de femelles obèses à la naissance, et en modifiant l'alimentation post-sevrage. Des données ont ainsi pu être recueillies concernant les fonctions métabolique et vasculaire. Des souris *C57Bl6* nées de mère contrôle puis adoptées et allaitées par une mère obèse ont développé de la stéatose hépatique (Oben et al., 2010 ; Monks et al., 2018) et une inflammation du tissu adipeux (Monks et al., 2018) comparé aux petits nés de mère obèse allaités par une mère contrôle (Oben et al., 2010), et aux petits nés d'une mère contrôle ou obèse et ayant été allaité par cette même mère (Monks et al., 2018). De plus, des modèles de rat nés de mère contrôle et allaités par une mère obèse ont montré une augmentation de l'adiposité et une insulino-résistance (George et al., 2019 ; Thamer et al., 2014) ainsi qu'une résistance à la leptine (Sun et al., 2012 ; Thamer et al., 2014) visible dès l'âge de 3 mois, en lien avec de l'hyperphagie et une altération de l'activité de la voie de POMC (sous-expression des récepteurs à l'insuline et à la leptine) (Gomes et al., 2018). Ces études ont permis de mettre en évidence le rôle essentiel de l'alimentation entre le moment de la naissance et du sevrage sur le développement de pathologies à l'âge adulte, potentiellement déjà programmées au cours de la vie fœtale. Par ailleurs, il a pu être montré qu'un régime riche en graisse après le sevrage pouvait exacerber les effets négatifs de l'obésité maternelle chez la descendance en termes de poids du corps (Howie et al., 2009 ; Chen et al., 2012), de métabolisme lipidique (Benkalfat et al., 2011), de sensibilité à l'insuline (Volpato et al., 2012 ; de Almeida Faria et al., 2017) et au glucose (Tamashiro et al., 2009), et de dysfonction endothéliale vasculaire (Torrens et al., 2012). Néanmoins, les conséquences d'un changement d'alimentation post-natale sur la fonction cardiaque restent à ce jour peu explorées et nécessitent encore de nombreuses recherches.

Outre le changement de régime lui-même, il semblerait aussi que le développement des anomalies métaboliques et vasculaires soit modifié selon la période où le régime riche en graisse a été mis en place. En effet, Khan et ses collègues ont établi un système d'adoptions croisées chez le rat afin d'obtenir 4 groupes de petits : des petits nés de mère contrôle et adoptés par une mère contrôle ou obèse, et des petits nés de mère obèse et adoptés par une mère contrôle ou obèse. Ceci dans le but de voir l'impact d'un changement de régime prénatal, post-natal avant sevrage, ou les 2 en même temps, sur les fonctions métabolique et vasculaire de la descendance. Ils ont pu constater que les petits ayant été exposés au régime HF uniquement durant la gestation, uniquement pendant l'allaitement, et pendant ces 2 périodes, avaient tous développé une hyper-insulinémie à jeun à l'âge de 6 mois. En revanche, bien que leur fonction vasculaire ait elle-aussi été touchée, les modifications n'étaient pas équivalentes selon le groupe : les animaux nés de mère obèse et allaités par la même mère ont ainsi montré la même altération de la vasodilatation endothélium-dépendante de leurs artères de résistance que les animaux nés de mère obèse et allaités par une mère contrôle, alors que le groupe né de mère contrôle et adopté par une mère obèse a présenté un profil vasculaire encore plus détérioré que les autres groupes (Khan et al., 2005). Ces données tendent à prouver que non seulement la période d'exposition au régime HF est importante dans la programmation de pathologies, mais aussi que certaines fonctions seraient plus sensibles que d'autres

aux modifications de l'alimentation post-natale. Mais ces résultats suggèrent aussi que l'obésité maternelle aurait un effet protecteur contre les conséquences d'un passage vers une alimentation riche en graisse après la naissance, et donc que les modifications structurelles et fonctionnelles, induites *in utero* chez le fœtus en réponse à l'obésité gestationnelle, auraient bien des effets bénéfiques dans le cas où les environnements pré- et post-natals restent relativement proches (Khan et al., 2005).

Enfin, des études se sont penchées sur la composition du lait maternel afin de comprendre par quel mécanisme l'alimentation riche en lipide après la naissance peut contribuer au développement de ces anomalies chez la descendance. Il a été déterminé que le lait de mère obèse contenait, entre autres, des concentrations plus élevées en glucose, en lipides (dont triglycérides), en leptine et en insuline comparé au lait de mère non obèse (Purcell et al., 2011 ; Liang et al., 2016 ; Sun et al., 2012 ; Vogt et al., 2014 ; Gorski et al., 2006 ; Ellsworth et al., 2018 ; Oben et al., 2010). Il a aussi pu être noté une teneur en eau plus faible (Bautista et al., 2016 ; Purcell et al., 2011) et une composition en acide gras altérée, avec généralement : une augmentation de l'acide arachidonique et des acides gras monosaturés, et une diminution des acides eicosapentaénoïque et docosahexaénoïque (Gorski et al., 2006 ; Ellsworth et al., 2018 ; Bautista et al., 2016).

De telles différences semblent vouées à influencer le bon développement post-natal du nouveau-né, faisant de la composition du lait un élément clé dans la programmation des fonctions essentielles à la vie adulte de la progéniture.

OBJECTIFS DE LA THESE

Le nombre de personnes obèses augmentant d'année en année, la prévalence de l'obésité maternelle chez les femmes en âge de procréer est elle-aussi croissante. Néanmoins, bien que l'impact de cette obésité maternelle sur la santé de la mère soit bien connu, les effets de cette exposition *in utero* sur la santé de sa descendance, particulièrement à long terme, nécessite encore de nombreuses études. Qui plus est, cette descendance de mère obèse est souvent exposée à un changement d'alimentation post-natale précoce car les mères obèses ont tendance à peu ou pas allaiter. Là encore, les conséquences à long terme de ce décalage d'alimentation ante- et post-natale sur la santé de la progéniture restent très mal connues.

Aussi, l'**objectif** de cette thèse a été de déterminer si un changement d'alimentation post-natale mis en place dès la naissance aurait des effets bénéfiques ou délétères sur la programmation fœtale d'anomalies métaboliques, vasculaires et cardiaques chez la descendance de mère obèse. Nous nous sommes plus particulièrement focalisés sur la fonction cardiaque qui demeure encore très peu étudiée.

Dans un premier temps, les effets de l'obésité maternelle sur l'apparition d'anomalies vasculaires et métaboliques chez la descendance ont été caractérisés en mettant en évidence que ces anomalies vasculaires sexe-dépendantes apparaissaient indépendamment des anomalies métaboliques (**Guillot** and Payen et al., *Inter J Obes*, 2021). Pour se faire, la fonction vasculaire de la descendance de mères obèses âgée de 4 mois (avant l'apparition des troubles métaboliques) a été analysée.

Dans un second temps, les effets de l'obésité maternelle sur le développement d'anomalies cardiaques chez la descendance ont été étudiés, avant l'apparition des troubles métaboliques et vasculaires chez ces animaux. De plus, les mères obèses n'allaitant que très peu et leur bébé consommant très vite du lait infantile, l'impact d'un changement d'alimentation post-natale sur l'apparition de ces problèmes cardiaques a également été étudié. Ce changement d'alimentation a été mimé grâce à des adoptions croisées effectuées à la naissance : des animaux nés de mères contrôles ont été adoptés par une mère obèse, et ceux nés de mères obèses ont été adoptés par une mère contrôle. L'étude de la fonction cardiaque de la descendance a été réalisée chez des animaux âgés de 2,5-3 mois (Guillot et al., article en cours).

RESULTATS

PARTIE 1 : Impact de l'obésité maternelle sur la programmation foétale d'anomalies vasculaires, indépendamment des anomalies métaboliques chez la descendance

**Guillot, A., *Payen, C., Paillat, L., Fothi, A., Dib, A., Bourreau, J., Schmitt, F., Loufrani, L., Aranyi, T., Henrion, D., Munier, M. and Fassot, C. (2021). Pathophysiological adaptations of resistance arteries in rat offspring exposed in utero to maternal obesity is associated with sex-specific epigenetic alterations. Int. J. Obes., 45, 1074-1085.*

**Co-premier auteur*

Contexte scientifique

Ces dernières années, de nombreuses études cliniques et expérimentales ont permis de mettre en évidence qu'un changement de l'environnement intra-utérin au cours de la grossesse peut impacter le développement fœtal en modifiant la structure et/ou la fonction de certains organes (Miranda et al., 2017 ; Kwon and Kim, 2017). Ces modifications sont des mécanismes adaptatifs dont le but est de permettre un développement optimal du fœtus dans des conditions qui peuvent dans certains cas être délétères. C'est ce qu'on appelle la programmation fœtale. Cette dernière met en jeu des mécanismes épigénétiques sensibles aux modifications environnementales, comme la méthylation de l'ADN ou l'acétylation des histones, permettant une fine régulation de l'expression de gènes fœtaux. La méthylation de l'ADN au niveau des cytosines des îlots CpG permet en l'occurrence d'éteindre de manière durable l'expression de certains gènes, ce qui en fait un acteur important dans la programmation fœtale (Thornburg et al., 2010 ; Tang and Ho, 2007). L'ensemble des hypothèses associées à la programmation fœtale sont aujourd'hui rassemblées sous le terme de DOHaD (« Developmental Origins of Health and Diseases » ou « origines développementales de la santé et des maladies ») (Rial-Sebbag et al., 2016).

Au niveau mondial, le nombre de personnes étant classées comme obèses (Indice de masse corporelle (IMC) ≥ 30 kg/m²) (WHO, 2000) a atteint un seuil « épidémique », avec une prévalence de femmes en âge de procréer (Lawlor et al., 2012). Naturellement, le nombre d'enfants nés de mère obèse augmente lui-aussi de manière inquiétante. En plus des problèmes de santé directs chez la mère, de récentes études ont laissé apparaître que cette obésité maternelle pouvait avoir des effets néfastes sur les fonctions métaboliques et cardiovasculaires de la descendance. En effet, il a été montré que l'obésité gestationnelle pouvait provoquer une intolérance au glucose, une insulino-résistance et une dyslipidémie (Hochner et al., 2012 ; Reynolds et al., 2013 ; Woo Baidal et al., 2016) favorisant le développement précoce d'une obésité et d'un diabète de type 2 (Drake and Reynolds, 2010 ; Fernández-Sánchez et al., 2011), ainsi que des problèmes d'hypertension et d'accidents cardiovasculaires chez la descendance (Samuelsson et al., 2010). Des études expérimentales effectuées sur le rat ont par ailleurs montré que ces anomalies cardiovasculaires pouvaient être provoquées par une altération de la vasorelaxation endothélium-dépendante dans les artères de conductance (Armitage et al., 2005) et de résistance (Khan et al., 2005). Cependant, ces résultats ont été obtenus sur des animaux âgés et qui présentaient déjà des troubles métaboliques importants (Taylor et al., 2004), alors qu'il avait été observé que les enfants nés de mère obèse n'étaient pas forcément obèses mais présentaient malgré tout un profil cardiovasculaire délétère à des âges très précoces (Frias and Grove, 2012). Or, tout comme la fonction métabolique, la fonction vasculaire peut être sujette à des modifications épigénétiques (Abi Khalil, 2014 ; Costantino, 2019). Ceci laisse à penser que les anomalies vasculaires pourraient être directement programmées au stade fœtal, indépendamment des anomalies métaboliques.

Les artères de résistance possèdent une vasoréactivité essentielle dans la perfusion des organes et dans les résistances périphériques, leur donnant un rôle majeur dans la régulation de la fonction cardiovasculaire générale (Intengan and Schiffrin, 2000). Ces artères sont capables de modifier leur diamètre afin de moduler le

flux sanguin, et ce, grâce à des agents biochimiques qui vont jouer sur la vasoconstriction ou la vasodilatation. Les principaux agents vasorelaxants sont ceux impliqués dans les voies du monoxyde d'azote (NO), de la prostacycline (PGI2) et des facteurs hyperpolarisants dérivés de l'endothélium (EDHFs) (Losordo et al., 2016). Le tonus vasculaire peut aussi être influencé par un mécanisme appelé remodelage vasculaire, qui consiste en un réarrangement des composants moléculaires et cellulaires de la paroi des vaisseaux (Mulvany et al., 1996). Il est fréquemment mis en place suite à des modifications hémodynamiques induites par des pathologies métaboliques (van Varik et al., 2012). Ainsi, les anomalies touchant le fonctionnement et la composition de la paroi de ces artères, induites par des troubles métaboliques, sont susceptibles de provoquer un dysfonctionnement des microvaisseaux, qui pourra ensuite se répercuter sur le reste du système vasculaire et être à l'origine de diverses pathologies cardiovasculaires (Loufrani and Henrion, 2008 ; Sorop et al., 2017 ; Clough, 2015). Il est donc impératif de mieux connaître les mécanismes profonds impliqués dans de telles modifications structurelles et fonctionnelles dans les artères de résistance.

Cette première étude s'est donc portée sur l'impact de l'obésité maternelle sur la programmation fœtale d'anomalies vasculaires chez la descendance. L'hypothèse émise était que des modifications épigénétiques chez la descendance, induites par l'obésité maternelle, seraient en partie responsables de l'apparition d'anomalies vasculaires à l'âge adulte, et que ces anomalies vasculaires apparaîtraient indépendamment des troubles métaboliques induits par cette obésité maternelle. L'objectif était de démontrer ou non que l'obésité maternelle pouvait engendrer directement des anomalies vasculaires indépendamment des anomalies métaboliques chez la descendance adulte, et de caractériser les modifications épigénétiques mises en jeu.



Pathophysiological adaptations of resistance arteries in rat offspring exposed in utero to maternal obesity is associated with sex-specific epigenetic alterations

Cyrielle Payen¹ · Abigaëlle Guillot¹ · Lily Paillat¹ · Abel Fothi² · Abdallah Dib¹ · Jennifer Bourreau¹ · Françoise Schmitt^{3,4} · Laurent Loufrani¹ · Tamas Aranyi^{2,5} · Daniel Henrion^{1,4,6} · Mathilde Munier^{1,4,7} · Céline Fassot¹

Received: 23 April 2020 / Revised: 10 December 2020 / Accepted: 27 January 2021
© The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature Limited 2021

Abstract

Background/objectives Maternal obesity impacts vascular functions linked to metabolic disorders in offspring, leading to cardiovascular diseases during adulthood. Even if the relation between prenatal conditioning of cardiovascular diseases by maternal obesity and vascular function begins to be documented, little is known about resistance arteries. They are of particular interest because of their specific role in the regulation of local blood flow. Then our study aims to determine if maternal obesity can directly program fetal vascular dysfunction of resistance arteries, independently of metabolic disorders.

Methods With a model of rats exposed in utero to mild maternal diet-induced obesity (OMO), we investigated third-order mesenteric arteries of 4-month old rats in absence of metabolic disorders. The methylation profile of these vessels was determined by reduced representation bisulfite sequencing (RRBS). Vascular structure and reactivity were investigated using histomorphometry analysis and wire-myography. The metabolic function was evaluated by insulin and glucose tolerance tests, plasma lipid profile, and adipose tissue analysis.

Results At 4 months of age, small mesenteric arteries of OMO presented specific epigenetic modulations of matrix metalloproteinases (MMPs), collagens, and potassium channels genes in association with an outward remodeling and perturbations in the endothelium-dependent vasodilation pathways (greater contribution of EDHF₂ pathway in OMO males compared to control rats, and greater implication of PGI₂ in OMO females compared to control rats). These vascular modifications were detected in absence of metabolic disorders.

Conclusions Our study reports a specific methylation profile of resistance arteries associated with vascular remodeling and vasodilation balance perturbations in offspring exposed in utero to maternal obesity, in absence of metabolic dysfunctions.

Introduction

Combined clinical and experimental studies clearly demonstrate that the prenatal environment influences fetal development [1–3] and has a deep impact on the structure and/or function of key organs. Epigenetic mechanisms, under the control of environmental signals, are considered

These authors contributed equally: Cyrielle Payen, Abigaëlle Guillot

Supplementary information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1038/s41366-021-00777-7>.

✉ Céline Fassot
celine.fassot@inserm.fr

¹ UMR CNRS 6015, INSERM U1083, Mitovasc Laboratory, University of Angers, Angers, France

² Institute of Enzymology, Research Center for Natural Sciences, Hungarian Academy of Sciences, Budapest, Hungary

³ UPRES EA 3859, HIFIH laboratory, Angers, France

⁴ University Hospital of Angers, Angers, France

⁵ Department of Molecular Biology, Institute of Biochemistry and Molecular Biology, Semmelweis University, Budapest, Hungary

⁶ CARFI (Cardiovascular Function In Vitro) Facility, Angers, France

⁷ Reference Center for Rare Disease of Thyroid and Hormone Receptors, University Hospital Angers, Angers, France



as candidate molecular mediators of fetal programming [4]. Because DNA methylation at cytosines of CpG sites induces long-term gene silencing, this process is one of the major epigenetic regulation mechanisms [5]. Thus DNA methylation imprints in developmental programming result in life-long alterations in gene expression and lead to an increased risk of obesity or cardiovascular diseases during adulthood [6].

Obesity reaches epidemic proportions worldwide increasing the prevalence of obese women of reproductive age [7]. Clinical studies have investigated the impact of in utero exposure to maternal obesity on the health of children and demonstrated that maternal obesity during pregnancy results in an elevation of blood pressure and cardiovascular disease in adults [8, 9]. In addition, experimental studies on rats have shown that this deleterious cardiovascular profile could be due to altered endothelium-dependent vasodilation of conductance [10] and resistance [11] arteries. But these vascular dysfunctions were observed in old animals and often in presence of increased adiposity [12]. However, the absence of obesity in children born to obese mothers (OMO) did not prevent the appearance of deleterious cardiovascular profiles [13] suggesting direct fetal programming of the vascular system. Similar to metabolic perturbations being associated with epigenetic modifications [14], the development of the vascular system is strongly influenced by epigenetic mechanisms and endothelial function is a key target of reprogramming as shown in maternal diabetes [15, 16].

Resistance arteries play a key role in the control of peripheral vascular resistance, tissue perfusion, and, as a result, in cardiovascular homeostasis [17]. Due to their vascular tone, resistance arteries are able to increase or decrease their diameter in order to regulate organ blood flow. The vasomotor tone is closely linked to mediators responsible for dilatator mechanisms such as nitric oxide (NO), prostacyclin (PGI₂), and endothelium-derived hyperpolarizing factor(s) (EDHFs) [18, 19]. In addition, resistance arteries are also able to adapt their wall organization by a process known as remodeling. Changes in the hemodynamic environment as observed during metabolic diseases, induce structural adaptation and remodeling of the vascular tree [20]. Thus, microvascular abnormalities, both in structure and function, seem to be a greater precursor to a wide array of vascular diseases because of their specific system of mechanotransduction [21, 22]. Even if the relation between prenatal conditioning of cardiovascular diseases by maternal obesity and the microvasculature begins to be documented [10–12], little is known about the structure and function of resistance arteries.

In our study, we investigate epigenetic profile associated with vascular structure and reactivity of mesenteric arteries (diameter < 200 µm) of 4-month old rats in order to

determine the impact of in utero exposure to maternal obesity, independently of metabolic disorders.

Materials and methods

Ethical approval

All experiments were conducted in accordance with the institutional guidelines (3R principles) and the recommendations for the care and use of laboratory animals of the French Ministry of National Education, Research and Innovation. The protocol was approved by the Ethics Committee of “Pays de Loire” (permit no. 00961.01).

Animal model and in vivo experimental study

Female Sprague–Dawley rats, ~6 weeks of age, were purchased from Janvier Labs and were acclimatized for 7 days in the laboratory animal husbandry unit (SCAHU, Angers, France). The animals were housed in individual cages (1500 cm³ for 3 animals 400–600 g) within a controlled temperature room (21–23 °C) and maintained under a 12-h light/dark cycle with free access to water and food. After this period of acclimation, females were randomized to either a control diet or a high-fat diet. Five female rats were fed *ad libitum* with a standard normal-fat control diet (NF, 8.4% fat, 19.3% protein, 72.4% carbohydrate [w/w], 13.97 kJ g⁻¹, diet code: 3430, Serlab, Compiègne, France) and seven female rats were fed a high-fat diet during minimum 12 weeks (HF, 22.6% fat, 23.0% protein, 35% carbohydrate [w/w], 16.73 kJ g⁻¹, diet code: 824053, SDS, Dietex International Ltd., Witham, UK).

Then, each female was mated with a non-obese male. After weaning, offspring from control mothers (CMO) and from OMO had access to control diet and tap water *ad libitum*. Before 48 h postpartum, all litters were reduced to eight pups (four males and four females). Each group was composed of animals born from a minimum of five different litters (at least two males or two females from each litter per group without randomization/blinding). All experiments were performed on 4-month old rats (1 month after the intensive maturation of the vascular structure [23]).

One week before euthanasia, insulin sensitivity and glucose tolerance were evaluated with ipITT or ipGTT. For ipITT, a single intraperitoneal (ip) injection (1 IU kg⁻¹ of body weight) of human recombinant insulin (Umluline®, 100 UI ml⁻¹, Lilly, Indianapolis, IN, USA) was delivered after a 4h-fast. The ipGTT was performed using a single ip injection of a D-glucose solution (100 mg/100 g of body weight) after an overnight fast. Blood glucose was then measured from the tail vein just before and 15, 30, 60, and 120 min after insulin or glucose injection, using test strips

and reader (ACCU-CHEK Go®, Roche, Basle, Switzerland). The area under curves (AUC) was calculated using the trapezoidal rule of Prism 7 software (GraphPad Prism® Software). At 4 months of age, rats were weighed and euthanized by carbon dioxide inhalation. For each animal, eight third-order mesenteric arteries free of fat and adhering connective tissues were gently dissected: four were frozen for epigenetic study and four others were placed in a physiological salt solution for vascular reactivity study; among these four segments, one artery was embedded in Tissue-Tek (Sakura Finetek, Alphen aan den Rijn, the Netherlands) and frozen in isopentane for histomorphometric analysis. Blood samples, white adipose tissues, and liver were also collected.

Methylation profiling of DNA from third-order mesenteric arteries of 4-month old rats

Genomic DNA was extracted from frozen mesenteric arteries using a DNA extraction kit (DNeasy Blood and Tissue Kit, Qiagen, Hilden, Germany) accordingly to the manufacturer's protocol. DNA from five animals of four groups (male and female OMO and CMO) was subjected to reduced representation bisulfite sequencing (RRBS) (service from Diagenode, Cat#G02020000) as described below.

Genomic DNA quality control

DNA concentration of the samples was measured using the Qubit® dsDNA BR Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). DNA quality of the samples was assessed with the Fragment Analyzer™ and the DNF-487 Standard Sensitivity or the DNF-488 High Sensitivity genomic DNA Analysis Kit (Advanced Analytical, Santa-Clara, CA, USA).

RRBS library preparation

RRBS libraries were prepared using the Premium RRBS Kit (Cat# C02030033, Diagenode, Liège, Belgium). In total, 100 ng of genomic DNA were used to start library preparation for each sample. Following library preparation, samples were pooled together by ten. PCR clean-up after the final library amplification was performed using a 1.45× beads: sample ratio of Agencourt® AMPure® XP (Beckman Coulter, Brea, CA, USA).

RRBS library pools quality control and sequencing

DNA concentration of the pools was measured using the Qubit® dsDNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). The profile of the pools was checked

using the high sensitivity DNA chip for 2100 Bioanalyzer (Agilent, Santa Clara, CA, USA). RRBS library pools were sequenced on a HiSeq3000 (Illumina, San Diego, CA, USA) using 50 bp single-read sequencing (SR50). Quality control of sequencing reads was performed using FastQC. Adapter removal was performed using Trim Galore version 0.4.1. Reads were then aligned to the rat reference genome m5 followed by methylation calling using Bismark v0.16.1 [24].

Bioinformatic analysis

Results were analyzed by MethylKit (v1.8.0). First, methylated and unmethylated cytosines (Cs) in CpG context were read in Cs with 10≤ reads were kept. Differentially methylated sites (DMSs) were extracted by using the “calculate DiffMeth() function”, a logistic regression-based method. The over-dispersion correction option was selected and the Chi-squared test was chosen, as it was suggested by the creators of MethylKit [25]. The results were filtered by the $q \leq 0.01$ significance value. DMSs were annotated according to the type of genomic region they are located (promoter, exon, intron, intergenic or CpGisland, shore, other). Hypo- and hyper-methylated chromosomal positions were further annotated to obtain the nearest ENTREZ and RefseqIDs, Gene Names. Moreover, the analysis was performed with GOrilla (web-based application) for identifying and visualizing enriched GO terms in the ranked list of genes (Gene Ontology enRIchment anaLysis and visualiZation tool) [26]. We selected GO terms with a significant FDR q -value (corresponding to the correction of the p -value for multiple testing of 14464 GO terms).

Histomorphometric analysis of third-order mesenteric arteries of 4-month old rats

We used 7 μm sections of mesenteric arteries. Internal diameter, medial cross-sectional area (MCSA), and intima-media thickness (IMT) were determined by staining sections with orcein. The vascular smooth muscle cells (VSMCs) number was determined based on specific nuclei shape (elongated ovoid-shaped nuclei) coupled to DAPI-positive staining, α-smooth-muscle actin (monoclonal anti-α-smooth-muscle actin, A2547, lot #128M4881V, 1/1000, Sigma Aldrich, Saint-Louis, MO, USA)-positive and CD45 (polyclonal anti-CD45, sc-1121, lot #C0212, 1/200, Santa Cruz Biotech, Dallas, TX, USA)-negative immunostaining. Afterimage acquisitions (Nikon Eclipse E600 microscope, Sony camera), analyses were performed using ImageJ software (NIH, USA). Three different images of the mesenteric artery for one animal were analyzed and then averaged to obtain one value per animal.

Vascular reactivity of third-order mesenteric arteries of 4-month old rats

Vascular function was assessed by studying the reactivity of 4-month old rats isolated second-order mesenteric arteries. Four arterial segments (2 mm long) from one animal were dissected and mounted on a wire-myograph (DMT, Aarhus, Denmark). Then two tungsten wires (25 μ m diameter) were inserted into the lumen of the artery and fixed respectively to a force transducer and a micrometer. All mesenteric arteries were bathed in a 5 ml organ bath containing a physiological salt solution (130.0 mM NaCl, 3.7 mM KCl, 1.2 mM MgSO₄, 14.9 mM NaHCO₃, 1.6 mM CaCl₂, 5.0 mM HEPES, 1.2 mM KH₂PO₄, and 11 mM glucose) maintained at a pH of 7.4, a pO₂ of 160 mmHg and a pCO₂ of 37 mmHg. After wall tension normalization at 90 mmHg to approximate the in vivo transmural pressure [27, 28], mesenteric arteries were allowed to stabilize for 30 min. The ability of the four segments of mesenteric arteries to contract was first tested with KCl (80 mM) and secondly with a cumulative concentration-response curve to phenylephrine (PE 1 nM to 10 μ M). Then the integrity of the endothelium was tested using acetylcholine (ACh, 1 μ M) after precontraction with PE (1 μ M). After washout, the four arteries were precontracted with PE to a level approximately equivalent to 80% of the maximal response, and vasorelaxation was assessed with a cumulative dose-response curve of ACh (1 nM–10 μ M). Then, ACh-induced vasorelaxation of the first segment was tested in the presence of *N*^G-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME, 100 μ M, NO synthase inhibitor); ACh-induced relaxation of the second segment was tested in presence of L-NAME + indomethacin (L-NAME + INDO; INDO, 10 μ M, COX inhibitor); ACh-induced relaxation of the third segment was tested in presence of KCl25 (25 mM, EDHF blockade) and finally, ACh-induced vasorelaxation of the last segment was tested in presence of L-NAME + INDO + KCl25. At the end of the experiment, endothelium-independent vasorelaxation was studied with a cumulative dose-response curve of sodium nitroprusside (SNP, 1 nM to 10 μ M) in the four different artery segments. All reagents were purchased from Sigma-Aldrich (Saint-Louis, MO, USA). Data were expressed as a % relaxation of PE-induced precontraction.

Metabolic analysis of 4-month old rats

Plasma measurements

Metabolites and insulin were measured in plasma. Total cholesterol, high-density lipoprotein (HDL), low-density lipoprotein (LDL), and triglycerides were measured using a C16000 chemistry analyzer (Abott®, Chicago, IL, USA) at the Biochemistry Laboratory of the University Hospital of Angers. Insulin was measured using the Rat Ultrasensitive

Insulin ELISA kit (80-INSRT-E01, Eurobio, Courtaboeuf, France) according to the manufacturer's instructions.

White adipose tissue analysis

Visceral (perigonadal and perirenal) and subcutaneous (inguinal) white adipose tissues were collected; fat pad mass was determined than was fixed in 4% paraformaldehyde during 24 h before embedded in paraffin. Consecutive tissue sections (7 μ m) were used for hematoxylin and erythrosine staining in order to measure adipocyte-area distributions after image acquisition (Nikon Eclipse E600 microscope, Sony camera). The measurement of adipocyte area was realized with ImageJ software (NIH). Six different sections of each adipose tissue were analyzed for one animal and then averaged to obtain one value per animal.

Statistical analysis

All results are presented as means \pm SEM compared using Mann–Whitney test. Means of the groups at different time points or different concentrations (ipITT, ipGTT, adipocyte area, vascular reactivity curves) were analyzed using a two-way ANOVA followed by Bonferroni's multiple comparisons test. Values of $p < 0.05$ were considered to be significant. All statistical analyses were performed using Prism7 software (GraphPad Prism® Software, San Diego, CA, USA), including the comparison of variances.

Results

Impact of HF diet on mothers

After a minimum of 12 weeks of HF diet, obese females have a higher body weight than control females (383.8 \pm 7.2 g vs. 333.0 \pm 20.6 g, $p < 0.05$) associated with an increase of visceral and subcutaneous adiposity (Supplemental Fig. 1a), but without impact on insulin sensitivity (ipITT glucose AUC (0–120 min): 480.9 \pm 22.67 vs. 375.9 \pm 10.32, ns) or glucose tolerance (ipGTT glucose AUC (0–120 min): 1019.0 \pm 40.7 vs. 860.4 \pm 20.4, ns) (Supplemental Fig. 1b) and vascular reactivity (Supplemental Fig. 1c, d). These results show a moderate level of obesity in our model reflecting clinical observations.

Modifications of the methylation pattern of genes involved in the structure and function of mesenteric arteries in 4-month old male and female offspring from OMO

The analysis of DNA methylation changes of mesenteric arteries between OMO and CMO after bisulfite treatment

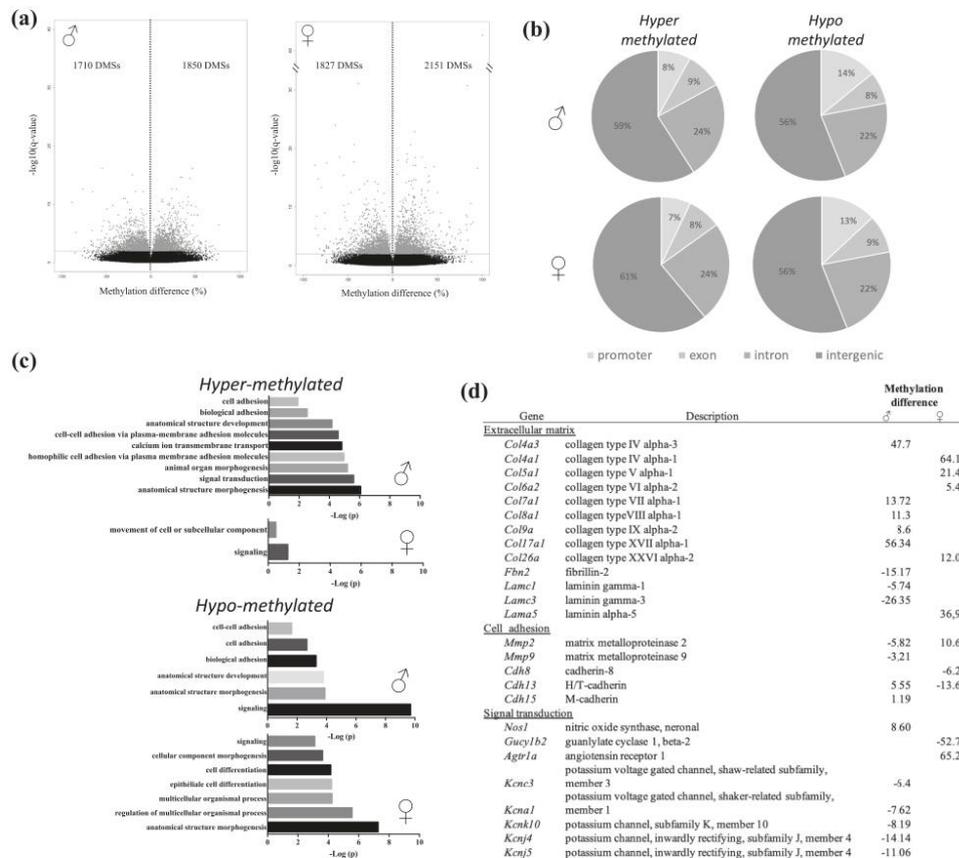


Fig. 1 DNA methylation profile of mesenteric arteries of 4-month old OMO males and females. **a** Volcano plot of differences in DMSs methylation between OMO and CMO males and females ($n = 5$ per group). The red dots represent differentially methylated sites (DMSs) among the 836,051 probes in males (left panel) or 692,139 probes in females (right panel). **b** Genomic localization of hyper- and hypo-

methylated DMSs of male (top panel) and female (bottom panel) OMO compared to CMO rats. **c** Identification of GO terms significantly overrepresented in differentially hyper- or hypo-methylated DMSs of OMO males and females compared to CMO rats. **d** Genes of interest with methylation difference between OMO and CMO.

showed 1850 hyper- or 1710 hypo-methylated DMSs among 836,051 CpGs sites in male offspring, and 2151 hyper- and 1827 hypo-methylated DMSs among 692,139 CpGs sites in female offspring (Fig. 1a). Both hyper- and hypo-methylated DMSs were found preferentially in intergenic sequences and intronic regions with a similar profile between male and female offspring (Fig. 1b). However, we observed a 1.8-fold increase of hypo-methylated DMSs in gene promoters compared to hyper-methylation both in males and females (Fig. 1b).

In OMO males, the GO enrichment analysis of hyper- and hypo-methylated DMSs showed an over-representation

of genes implicated in development and adhesion processes, cell signaling, signal transduction, and calcium transport (Fig. 1c). The genes with the greatest difference in methylation are those involved in vascular structure and function. For example, collagens (e.g., *Col4a3*, *Col17a1*) were strongly hyper-methylated although laminin and fibrillin-2 sequences were hypo-methylated (Fig. 1d). These modifications were associated with the hypo-methylation of genes coding for matrix metalloproteinases (*Mmp2* and *Mmp9*) (Fig. 1d). We also detected DMSs incorporated in genes regulating mesenteric artery function with a hypo-methylation of potassium channels

Table 1 Histomorphometric analysis of mesenteric arteries in 4-month old males and females.

	Male		Female	
	CMO	OMO	CMO	OMO
				
Internal diameter (μm)	126.7 \pm 20.5	156.3 \pm 15.7*	105.2 \pm 7.3	139.5 \pm 15.3***
MCSA (μm^2)	1426.6 \pm 3197.1	21768 \pm 5308.1*	10532.4 \pm 761.5	15650.8 \pm 2435.0***
IMT (μm)	22.0 \pm 3.1	26.1 \pm 4.3	20.0 \pm 1.1	22.3 \pm 2.6
VSMC number	5.7 \pm 0.5	5.7 \pm 0.5	5.0 \pm 0.1	6.0 \pm 0.4*

Orcein staining of the mesenteric artery (magnification $\times 4$, scale bar = 100 μm).

MCSA media cross-sectional area, IMT intima-media thickness, VSMC vascular smooth muscle cell.

* $P < 0.05$, ***OMO vs. CMO. Data are mean \pm SEM, $n = 6$ per group.

genes (e.g., *kcnj4*, *kncn3*) and the neuronal NO synthase (*Nos1*) (Fig. 1d).

In OMO females, the most over-represented GO terms among hyper-methylated DMSs were related to synapse organization and cell signaling although the most over-expressed GO term among hypo-methylated DMSs corresponded to anatomical structure morphogenesis (Fig. 1c). We found a hyper-methylation of genes coding for extracellular matrix (ECM) proteins as collagens (e.g., *Col4a1* or *Col5a1*) or laminin alpha-5 (*Lama5*). In addition, we observed a hyper-methylation of the angiotensin receptor 1 (*Agtr1a*) gene and a hypo-methylation of guanylate cyclase 1 β 2 (*Gucy1b2*) gene, both were implicated in the vascular function.

Remodeling of mesenteric arteries appears in a sex-dependent manner in 4-month old male and female offspring from OMO

In OMO offspring, we detected an outward hypertrophic remodeling of mesenteric arteries characterized by increases of the internal diameter and the MCSA (Table 1). Interestingly, in OMO males, this hypertrophic wall remodeling appears without modification of the number of VSMCs, unlike OMO females where hypertrophic remodeling is correlated to an increase of the VSMCs number proportionally to the growth of the vessel ($\sim +25\%$) (Table 1).

Vasodilator pathways in mesenteric arteries are modified in a sex-dependent manner in 4-month old male and female offspring from OMO

We studied vascular reactivity in segments of mesenteric arteries of 4-month old male and female offspring. We first analyzed global vasoconstriction and vasorelaxation. Both

in OMO males and females, KCl- or PE-induced smooth muscle cell-dependent vasoconstriction was similar to CMO groups (Fig. 2a, b). Similarly, global endothelium-dependent (ACh) or endothelium-independent (SNP) vasorelaxation was not altered in OMO males and females compared to CMO groups (Fig. 2c, d).

We then analyzed the relative contribution of the three different vasoactive pathways involved in the endothelium-dependent relaxation of mesenteric arteries. Blocking NO production with L-NAME induced the same decrease of maximal response to ACh-induced vasorelaxation ($\sim -20\%$) in OMO and CMO males and females (Fig. 3a, e) showing an equivalent implication of this pathway in mesenteric artery vasorelaxation. In males, the vasodilator response to ACh in presence of L-NAME + INDO was not significantly different between the two groups (Fig. 3b). Thus, the contribution of the COX/PGI₂ pathway (blocking by INDO) is similar between OMO and CMO males. Interestingly in OMO males, we detected an altered ACh-induced vasodilator response with a reduced maximal response ($E_{\text{max}} = -35\%$ between OMO and CMO, $p < 0.05$) after blockade of EDHFs with KCl25 (Fig. 3c). This observation suggests a stronger involvement of the EDHFs pathway in mesenteric artery endothelium-dependent relaxation compared to CMO males. Conversely, in OMO females, vasodilator response to ACh in presence of L-NAME + INDO was reduced ($E_{\text{max}} = -42\%$ between OMO and CMO, $p < 0.01$) (Fig. 3f) whereas the ACh-induced vasodilator response in presence of KCl25 was not modified (Fig. 3g). These results show a greater involvement of the cyclooxygenase/PGI₂ pathway in mesenteric artery endothelium-dependent relaxation of OMO females. Finally, ACh-induced vasorelaxation was totally inhibited by L-NAME + INDO + KCl25 both in male and female offspring mesenteric arteries (Fig. 3d, h).

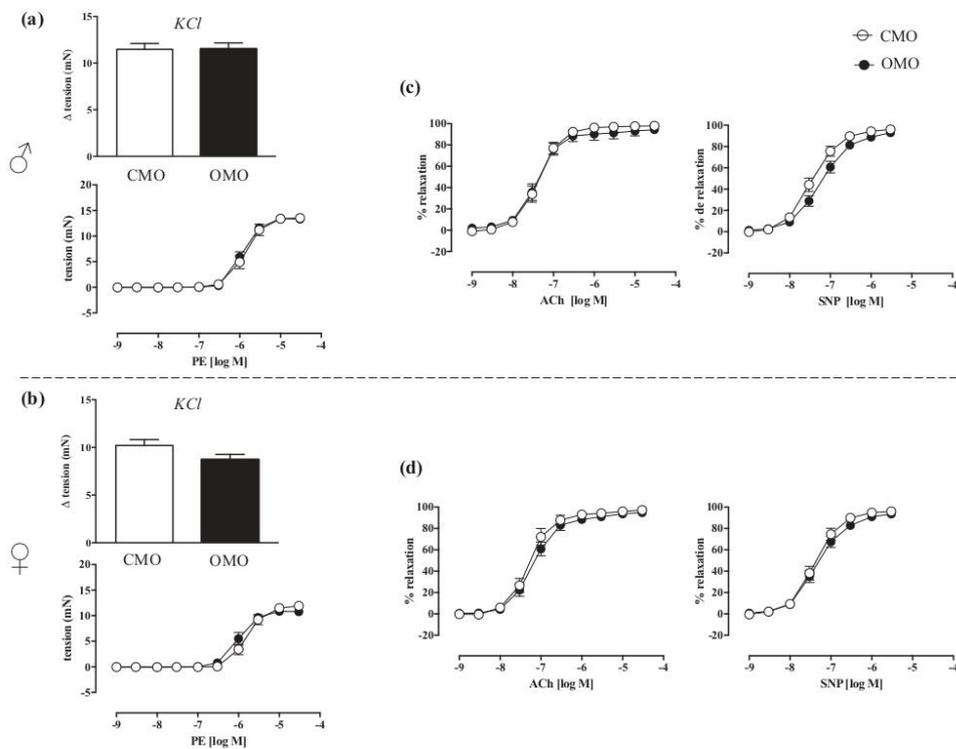


Fig. 2 Vascular reactivity of mesenteric arteries in CMO and OMO males (top panel) and females (bottom panel) at 4 months of age. Global vasoconstriction responses to KCl 80 mM or cumulative doses of phenylephrine (PE) performed in CMO and OMO males (a)

and females (b). Global vasodilation responses to cumulative doses of acetylcholine (ACh) or Sodium nitroprusside (SNP) in CMO and OMO males (c) and female (d) offspring. Values are means \pm SEM ($n = 13$ CMO and 11 OMO males; $n = 12$ CMO and 15 OMO females).

Metabolic analysis does not show perturbations in 4 month-old male and female offspring from OMO

At birth, there was no difference in body weight between OMO and CMO (OMO: 7.52 ± 0.17 g vs. CMO: 7.06 ± 0.15 g, $n = 22$ per group) and in litter size (OMO: 8.1 ± 1.1 pups/L vs. CMO: 7.8 ± 2.4 pups/L). However, at 4 months of age, while OMO and CMO males had similar growth with no difference in body weight and tibia length (Table 2), OMO females had a lower body weight associated with a significantly smaller tibia length indicating growth retardation compared to CMO females (Table 2).

Male and female offspring exposed in utero to maternal obesity did not show any difference in blood glucose and plasma insulin levels compared to CMO (Table 2). These animals also presented similar plasma levels of total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, and triglycerides compared to CMO (Table 2). Moreover, OMO males

presented normal responses to the glucose and insulin tolerance tests although OMO females presented a greater glucose tolerance without modification of insulin sensitivity (Table 2). In addition, analysis of OMO males and females white adipose tissues did not show any modification neither in subcutaneous nor in visceral adipose tissue weight compared to CMO (Fig. 4a). Adipocyte area repartition of both subcutaneous and visceral adipose tissues was also similar between the two groups (Fig. 4b).

Discussion

The present study shows that perinatal exposure to maternal obesity induces specific epigenetic gene modulations of MMPs, collagens, and potassium channel genes of resistance arteries, in presence of outward remodeling and sexual dimorphism of vasodilator pathways. These vascular

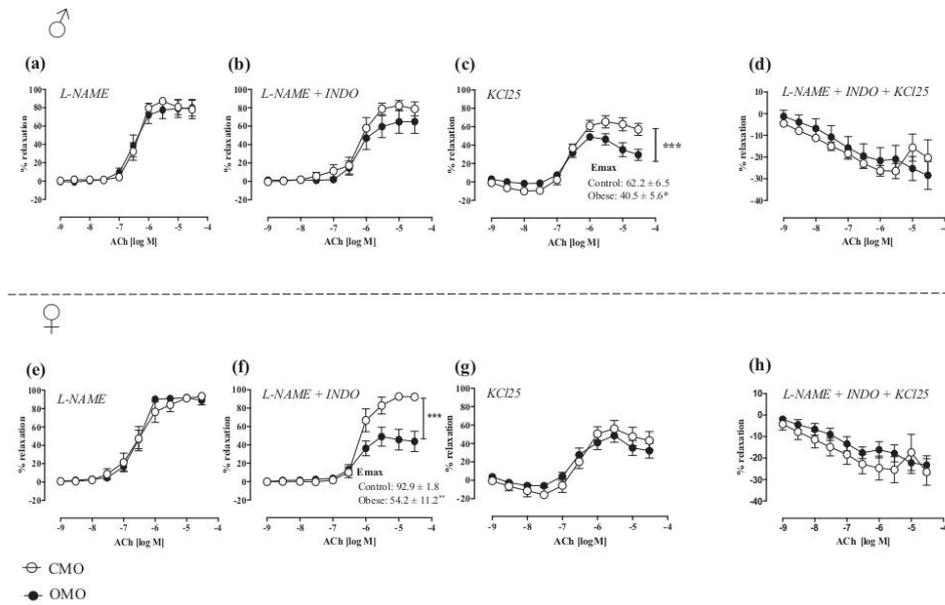


Fig. 3 Analysis of vasoactive pathways involved in the endothelium-induced relaxation of mesenteric arteries in CMO and OMO males (top panel) and females (bottom panel) at 4 months of age. Vasodilation responses to cumulative doses of acetylcholine (ACh) in presence of (a, e) N^G -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME), (b, f) N^G -nitro-L-arginine methyl ester associated

with indomethacin (L-NAME + INDO), (c, g) KCl 25 mM (KCl25) or (d, h) N^G -nitro-L-arginine methyl ester associated with indomethacin and KCl 25 mM (L-NAME + INDO + KCl25). Values are means \pm SEM ($n = 13$ CMO and 11 OMO males; $n = 12$ CMO and 15 OMO females). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, and *** $P < 0.001$ OMO vs. CMO.

Table 2 Physiological development, glucose metabolism, and lipid profile of 4-month-old male and female offspring born to control mothers (CMO) or obese mothers (OMO).

	Male		Female	
	CMO	OMO	CMO	OMO
Bodyweight (g)	567.7 \pm 10.5	563.4 \pm 12.1	324.5 \pm 8.7	308.1 \pm 5.7
Tibia length (cm)	4.33 \pm 0.04	4.36 \pm 0.04	4.02 \pm 0.03	3.88 \pm 0.04*
Insulin (ng mg ⁻¹)	2.66 \pm 1.19	2.48 \pm 1.01	2.83 \pm 1.42	2.07 \pm 0.85
Blood glucose (mmol L ⁻¹)	7.69 \pm 0.34	8.17 \pm 0.46	9.45 \pm 1.04	7.06 \pm 0.25
<i>ipGTT</i>				
Glucose AUC (0–120 min)	756.8 \pm 13.6	743.5 \pm 7.3	817.8 \pm 9.3	750.7 \pm 7.7*
<i>ipITT</i>				
Glucose AUC (0–120 min)	470.0 \pm 14.5	437.2 \pm 9.3	135.3 \pm 18.9	137.5 \pm 9.6
Total cholesterol (mmol L ⁻¹)	2.59 \pm 0.09	2.36 \pm 0.05	2.68 \pm 0.07	2.37 \pm 0.13
HDL cholesterol (mmol L ⁻¹)	0.64 \pm 0.03	0.64 \pm 0.05	0.80 \pm 0.20	0.76 \pm 0.08
LDL cholesterol (mmol L ⁻¹)	0.93 \pm 0.13	0.63 \pm 0.84	0.70 \pm 0.25	0.60 \pm 0.13
Triglycerides (mmol L ⁻¹)	2.24 \pm 0.19	2.37 \pm 0.10	2.50 \pm 0.50	2.16 \pm 0.28

* $P < 0.05$ OMO vs. CMO; Data are mean \pm SEM ($n =$ minimum 7 per group).

dysregulations are observed in the absence of metabolic dysfunction.

The study was performed on 4 month-old rats (corresponding to 9 human years [29]) because we and others

have shown immature vascular tone of resistance arteries before 1 month of age (unpublished data and [30]). In addition, the absence of metabolic disorders in our experimental model allowed us to study direct vascular

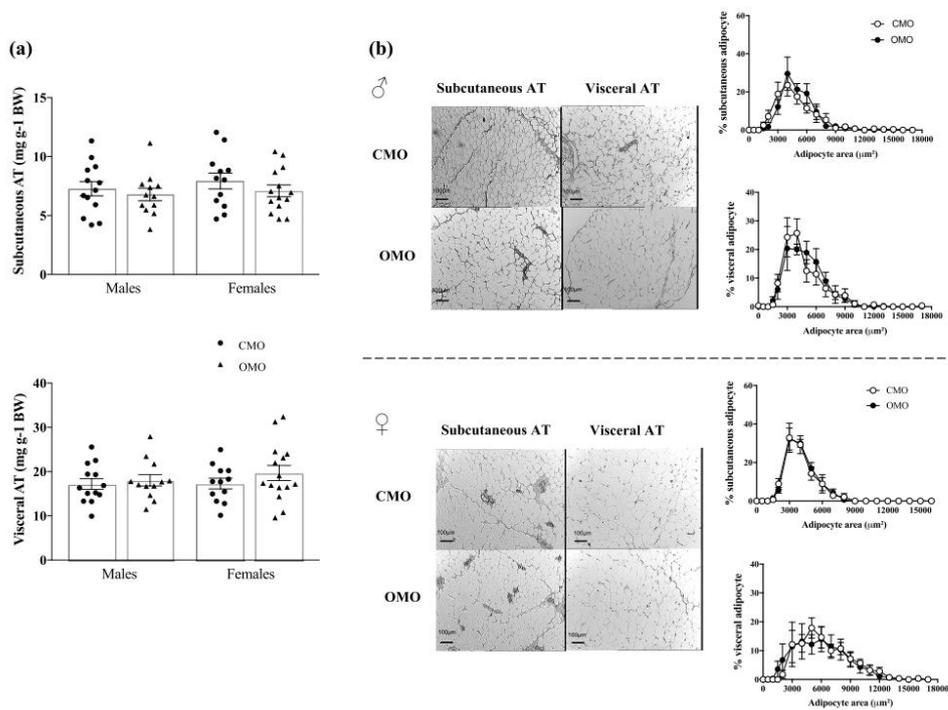


Fig. 4 White adipose tissue analysis of CMO and OMO males and females at 4 months of age. **a** Male and female subcutaneous (*top panel*) and visceral (*bottom panel*) adipose tissue (AT) weights in CMO and OMO rats. **b** Examples of light microscopy images of male

(*top panel*) and female (*bottom panel*) adipose tissue sections (magnification X4, scale bar 100µm) associated with adipocyte area quantification in CMO and OMO rats. Values are means \pm SEM ($n = 7-15$ animals per group).

programming independently of metabolic disorders which are known to impact vascular function [31].

In our study, we demonstrated structural modifications of resistance arteries in OMO (i.e., increase of internal diameter and MCSA). Clinical studies have also reported vessel structure modifications with a positive correlation between maternal body mass index and children's aortic remodeling [32, 33]. One of the molecular mechanisms that could explain an outward hypertrophic remodeling observed in OMO males would be the epigenetic modulations of MMPs and collagens [34]. MMPs 2 and 9 are implicated in the degradation of the ECM, and by this way, regulate vascular wall remodeling [35, 36]. Thus, the hypomethylation of DMSs specific to MMPs could reflect an over-expression of the corresponding genes. Conversely, DMSs specific to MMPs are hyper-methylated in OMO females mesenteric arteries suggesting that this pathway is not involved; in this case, the increase of VSMCs number

could explain the outward remodeling. Thus maternal obesity induces remodeling in all offspring with different molecular mechanisms according to sex. Interestingly, we detected a wide hyper-methylation of several types of collagen (e.g., collagens IV, V, or VII) suggesting a decreased expression of these genes. Even if it is well established that exposure to maternal obesity enhances collagen accumulation in skeletal muscles or in the myocardium [37, 38], a decreased collagen content is often observed in cerebral vasculature of dams exposed in utero to maternal high fat diet [39] or during the development of abdominal aortic aneurysm induced by high-fat diet [40]. Nevertheless, other mechanisms can be considered. Indeed the development of an early vascular remodeling directly influenced by the nutritional environment, independently of these epigenetic modifications cannot be ruled out as a clinical report in term newborns showed no association between epigenetic age acceleration and large vessel thickening [41].

In parallel to structural modifications, our study highlighted an impaired endothelium-dependent vasodilation balance prior to the development of metabolic abnormalities. Interestingly, our study reports that this abnormal endothelium-vasodilation balance of resistance arteries is influenced by gender, similarly to many studies that showed sexual dimorphism in metabolic outcomes in animals exposed in utero to maternal obesity [42]. In OMO males, we demonstrated an increased involvement of the EDHFs pathway in the relaxation of mesenteric arteries of 4-month old rats. The EDHFs pathway involves activation of calcium-dependent potassium channels by ACh, leading to K⁺ efflux and thus to membrane hyperpolarization [43]. Using KCl at a dose of 25 mM blocks EDHFs-induced vasorelaxation and decreased the maximal vasodilator effect in response to ACh. The hypo-methylation of potassium channels genes that we detected during the epigenetic analysis strengthened these functional results. In OMO females, by using L-NAME + INDO, we observed a decreased maximal vasodilator response induced by ACh; as the NO-induced vasodilation response is similar between OMO and CMO, our result implies a greater involvement of the PGI₂ pathway (main COX component-induced vasodilation [44]) in the endothelium-vasodilation balance of small mesenteric arteries compared to CMO. Moreover, OMO females exhibit adaptive vascular mechanisms to preserve dilator function as suggested by epigenetic modulations with hypo-methylation of guanylate cyclase and hyper-methylation of AT1R. Only a few studies focused on the impact of maternal obesity on resistance arteries function in male and female offspring. Two studies demonstrated a reduced global vasorelaxation due either to a reduction in NO function compensated by an increased EDHF function [45] or to an impaired EDHF-mediated vasorelaxation both in male and female offspring of dams fed a high-fat diet [12]. In our model, we did not observe any impact on global relaxation; the endothelium-vasodilation imbalance is not sufficient to alter global resistance arteries reactivity; but it could be rapidly worsened by the hypertrophic remodeling in OMO and contribute, later in life, to the development of cardiovascular diseases.

Independently of epigenetic modulation, alteration of ECM could directly influence vascular reactivity as it has been demonstrated that ECM determines cell-cell communication [46]. Myoendothelial coupling is involved in small arteries and arterioles endothelium-dependent hyperpolarization and then in relaxation [47]. Therefore, changes in ECM structure is likely to change the nature of this intercellular communication and hence the type of mediators [48]. Furthermore, our findings suggest differences in the changes in ECM structure found in mesenteric arteries between males and females could affect the type of mediator involved in endothelium-mediated relaxation.

In conclusion, our study demonstrated that exposure to maternal obesity is able to program resistance arteries structure and function of offspring probably via epigenetic modulations of genes related to ECM, cell adhesion and signal transduction. These modifications are no related to metabolic dysregulations. Thus, our results suggest that it would be important not only to monitor metabolic function but also to follow the endothelial function of resistance arteries. Indeed, it would seem that acting on metabolic disorders would not be sufficient to protect vascular function and then to prevent cardiovascular diseases later in life. This would limit the harmful effects induced by maternal obesity in terms of metabolic and cardiovascular diseases and lead to personalized medicine.

Data availability

The data, methods used in the analysis, and materials used to conduct the study are available from the corresponding author upon reasonable request. Requests to access the datasets should be directed to celine.fassot@inserm.fr.

Acknowledgements We thank Dr Françoise Larcher and Dr Khaled Messaoudi (Biochemical Department, University Hospital of Angers, France) who had performed plasma metabolic measurements, and SCAHU (an animal facility in Angers) which takes care of the animals.

Funding This project was funded by "Fondation de France" (grant No. 00075806 "Influence of maternal obesity on fetal programming of cardiovascular abnormalities"). CP received a grant from the University of Angers to support her Ph.D.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

References

1. Padmanabhan V, Cardoso RC, Puttabyatappa M. Developmental programming, a pathway to disease. *Endocrinology*. 2016; 157:1328–40.
2. Barker DJ, Osmond C, Golding J, Kuh D, Wadsworth ME. Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease. *BMJ*. 1989;298:564–7.
3. Persson PB, Persson AB. Foetal programming. *Acta Physiol*. 2019;227:e13403.
4. Godfrey KM, Costello P, Lillycrop K. Development, epigenetics and metabolic programming. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser*. 2016;85:71–80.
5. Jaenisch R, Bird A. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nat Genet*. 2003;33(Suppl):245–54.
6. Langley-Evans SC. Nutrition in early life and the programming of adult disease: a review. *J Hum Nutr Diet*. 2015;28(s1):1–14.

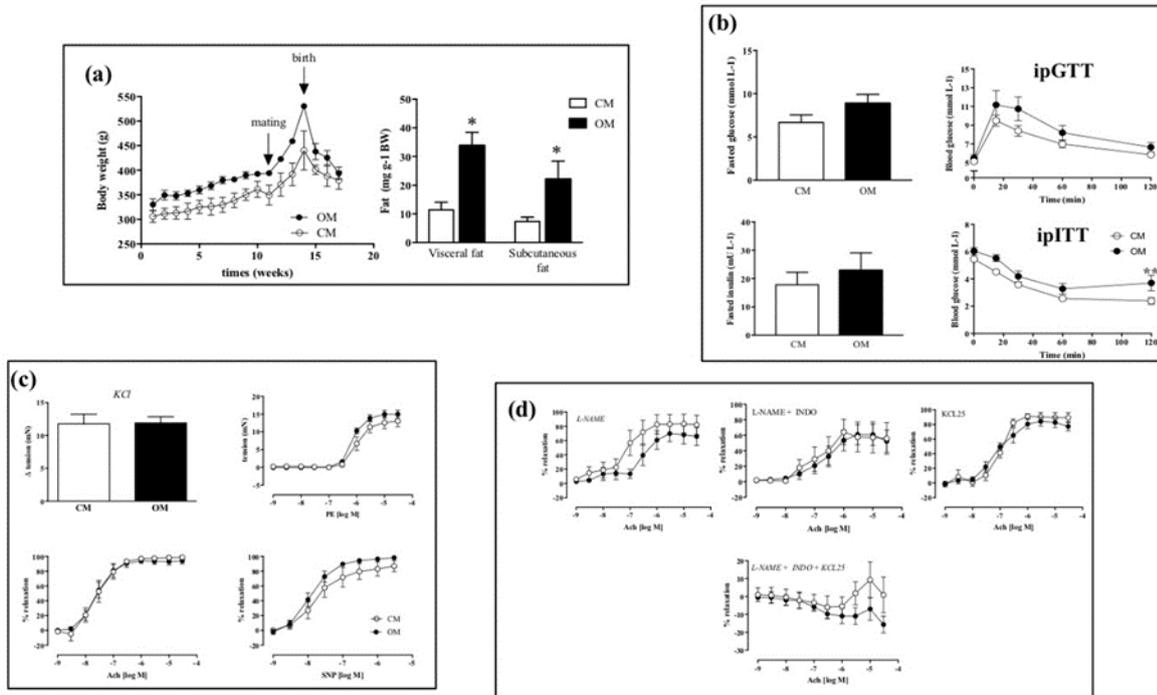
7. Poston L, Caleyachetty R, Chantingius S, Corvalán C, Uauy R, Herring S, et al. Preconceptional and maternal obesity: epidemiology and health consequences. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2016;4:1025–36.
8. Mamun AA, O'Callaghan M, Callaway L, Williams G, Najman J, Lawlor DA. Associations of gestational weight gain with offspring body mass index and blood pressure at 21 years of age: evidence from a birth cohort study. *Circulation.* 2009;119:1720–7.
9. Reynolds RM, Allan KM, Raja EA, Bhattacharya S, McNeill G, Hannaford PC, et al. Maternal obesity during pregnancy and premature mortality from cardiovascular event in adult offspring: follow-up of 1 323 275 person years. *BMJ.* 2013;347:f4539.
10. Armitage JA, Lakasing L, Taylor PD, Balachandran AA, Jensen RI, Dekou V, et al. Developmental programming of aortic and renal structure in offspring of rats fed fat-rich diets in pregnancy. *J Physiol.* 2005;565:171–84.
11. Khan IY, Dekou V, Douglas G, Jensen R, Hanson MA, Poston L, et al. A high-fat diet during rat pregnancy or suckling induces cardiovascular dysfunction in adult offspring. *Am J Physiol Regul Integr Comput Physiol.* 2005;288:R127–133.
12. Taylor P, Khan I, Hanson M, Poston L. Impaired EDHF-mediated vasodilatation in adult offspring of rats exposed to a fat-rich diet in pregnancy. *J Physiol.* 2004;558(Pt 3):943–51.
13. Frias AE, Grove KL. Obesity: a transgenerational problem linked to nutrition during pregnancy. *Semin Reprod Med.* 2012;30:472–8.
14. Agarwal P, Morriseau TS, Kereliuk SM, Doucette CA, Wicklow BA, Dolinsky VW. Maternal obesity, diabetes during pregnancy and epigenetic mechanisms that influence the developmental origins of cardiometabolic disease in the offspring. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2018;55:71–101.
15. Krause B, Sobrevia L, Casanello P. Epigenetics: new concepts of old phenomena in vascular physiology. *Curr Vasc Pharmacol.* 2009;7:513–20.
16. Ilaria Floris, Betty Descamps, Antonella Vardeu, Tijana Mitić, Maria PosadinoAnna, Saran Shantikumar, et al. Gestational diabetes mellitus impairs fetal endothelial cell functions through a mechanism involving microRNA-101 and histone methyltransferase enhancer of zester homolog-2. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2015;35:664–74.
17. Mulvany MJ. Structure and function of small arteries in hypertension. *J Hypertens Suppl.* 1990;8:S225–32.
18. Félétou M, Huang Y, Vanhoutte PM. Vasoconstrictor prostanoids. *Pflügers Arch.* 2010;459:941–50.
19. Musa MG, Torrens C, Clough GF. The microvasculature: a target for nutritional programming and later risk of cardio-metabolic disease. *Acta Physiol.* 2014;210:31–45.
20. Loufrani L, Henrion D. Role of the cytoskeleton in flow (shearstress)-induced dilation and remodeling in resistance arteries. *Med Biol Eng Comput.* 2008;46:451–60.
21. Brayden JE, Li Y, Tavares MJ. Purinergic receptors regulate myogenic tone in cerebral parenchymal arterioles. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2013;33:293–9.
22. Xu J, Mathur J, Vessières E, Hammack S, Nonomura K, Favre J, et al. GPR68 senses flow and is essential for vascular physiology. *Cell.* 2018;173:762–775.e16.
23. Zicha J, Kuneš J. Ontogenetic aspects of hypertension development: analysis in the rat. *Physiol Rev.* 1999;79:1227–82.
24. Krueger F, Andrews SR. Bismark: a flexible aligner and methylation caller for Bisulfite-Seq applications. *Bioinformatics.* 2011;27:1571–2.
25. Wreczycka K, Godschan A, Yusuf D, Grüning B, Assenov Y, Akalin A. Strategies for analyzing bisulfite sequencing data. *J Biotechnol.* 2017;261:105–15.
26. Eden E, Navon R, Steinfeld I, Lipson D, Yakhini Z. GOzilla: a tool for discovery and visualization of enriched GO terms in ranked gene lists. *BMC Bioinform.* 2009;10:48.
27. Mulvany MJ, Halpem W. Contractile properties of small arterial resistance vessels in spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Circ Res.* 1977;41:19–26.
28. Christensen KL, Mulvany MJ. Mesenteric arcade arteries contribute substantially to vascular resistance in conscious rats. *J Vasc Res.* 1993;30:73–79.
29. Sengupta P. The laboratory rat: relating its age with human's. *Int J Prev Med.* 2013;4:624–30.
30. Sofronova SI, Borzykh AA, Gaynullina DK, Kuzmin IV, Shvetsova AA, Lukoshkova EV, et al. Endothelial nitric oxide weakens arterial contractile responses and reduces blood pressure during early postnatal development in rats. *Nitric Oxide.* 2016;55–56:1–9.
31. Alarcon G, Roco J, Medina M, Medina A, Peral M, Jerez S. High fat diet-induced metabolically obese and normal weight rabbit model shows early vascular dysfunction: mechanisms involved. *Int J Obes.* 2018;42:1535–43.
32. Begg LM, Palma-Dias R, Wang J, Chin-Dusting JPF, Skilton MR. Maternal adiposity and newborn vascular health. *Archives of Disease in Childhood.* 2013;98:F279–F280.
33. Sundholm JKM, Litwin L, Rönö K, Koivusalo SB, Eriksson JG, Sarkola T. Maternal obesity and gestational diabetes: impact on arterial wall layer thickness and stiffness in early childhood—RADIEL study six-year follow-up. *Atherosclerosis.* 2019;284:237–44.
34. Hopps E, Caimi G. Matrix metalloproteinases in metabolic syndrome. *Eur J Intern Med.* 2012;23:99–104.
35. Gonzalez RJ, Lin S-A, Bednar B, Connolly B, LaFranco-Scheuch L, Mesfin GM, et al. Vascular imaging of matrix metalloproteinase activity as an informative preclinical biomarker of drug-induced vascular injury. *Toxicol Pathol.* 2017;45:633–48.
36. Dumont O, Loufrani L, Henrion D. Key role of the NO-pathway and matrix metalloproteinase-9 in high blood flow-induced remodeling of rat resistance arteries. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27:317–24.
37. Huang Y, Zhao J-X, Yan X, Zhu M-J, Long NM, McCormick RJ, et al. Maternal obesity enhances collagen accumulation and cross-linking in skeletal muscle of ovine offspring. *PLoS ONE.* 2012;7:e31691.
38. Huang Y, Yan X, Zhao JX, Zhu MJ, McCormick RJ, Ford SP, et al. Maternal obesity induces fibrosis in fetal myocardium of sheep. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2010;299:E968–975.
39. Hawkes CA, Gentleman SM, Nicoll JA, Carare RO. Prenatal high-fat diet alters the cerebrovasculature and clearance of β -amyloid in adult offspring. *J. Pathol.* 2015;235:619–31.
40. Hashimoto K, Kugo H, Tanaka H, Iwamoto K, Miyamoto C, Urano T, et al. The effect of a high-fat diet on the development of abdominal aortic aneurysm in a vascular hypoperfusion-induced animal model. *JVR.* 2018;55:63–74.
41. Phang M, Ross J, Raythatha JH, Dissanayake HU, McMullan RL, Kong Y, et al. Epigenetic aging in newborns: role of maternal diet. *Am J Clin Nutr.* 2020;111:555–61.
42. Ribaroff GA, Wastnedge E, Drake AJ, Sharpe RM, Chambers TJG. Animal models of maternal high fat diet exposure and effects on metabolism in offspring: a meta-regression analysis. *Obes Rev.* 2017;18:673–86.
43. Edwards G, Dora KA, Gardener MJ, Garland CJ, Weston AHK. is an endothelium-derived hyperpolarizing factor in rat arteries. *Nature.* 1998;396:269–72.
44. Shaul PW, Kinane B, Farrar MA, Buja LM, Magness RR. Prostacyclin production and mediation of adenylate cyclase activity in the pulmonary artery. Alterations after prolonged hypoxia in the rat. *J Clin Investig.* 1991;88:447–55.
45. Gray C, Vickers MH, Segovia SA, Zhang XD, Reynolds CM. A maternal high fat diet programmes endothelial function and cardiovascular status in adult male offspring independent of body weight, which is reversed by maternal conjugated linoleic acid (CLA) supplementation. *PLoS ONE.* 2015;10:e0115994.



46. Camevale D, Facchinello N, Iodice D, Bizzotto D, Perrotta M, De Stefani D, et al. Loss of EMILIN-1 enhances arteriolar myogenic tone through TGF- β (transforming growth factor- β)-dependent transactivation of EGFR (epidermal growth factor receptor) and is relevant for hypertension in mice and humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2018;38:2484–97.
47. Freed JK, Gutterman DD. Communication is key: mechanisms of intercellular signaling in vasodilation. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2017;69:264–72.
48. Garland CJ, Dora KA. EDH: endothelium-dependent hyperpolarization and microvascular signalling. *Acta Physiol.* 2017;219:152–61.

Annexe :

Supplemental material. Metabolic and vascular profile of obese mothers (OM) compared to control mothers (CM). (a) Body weight follow-up from the beginning of high-fat diet to the weaning of pups (top panel) and visceral / subcutaneous fat weight (bottom panel) ; (b) fasted plasmatic glucose and insulin associated with glucose (ipGTT) and insulin (ipITT) tolerance tests; (c) Global vasoconstriction responses to KCl 80mM or cumulative doses of Penylephrine (PE) and vasodilation responses to cumulative doses of Acetylcholine (ACh) or Sodium nitroprusside (SNP) ; (d) Vasodilation responses to cumulative doses of Acetylcholine (ACh) in presence of N G-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME), N G-nitro-L-arginine methyl ester associated with indomethacin (L-NAME + INDO), KCl 25mM (KCl25) or N G-nitro-L-arginine methyl ester associated with indomethacin and KCl 25mM (L-NAME + INDO + KCl25). Values are means \pm SEM (n= 5 CM and 7 OM).



Discussion

Notre étude est la première à mettre en évidence l'apparition d'anomalies vasculaires en absence d'anomalies métaboliques chez le rat né de mère obèse. D'autre part, cette exposition *in utero* à l'obésité maternelle induit des altérations épigénétiques de façon sexe-dépendante, touchant des gènes codant pour des metalloprotéinases (MMPs), des collagènes et des canaux potassiques dans les artères mésentériques. Ces modifications géniques sont associées à un remodelage excentrique et à une inversion des principales voies vasodilatatrices chez les mâles et les femelles. Les résultats obtenus sur des rats nés de mère obèse (OMO) et âgés de 4 mois ont en effet révélé des modifications morphologiques de leurs artères mésentériques, avec une augmentation du diamètre de la lumière ainsi que de l'aire transversale de la média qui traduisent un remodelage vasculaire de type excentrique hypertrophique. Chez les mâles OMO, ce remodelage peut être expliqué par les modifications épigénétiques observées au niveau de protéines de la matrice extracellulaire, les MMPs et le collagène (Hopps and Caimi, 2012). En effet, MMP 2 et 9 en particulier sont impliquées dans la dégradation de cette matrice et sont importantes dans le remodelage de la paroi vasculaire (Martinez-Lemus and Galiñanes, 2011 ; Belo et al., 2015). Ainsi, l'hypo-méthylation des gènes codant ces MMPs peut se traduire par une surexpression de ces protéines, amenant à la dégradation de la matrice extracellulaire et donc au remodelage des artères mésentériques. Néanmoins, chez les femelles OMO, l'hyper-méthylation de ces gènes suggère l'implication d'un autre mécanisme, à savoir la prolifération des cellules musculaires lisses dans la paroi des artères mésentériques de ces animaux. Ainsi, l'obésité maternelle induit un remodelage vasculaire chez la descendance, via des mécanismes sous-jacents différents selon le sexe. Des mécanismes autres que des modifications épigénétiques ne sont cependant pas à exclure. En effet, la matrice extracellulaire joue un rôle important dans les communications de cellule à cellule, particulièrement entre les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses vasculaires (Ponticos and Smith, 2014). La transmission de médiateurs entre ces cellules est indispensable à la vasoréactivité, notamment dans le cas des artères de résistance ; un changement de composition de cette matrice extracellulaire est donc susceptible de changer les interactions intercellulaires, ce qui peut influencer le type de médiateurs impliqués dans la vasoréactivité (Garland and Dora, 2017). Les différences de structure de la matrice entre mâles et femelles pourraient elles aussi impacter le type de médiateurs mis en jeu.

En plus de ces changements structurels, notre étude s'était également intéressée à la vasoréactivité des artères de résistance et a mis en avant une atteinte dans la vasorelaxation endothélium-dépendante apparaissant avant le développement d'anomalies métaboliques chez la descendance de mère obèse âgée de 4 mois. Ce déséquilibre fonctionnel semble là aussi se manifester de manière sexe-dépendante. Ainsi, les mâles OMO présentent une plus grande implication de la voie des EDHFs : l'induction de la réponse vasodilatatrice par l'acétylcholine était fortement diminuée suite au blocage de cette voie avec du KCl 25mM. Ceci a été associé au niveau épigénétique à une hypo-méthylation des gènes codant pour les canaux potassiques calcium-dépendant vasculaires, traduisant une augmentation de leur expression. Or, ces canaux font partie des divers acteurs de la voie des EDHFs et sont responsables de l'hyperpolarisation de la membrane des cellules musculaires lisses (Haddy et al., 2006 ; Webb and Bohr, 1978), validant ainsi les observations précédentes. Comparativement chez les

femelles, la vasorelaxation induite par l'acétylcholine était cette fois fortement diminuée en présence simultanée de L-NAME (inhibiteur de la eNOS, voie du NO) et d'INDO (inhibiteur des COX, voie de la PGI₂), alors que la réponse vasodilatatrice seulement induite par le NO était proche entre OMO et animaux contrôles, démontrant une implication plus importante de la voie de la PGI₂ par rapport aux autres voies. A ces observations s'ajoute une hypo-méthylation de la Guanylate Cyclase (impliquée dans le fonctionnement de la voie du NO) et une hyper-méthylation du récepteur de type 1 de l'angiotensine II (AT1R, impliqué dans la vasoconstriction), suggérant la mise en place de mécanismes ayant pour but de préserver la fonction vasodilatatrice des artères mésentériques.

En conclusion, il a ainsi été démontré que l'obésité maternelle pouvait induire la programmation fœtale d'anomalies structurelles et fonctionnelles des artères de résistance chez la descendance, et ce, en absence de dysfonctions métaboliques. Ces anomalies auraient pour origine la mise en place potentielle d'altérations épigénétiques modifiant la composition de la matrice extracellulaire, l'adhésion cellulaire ainsi que la bonne transduction des signaux myo-endothéliaux. Ces résultats suggèrent que les suivis médicaux effectués sur la descendance de mère obèse devraient à présent non seulement traiter les problèmes métaboliques, mais aussi porter une attention toute particulière aux anomalies vasculaires, en se focalisant en particulier sur la fonction endothéliale des artères de résistance, puisque prévenir les troubles métaboliques ne semble pas empêcher le développement de problèmes vasculaires. Par ailleurs, bien que les modifications observées ne soient pas suffisantes pour altérer la vasoréactivité globale des artères de résistance chez les mâles et femelles OMO, les déséquilibres de la vasodilatation endothélium-dépendante pourraient cependant s'aggraver avec le temps et contribuer à l'apparition précoce de maladies cardiovasculaires. Il est donc indispensable de continuer l'étude des fonctions métabolique et vasculaire chez la descendance de mère obèse à des âges cette fois plus avancés, mais aussi de se concentrer sur la fonction cardiaque. Plusieurs études ont en effet révélé que la descendance de mère obèse pouvait développer dès le stade fœtal une hypertrophie ventriculaire (Fernandez-Twinn et al., 2012 ; Wang et al., 2010), une dysfonction cardiaque (Blackmore et al., 2014 ; Wang et al., 2019 ; Loche et al., 2018), une inflammation ou encore une fibrose du myocarde (Huang et al., 2010 ; Ghnenis et al., 2017 ; Kandadi et al., 2013), mais encore peu d'études ont corrélé anomalies métaboliques et cardiaques à des âges plus avancés.

PARTIE 2 : Impact de l'obésité maternelle et de l'alimentation post-natale sur la programmation fœtale d'anomalies cardiaques chez la descendance

"Maternal obesity and postnatal diet modification have no impact on cardiac function in adult male and female offspring."

Guillot, A., Tamareille, S., le Corre, C., Henrion, D., Prunier, F. and Fassot, C.

En cours d'écriture et sera soumis à « International Journal of Obesity » (IF 4,4)

Contexte scientifique

Il est aujourd'hui connu que des changements de l'environnement dans lequel un fœtus se développe peuvent avoir des effets qui se prolongeront jusqu'à sa vie adulte, en modifiant la structure et/ou la fonction de certains organes clés (Miranda et al., 2017 ; Kwon and Kim, 2017). Cette programmation fœtale des fonctions biologiques en réponse aux variations du milieu intra-utérin, particulièrement les changements nutritionnels, est mise en place très tôt dans la vie fœtale grâce à plusieurs mécanismes épigénétiques (méthylation de l'ADN, modifications des histones, ARNm) principalement (Stevenson et al., 2020). Par la suite, de nombreuses études cliniques et expérimentales ont pu mettre en évidence que l'apparition de nombreuses maladies chroniques métaboliques (obésité, diabète) (Zhu et al., 2019) et cardiovasculaires (hypertension, dysfonctions cardiaques) (Balistreri, 2020 ; Alexander et al., 2015) était liée à la programmation fœtale.

L'épidémie mondiale d'obésité, touchant de plus en plus de femmes en âge de procréer (Lawlor et al., 2012), est particulièrement préoccupante puisque de fait, un nombre croissant d'enfants naissent de mère obèse. Or, il a été démontré que l'obésité maternelle pouvait induire dès le stade fœtal : (1) des problèmes métaboliques (intolérance au glucose, insulino-résistance, dyslipidémie) (Reynolds et al., 2013 ; Woo Baidal et al., 2016 ; Hochner et al., 2012), (2) vasculaires (hypertension, dysfonction endothéliale) (Boonpattrawong et al., 2020 ; Brunton et al., 2021) et (3) cardiaques (hypertrophie ventriculaire, dysfonction contractile, inflammation, fibrose) (Fernandez-Twinn et al., 2012 ; Wang et al., 2019 ; Ghnenis et al., 2017). Ces anomalies peuvent persister jusqu'à l'âge adulte, et dans le cas de la fonction cardiaque, fragiliser le cœur et ainsi augmenter les risques d'avoir précocement un infarctus du myocarde et une insuffisance cardiaque (Guzzardi et al., 2018 ; Roberts et al., 2015). Notre précédente étude avait permis de mettre en lumière que les anomalies vasculaires pouvaient se développer indépendamment des anomalies métaboliques chez la descendance de mère obèse (Guillot et al., 2021). Cependant, aucun lien direct n'a pour l'instant été établi entre l'apparition de troubles cardiaques et une dysfonction métabolique, en particulier concernant la descendance de mère obèse à l'âge adulte.

Par ailleurs, des études cliniques ont révélé que les mères obèses avaient des problèmes pour allaiter leur enfant, soit par une quantité/qualité de lait insuffisante, soit par inconfort social (Jevitt et al., 2007 ; Massov, 2015). Les enfants de mère obèse sont donc fréquemment nourris de manière précoce au lait infantile, dont la composition est plus équilibrée que le lait maternel, ce qui crée un décalage important entre la nutrition *in utero* et la nutrition post-natale. Contrairement à l'obésité maternelle, l'impact de ce décalage d'alimentations sur la santé de la descendance est encore mal connu. Seules des études métaboliques et vasculaires (George et al., 2019 ; Torrens et al., 2012) ont pour l'instant été effectuées pour comprendre les conséquences d'un changement d'alimentation post-natale précoce sur le devenir de la descendance de mère obèse, tandis que la fonction cardiaque nécessite encore de nombreuses recherches.

Notre objectif a donc été de déterminer (1) si l'obésité maternelle pouvait induire des anomalies cardiaques chez la descendance avant l'apparition de toute anomalie métabolique, et (2) si un changement de

nutrition post-natale à la naissance aurait des effets bénéfiques ou délétères dans la programmation foetale d'anomalies cardiaques chez la descendance de mère obèse.

Pour effectuer cette étude, nous avons utilisé la technique d'échocardiographie mode M. L'échocardiographie est une technique d'imagerie médicale utilisée pour étudier la morphologie du cœur dans sa globalité. Le mode M permet, entre autre, d'obtenir le diamètre et l'épaisseur de la paroi postérieure du ventricule gauche en diastole et en systole, la fréquence cardiaque, la fraction d'éjection et la fraction de raccourcissement (St John Sutton et al., 2020) (Figure 18). Ces paramètres sont des indicateurs du bon fonctionnement du ventricule gauche, et leurs modifications sont souvent signes d'une altération de la capacité contractile du cœur et/ou d'une hypertrophie du ventricule gauche.

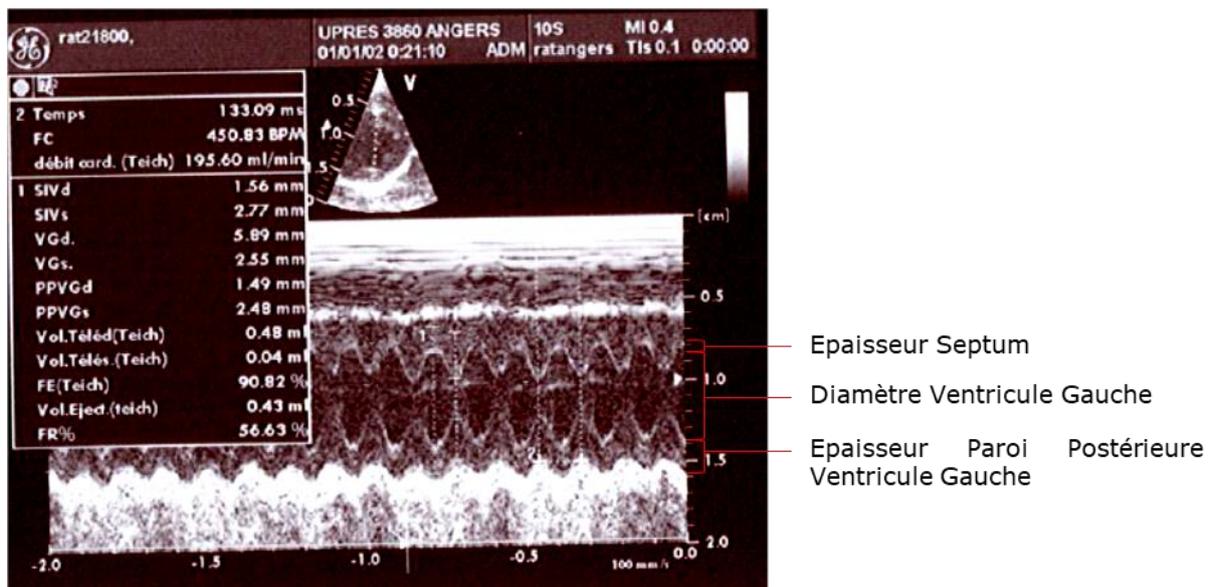


Figure 18 : **Exemple d'image obtenue par échocardiographie mode M. Paramètres d'intérêt :**
FC : fréquence cardiaque (batt./min) ; SIVd : épaisseur du septum en diastole (mm) ; SIVs :
épaisseur du septum en systole (mm) ; VGd : épaisseur du ventricule gauche en
diastole (mm) ; VGs : épaisseur du ventricule gauche en systole (mm) ; PPVGd : épaisseur de
la paroi postérieure du ventricule gauche en diastole (mm) ; PPVGs : épaisseur de la paroi
postérieure du ventricule gauche en systole (mm) ; FE : Fraction d'éjection (%) ; FR : Fraction
de raccourcissement (%).

Maternal obesity and postnatal diet modification have no impact on cardiac function in adult male and female offspring

Abigaëlle Guillot¹, Sophie Tamareille¹, Cyril le Corre¹, Daniel Henrion^{1,2}, Fabrice Prunier^{1,2}, Céline Fassot^{1#}

Corresponding author

¹ UMR CNRS 6015, INSERM U1083, Mitovasc laboratory, University of Angers, Angers, France.

² University Hospital of Angers, Angers, France.

Corresponding author: Dr Céline FASSOT, UMR CNRS 6015 – INSERM 1083, MitoVasc Laboratory, 3 rue Roger Amsler, 49100 Angers, France, Phone: +33 2 44 68 82 71, Fax: +33 2 44 68 82 61, email: celine.fassot@inserm.fr

Competing Interests statement: No competing of interest.

Abstract:

Maternal obesity is known to induce fetal programming of metabolic and cardiovascular disorders and has been linked to onsets of early metabolic and cardiovascular diseases in adulthood. However, no direct correlations have been solely established between the development of cardiac abnormalities and metabolic dysfunctions in offspring exposed *in utero* to maternal obesity. Furthermore, the effects of an early postnatal diet modification on obese mother offspring's cardiac function remain largely unknown. The aims of this study were to determine 1) if maternal obesity could directly program cardiac anomalies independently of metabolic abnormalities in the offspring and 2) the consequences of an early postnatal diet modification on this cardiac function. Using Sprague-Dawley rats, we studied the cardiac function of 2.5-month-old male and female offspring 1) born to control mothers and suckled by another control mother (CAC) or fostered by obese mothers (CAO) and 2) born to obese mothers and suckled by another obese mother (OAO) or fostered by control mothers (OAC). In all four groups, neither male nor female adult offspring had developed cardiac hypertrophy, fibrosis or contractile dysfunction, with only female OAC showing early signs of growth retardation. Our study therefore showed that maternal obesity and a postnatal diet modification have not induced pathological alterations of the cardiac function in adult offspring.

Key words: Maternal obesity; Postnatal diet change; Fetal programming; Cardiac function; Hypertrophy; Fibrosis; Contractile function

Introduction

Ever since Barker's first research works in 1989, multiple clinical and experimental studies have demonstrated that modifications of the *in utero* environment could alter the fetus' development and organ growth during pregnancy, contributing to the onset of diseases in adulthood (1, 2). This adaptive response is known as fetal programming and is meant to optimize the fetus' chances to its *in utero* environment. Furthermore, the first two years after birth were also a very sensitive period for the child's growth, during which mismatch between pre- and postnatal nutrition could lead to alterations of the structure and function of key organs (3).

One of the main metabolic diseases known to trigger fetal programming is obesity (body mass index, $BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$) (4, 5), a pathological condition that has reached epidemic proportions worldwide. Among obese people, the number of women of childbearing age has increased dramatically (6), therefore the number of children born to obese mothers also did. Many clinical and experimental studies have shown that maternal obesity can lead the offspring to develop glucose intolerance, insulin resistance and dyslipidemia (7, 8, 9), all of which can favor the early onset of obesity and type 2 diabetes (10, 11). In addition to metabolic diseases, offspring of obese mothers developed cardiovascular dysregulations (i.e. hypertension, endothelial dysfunction) (12, 13, 14); in a recent study, we actually demonstrated that maternal obesity could directly impact resistance arteries organization of the offspring through sex-dependent epigenetic, in absence of metabolic abnormalities (15). Multiple cardiac abnormalities have also been described in experimental studies performed on fetuses and neonates of obese mothers: the most prominent ones being a ventricular hypertrophy (16, 17), contractile dysfunctions (18, 19), cardiac inflammation (20, 21) and fibrosis (20, 22). These alterations are likely to persist into adulthood and increase the heart's sensitivity to hemodynamics changes, which, when combined with the offspring's metabolic problems, may also increase the risk of a heart attack (23) and cardiac insufficiency (24) early on. As these researches are fairly recent, very few data were obtained on adult offspring born to obese mothers, and direct correlations with metabolic dysfunctions still need to be properly established.

Interestingly, recent clinical reports showed that obese mothers tended to not breastfeed their children, either because the quantity and quality of their milk is altered (25), or because of social discomfort (26). Consequently, newborns of obese mothers will often be fed formula, subjecting them to an early postnatal diet modification. While the impact of maternal obesity on the health of the offspring has been well documented, the consequences of an early postnatal diet change are not well-known. Some studies focused on postnatal diet changes and their impact on offspring's health, but almost exclusively on metabolic and vascular outcomes (27, 28, 29). The consequences of an early postnatal diet modification on the cardiac function in the offspring requires further investigation. The aim of our study was to determine (1) if maternal obesity could induce cardiac disorders in the offspring before the first signs of metabolic alterations, and (2) if a postnatal diet modification implemented at birth would have beneficial or deleterious effects on the fetal programming of cardiac abnormalities in the offspring of obese mother.

Materials and Methods

Ethical approvals

All experiments were conducted in accordance with the Institutional guidelines (3R principles) and the recommendations for the care and use of laboratory animals of the French Ministry of National Education, Research and Innovation. The protocol was approved by the Ethics Committee of “Pays de Loire” and the French Ministry of National Education, Research and Innovation (APAFIS#16985-2018100515132649 v3).

Animal model

Female Sprague-Dawley rats, ~3 weeks of age, were purchased from Janvier Labs and were acclimatized for 7 days in the laboratory animal husbandry unit (SCAHU, Angers, France). The animals were housed in individual cages (1500 cm³ for 3 animals 400-600 g) within a controlled temperature room (21-23 °C) and maintained under a 12-h light/dark cycle with free access to water and food. After this period of acclimation, females were randomized to either a control diet or a high-fat diet. Control female rats (Control Mothers, CM) were fed *ad libitum* with a standard normal-fat control diet (NF, 3.1% fat, 16.1% protein, 80.8% carbohydrate [w/w], diet code: A04 SP, Scientific diet, SAFE® Complete Care Competence, Augy, France) and obese female rats (Obese Mothers, OM) were fed a high-fat diet during minimum 12 weeks (HF, kcal composition 45% fat, 20% protein, 35% carbohydrate [w/w], diet code: 824053, SDS, Dietex International Ltd., Witham, UK).

Then, each female was mated with a non-obese male and kept being fed its respective diet up until pups weaning. Between birth and 48 h postpartum, all litters were reduced to eight pups (four males and four females) before being cross-fostered by another female: pups born of CM were either fostered by another CM (Control Adopted by Control, CAC) or by an OM (Control Adopted by Obese, CAO), and pups born of OM were either fostered by another OM (Obese Adopted by Obese, OAO) or by a CM (Obese Adopted by Control, OAC). Cross-fostering between CM and OM aimed to mimic the postnatal diet change at birth. After weaning, offspring from all groups had access to control diet and tap water *ad libitum*. Each group was composed of animals from a minimum of three different litters (at least two males or two females from each litter per group without randomization/blinding).

All experiments were performed on 2.5-month-old rats (2 weeks before the intensive maturation of the vascular structure (30) and before major metabolic dysfunctions (15)).

Transthoracic Echocardiography

Transthoracic echocardiography (TTE) was performed using an ultrasound system (Vivid 7 Pro, General Electric Medical Systems) on anesthetized male and female rats from all four groups (ketamine, IMALGENE 1000, Merial; 70-80 mg/Kg, intraperitoneally). The chest was shaved, and the animal was placed in the supine position on a heating pad. A single channel electrocardiogram was obtained on the imaging system. The left ventricle (LV) was imaged in both parasternal long-axis and short-axis views and data were transferred on-line to a computer. The end-diastolic area was defined as the largest LV area, and the end-systolic area was defined as the smallest LV area. Left ventricular (end) diastolic diameter (LVDD), left ventricular (end) systolic diameter (LVSD), left ventricular posterior wall diastolic thickness (LVPWDT), left ventricular posterior wall systolic thickness (LVPWST), septum diastolic thickness (SDT), septum systolic thickness (SST), heart rate

(HR), fractional shortening (FS) and ejection fraction (FE) were determined using two-dimensional (2D) M-mode echocardiography.

Sampling

Fasted (overnight) male and female rats were anesthetized by intraperitoneal sodium pentobarbital injections (EXAGON Solution Injectable, Med'Vet, 54.7 g/L; 60 mg/kg) prior to thoracotomy. Blood samples were drawn from the vena cava with a heparin-flushed syringe (sodium heparin, Panpharma, 5000 U.I./mL), the whole heart was immediately excised and weighed, whereafter the LV was dissected and weighed. Then the LV was cut in half in the base-apex axis: from both halves (epicardium facing up), a 3x3 mm piece of LV was cut out and either stored in OCT compound (Tissue-Tek OCT compound, Sakura Finetek) or in 4% paraformaldehyde solution within an embedding cassette (M505-2, Simport Scientific); the remaining halves were compressed into a thin disc using Freeze-clamp pliers that were pre-cooled in liquid nitrogen, before being wrapped in aluminium foil and placed in liquid nitrogen. The left hind leg was also cut off and the tibia was dissected and measured.

Blood samples were centrifuged at 5000 rpm and 4°C for 15 min, and the plasma was extracted for lipid profile analysis. Plasma and LV samples (freeze-clamped and OCT-stored) were stored at -80°C for later analyses. LV samples placed in 4% paraformaldehyde were later on dehydrated in ethanol baths (30% to 100%), fixed in Xylene then encased in a paraffin wax bloc (39503002, McCormick Scientific, Paraplast X-tra 1 kg).

Histomorphological analysis of left ventricle

7 µm sections of paraffin-embedded LV samples were obtained with a Microtom system (Leica RM2145) and slices were placed on polarized microscope slides (Menzel-Gläser - Superfrost Plus Gold, K5800AMNZ72, Thermo Scientific). The average fibrosis area (%) of the LV was obtained with a picosirius red staining: 7 µm LV sections were de-waxed with Xylene, rehydrated with ethanol baths (10% to 70%), dipped into 0.2% phosphomolybdic acid (HT153-250ML, Sigma Aldrich), stained with a 0.1% picosirius red solution (Direct Red 80, 365548, Sigma Aldrich; mixed with saturated picric acid, 11454719, Fisher Scientific) for 1-h, cleared with 10 mM hydrochloric acid then 70% ethanol, dehydrated in 100% ethanol, fixed in Xylene before being mounted in Eukitt (05393, Sigma-Aldrich) with a coverslip. Images acquisitions were obtained (Nikon Eclipse E600 microscope, Sony camera) and analyses were performed using ImageJ software (NIH, USA). Five to ten different images of colored LV sections for one animal were analyzed and then averaged to obtain one value per animal.

Cardiomyocytes' size was determined by marking the cells' walls with a wheat germ agglutinin (WGA) immunostaining: 7 µm LV sections were de-waxed with Xylene, rehydrated with ethanol baths (10% to 70%), permeabilized with PBS-0.1% Triton (Triton 100X, X100-100ML, Sigma-Aldrich), saturated with PBS-1% BSA, then incubated with a WGA antibody (Wheat Germ Agglutinin, Alexa Fluor™ 488 Conjugate, W11261, Lot #2088688, 1:200, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) coupled with a DAPI-positive staining before being mounted in Fluoromount-G (0100-01, Southern-Biotech) with a coverslip. Each section was imaged on a confocal microscope (Nikon Eclipse TE2000S) and analyzed with MetaMorph® software (Molecular Devices). For each animal, cardiomyocyte cross-sectional areas were calculated from randomly selected cells (100 cells per animal) using ImageJ software (NIH, USA) and then averaged to obtain one value per animal.

Contractile function of left ventricle analysis by Western Blot

Freeze-clamped discs of LV were ground into a fine powder using a dry pestle and mortar. Approximately 50 mg of LV powder were mixed with an extraction buffer (30.0 mM Hepes, 2.5 mM EGTA, 2.5 mM EDTA, 20.0 mM KCl, 1.0 mM Na₃VO₄, 40.0 mM NaF, 4.0 mM NaPPi, 10% Glycerol, 0.1% Nonidet P40, and 1% Protease and Phosphatase Inhibitor cocktail (100X, 78444, Thermo Fisher Scientific)), finely ground again using a POLYTRON system (POLYTRON system PT 2100, KINEMATICA AG) before centrifugation for 1-h at 13,000 rpm and 4°C. The supernatant was extracted and stored at -80°C. Protein dosage was performed by using a Pierce™ BCA Protein Assay Kit (23227, Thermo Fisher Scientific) and following user guide instructions for Microplate procedure (sample to WR ratio = 1:8) (for cardiac tissue, standard curve obtained with a 0 to 1000 µg/mL final BSA concentration and LV samples diluted to 1:10).

Protein expression was assessed using the SDS-PAGE Criterion system (Bio-Rad). Supernatant of LV samples were diluted to obtain 20 µg of proteins per well, denatured and deposited in 12% precast gels (Criterion TGX Stain-Free Precast Gels, 5678044, Bio-Rad). Proteins were separated then transferred onto a pre-wetted nitrocellulose membrane (Trans-Blot Turbo Midi 0.2 µm Nitrocellulose Transfer Pack, 1704159, Bio-Rad) (2 membranes for male samples and 2 membranes for female samples). After saturation in TBST 1X-5% BSA, the membranes were incubated overnight at 4°C with primary antibodies diluted in TBST 1X-0.5% BSA, followed afterwards with appropriate secondary antibodies conjugated to horseradish peroxidase, in TBST 1X-0.5% BSA. The primary antibodies used consisted of Protein Kinase A (PKA alpha Polyclonal Antibody, PA5-70360, Lot #UK2885722B, Thermo Fisher Scientific, 1:1000, 40 kDa), Phospho-PKA (Phospho-PKA C (Thr197) Antibody, 4781S, Lot #9, cell signaling technology, 1:1000, 40 kDa), and HSC 70 (HSC 70 Antibody (B-6), sc-7298, Lot #C0718, Santa Cruz Biotechnology, 1:10000, 70 kDa). The secondary antibodies were Goat anti-rabbit HRP (A0545-1ML, Sigma Aldrich) and Goat anti-mouse HRP (31430, Thermofisher). HSC 70 was used as a loading control. Protein expression was detected by chemiluminescence emitted from luminol oxidized by peroxidase (Clarity Western ECL Substrate, 170-5061, Bio-Rad) on a Chemidoc system (1708265, Bio-Rad). Images of gels and membranes were obtained with ImageLab software (Bio-Rad) and measures of protein expression were performed using ImageJ software (NIH, USA). PKA and p-PKA expressions were studied on separate gels and normalized to HSC 70 expressions of each gels. The ratio between the normalized expression of p-PKA and the normalized expression of PKA was then calculated.

Statistical analysis

All results are presented as Means ± SEM compared using a non-parametric Kruskal-Wallis test followed by Dunn's multiple comparisons test. Values of $p < 0.05$ were considered to be significant. All statistical analyses were performed using Prism7 software (GraphPad Prism® Software, San Diego, CA, USA), including the comparison of variances.

Results

Physiological parameters and lipid profile of male and female offspring

In 2.5-month-old males, body weight of OAO, OAC and CAO were not significantly different to CAC (445.0 ± 11.5 g, 450.7 ± 11.1 g and 456.8 ± 10.3 g vs 412.0 ± 14.4 g). Male OAO, OAC and CAO also had similar tibia length (37.4 ± 0.8 mm, 36.0 ± 0.2 mm and 36.5 ± 0.4 mm) compared to controls (35.6 ± 0.5 mm). In addition, we did not measure any difference in plasma levels of triglycerides and cholesterol (Table 1).

In 2.5-month-old females, OAO, OAC and CAO did not display any significant difference in body weight compared to CAC rats (278.1 ± 8.9 g, 274.0 ± 2.7 g and 280.3 ± 6.4 g vs 264.8 ± 6.8 g). In addition, female OAC had a significantly shorter tibia than female CAC (32.8 ± 0.22 mm vs 34.3 ± 0.3 mm, $p=0.008$), whereas female OAO and CAO had comparable tibia length (34.0 ± 0.4 mm and 34.1 ± 0.3 mm) to that of control rats. Plasma analysis of triglycerides and cholesterol did not show any difference between female groups (Table 1).

	Males				Females			
	CAC	OAO	OAC	CAO	CAC	OAO	OAC	CAO
Total cholesterol (mmol.L ⁻¹)	1.70 ± 0.18	1.83 ± 0.14	1.70 ± 0.12	1.78 ± 0.09	1.64 ± 0.10	1.30 ± 0.10	1.58 ± 0.09	1.47 ± 0.03
HDL cholesterol (mmol.L ⁻¹)	0.25 ± 0.03	0.41 ± 0.06	0.26 ± 0.02	0.28 ± 0.04	0.25 ± 0.03	0.20 ± 0.00	0.23 ± 0.03	0.26 ± 0.03
Triglycerides (mmol.L ⁻¹)	1.01 ± 0.20	1.06 ± 0.08	1.05 ± 0.11	0.96 ± 0.16	0.47 ± 0.03	0.49 ± 0.02	0.53 ± 0.09	0.48 ± 0.05

Table 1 : Lipid profile of 2.5-month-old offspring. Plasma cholesterol and triglycerides of male and female offspring. Data are mean ± SEM. Males: CAC: n = 4, OAO: n = 7, OAC: n = 5, CAO: n = 5; Females: CAC: n = 8, OAO: n = 2, OAC: n = 4, CAO: n = 7.

Heart function of male and female offspring

Echocardiographic analysis showed that HR, FE and FS were not significantly different between male groups and between female groups (Table 2).

Cardiac weight, LV size and LV function (heart weight/body weight ratio, LVDD/tibia length ratio, LVSD/tibia length ratio, LVPWDT/tibia length ratio, LVPWST/tibia length ratio, SDT/ tibia length ratio, SST/tibia length ratio) were measured in 2.5-month-old rat offspring and presented in Table 3.

Male OAO, OAC and CAO showed similar results compared to CAC regarding all cardiac parameters. Only female OAC had a distinct increase in their LVDD compared to controls.

	Males				Females			
	CAC	OAO	OAC	CAO	CAC	OAO	OAC	CAO
HR (bpm)	447 ± 17	424 ± 11	439 ± 10	429 ± 12	431 ± 12	438 ± 14	437 ± 14	446 ± 16
FE (%)	86 ± 2	88 ± 2	86 ± 1	87 ± 1	90 ± 1	90 ± 1	89 ± 1	88 ± 1
FS (%)	51 ± 2	52 ± 2	50 ± 2	51 ± 2	55 ± 2	56 ± 1	55 ± 1	52 ± 2

Table 2 : Cardiac morphometric parameters in 2.5-month-old offspring. Cardiac echocardiography of male and female offspring; Heart rate (HR), ejection fraction (FE), fractional shortening (FS). Data are mean ± SEM. Males: CAC: n = 8, OAO: n = 9, OAC: n = 8, CAO: n = 8; Females: CAC: n = 8, OAO: n = 9, OAC: n = 8, CAO: n = 8.

	Males				Females			
	CAC	OAO	OAC	CAO	CAC	OAO	OAC	CAO
HW/BW (%)	0.273 ± 0.007	0.289 ± 0.006	0.286 ± 0.008	0.274 ± 0.006	0.307 ± 0.010	0.302 ± 0.006	0.323 ± 0.011	0.310 ± 0.007
LVDD (A.U.)	0.194 ± 0.005	0.192 ± 0.007	0.197 ± 0.004	0.197 ± 0.005	0.176 ± 0.004	0.187 ± 0.005	0.195 ± 0.001 ^{##}	0.189 ± 0.003
LVSD (A.U.)	0.108 ± 0.014	0.092 ± 0.003	0.099 ± 0.004	0.096 ± 0.004	0.079 ± 0.004	0.083 ± 0.003	0.088 ± 0.002	0.090 ± 0.004
LVPWDT (A.U.)	0.050 ± 0.007	0.048 ± 0.002	0.046 ± 0.003	0.043 ± 0.002	0.047 ± 0.003	0.043 ± 0.002	0.050 ± 0.002 [§]	0.041 ± 0.002
LVPWST (A.U.)	0.065 ± 0.005	0.076 ± 0.002	0.074 ± 0.002	0.076 ± 0.003	0.068 ± 0.004	0.071 ± 0.001	0.069 ± 0.002	0.066 ± 0.004
SDT (A.U.)	0.047 ± 0.003	0.054 ± 0.004	0.048 ± 0.002	0.043 ± 0.002	0.043 ± 0.004	0.047 ± 0.002	0.044 ± 0.003	0.038 ± 0.004
SST (A.U.)	0.079 ± 0.003	0.090 ± 0.004	0.087 ± 0.003	0.085 ± 0.005	0.077 ± 0.004	0.092 ± 0.004	0.090 ± 0.005	0.075 ± 0.004 [*]

Table 3 : Morphometric characteristics of offspring's heart at 2.5 months of age. Cardiac echocardiography of male and female offspring; Heart Weight-to-Body Weight ratio: HW/BW, Left ventricular (end) diastolic diameter: LVDD (LVDD-to-Tibia Length ratio), left ventricular (end) systolic diameter: LVSD (LVSD-to-Tibia Length ratio), left ventricular posterior wall diastolic thickness: LVPWDT (LVPWDT-to-Tibia Length ratio), left ventricular posterior wall systolic thickness: LVPWST (LVPWST-to-Tibia Length ratio), septum diastolic thickness: SDT (SDT-to-Tibia Length ratio), septum systolic thickness: SST (SST-to-Tibia Length ratio). P<0.05, ^{*}OAO vs CAO, [#]CAC vs OAC, [§]OAC vs CAO. Data are mean ± SEM. Males: CAC: n = 8 to 11, OAO: n = 9 to 10, OAC: n = 8 to 10, CAO: n = 8 to 12; Females: CAC: n = 8 to 10, OAO: n = 9 to 10, OAC: n = 8 to 10, CAO: n = 8 to 12.

Cardiac fibrosis and cardiomyocytes morphology in the LV of rat offspring

Fibrosis within the LV was determined with a picrosirius red staining. In parallel, we studied cardiomyocyte hypertrophy at the cellular level by performing WGA staining of paraffin-embedded sections.

At 2.5 months of age, the mean fibrosis area in the LV of both male (Fig. 1a) and female (Fig. 1b) OAO, OAC and CAO was not significantly different to that of CAC groups. Nevertheless, we observed a high increase of LV fibrosis induced by post-natal diet modifications both in males and females. However, the cross-sectional area of cardiomyocytes was similar between male groups (Fig. 2a) and females groups (Fig. 2b), without influence of a change in post-natal diet.

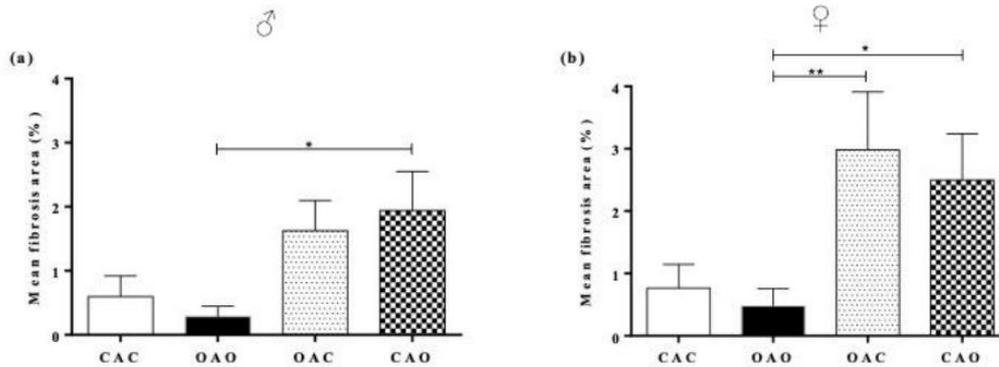


Fig 1 : Left ventricular fibrosis of rat offspring at 2.5 months of age. Mean fibrosis area (%) in the LV of male (a) and female (b) offspring. Data are mean ± SEM. * P<0.05, ** P<0.01. (Males: CAC: n = 10, OAO: n = 10, OAC: n = 10, CAO: n = 12; Females: CAC: n = 10, OAO: n = 10, OAC: n = 10, CAO: n = 11).

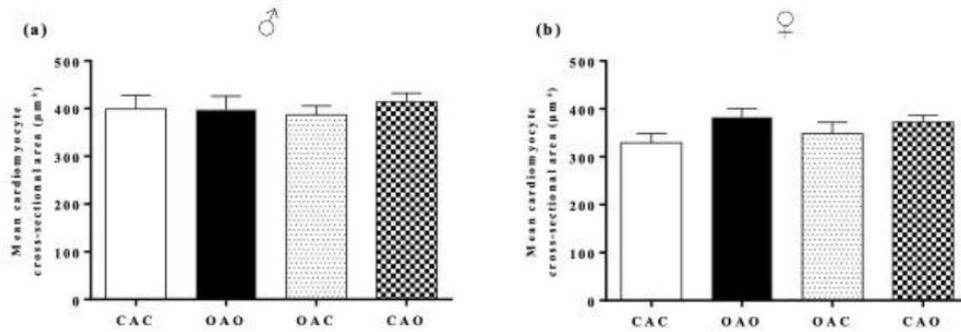


Fig 2 : Left ventricular cardiomyocytes morphology of rat offspring at 2.5 months of age. Mean cross-sectional area of cardiomyocytes (μm^2) in the LV of male (a) and female (b) offspring. Data are mean \pm SEM. (Males: CAC: n = 9, OAO: n = 10, OAC: n = 10, CAO: n = 12; Females: CAC: n = 10, OAO: n = 10, OAC: n = 10, CAO: n = 11).

Cardiac contractility analysis in the LV of male and female offspring

To study cardiac contractile function, western blots analysis were performed on LV of 2.5-month-old rat offspring. We focused on the expression of one of the upstream kinases, PKA which is implicated in cardiomyocyte contraction-relaxation.

Our results did not show any difference of the p-PKA/PKA ratio between groups either in males (Fig. 3a and 3b) or in females (Fig. 3c and 3d).

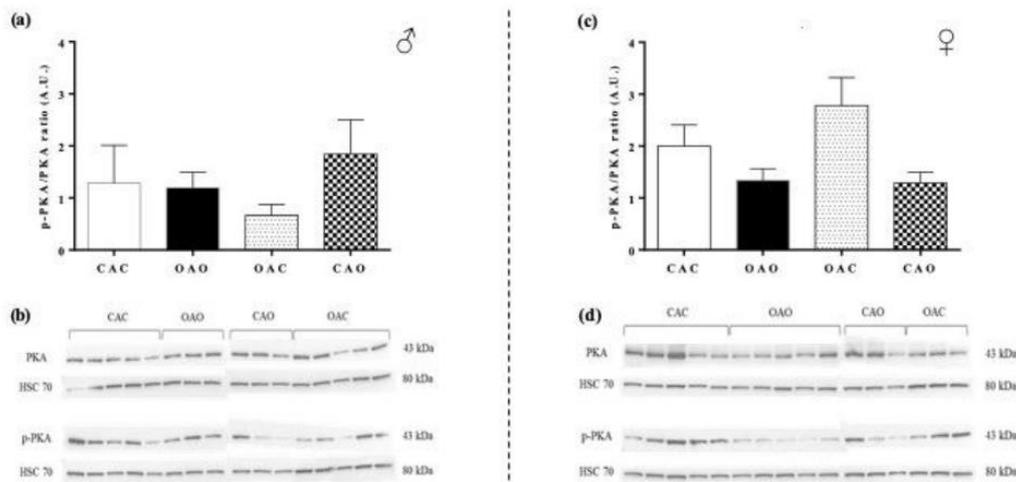


Fig 3 : Western Blot analysis of proteins implicated in cardiac contractility in the LV of male (left panel) and female (right panel) rat offspring at 2.5 months of age. p-PKA/PKA ratio (A.U.) in the LV of male (a) and female (c) offspring. PKA and p-PKA expressions were normalized to their respective gel's HSC 70 expression beforehand. SDS-PAGE gel images of PKA, p-PKA (Thr197) and HSC 70 of male (b) and female (d) groups. Data are mean \pm SEM. (Males: CAC: n = 7, OAO: n = 6, OAC: n = 7, CAO: n = 8; Females: CAC: n = 8, OAO: n = 8, OAC: n = 8, CAO: n = 7).

Discussion

This study demonstrated that maternal obesity and the early postnatal diet change have no impact on the global cardiac function of male and female offspring at 2.5 months of age, in terms of LV structure and function. Indeed, our results showed that neither male nor female offspring had developed cardiac hypertrophy, fibrosis or contractile dysfunction, despite early signs of growth retardation (shorter tibia) in female OAC. Few clinical researches focused on the cardiovascular function of children born of obese mothers. While 2 human cohorts highlighted early signs of hypertension at 5 (31) and 21 (32) years of age, none to our knowledge focused on cardiac follow-up in children or young adult. In addition, few human cohorts studying the effects of postnatal diet changes on obese mother offspring are still in development. Also, evidence of a correlation between maternal nutritional conditions and cardiovascular disease risk in the children is, so far, mostly indirect and based on associations.

Our results are quite different from many other studies on the cardiac function of obese mother offspring. While we did not observe cardiac dysfunction in 2.5-month-old obese mother offspring, studies performed on fetuses highlighted cardiac hypertrophy (16, 17), contractile dysfunctions (18, 19) associated with over-activation of PKA, and fibrosis (20, 22). One of the differences is that these studies used different diets as well as different duration of gestational exposure compared to our own study. In addition, the observation of cardiac abnormalities in pups born to rat obese mothers was done as soon as postnatal day 1 and 10 but disappeared with age (33). This “catch-up effect” was also observed in a model of mice showing a cardiac hypertrophy in 3 and 8-week-old obese mother offspring (34, 18), which was then no longer detected at 12 weeks of age (18). The closest similar observations made on human were in neonates of diabetic mothers in whom a cardiac hypertrophy was noted before regressing within the first months of life (35). Moreover, a very recent cohort study on 6-year-old children born to obese and diabetic mothers seemed to confirm these observations, as LV mass was not correlated to child and maternal adiposity at this age (36), proving that this cardiac anomaly was transient. As a 2.5-month-old rat is comparable age wise to a 4 to 7.5-year-old human child (37), this could explain the lack of cardiac anomalies observed in our current study.

Interestingly, while the consequences of an early postnatal diet change specifically on the cardiac function of obese mother offspring remains largely unexplored, we demonstrated in our study that an early post-natal diet modification did not influence the development of cardiac alterations at 2.5 months of age. However, a study performed on mice showed that obese mother offspring which followed either a control or a high-fat post-weaning diet both developed a cardiac dysfunction at 8 weeks of age (34), while another study on rat demonstrated that a fatty acid rich diet during gestation, followed by a low fatty acid post-weaning diet could cause a cardiac dysfunction at 40 days of age (38). But whether or not this cardiac dysfunction persists at later ages has not been studied in these cases.

Nevertheless, our results taken together seem to remain consistent. No hypo- or hypertrophy of the LV was noted by both echocardiography and cardiomyocytes cross-sectional area analysis. Moreover, the LV contractile function appeared to be unimpaired by maternal obesity or a postnatal diet modification, as PKA and p-PKA expressions remained unchanged. This substantiates the unaltered fractional ejection, fractional shortening and heart rate observed in OAO, OAC and CAO offspring by echocardiography. We chose to focus on PKA (and subsequently on its active form, p-PKA) because of their implication in the contraction-relaxation of cardiomyocytes. Indeed, PKA is known to phosphorylate the type-2 isoform of the ryanodine receptor (RyR2), which is the primary Ca^{2+}

release channel of the sarcoplasmic reticulum (SR) of cardiomyocytes and is thus fundamental during excitation-contraction coupling (39). Although the exact role of PKA in the regulation of RyR2 is still unclear, it has been suggested that PKA induced-phosphorylation of RyR2 may have an important role in the regulation of Ca^{2+} release by the SR, especially during β -adrenergic receptor stimulation or in heart failure (40). Hyperphosphorylation of RyR2 by PKA on Ser2808 has been proposed as a mechanism contributing to the development of arrhythmia and heart failure (41), and one recent study performed by Wang et al. demonstrated an increased phosphorylation, and thus activation, of PKA in the fetal heart of obese sheep offspring, in association with impaired myocardial contractile function and intracellular Ca^{2+} homeostasis (19).

Conclusion

As the prevalence of obesity continues to increase worldwide reaching epidemic proportions, the number of children born to obese mothers and who grow up in nutritionally unbalanced environments keeps rising as well. Despite the fact that these children are at risk of developing metabolic and cardiovascular diseases, they are mostly monitored solely on the metabolic aspect of their health status (42). As very few human cohorts focused on the vascular aspect of maternal obesity and postnatal nutritional modifications in the offspring, and even less on the cardiac function, experimental studies remain essential in order to prevent the occurrence of these pathologies as soon as possible. As cardiopathologies are one of the first cause of death worldwide, cardiovascular follow-ups should be as prioritized as metabolic monitoring in clinical researches concerning children born to obese mothers.

References

1. Miranda, J.O., Ramalho, C., Henriques-Coelho, T. and Areias, J.C. (2017). Fetal programming as a predictor of adult health or disease: the need to reevaluate fetal heart function. *Heart. Fail. Rev.*, 22, 861-877.
2. Kwon, E.J. and Kim, Y.J. (2017). What is fetal programming?: a lifetime health is under the control of in utero health. *Obstet. Gynecol. Sci.*, 60, 506-519.
3. Entringer, S., Buss, C., Swanson, J.M., Cooper, D.M., Wing, D.A., Waffarn, F. and Wadhwa, P.D. (2012). Fetal programming of body composition, obesity, and metabolic function: the role of intrauterine stress and stress biology. *J. Nutr. Metab.*, 2012, 632548.
4. WHO (2000). Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ. Tech. Rep. Ser.*, 894:i-xii, 1-253.
5. Agarwal, P., Morriveau, T.S., Kereliuk, S.M., Doucette, C.A., Wicklow, B.A. and Dolinsky, V.W. (2018). Maternal obesity, diabetes during pregnancy and epigenetic mechanisms that influence the developmental origins of cardiometabolic disease in the offspring. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*, 55, 71-101.
6. Lawlor, D.A., Relton, C., Sattar, N. and Nelson, S.M. (2012). Maternal adiposity--a determinant of perinatal and offspring outcomes?. *Nat. Rev. Endocrinol.*, 8, 679-688.
7. Hochner, H., Friedlander, Y., Calderon-Margalit, R., Meiner, V., Sagy, Y., Avgil-Tsadok, M., Burger, A., Savitsky, B., Siscovick, D.S. and Manor, O. (2012). Associations of maternal prepregnancy body mass index and gestational weight gain with adult offspring cardiometabolic risk factors: the Jerusalem Perinatal Family Follow-up Study. *Circulation*, 125, 1381-1389.
8. Reynolds, R.M., Allan, K.M., Raja, E.A., Bhattacharya, S., McNeill, G., Hannaford, P.C., Sarwar, N., Lee, A.J., Bhattacharya, S. and Norman, J.E. (2013). Maternal obesity during pregnancy and premature mortality from cardiovascular event in adult offspring: follow-up of 1 323 275 person years. *BMJ*, 347, f4539.
9. Woo Baidal, J.A., Locks, L.M., Cheng, E.R., Blake-Lamb, T.L., Perkins, M.E. and Taveras, E.M. (2016). Risk Factors for Childhood Obesity in the First 1,000 Days: A Systematic Review. *Am. J. Prev. Med.*, 50, 761-779.
10. Drake, A.J. and Reynolds, R.M. (2010). Impact of maternal obesity on offspring obesity and cardiometabolic disease risk. *Reproduction*, 140, 387-398.
11. Fernández-Sánchez, A., Madrigal-Santillán, E., Bautista, M., Esquivel-Soto, J., Morales-González, A., Esquivel-Chirino, C., Durante-Montiel, I., Sánchez-Rivera, G., Valadez-Vega, C. and Morales-González, J.A. (2011). Inflammation, oxidative stress, and obesity. *Int. J. Mol. Sci.*, 12, 3117-3132.
12. Boonpattawong, N.P., Golbidi, S., Tai, D.C., Aleliunas, R.E., Bernatchez, P., Miller, J.W., Laher, I. and Devlin, A.M. (2020). Exercise during pregnancy mitigates the adverse effects of maternal obesity on adult male offspring vascular function and alters one-carbon metabolism. *Physiol. Rep.*, 8, e14582.
13. Brunton, N.M., Dufault, B., Dart, A., Azad, M.B. and McGavock, J.M. (2021). Maternal body mass index, offspring body mass index, and blood pressure at 18 years: a causal mediation analysis. *Int. J. Obes.*
14. Van De Maele, K., Devlieger, R. and Gies, I. (2018). In utero programming and early detection of cardiovascular disease in the offspring of mothers with obesity. *Atherosclerosis*, 275, 182-195.
15. Guillot, A., Payen, C., Paillat, L., Fothi, A., Dib, A., Bourreau, J., Schmitt, F., Loufrani, L., Aranyi, T., Henrion, D., Munier, M. and Fassot, C. (2021). Pathophysiological adaptations of resistance arteries in rat offspring exposed in utero to maternal obesity is associated with sex-specific epigenetic alterations. *Int. J. Obes.*, 45, 1074-1085.

16. Fernandez-Twinn, D.S., Blackmore, H.L., Siggers, L., Giussani, D.A., Cross, C.M., Foo, R. and Ozanne, S.E. (2012). The programming of cardiac hypertrophy in the offspring by maternal obesity is associated with hyperinsulinemia, AKT, ERK, and mTOR activation. *Endocrinology*, 153, 5961-5971.
17. Wang, J., Ma, H., Tong, C., Zhang, H., Lawlis, G.B., Li, Y., Zang, M., Ren, J., Nijland, M.J., Ford, S.P., Nathanielsz, P.W. and Li, J. (2010). Overnutrition and maternal obesity in sheep pregnancy alter the JNK-IRS-1 signaling cascades and cardiac function in the fetal heart. *FASEB J.*, 24, 2066-2076.
18. Blackmore, H.L., Niu, Y., Fernandez-Twinn, D.S., Tarry-Adkins, J.L., Giussani, D.A. and Ozanne, S.E. (2014). Maternal diet-induced obesity programs cardiovascular dysfunction in adult male mouse offspring independent of current body weight. *Endocrinology*, 155, 3970-3980.
19. Wang, Q., Zhu, C., Sun, M., Maimaiti, R., Ford, S.P., Nathanielsz, P.W., Ren, J. and Guo, W. (2019). Maternal obesity impairs fetal cardiomyocyte contractile function in sheep. *FASEB J.*, 33, 2587-2598.
20. Ghnenis, A.B., Odhiambo, J.F., McCormick, R.J., Nathanielsz, P.W. and Ford, S.P. (2017). Maternal obesity in the ewe increases cardiac ventricular expression of glucocorticoid receptors, proinflammatory cytokines and fibrosis in adult male offspring. *PLoS One*, 12, e0189977.
21. Kandadi, M.R., Hua, Y., Zhu, M., Turdi, S., Nathanielsz, P.W., Ford, S.P., Nair, S. and Ren, J. (2013). Influence of gestational overfeeding on myocardial proinflammatory mediators in fetal sheep heart. *J. Nutr. Biochem.*, 24, 1982-1990.
22. Huang, Y., Yan, X., Zhao, J.X., Zhu, M.J., McCormick, R.J., Ford, S.P., Nathanielsz, P.W., Ren, J. and Du, M. (2010). Maternal obesity induces fibrosis in fetal myocardium of sheep. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 299, E968-E975.
23. Guzzardi, M.A., Liistro, T., Gargani, L., Ait Ali, L., D'Angelo, G., Rocchiccioli, S., La Rosa, F., Kemeny, A., Sanguinetti, E., Ucciferri, N., De Simone, M., Bartoli, A., Festa, P., Salvadori, P.A., Burchielli, S., Sicari, R. and Iozzo, P. (2018). Maternal Obesity and Cardiac Development in the Offspring: Study in Human Neonates and Minipigs. *JACC Cardiovasc. Imaging*, 11, 1750-1755.
24. Roberts, V.H., Frias, A.E. and Grove, K.L. (2015). Impact of maternal obesity on fetal programming of cardiovascular disease. *Physiology (Bethesda)*, 30, 224-231.
25. Jevitt, C., Hernandez, I. and Groër, M. (2007). Lactation complicated by overweight and obesity: supporting the mother and newborn. *J. Midwifery Womens Health*, 52, 606-613.
26. Massov, L. (2015). Clinically overweight and obese mothers and low rates of breastfeeding: Exploring women's perspectives. *J. N. Z. Coll. Midwives*, 51, 23-29.
27. Thamer, S.J., Suker, D.K. and Al-Taha, T.J. (2014). Cross fostering to high fat fed dams impact the offspring Leptin sensitivity and obesity. *J. Sci. Eng. Res.*, 5, 289-296.
28. George, G., Draycott, S.A.V., Muir, R., Clifford, B., Elmes, M.J. and Langley-Evans, S.C. (2019). Exposure to maternal obesity during suckling outweighs in utero exposure in programming for post-weaning adiposity and insulin resistance in rats. *Sci. Rep.*, 9, 10134.
29. Torrens, C., Ethirajan, P., Bruce, K.D., Cagampang, F.R., Siow, R.C., Hanson, M.A., Byrne, C.D., Mann, G.E. and Clough, G.F. (2012). Interaction between maternal and offspring diet to impair vascular function and oxidative balance in high fat fed male mice. *PLoS One*, 7, e50671.
30. Zicha, J. and Kuneš, J. (1999). Ontogenetic aspects of hypertension development: analysis in the rat. *Physiol. Rev.*, 79, 1227-1282.
31. Lawlor, D.A., Najman, J.M., Sterne, J., Williams, G.M., Ebrahim, S. and Davey Smith, G. (2004). Associations of parental, birth, and early life characteristics with systolic blood pressure at 5 years of age: findings from the Mater-University study of pregnancy and its outcomes. *Circulation*, 110, 2417-2423.

32. Mamun, A.A., O'Callaghan, M., Callaway, L., Williams, G., Najman, J. and Lawlor, D.A. (2009). Associations of gestational weight gain with offspring body mass index and blood pressure at 21 years of age: evidence from a birth cohort study. *Circulation*, 119, 1720-1727.
33. De Jong, K.A., Barrand, S., Wood-Bradley, R.J., de Almeida, D.L., Czechor, J.K., Lopaschuk, G.D., Armitage, J.A. and McGee, S.L. (2018). Maternal high fat diet induces early cardiac hypertrophy and alters cardiac metabolism in Sprague Dawley rat offspring. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, 28, 600-609.
34. Loche, E., Blackmore, H.L., Carpenter, A.A., Beeson, J.H., Pinnock, A., Ashmore, T.J., Aiken, C.E., de Almeida-Faria, J., Schoonejans, J.M., Giussani, D.A., Fernandez-Twinn, D.S. and Ozanne, S.E. (2018). Maternal diet-induced obesity programmes cardiac dysfunction in male mice independently of post-weaning diet. *Cardiovasc. Res.*, 114, 1372-1384.
35. Zielinsky, P. and Piccoli, A.L. Jr. (2012). Myocardial hypertrophy and dysfunction in maternal diabetes. *Early Hum. Dev.*, 88, 273-278.
36. Litwin, L., Sundholm, J.K.M., Rönö, K., Koivusalo, S.B., Eriksson, J.G. and Sarkola, T. (2020). Transgenerational effects of maternal obesity and gestational diabetes on offspring body composition and left ventricle mass: the Finnish Gestational Diabetes Prevention Study (RADIEL) 6-year follow-up. *Diabet. Med.*, 37, 147-156.
37. Sengupta, P. (2013). The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. *Int. J. Prev. Med.*, 4, 624-630.
38. Shrestha, N., Sleep, S., Helman, T., Holland, O., Cuffe, J., Perkins, A.V., McAinch, A.J., Headrick, J.P. and Hryciw, D.H. (2021). Maternal diet high in linoleic acid alters offspring fatty acids and cardiovascular function in a rat model. *Br. J. Nutr.*, 1-14.
39. Huke, S. and Bers, D.M. (2008). Ryanodine receptor phosphorylation at Serine 2030, 2808 and 2814 in rat cardiomyocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 376, 80-85.
40. Bovo, E., Huke, S., Blatter, L.A. and Zima, A.V. (2017). The effect of PKA-mediated phosphorylation of ryanodine receptor on SR Ca²⁺ leak in ventricular myocytes. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 104, 9-16.
41. Ullrich, N.D., Valdivia, H.H. and Niggli, E. (2012). PKA phosphorylation of cardiac ryanodine receptor modulates SR luminal Ca²⁺ sensitivity. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 53, 33-42.
42. Kjellberg, E., Roswall, J., Andersson, J., Bergman, S., Karlsson, A.K., Svensson, P.A., Kullberg, J. and Dahlgren, J. (2019). Metabolic Risk Factors Associated with Visceral and Subcutaneous Adipose Tissue in a Sex-Specific Manner in Seven-Year-Olds. *Obesity*, 27, 982-988.

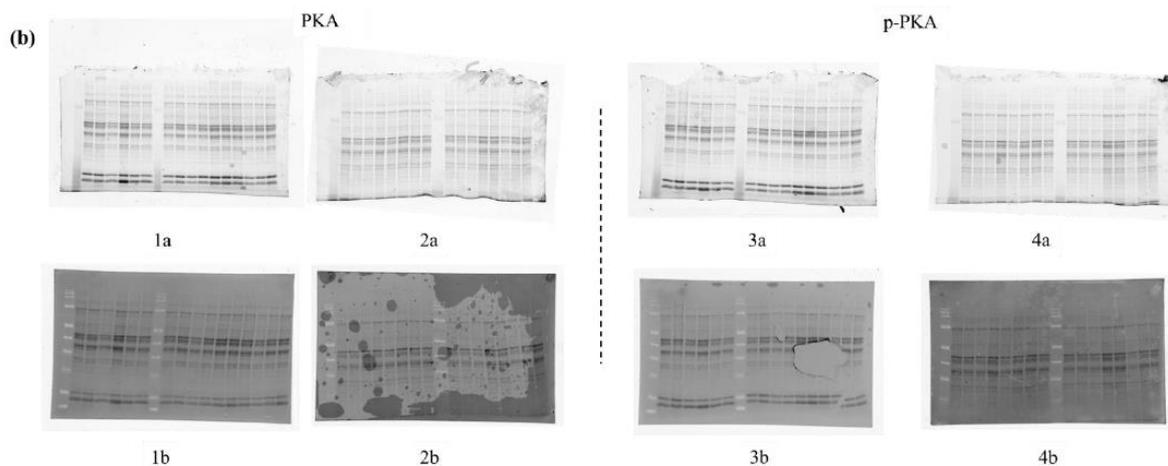
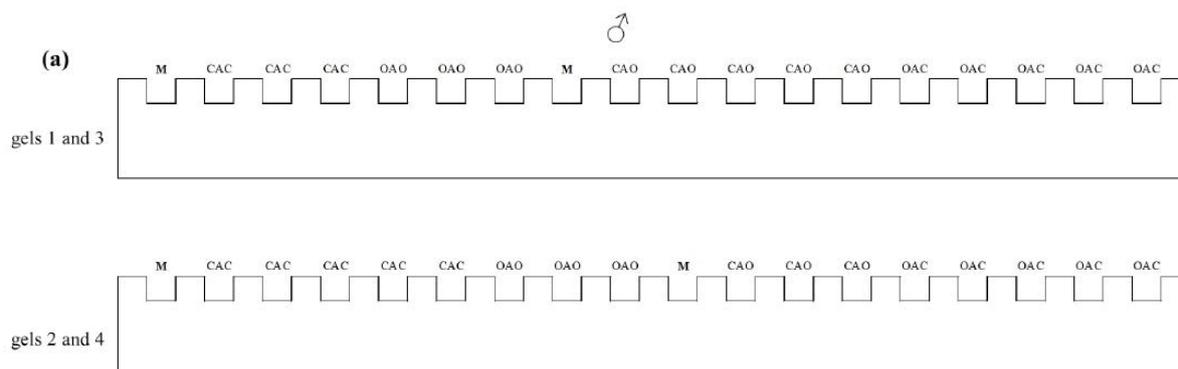
Supplemental material 1. Impact of maternal obesity on litter size and pups size at birth.

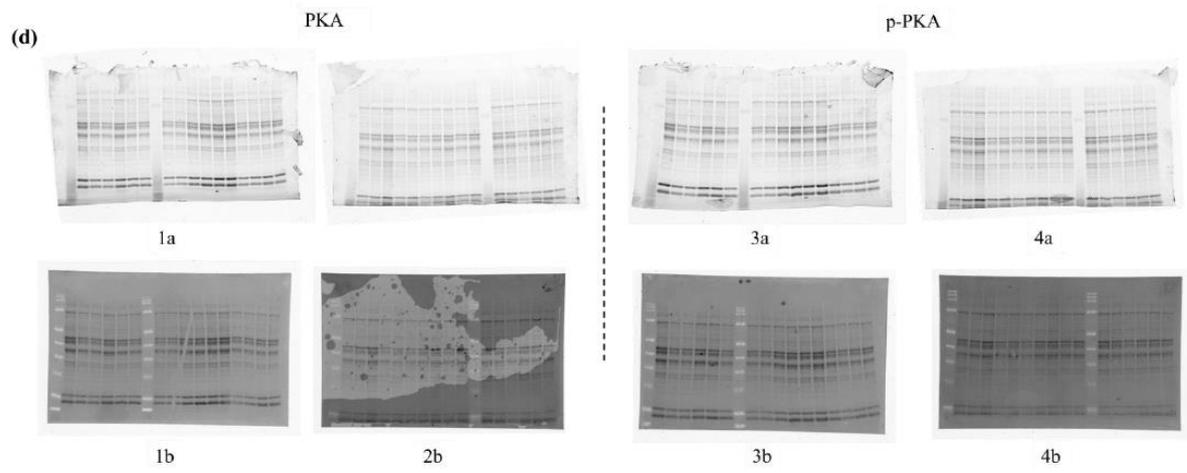
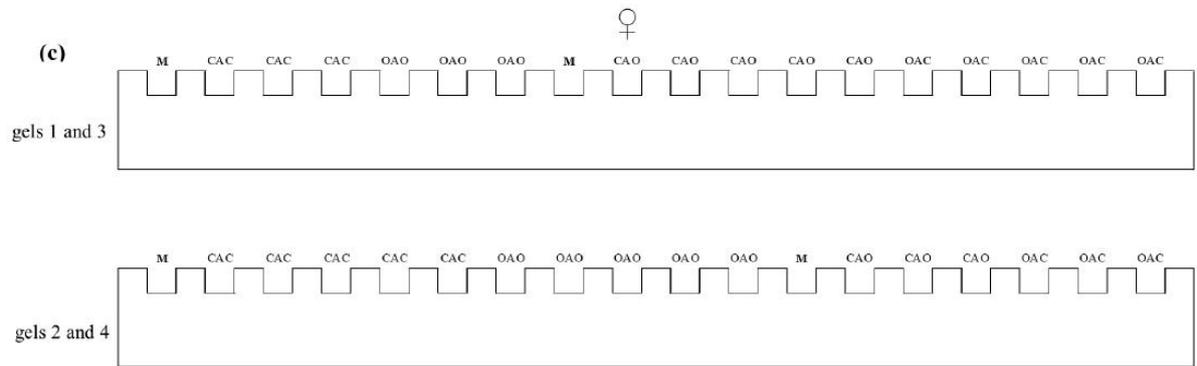
Number of pups per litter and sex ratio for control mothers (CM) and obese mothers (OM) (a); Control mother offspring (CMO) and obese mother offspring's (OMO) weight at birth (b). *P<0.05. Data are mean ± SEM. (a): n = 13 CM and 10 OM; (b): Males: n = 30 CMO and 45 OMO, Females: n = 43 CMO and 49 OMO.

(a)	CM	OM
Number of pups per litter	9.9 ± 1.2	11.1 ± 1.2
Number of males per litter	4.3 ± 0.7	5.2 ± 0.8
Number of females per litter	5.5 ± 0.9	5.9 ± 0.8

(b)	CMO	OMO
Males' weight (g)	7.280 ± 0.111	7.554 ± 0.097*
Females' weight (g)	6.941 ± 0.092	7.108 ± 0.099

Supplemental material 2. Plate plans, activated gels and activated membranes obtained during Western blot analysis of the LV of male (top panel) and female (bottom panel) rat offspring at 2.5 months of age. Plate plans for male (a) and female (c) LV samples were established. A total of 4 SDS-PAGE gels were used for male samples (b) and 4 others for female samples (d): 2 for PKA analysis (1a and 2a) and 2 for p-PKA analysis (3a and 4a). Proteins from each gel were then transferred onto nitrocellulose membranes (PKA, 1b and 2b; p-PKA, 3b and 4b) for their respective analyses. M: Molecular weight marker.





Discussion

Cette seconde étude a permis de mettre en évidence que l'obésité maternelle et le changement d'alimentation post-natale n'ont pas d'effet sur la fonction cardiaque globale (en termes de structure et fonction du ventricule gauche) de la descendance mâle et femelle à l'âge de 2,5 mois. En effet, la descendance mâle et femelle ne présente pas d'hypertrophie, de fibrose ni de dysfonction contractile cardiaque, malgré les signes d'un retard de croissance (tibia plus court) chez les femelles OAC.

Nos résultats sont parmi les premiers obtenus sur la fonction cardiaque de petits étant soumis au phénomène de « mismatch », c'est-à-dire au décalage trop important entre l'environnement pré- et post-natal provoqué ici par une modification de nutrition. Durant son développement, la croissance du fœtus est en effet modifiée par le milieu *in utero* dans le but de le préparer à la vie après la naissance ; si cet environnement post-natal est trop différent de l'environnement fœtal, cela peut provoquer un important décalage, appelé « mismatch » et les organes du nouveau-né tendent alors à être structurellement et fonctionnellement mal préparés à répondre aux nouveaux besoins du corps, ce qui peut aboutir à l'apparition précoce de dysfonctions métaboliques et cardiovasculaires, au cours de la vie adulte (Ahmad et al., 2021 ; Cleal et al., 2007). Pourtant, l'absence d'anomalie cardiaque chez nos petits nés de mères obèses de 2,5 mois est à l'opposé de l'hypertrophie, de la dysfonction contractile et de la fibrose cardiaque démontrées par d'autres études au stade fœtal (Wang et al., 2010 ; Wang et al., 2019 ; Ghnenis et al., 2017). Outre les différences liées aux régimes alimentaires et aux espèces utilisés par les travaux expérimentaux décrits dans la littérature, l'absence de trouble cardiaque chez nos animaux peut être dû à leur âge. En effet, il est possible que les anomalies cardiaques puissent avoir été présentes au stade fœtal jusqu'à une certaine période après le sevrage, avant de régresser et ne plus être visibles à l'âge de 2,5 mois. Aussi, une étude structurelle et fonctionnelle cardiaque sur la descendance OAO, OAC et CAO peu de temps après le sevrage pourrait ainsi nous apporter de nouvelles données concernant cette hypothèse. Malgré tout, bien que l'âge d'un rat soit comparable à celui d'un être humain, il est important de prendre en considération qu'un rat de 2,5 mois est déjà sexuellement mature et est physiologiquement considéré comme un « jeune adulte », alors qu'il est comparé à un jeune enfant de 4 à 7,5 ans (Sengupta, 2013). De fait, les données obtenues chez ces deux espèces pourraient ne pas toujours être transposables, ce qui signifie que d'autres recherches sont requises afin de comprendre pourquoi nos résultats à 2,5 mois divergent par rapport à de précédents travaux sur le cœur.

Les résultats obtenus au cours de ce travail nécessiteront d'être complétés, dans un premier temps, par une approche élargie avec l'étude de protéines cardiaques supplémentaires venant compléter nos résultats sur la PKA. En effet, Wang et al. ayant constaté un dérèglement de la fonction cardiaque fœtale via l'activation de la protéine CaMKII (Wang et al., 2019), autre kinase impliquée dans la phosphorylation de RyR2, et des protéines des cardiomyofilaments Troponine-T, p-Troponine-I et Tropomyosine, ainsi qu'un déséquilibre entre les isoformes α et β des chaînes lourdes de Myosine, nous étudierons ces protéines dans notre propre modèle de descendance de rates obèses.

De manière intéressante, une étude effectuée sur la descendance de brebis obèse a montré que la fonction cardiaque fœtale était normale à l'état basal, mais qu'en cas de surcharge du travail cardiaque, celle-ci était dégradée (Wang et al., 2010). Ces résultats ont par la suite été confirmés chez des souris nées de mères obèses ayant eu une hypertrophie cardiaque transitoire entre 8 et 12 semaines : un stress induit sur les cœurs de ces animaux âgés de 12 semaines révélait une altération de la fonction systolique associée à une dominance du système nerveux sympathique, alors que l'hypertrophie cardiaque n'était plus visible aux niveaux cellulaire et structurel. Il a alors été suggéré que cette hypertrophie des cardiomyocytes pouvait agir comme un mécanisme protecteur, qui ne peut néanmoins pas être maintenu sur le long terme, et que la persistance de la dysfonction contractile cardiaque était susceptible de mener à une insuffisance cardiaque précoce à l'âge adulte (Blackmore et al., 2014). Aussi, la suite de notre étude consistera à étudier les effets d'un stress induit par une ischémie / reperfusion chez nos animaux, grâce à la technique de Langendorff. Ainsi nous pourrions mettre en évidence des troubles cardiaques contractiles sous-jacents, et ce, en conditions de stress, chez la descendance de mères obèses de 2,5 mois, troubles qui pourraient ou non être plus prononcés chez la descendance ayant eu un régime alimentaire post-natal différent.

Enfin, il sera également nécessaire de réaliser un suivi longitudinal des rats nés de mères obèses aux âges de 6, 12 et 18 mois, ainsi que de ceux ayant eu un changement d'alimentation post-natale. Ceci nous permettra de voir l'évolution de leur morphologie et de leur fonction contractile cardiaque en parallèle du développement d'anomalies métaboliques.

DISCUSSION GENERALE

Il est aujourd'hui connu que des changements de l'environnement utérin sont susceptibles d'influencer le développement du fœtus au cours de la grossesse. Ces modifications développementales ont pour but d'optimiser les chances de survie du fœtus dans ces nouvelles conditions et de le préparer à la vie post-natale, à condition que cette dernière soit similaire au milieu gestationnel. Dans le cas contraire, où l'environnement post-natal est trop différent du milieu *in utero*, cette adaptation structurelle et fonctionnelle du fœtus peut devenir néfaste et amener à l'apparition précoce de pathologies chez l'individu à l'âge adulte. Cette programmation fœtale, au travers notamment de modifications épigénétiques, a en effet été associée au développement de diverses maladies métaboliques, vasculaires et cardiaques (Rinaudo and Wang, 2012 ; Meister et al., 2017 ; Balistreri, 2020). Au cours de ce travail de thèse, nous avons souhaité mettre en lumière les causes et les conséquences de la programmation fœtale d'anomalies métaboliques et cardiovasculaires induite par des altérations nutritionnelles de plus en plus fréquentes : l'obésité maternelle et le changement d'alimentation post-natale. De plus, les études cliniques et expérimentales précisant rarement si leurs données avaient été obtenues sur des individus des deux sexes, nous avons choisi de faire un suivi de la descendance mâle ainsi que femelle.

La première partie de ma thèse s'est consacrée à la programmation fœtale d'anomalies métaboliques et vasculaires induites par l'obésité maternelle. En effet, l'évolution des modes de vie au niveau mondial a progressivement conduit les populations à adopter des habitudes favorisant le développement de l'obésité. Avec aujourd'hui plus de 650 millions de personnes considérées comme obèses, cette « épidémie » d'obésité est devenue un problème de santé publique mondial (Hales et al., 2017) touchant notamment de plus en plus de femmes en âge de procréer (Fisher et al., 2013 ; Bogaerts et al., 2014). De fait, de nombreuses études ont établi que cette obésité maternelle était capable d'induire la programmation fœtale des fonctions métaboliques (obésité, diabète de type 2), vasculaires (hypertension, athérosclérose) et cardiaques (maladie coronarienne, infarctus du myocarde, insuffisance cardiaque) (Drake and Reynolds, 2010 ; Fernández-Sánchez et al., 2011 ; Samuelsson et al., 2010 ; Balistreri, 2020 ; Athanasiou et al., 2017 ; Roberts et al., 2015 ; Guzzardi et al., 2018) chez la descendance une fois atteint l'âge adulte. Chez la descendance de mères obèses, les anomalies vasculaires se manifestant en parallèle des problèmes métaboliques semblaient indiquer une origine métabolique de celles-ci (Fan et al., 2013 ; Taylor et al., 2004).

L'obésité maternelle programme l'apparition de dérèglements vasculaires de façon sexe-dépendante en lien avec des modifications épigénétiques mais indépendamment des dérèglements métaboliques chez la descendance

Notre première étude a permis de mettre en évidence que l'obésité maternelle pouvait induire chez la descendance mâle comme femelle âgée de 4 mois un déséquilibre de la fonction vasodilatatrice qui, bien que n'étant pas suffisamment grave pour être délétère à ce stade, pourrait conduire à plus long terme à une dysfonction vasculaire globale pouvant elle-même favoriser la survenue de l'hypertension artérielle décrite dès 6 mois (Khan et al., 2005 ; Taylor et al., 2004). Cette perturbation de la vasodilatation est en lien avec des modifications structurelles des artères de résistance, du fait de modifications épigénétiques touchant des protéines impliquées dans le remodelage vasculaire. De plus, les animaux nés de mères obèses ne présentant pas de dérégulation métabolique à 4 mois, il semble donc que ces dérèglements vasculaires soient la conséquence

d'une programmation fœtale directe. Un changement de l'environnement nutritionnel *in utero* serait donc capable d'induire à la fois une programmation fœtale de la fonction métabolique et une programmation fœtale de la fonction vasculaire de façon indépendante. La suite directe de cette étude consistera à observer l'évolution de ces troubles tant métaboliques que vasculaires chez la descendance de mères obèses à des âges plus avancés (6, 12 et 18 mois). Cela devrait nous permettre notamment de lier l'atteinte de la fonction vasodilatatrice à l'hypertension observée chez le rat (Khan et al., 2005 ; Taylor et al., 2004) et au niveau clinique (Mamun et al., 2009 ; Lawlor et al., 2004).

La deuxième partie de cette thèse s'est concentrée sur l'étude de la programmation fœtale d'anomalies cardiaques induites par l'obésité maternelle et par un changement d'alimentation post-natale. Grâce à de récentes études expérimentales, la fonction cardiaque est à présent plutôt bien caractérisée chez la descendance de mère obèse au stade fœtal. L'obésité maternelle est en effet capable d'induire une hypertrophie ventriculaire, une dysfonction de la capacité contractile du cœur, de la fibrose ainsi que de l'inflammation au stade fœtal chez la descendance (Fernandez-Twinn et al., 2012 ; Wang et al., 2010 ; Blackmore et al., 2014 ; Wang et al., 2019 ; Loche et al., 2018 ; Huang et al., 2010 ; Ghnenis et al., 2017 ; Kandadi et al., 2013). Néanmoins, bien que ces altérations cardiaques soient des facteurs de risques dans l'apparition de pathologies cardiaques (Blackmore et al., 2014 ; Roberts et al., 2015), l'obésité maternelle et ses dérèglements métaboliques n'ont été liés aux problèmes cardiaques de la descendance (enfant et adulte) que par associations indirectes (Gaillard, 2015 ; Razaz et al., 2020), au niveau clinique comme expérimental. Les mécanismes sous-jacents sont de fait très peu connus. Les conséquences d'un changement d'alimentation post-natale précoces sont elles aussi assez mal connues, notamment au niveau cardiaque. Des études cliniques ont pu montrer qu'il était fréquent chez les mères obèses de ne pas allaiter leurs enfants qui consommeront alors précocement du lait infantile, créant un décalage important entre les environnements pré- et post-nataux (Wojcicki, 2011 ; Amir and Donath, 2007 ; Massov, 2015 ; Hauff et al., 2014). Les conséquences d'un tel changement d'environnement ne sont pas encore pleinement élucidées, en particulier concernant la fonction cardiaque.

L'obésité maternelle et le changement d'alimentation post-natale n'induisent pas l'apparition d'anomalies cardiaques, même en présence d'un décalage de nutriments pré- et post-natales.

Notre seconde étude a révélé que les animaux âgés de 2,5 mois nés de mères obèses ou ayant subi une modification de leur nutrition après la naissance ne présentaient pas d'anomalie cardiaque. En effet, nous n'avons observé aucune altération de la fonction cardiaque à 2,5 mois, ni chez la descendance de mères obèses, ni chez la descendance ayant eu une nutrition post-natale différente. Pour la descendance de mères obèses, il est possible que les problèmes cardiaques (notamment morphométriques) présents au stade fœtal se soient normalisés avant l'âge de 2,5 mois et ne soient donc plus observables dans le cadre de notre étude, comme l'avait démontré Blackmore dans son modèle murin d'obésité maternelle (Blackmore et al., 2014). Toutefois, une dysfonction cardiaque d'ordre contractile, qui se manifesterait en condition de stress, pourrait être présente. Concernant la descendance ayant eu un changement d'alimentation post-natale, le même type de suivi devra être réalisé. Ceci

permettrait en outre de mettre en évidence l'importance de la période post-natale dans la programmation foetale d'anomalies cardio-métaboliques, encore peu étudiée au niveau clinique.

D'autre part, nous n'avons pas observé d'altération métabolique chez la descendance de mères obèses à 2,5 mois, comme à 4 mois. En revanche, il a été observé un retard de croissance uniquement chez les femelles passant d'un régime gras durant la vie foetale à un régime équilibré après la naissance. Ceci nous indique que, du fait du phénomène de « mismatch », changer l'alimentation après la naissance serait délétère pour la croissance en particulier chez les petites filles. Ces résultats semblent en concordance avec les études démontrant que maintenir la consommation du lait maternelle serait alors bénéfique à l'enfant et permettrait de prévenir les risques d'obésité, de diabète et de problèmes cardiovasculaires (Turck et al., 2005 ; Oddy, 2002 ; Rocha et al., 2014 ; Verduci et al., 2021).

Conclusion

Au cours de cette thèse, nous avons ainsi tout d'abord pu mettre en évidence que l'obésité maternelle était capable d'induire directement la programmation fœtale de dérèglements vasculaires, sans altération métabolique et cardiaque. Ces résultats nous indiquent que le suivi médical des anomalies métaboliques ne serait probablement pas suffisant pour empêcher l'apparition de troubles vasculaires chez les enfants nés de mères obèses, rendant nécessaire un suivi clinique et des traitements personnalisés pour la fonction cardiovasculaire à court et long terme.

Nous avons ensuite mis en évidence qu'un changement d'alimentation post-natale n'induisait pas de problème cardiaque majeur malgré un retard de croissance observé uniquement chez les femelles. Ceci montre qu'une perturbation de la nutrition après la naissance semble accélérer la survenue précoce de désordres qui pourront alors contribuer à l'apparition de maladies cardiovasculaires, potentiellement induites par la programmation fœtale et jusqu'alors sous-jacentes. Il semblerait donc que la consommation de lait infantile aurait des effets néfastes sur la croissance des enfants nés de mères obèses, et que l'allaitement maternel serait en conséquence à privilégier autant que possible. Mais ces données restent à approfondir.

Enfin, au cours de ces deux études, nous avons constaté l'existence d'un dimorphisme sexuel dans l'apparition des dérèglements vasculaires et métaboliques. Aussi, un suivi médical adapté selon le sexe de l'enfant deviendrait nécessaire pour prévenir aussi tôt que possible le développement des pathologies métaboliques et cardiovasculaires.

Pour conclure, en termes de santé publique, une meilleure compréhension des mécanismes physiopathologiques de ce préconditionnement cardiovasculaire permettrait de proposer des stratégies thérapeutiques pour une prise en charge précoce visant à contrôler les conséquences pathologiques d'un tel préconditionnement.

Bibliographie

- Aagaard-Tillery, K.M., Grove, K., Bishop, J., Ke, X., Fu, Q., McKnight, R. and Lane, R.H. (2008). Developmental origins of disease and determinants of chromatin structure: maternal diet modifies the primate fetal epigenome. *J. Mol. Endocrinol.*, 41, 91-102.
- Aalkjær, C., Nilsson, H. and De Mey, J. (2021). Sympathetic and Sensory-Motor Nerves in Peripheral Small Arteries. *Physiol. Rev.*, 101, 495-544.
- Abi Khalil, C. (2014). The emerging role of epigenetics in cardiovascular disease. *Ther. Adv. Chronic Dis.*, 5, 178-187.
- Achari, A.E. and Jain, S.K. (2017). Adiponectin, a Therapeutic Target for Obesity, Diabetes, and Endothelial Dysfunction. *Int. J. Mol. Sci.*, 18, 1321.
- Adeva-Andany, M.M., Pérez-Felpete, N., Fernández-Fernández, C., Donapetry-García, C. and Pazos-García, C. (2016). Liver glucose metabolism in humans. *Biosci. Rep.*, 36.
- Agarwal, P., Morriseau, T.S., Kereliuk, S.M., Doucette, C.A., Wicklow, B.A. and Dolinsky, V.W. (2018). Maternal obesity, diabetes during pregnancy and epigenetic mechanisms that influence the developmental origins of cardiometabolic disease in the offspring. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*, 55, 71-101.
- Aguilar, H.N. and Mitchell, B.F. (2010). Physiological pathways and molecular mechanisms regulating uterine contractility. *Hum. Reprod. Update*, 16, 725-744.
- Aguilar, M., Bhuket, T., Torres, S., Liu, B. and Wong, R.J. (2015). Prevalence of the Metabolic Syndrome in the United States, 2003-2012. *JAMA*, 313, 1973-1974.
- Ahmad, S., Drag, M.H., Salleh, S.M., Cai, Z. and Nielsen, M.O. (2021). Transcriptomics analysis of differentially expressed genes in subcutaneous and perirenal adipose tissue of sheep as affected by their pre- and early postnatal malnutrition histories. *BMC Genomics*, 22, 338.
- Aiken, C.E. and Ozanne, S.E. (2013). Sex differences in developmental programming models. *Reproduction*, 145, R1-R13.
- Alexander, B.T., Dasinger, J.H. and Intapad, S. (2015). Fetal programming and cardiovascular pathology. *Compr. Physiol.*, 5, 997-1025.
- Al-Goblan, A.S., Al-Alfi, M.A. and Khan, MZ. (2014). Mechanism linking diabetes mellitus and obesity. *Diabetes Metab. Syndr. Obes.*, 7, 587-591.
- Alur, P. (2019). Sex Differences in Nutrition, Growth, and Metabolism in Preterm Infants. *Front. Pediatr.*, 7, 22.
- Amir, L.H. and Donath, S. (2007). A systematic review of maternal obesity and breastfeeding intention, initiation and duration. *BMC Pregnancy Childbirth*, 7, 9.
- Angin, Y., Steinbusch, L.K., Simons, P.J., Greulich, S., Hoebbers, N.T., Douma, K., van Zandvoort, M.A., Coumans, W.A., Wijnen, W., Diamant, M., Ouwens, D.M., Glatz, J.F. and Luiken, J.J. (2012). CD36 inhibition prevents lipid accumulation and contractile dysfunction in rat cardiomyocytes. *Biochem. J.*, 448, 43-53.
- Antunes, C., Azadfar, M. and Gupta, M. (2020). Fatty Liver. *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*.

- Armitage, J.A., Lakasing, L., Taylor, P.D., Balachandran, A.A., Jensen, R.I., Dekou, V., Ashton, N., Nyengaard, J.R. and Poston, L. (2005). Developmental programming of aortic and renal structure in offspring of rats fed fat-rich diets in pregnancy. *J. Physiol.*, 565, 171-184.
- Asarian, L. and Geary, N. (2013). Sex differences in the physiology of eating. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 305, R1215-R1267.
- Astuti, D.A., Sajuthi, D., Suparto, I.H., Kaplan, J., Appt, S. and Clarkson, T.B. (2014). The development of diets to induce atherogenic lipid profiles for cynomolgus monkeys in their country of origin. *World J. Agric. Res.*, 2, 247-251.
- Athanasίου, L.S., Fotiadis, D.I. and Michalis, L.K. (2017). Structure and Mechanical Behavior of Atherosclerotic Plaque. Atherosclerotic Plaque Characterization Methods Based on Coronary Imaging. *Elsevier*, 181-198.
- Azevedo, P.S., Polegato, B.F., Minicucci, M.F., Paiva, S.A.R. and Zornoff, L.A.M. (2016). Cardiac Remodeling: Concepts, Clinical Impact, Pathophysiological Mechanisms and Pharmacologic Treatment. *Arq. Bras. Cardiol.*, 106, 62-69.
- Baer, C., Claus, R. and Plass, C. (2013). Genome-wide epigenetic regulation of miRNAs in cancer. *Cancer Res.*, 73, 473-477.
- Balaban, N.E. and Bobick, J. (2008). Cardiovascular system. The Handy Anatomy Answer Book. *Visible Ink Press*, 197.
- Baldi, J.C., Wilson, G.A., Wilson, L.C., Wilkins, G.T. and Lamberts, R.R. (2016). The Type 2 Diabetic Heart: Its Role in Exercise Intolerance and the Challenge to Find Effective Exercise Interventions. *Sports Med.*, 46, 1605-1617.
- Balistreri, C.R. (2020). Fetal programming as the cause of all the evils in adult humans: atherosclerosis and coronary heart disease included. *Cardiovasc. Med.*, 23, w02113.
- Balke, C.W. and Shorofsky, S.R. (1998). Alterations in calcium handling in cardiac hypertrophy and heart failure. *Cardiovasc. Res.*, 37, 290-299.
- Balli, S., Pac, F.A., Ece, İ., Oflaz, M.B., Kibar, A.E. and Kandemir, Ö. (2014). Assessment of cardiac functions in fetuses of gestational diabetic mothers. *Pediatr. Cardiol.*, 35, 30-37.
- Barker, D.J. and Osmond, C. (1988). Low birth weight and hypertension. *BMJ*, 297, 134-135.
- Barker, D.J., Winter, P.D., Osmond, C., Margetts, B., and Simmonds, S.J. (1989a). Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. *Lancet Lond. Engl.*, 2, 577-580.
- Barker, D.J., Osmond, C., Golding, J., Kuh, D. and Wadsworth, M.E. (1989b). Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease. *BMJ*, 298, 564-567.
- Barker, D.J., Hales, C.N., Fall, C.H., Osmond, C., Phipps, K. and Clark, P.M. (1993). Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidaemia (syndrome X): relation to reduced fetal growth. *Diabetologia*, 36, 62-67.
- Barker, D.J. (1995). Fetal origins of coronary heart disease. *BMJ*, 311, 171-174.
- Barker, D.J. (1997). Fetal nutrition and cardiovascular disease in later life. *British medical bulletin*, 53, 96-108.

- Barlow, R.S., El-Mowafy, A.M. and White, R.E. (2000). H₂O₂ opens BK(Ca) channels via the PLA₂-arachidonic acid signaling cascade in coronary artery smooth muscle. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 279, H475-H483.
- Bartel, D.P. (2004). MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*, 136, 215-233.
- Battista, M.C., Calvo, E., Chorvatova, A., Comte, B., Corbeil, J. and Brochu, M. (2005). Intra-uterine growth restriction and the programming of left ventricular remodelling in female rats. *J. Physiol.*, 565, 197-205.
- Bauersachs, J. and Widder, J.D. (2008). Endothelial dysfunction in heart failure. *Pharmacol. Rep.*, 60, 119-126.
- Bauersachs, J. (2010). Regulation of myocardial fibrosis by micrnas. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 56, 454-459.
- Bautista, C.J., Montaña, S., Ramirez, V., Morales, A., Nathanielsz, P.W., Bobadilla, N.A. and Zambrano, E. (2016). Changes in milk composition in obese rats consuming a high-fat diet. *Br. J. Nutr.*, 115, 538-546.
- Bayoumy, S., Habib, M. and Abdelmageed, R. (2020). Impact of maternal diabetes and obesity on fetal cardiac functions. *Egypt. Heart J.*, 72, 46.
- Beeson, J.H., Blackmore, H.L., Carr, S.K., Dearden, L., Duque-Guimarães, D.E., Kusinski, L.C., Pantaleão, L.C., Pinnock, A.G., Aiken, C.E., Giussani, D.A., Fernandez-Twinn, D.S. and Ozanne, S.E. (2018). Maternal exercise intervention in obese pregnancy improves the cardiovascular health of the adult male offspring. *Mol. Metab.*, 16, 35-44.
- Beigh, S.H. and Jain, S. (2012). Prevalence of metabolic syndrome and gender differences. *Bioinformation*, 8, 613-616.
- Belo, V.A., Guimarães, D.A. and Castro, M.M. (2015). Matrix Metalloproteinase 2 as a Potential Mediator of Vascular Smooth Muscle Cell Migration and Chronic Vascular Remodeling in Hypertension. *J. Vasc. Res.*, 52, 221-231.
- Benkalfat, N.B., Merzouk, H., Bouanane, S., Merzouk, S.A., Bellenger, J., Gresti, J., Tessier, C. and Narce, M. (2011). Altered adipose tissue metabolism in offspring of dietary obese rat dams. *Clin. Sci.*, 121, 19-28.
- Berg, J.M., Tymoczko, J.L. and Stryer, L. (2002). Chapitre 30.2 : Each Organ Has a Unique Metabolic Profile. *Biochemistry*, 5th edition. *New York: W H Freeman*.
- Berne, R.M. (1981). Cardiovascular Physiology. *Annu. Rev. Physiol.*, 43, 357-358.
- Bevan, J.A. and Laher, I. (1991). Pressure and flow-dependent vascular tone. *FASEB J.*, 5, 2267-2273.
- Bevan, R.D., Clementson, A., Joyce, E. and Bevan, J.A. (1993). Sympathetic denervation of resistance arteries increases contraction and decreases relaxation to flow. *Am. J. Physiol.*, 264, H490-H494.
- Birukov, K.G. (2009). Cyclic stretch, reactive oxygen species, and vascular remodeling. *Antioxid. Redox Signal.*, 11, 1651-1667.
- Blackmore, H.L. and Ozanne, S. (2013). Maternal diet-induced obesity and offspring cardiovascular health. *J. Dev. Orig. Health Dis.*, 4, 338-347.
- Blackmore, H.L., Niu, Y., Fernandez-Twinn, D.S., Tarry-Adkins, J.L., Giussani, D.A. and Ozanne, S.E. (2014). Maternal diet-induced obesity programs cardiovascular dysfunction in adult male mouse offspring independent of current body weight. *Endocrinology*, 155, 3970-3980.

- Blackmore, H.L. and Ozanne, S.E. (2015). Programming of cardiovascular disease across the life-course. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 83, 122-130.
- Blake-Lamb, T.L., Locks, L.M., Perkins, M.E., Woo Baidal, J.A., Cheng, E.R. and Taveras, E.M. (2016). Interventions for Childhood Obesity in the First 1,000 Days A Systematic Review. *Am. J. Prev. Med.*, 50, 780-789.
- Bloch, J., Scherrer, U. and Sartori C. (2007). Programmation fœtale : un facteur de risque méconnu des maladies cardiovasculaires et métaboliques. *Rev. Med. Suisse*, 3, 32638.
- Blumenthal, R.S. and Margolis, S. (2007). Heart Attack Prevention 2007. *Johns Hopkins Health*, 10.
- Bogaerts, A., Devlieger, R., Van den Bergh, B.R. and Witters, I. (2014). Obesity and pregnancy, an epidemiological and intervention study from a psychosocial perspective. *Facts Views Vis. Obgyn*, 6, 81-95.
- Bogo, M.A., Pabis, J.S., Bonchoski, A.B., Santos, D.C.D., Pinto, T.J.F., Simões, M.A., Silva, J.C. and Pabis, F.C. (2020). Cardiomyopathy and cardiac function in fetuses and newborns of diabetic mothers. *J. Pediatr.*
- Bolz, S.S., Vogel, L., Sollinger, D., Derwand, R., de Wit, C., Loirand, G. and Pohl, U. (2003). Nitric oxide-induced decrease in calcium sensitivity of resistance arteries is attributable to activation of the myosin light chain phosphatase and antagonized by the RhoA/Rho kinase pathway. *Circulation*, 107, 3081-3087.
- Boonpatrawong, N.P., Golbidi, S., Tai, D.C., Aleliunas, R.E., Bernatchez, P., Miller, J.W., Laher, I. and Devlin, A.M. (2020). Exercise during pregnancy mitigates the adverse effects of maternal obesity on adult male offspring vascular function and alters one-carbon metabolism. *Physiol. Rep.*, 8, e14582.
- Boron, W.F. and Boulpaep, E.L. (2005). Medical Physiology: A Cellular and Molecular Approach, Updated edition. *Saunders*, 533.
- Bouché, C., Serdy, S., Kahn, C. and Goldfine, A. (2004). The cellular fate of glucose and its relevance in type 2 diabetes. *Endocr. Rev.*, 25, 807-830.
- Bovo, E., Huke, S., Blatter, L.A. and Zima, A.V. (2017). The effect of PKA-mediated phosphorylation of ryanodine receptor on SR Ca²⁺ leak in ventricular myocytes. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 104, 9-16.
- Braile, M., Marcella, S., Cristinziano, L., Galdiero, M.R., Modestino, L., Ferrara, A.L., Varricchi, G., Marone, G. and Loffredo, S. (2020). VEGF-A in Cardiomyocytes and Heart Diseases. *Int. J. Mol. Sci.*, 21, 5294.
- Brasier, A.R., Recinos, A. 3rd and Eledrisi, M.S. (2002). Vascular inflammation and the renin-angiotensin system. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 22, 1257-1266.
- Bremer, A.A., Stanhope, K.L., Graham, J.L., Cummings, B.P., Wang, W., Saville, B.R. and Havel, P.J. (2011). Fructose-fed rhesus monkeys: a nonhuman primate model of insulin resistance, metabolic syndrome, and type 2 diabetes. *Clin. Transl. Sci.*, 4, 243-252.
- Brite, J., Laughon, S., Troendle, J. and Mills, J. (2014). Maternal overweight and obesity and risk of congenital heart defects in offspring. *Int. J. Obes.*, 38, 878-882.
- Brodehl, A., Gaertner-Rommel, A. and Milting, H. (2018). Molecular insights into cardiomyopathies associated with desmin (DES) mutations. *Biophys. Rev.*, 10, 983-1006.

- Brown, A.S. and Susser, E.S. (1997). Sex differences in prevalence of congenital neural defects after periconceptional famine exposure. *Epidemiology*, 8, 55-58.
- Brunton, N.M., Dufault, B., Dart, A., Azad, M.B. and McGavock, J.M. (2021). Maternal body mass index, offspring body mass index, and blood pressure at 18 years: a causal mediation analysis. *Int. J. Obes.*
- Burke, J.P., Forsgren, J., Palumbo, P.J., Bailey, K.R., Desai, J., Devlin, H. and Leibson, C.L. (2004). Association of Birth Weight and Type 2 Diabetes in Rochester, Minnesota. *Diabetes Care*, 27, 2512-2513.
- Cameron, A.J., Shaw, J.E. and Zimmet, P.Z. (2004). The metabolic syndrome: prevalence in worldwide populations. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.*, 33, 351-375.
- Carmela, R.B. (2020). Fetal programming as the cause of all the evils in adult humans: atherosclerosis and coronary heart disease included. *Cardiovasc. Med.*, 23, w02113.
- Catalano, P.M., Presley, L., Minium, J. and Hauguel-de Mouzon, S. (2009). Fetuses of obese mothers develop insulin resistance in utero. *Diabetes Care.*, 32, 1076-1080.
- Chaudhry, R. and Law, M.A. (2020). Anatomy, Thorax, Heart Arteries. *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.*
- Chavatte-Palmer, P., Tarrade, A. and Rousseau-Ralliard, D. (2016). Diet before and during Pregnancy and Offspring Health: The Importance of Animal Models and What Can Be Learned from Them. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 13, 586.
- Chen, H., Simar, D., Ting, J.H., Erkelens, J.R. and Morris, M.J. (2012). Leucine improves glucose and lipid status in offspring from obese dams, dependent on diet type, but not caloric intake. *J. Neuroendocrinol.*, 24, 1356-1364.
- Chen, X., Wang, L., Loh, D.H., Colwell, C.S., Taché, Y., Reue, K. and Arnold, A.P. (2015). Sex differences in diurnal rhythms of food intake in mice caused by gonadal hormones and complement of sex chromosomes. *Horm. Behav.*, 75, 55-63.
- Chen, Z., D S Oliveira, S., Zimnicka, A.M., Jiang, Y., Sharma, T., Chen, S., Lazarov, O., Bonini, M.G., Haus, J.M. and Minshall, R.D. (2018a). Reciprocal regulation of eNOS and caveolin-1 functions in endothelial cells. *Mol. Biol. Cell.*, 29, 1190-1202.
- Chen, Q., Wang, Q., Zhu, J., Xiao, Q. and Zhang, L. (2018b). Reactive oxygen species: key regulators in vascular health and diseases. *Br. J. Pharmacol.*, 175, 1279-1292.
- Cheng, Y. and Regnier, M. (2016). Cardiac Troponin Structure-Function and the Influence of Hypertrophic Cardiomyopathy Associated Mutations on Modulation of Contractility. *Arch. Biochem. Biophys.*, 601, 11-21.
- Choudhary G., Malik A.A., Stapleton D. and Reddy, P.C. (2016). Assessment of right ventricle by echocardiogram. (In : Lakshmanadoss, U. (2016). Echocardiography in heart failure and cardiac electrophysiology.) *London: InTech.*
- Chu, S.Y., Kim, S.Y., Schmid, C.H., Dietz, P.M., Callaghan, W.M., Lau, J. and Curtis, K.M. (2007). Maternal obesity and risk of cesarean delivery: a meta-analysis. *Obes. Rev.*, 8, 385-394.
- Cleal, J.K., Poore, K.R., Boullin, J.P., Khan, O., Chau, R., Hambidge, O., Torrens, C., Newman, J.P., Poston, L., Noakes, D.E., Hanson, M.A. and Green, L.R. (2007). Mismatched pre- and postnatal nutrition leads to

- cardiovascular dysfunction and altered renal function in adulthood. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 104, 9529-9533.
- Clough, G.F. (2015). Developmental conditioning of the vasculature. *Compr. Physiol.*, 5, 397-438.
- Cohen, R.A., Weisbrod, R.M., Gericke, M., Yaghoubi, M., Bierl, C. and Bolotina, V.M. (1999). Mechanism of nitric oxide-induced vasodilatation: refilling of intracellular stores by sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase and inhibition of store-operated Ca²⁺ influx. *Circ. Res.*, 84, 210-219.
- Colledge, N.R., Walker, B.R. and Ralston, S.H. (2010). Davidson's principles and practice of medicine, 21st edition. *Elsevier*, 577-579.
- Cooper, G.M. (2000). Actin, Myosin, and Cell Movement. The Cell: A Molecular Approach, 2nd edition. *Sinauer Associates*.
- Cornwell, T.L. and Lincoln, T.M. (1989). Regulation of intracellular Ca²⁺ levels in cultured vascular smooth muscle cells: reduction of Ca²⁺ by atriopeptin and 8-bromo-cyclic GMP is mediated by cyclic GMP-dependent protein kinase. *J. Biol. Chem.*, 264, 1146-1155.
- Costantino, S. (2019). Epigenetic mechanisms of vascular dysfunction in obesity and type 2 diabetes. *Cardiovasc. Med.*, 22, w02064.
- Crispi, F., Miranda, J. and Gratacós, E. (2018). Long-term cardiovascular consequences of fetal growth restriction: biology, clinical implications, and opportunities for prevention of adult disease. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 218, S869-S879.
- Crompton, M. (1990). The role of Ca²⁺ in the function and dysfunction of heart mitochondria. (In : Langer, G.A. (1990). Calcium and the heart.) *Raven Press*, 167-198.
- Da Costa Martins, P.A. and De Windt, L.J. (2012). MicroRNAs in control of cardiac hypertrophy. *Cardiovasc. Res.*, 91, 1543-1549.
- Day, C. (2007). Metabolic syndrome, or What you will: definitions and epidemiology. *Diabetes Vasc. Dis. Res.*, 4, 32-38.
- Dhalla, N.S., Elimban, V., Shah, A.K. and Nusier, M. (2019). Mechanisms of Cardiac Dysfunction in Heart Failure due to Myocardial Infarction. *J. Integr. Cardiol. Open Access*, 1-12.
- Dassanayaka, S. and Jones, S.P. (2015). Recent Developments in Heart Failure. *Circ. Res.*, 117, e58-e63.
- de Almeida Faria, J., Duque-Guimarães, D., Carpenter, A.A., Loche, E. and Ozanne, S.E. (2017). A post-weaning obesogenic diet exacerbates the detrimental effects of maternal obesity on offspring insulin signaling in adipose tissue. *Sci. Rep.*, 7, 44949.
- Dearden, L., Bouret, S.G. and Ozanne, S.E. (2018). Sex and gender differences in developmental programming of metabolism. *Mol. Metab.*, 15, 8-19.
- DeBerardinis, R.J. and Thompson, C.B. (2012). Cellular metabolism and disease: what do metabolic outliers teach us?. *Cell*, 148, 1132-1144.
- Dedkova, E.N. and Blatter, L.A. (2013). Calcium signaling in cardiac mitochondria. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 58, 125-133.

- De Jong, K.A., Barrand, S., Wood-Bradley, R.J., de Almeida, D.L., Czczor, J.K., Lopaschuk, G.D., Armitage, J.A. and McGee, S.L. (2018). Maternal high fat diet induces early cardiac hypertrophy and alters cardiac metabolism in Sprague Dawley rat offspring. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, 28, 600-609.
- de Rooij, S.R., Caan, M.W., Swaab, D.F., Nederveen, A.J., Majoie, C.B., Schwab, M., Painter, R.C. and Roseboom, T.J. (2016). Prenatal famine exposure has sex-specific effects on brain size. *Brain*, 139, 2136-2142.
- Dervisoglu, P., Kosecik, M. and Kumbasar, S. (2018). Effects of gestational and pregestational diabetes mellitus on the foetal heart: a cross-sectional study. *J. Obstet. Gynaecol.*, 38, 408-412.
- Díaz-Rodríguez, M., Pérez-Muñoz, C., Lendínez-de la Cruz, J.M., Fernández-Gutiérrez, M., Bas-Sarmiento, P. and Ferriz-Mas, B.C. (2020). Effectiveness of a Multifactorial Intervention in the First 1000 Days of Life to Prevent Obesity and Overweight in Childhood: Study Protocol. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 17, 2239.
- Dickstein, K., Cohen-Solal, A., Filippatos, G., McMurray, J.J., Ponikowski, P., Poole-Wilson, P.A., Strömberg, A., van Veldhuisen, D.J., Atar, D., Hoes, A.W., Keren, A., Mebazaa, A., Nieminen, M., Priori, S.G., Swedberg, K. and the ESC Committee for Practice Guidelines (CPG) (2008). ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008: the Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2008 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association of the ESC (HFA) and endorsed by the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM). *Eur. Heart. J.*, 29, 2388-2442.
- Díez, J.J. and Iglesias, P. (2003). The role of the novel adipocyte-derived hormone adiponectin in human disease. *Eur. J. Endocrinol.*, 148, 293-300.
- Dimitriadis, G., Mitrou, P., Lambadiari, V., Maratou, E. and Raptis, S.A. (2011). Insulin effects in muscle and adipose tissue. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 93 (Suppl 1), S52-59.
- Drake, A.J. and Reynolds, R.M. (2010). Impact of maternal obesity on offspring obesity and cardiometabolic disease risk. *Reproduction*, 140, 387-398.
- Drake, R., Vogl, A.W. and Mitchell, A.W.M. (2015). Gray's Anatomy for Students, 3rd edition. *Elsevier*.
- Duisters, R.F., Tijssen, A.J., Schroen, B., Leenders, J.J., Lentink, V., Van Der Made, I., Herias, V., Van Leeuwen, R.E., Schellings, M.W., Barenbrug, P., Maessen, J.G., Heymans, S., Pinto, Y.M. and Creemers, E.E. (2009). miR-133 and miR-30 regulate connective tissue growth factor: Implications for a role of microRNAs in myocardial matrix remodeling. *Circ. Res.*, 104, 170-178.
- Dunlay, S.M., Weston, S.A., Jacobsen, S.J. and Roger V.L. (2009). Risk factors for heart failure: a population-based case-control study. *Am. J. Med.*, 122, 1023-1028.
- Ehrlund, A., Acosta, J.R., Björk, C., Hedén, P., Douagi, I., Arner, P. and Laurencikienea, J. (2017). The cell-type specific transcriptome in human adipose tissue and influence of obesity on adipocyte progenitors. *Sci. Data*, 4, 170164.
- Elahi, M.M., Cagampang, F.R., Mukhtar, D., Anthony, F.W., Ohri, S.K. and Hanson, M.A. (2009). Long-term maternal high-fat feeding from weaning through pregnancy and lactation predisposes offspring to hypertension, raised plasma lipids and fatty liver in mice. *Br. J. Nutr.*, 102, 514-519.

- Elayat, A.A., el-Naggar, M.M. and Tahir, M. (1995). An immunocytochemical and morphometric study of the rat pancreatic islets. *J. Anat.*, 186 (Pt 3), 629-637.
- Ellsworth, L., Harman, E., Padmanabhan, V. and Gregg, B. (2018). Lactational programming of glucose homeostasis: a window of opportunity. *Reproduction*, 156, R23-R42.
- Ellulu, M.S., Patimah, I., Khaza'ai, H., Rahmat, A. and Abed, Y. (2017). Obesity and inflammation: the linking mechanism and the complications. *Arch. Med. Sci.*, 13, 851-863.
- Endler, N.S. (2001). Coronary Heart Disease (CHD), Coping with. International Encyclopedia of the Social & Behavioral Sciences. *Elsevier*, 2770-2773.
- Enerbäck, S. (2009). The origins of brown adipose tissue. *N. Engl. J. Med.*, 360, 2021-2023.
- Entringer, S., Buss, C., Swanson, J.M., Cooper, D.M., Wing, D.A., Waffarn, F. and Wadhwa, P.D. (2012). Fetal programming of body composition, obesity, and metabolic function: the role of intrauterine stress and stress biology. *J. Nutr. Metab.*, 2012, 632548.
- Eriksson, J., Forsen, T., Tuomilehto, J., Osmond, C. and Barker, D.J. (2001). Size at birth, childhood growth and obesity in adult life. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 25, 735-740.
- Eriksson, J.G., Kajantie, E., Osmond, C., Thornburg, K. and Barker, D.J. (2010). Boys live dangerously in the womb. *Am. J. Hum. Biol.*, 22, 330-335.
- Eriksson, J.G., Sandboge, S., Salonen, M.K., Kajantie, E. and Osmond, C. (2014). Long-term consequences of maternal overweight in pregnancy on offspring later health: findings from the Helsinki Birth Cohort Study. *Ann. Med.*, 46, 434-438.
- Etter, E.F., Eto, M., Wardle, R.L., Brautigan, D.L. and Murphy, R.A. (2001). Activation of myosin light chain phosphatase in intact arterial smooth muscle during nitric oxide-induced relaxation. *J. Biol. Chem.*, 276, 34681-34685.
- Fan, L., Lindsley, S.R., Comstock, S.M., Takahashi, D.L., Evans, A.E., He, G.W., Thornburg, K.L. and Grove, K.L. (2013). Maternal high-fat diet impacts endothelial function in nonhuman primate offspring. *Int. J. Obes.*, 37, 254-262.
- Fan, X., Turdi, S., Ford, S.P., Hua, Y., Nijland, M.J., Zhu, M., Nathanielsz, P.W. and Ren, J. (2011). Influence of gestational overfeeding on cardiac morphometry and hypertrophic protein markers in fetal sheep. *J. Nutr. Biochem.*, 22, 30-37.
- Fang, H. and Judd, R.L. (2018). Adiponectin Regulation and Function. *Compr. Physiol.*, 8, 1031-1063.
- Fante, T.d., Simino, L.A., Reginato, A., Payolla, T.B., Vitoréli, D.C., Souza, M.d., Torsoni, M.A., Milanski, M. and Torsoni, A.S. (2016). Diet-Induced Maternal Obesity Alters Insulin Signalling in Male Mice Offspring Rechallenged with a High-Fat Diet in Adulthood. *PLoS One*, 11, e0160184.
- Feher, J.J. and Fabiato, A. (1990). Cardiac sarcoplasmic reticulum: calcium uptake and release. (In : Langer, G.A. (1990). Calcium and the heart.) *Raven Press*, 199-268.
- Félétou, M. and Vanhoutte, P.M. (2006). Endothelium-derived hyperpolarizing factor: where are we now ?. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 26, 1215-1225.

- Feridooni, H.A., Dibb, K.M. and Howlett, S.E. (2015). How cardiomyocyte excitation, calcium release and contraction become altered with age. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 83, 62-72.
- Fernandes, M.R., Lima, N.V. de, Rezende, K.S., Santos, I.C.M., Silva, I.S. and Guimarães, R. de C.A. (2016). Animal models of obesity in rodents. An integrative review. *Acta. Cir. Bras.*, 31, 840-844.
- Fernández-Sánchez, A., Madrigal-Santillán, E., Bautista, M., Esquivel-Soto, J., Morales-González, A., Esquivel-Chirino, C., Durante-Montiel, I., Sánchez-Rivera, G., Valadez-Vega, C. and Morales-González, J.A. (2011). Inflammation, oxidative stress, and obesity. *Int. J. Mol. Sci.*, 12, 3117-3132.
- Fernandez-Twinn, D.S., Blackmore, H.L., Siggens, L., Giussani, D.A., Cross, C.M., Foo, R. and Ozanne, S.E. (2012). The programming of cardiac hypertrophy in the offspring by maternal obesity is associated with hyperinsulinemia, AKT, ERK, and mTOR activation. *Endocrinology*, 153, 5961-5971.
- Feron, O., Dessy, C., Moniotte, S., Desager, J.P. and Balligand, J.L. (1999). Hypercholesterolemia decreases nitric oxide production by promoting the interaction of caveolin and endothelial nitric oxide synthase. *J. Clin. Invest.*, 103, 897-905.
- Figuroa, X.F. and Duling, B.R. (2009). Gap junctions in the control of vascular function. *Antioxid. Redox Signal.*, 11, 251-266.
- Fisher, S.C., Kim, S.Y., Sharma, A.J., Rochat, R. and Morrow, B. (2013). Is obesity still increasing among pregnant women? Prepregnancy obesity trends in 20 states, 2003-2009. *Prev. Med.*, 56, 372-378.
- Fleming, I. and Busse, R. (1999). Signal transduction of eNOS activation. *Cardiovasc. Res.*, 43, 532-541.
- Fleming, I. (2001). Cytochrome p450 and vascular homeostasis. *Circ. Res.*, 89, 753-762.
- Ford, S.P., Zhang, L., Zhu, M., Miller, M.M., Smith, D.T., Hess, B.W., Moss, G.E., Nathanielsz, P.W. and Nijland, M.J. (2009). Maternal obesity accelerates fetal pancreatic beta-cell but not alpha-cell development in sheep: Prenatal consequences. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 297, R835-R843.
- Förstermann, U. and Münzel, T. (2006). Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease: from marvel to menace. *Circulation*, 113, 1708-1714.
- Fraga, M.F., Ballestar, E., Paz, M.F., Ropero, S., Setien, F., Ballestar, M.L., Heine-Suñer, D., Cigudosa, J.C., Urioste, M., Benitez, J., Boix-Chornet, M., Sanchez-Aguilera, A., Ling, C., Carlsson, E., Poulsen, P., Vaag, A., Stephan, Z., Spector, T.D., Wu, Y.-Z., Plass, C. and Esteller, M. (2005). Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 102, 10604-10609.
- Francis, G.S. (2001). Pathophysiology of chronic heart failure. *Am. J. Med.*, 110, 37-46.
- Frankenberg, A.D.V., Reis, A.F. and Gerchman, F. (2017). Relationships between adiponectin levels, the metabolic syndrome, and type 2 diabetes: a literature review. *Arch. Endocrinol. Metab.*, 61, 614-622.
- Frias, A.E. and Grove, K.L. (2012). Obesity: a transgenerational problem linked to nutrition during pregnancy. *Semin. Reprod. Med.*, 30, 472-478.
- Friend, A., Craig, L. and Turner, S. (2013). The prevalence of metabolic syndrome in children: a systematic review of the literature. *Metab. Syndr. Relat. Disord.*, 11, 71-80.
- Fukai, T. and Ushio-Fukai, M. (2011). Superoxide dismutases: role in redox signaling, vascular function, and diseases. *Antioxid. Redox. Signal.*, 15, 1583-1606.

- Gabory, A., Roseboom, T.J., Moore, T., Moore, L.G. and Junien, C. (2013). Placental contribution to the origins of sexual dimorphism in health and diseases: sex chromosomes and epigenetics. *Biol. Sex. Differ.*, 4, 5.
- Gaillard, R. (2015). Maternal obesity during pregnancy and cardiovascular development and disease in the offspring. *Eur. J. Epidemiol.*, 30, 1141-1152.
- Galetzka, D., Weis, E., Tralau, T., Seidmann, L. and Haaf, T. (2007). Sex-specific windows for high mRNA expression of DNA methyltransferases 1 and 3A and methyl-CpG-binding domain proteins 2 and 4 in human fetal gonads. *Mol. Reprod. Dev.*, 74, 233-241.
- Galic, S., Oakhill, J.S. and Steinberg, G.R. (2010). Adipose tissue as an endocrine organ. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 316, 129-139.
- Ganu, R.S., Harris, R.A., Collins, K. and Aagaard, K.M. (2012). Maternal diet: a modulator for epigenomic regulation during development in nonhuman primates and humans. *Int. J. Obes. Suppl.*, 2, (Suppl 2) S14-S18.
- Garcia-Flores, J., Jañez, M., Gonzalez, M.C., Martinez, N., Espada, M. and Gonzalez, A. (2011). Fetal myocardial morphological and functional changes associated with well-controlled gestational diabetes. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 154, 24-26.
- Garland, C.J. and Dora, K.A. (2017). EDH: endothelium-dependent hyperpolarization and microvascular signalling. *Acta. Physiol.*, 219, 152-161.
- Gasser, T.C. (2017). Chapter 8 – Aorta. (In : Payan, Y. and Ohayon, J. (2017). Biomechanics of Living Organs - Hyperelastic Constitutive Laws for Finite Element Modeling.) *Elsevier*, 169-191.
- Gaudet, L., Ferraro, Z.M., Wen, S.W. and Walker, M. (2014). Maternal obesity and occurrence of fetal macrosomia: a systematic review and meta-analysis. *Biomed. Res. Int.*, 2014, 640291.
- Gavaghan, M. (1998). Cardiac Anatomy and Physiology: A Review. *AORN Journal*, 67, 802-822.
- George, G., Draycott, S.A.V., Muir, R., Clifford, B., Elmes, M.J. and Langley-Evans, S.C. (2019). Exposure to maternal obesity during suckling outweighs in utero exposure in programming for post-weaning adiposity and insulin resistance in rats. *Sci. Rep.*, 9, 10134.
- Gesta, S., Tseng, Y.H. and Kahn, C.R. (2007). Developmental origin of fat: tracking obesity to its source. *Cell*, 131, 242-256.
- Ghnenis, A.B., Odhiambo, J.F., McCormick, R.J., Nathanielsz, P.W. and Ford, S.P. (2017). Maternal obesity in the ewe increases cardiac ventricular expression of glucocorticoid receptors, proinflammatory cytokines and fibrosis in adult male offspring. *PLoS One*, 12, e0189977.
- Girardot, M., Cavallé, J. and Feil, R. (2012). Small regulatory RNAs controlled by genomic imprinting and their contribution to human disease. *Epigenetics*, 7, 1341-1348.
- Göktepe, S., Abilez, O., Parker, K.K. and Kuhl, E. (2010). A multiscale model for eccentric and concentric cardiac growth through sarcomerogenesis. *J. Theor. Biol.*, 265, 433-442.
- Goldberg, I.J., Trent, C.M. and Schulze, P.C. (2012). Lipid Metabolism and Toxicity in the Heart. *Cell Metab.*, 15, 805-812.

- Gomes, R.M., Bueno, F.G., Schamber, C.R., de Mello, J.C.P., de Oliveira, J.C., Francisco, F.A., Moreira, V.M., Junior, M.D.F., Pedrino, G.R., de Freitas Mathias, P.C., Miranda, R.A., de Moraes, S.M.F., Natali, M.R.M. (2018). Maternal diet-induced obesity during suckling period programs offspring obese phenotype and hypothalamic leptin/insulin resistance. *J. Nutr. Biochem.*, 61, 24-32.
- González-Muniesa, P., Martínez-González, M.A., Hu, F.B., Després, J.P., Matsuzawa, Y., Loos, R.J.F., Moreno, L.A., Bray, G.A. and Martínez, J.A. (2017). Obesity. *Nat. Rev. Dis. Primers*, 3, 17034.
- Gordan, R., Gwathmey, J.K. and Xie, L. (2015). Autonomic and endocrine control of cardiovascular function. *World J. Cardiol.*, 7, 204-214.
- Gorski, J.N., Dunn-Meynell, A.A., Hartman, T.G. and Levin, B.E. (2006). Postnatal environment overrides genetic and prenatal factors influencing offspring obesity and insulin resistance. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 291, R768-R778.
- Graf, C. and Ferrari, N. (2016). Metabolic Syndrome in Children and Adolescents. *Visc. Med.*, 32, 357-362.
- Gräff, J. and Mansuy, I.M. (2008). Epigenetic codes in cognition and behaviour. *Behav. Brain Res.*, 192, 70-87.
- Graja, A. and Schulz, T.J. (2015). Mechanisms of aging-related impairment of brown adipocyte development and function. *Gerontology*, 61, 211-217.
- Grayson, B.E., Levasseur, P.R., Williams, S.M., Smith, M.S., Marks, D.L. and Grove, K.L. (2010). Changes in melanocortin expression and inflammatory pathways in fetal offspring of nonhuman primates fed a high-fat diet. *Endocrinology*, 151, 1622-1632.
- Grigore, D., Ojeda, N.B. and Alexander, B.T. (2008). Sex differences in the fetal programming of hypertension. *Gend. Med.*, 5 Suppl A, S121-S132.
- Gualillo, O., González-Juanatey, J.R. and Lago, F. (2007). The emerging role of adipokines as mediators of cardiovascular function: physiologic and clinical perspectives. *Trends Cardiovasc. Med.*, 17, 275-283.
- Guillot, A., Payen, C., Paillat, L., Fothi, A., Dib, A., Bourreau, J., Schmitt, F., Loufrani, L., Aranyi, T., Henrion, D., Munier, M. and Fassot, C. (2021). Pathophysiological adaptations of resistance arteries in rat offspring exposed in utero to maternal obesity is associated with sex-specific epigenetic alterations. *Int. J. Obes.*, 45, 1074-1085.
- Gunst, S.J. and Zhang, W (2008). Actin cytoskeletal dynamics in smooth muscle: a new paradigm for the regulation of smooth muscle contraction. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.*, 295, C576-C587.
- Gutiérrez, E., Flammer, A.J., Lerman, L.O., Elízaga, J., Lerman, A. and Fernández-Avilés, F. (2013). Endothelial dysfunction over the course of coronary artery disease. *Eur. Heart J.*, 34, 3175-3181.
- Guyton, A.C. and Hall, J.E. (2015). Textbook of Medical Physiology, 13th edition. *Saunders*, 113-117, 245.
- Guzzardi, M.A., Liistro, T., Gargani, L., Ait Ali, L., D'Angelo, G., Rocchiccioli, S., La Rosa, F., Kemeny, A., Sanguinetti, E., Ucciferri, N., De Simone, M., Bartoli, A., Festa, P., Salvadori, P.A., Burchielli, S., Sicari, R. and Iozzo, P. (2018). Maternal Obesity and Cardiac Development in the Offspring: Study in Human Neonates and Minipigs. *JACC Cardiovasc. Imaging*, 11, 1750-1755.
- Haddy, F.J., Vanhoutte, P.M. and Féletou, M. (2006). Role of potassium in regulating blood flow and blood pressure. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 290, R546-R552.

- Hajouli, S. and Ludhwani, D. (2020). Heart Failure And Ejection Fraction. *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*.
- Halberg, N., Wernstedt, I. and Scherer, P.E. (2008). The Adipocyte as an Endocrine Cell. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.*, 37, 753.
- Hales, C.M., Carroll, M.D., Fryar, C.D. and Ogden, C.L. (2017). Prevalence of obesity among adults and youth: United States, 2015-2016. *NCHS Data Brief*, 288, 1-8.
- Hales, C.N. and Barker, D.J. (1992). Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia*, 35, 595-601.
- Han, M., Toli, J. and Abdellatif, M. (2011). MicroRNAs in the cardiovascular system. *Curr. Opin. Cardiol.*, 26, 181-189.
- Hansen, B.C. (2014). Animal Models of Obesity Nonhuman Primates. (In : Bray, G.A. and Bouchard, C. (2014). Handbook of Obesity. Etiology and Pathophysiology, 4th edition.) *CRC Press*, 149-160.
- Hauff, L.E., Leonard, S.A. and Rasmussen, K.M. (2014). Associations of maternal obesity and psychosocial factors with breastfeeding intention, initiation, and duration. *Am. J. Clin. Nutr.*, 99, 524-534.
- Hawkes, C.P., Hourihane, J.O., Kenny, L.C., Irvine, A.D., Kiely, M. and Murray, D.M. (2011). Gender- and gestational age-specific body fat percentage at birth. *Pediatrics*, 128, e645-e651.
- Hayabuchi, Y., Nakaya, Y., Matsuoka, S. and Kuroda, Y. (1998). Hydrogen peroxide-induced vascular relaxation in porcine coronary arteries is mediated by Ca²⁺-activated K⁺ channels. *Heart Vessels*, 13, 9-17.
- Heerwagen, M.J., Miller, M.R., Barbour, L.A. and Friedman, J.E. (2010). Maternal obesity and fetal metabolic programming: a fertile epigenetic soil. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 299, R711-R722.
- Heitzer, T., Schlinzig, T., Krohn, K., Meinertz, T. and Münzel, T. (2001). Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation*, 104, 2673-2678.
- Henkel, D.M., Witt, B.J., Gersh, B.J., Jacobsen, S.J., Weston, S.A., Meverden, R.A. and Roger, V.L. (2006). Ventricular arrhythmias after acute myocardial infarction: a 20-year community study. *Am. Heart. J.*, 151, 806-812.
- Henry, S.L., Barzel, B., Wood-Bradley, R.J., Burke, S.L., Head, G.A. and Armitage, J.A. (2012). Developmental origins of obesity-related hypertension. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 39, 799-806.
- Hermida, N. and Balligand, J.L. (2014). Low-density lipoprotein-cholesterol-induced endothelial dysfunction and oxidative stress: the role of statins. *Antioxid. Redox. Signal.*, 20, 1216-1237.
- Higashi, Y., Sasaki, S., Nakagawa, K., Fukuda, Y., Matsuura, H., Oshima, T. and Chayama, K. (2002). Tetrahydrobiopterin enhances forearm vascular response to acetylcholine in both normotensive and hypertensive individuals. *Am. J. Hypertens.*, 15, 326-332.
- Hissa, B., Oakes, P.W., Pontes, B., Ramírez-San Juan, G. and Gardel, M.L. (2017). Cholesterol depletion impairs contractile machinery in neonatal rat cardiomyocytes. *Sci. Rep.*, 7, 43764.
- Hiteshi, A.K., Li, D., Gao, Y., Chen, A., Flores, F., Mao, S.S. and Budoff, M.J. (2014). Gender differences in coronary artery diameter are not related to body habitus or left ventricular mass. *Clin. Cardiol.*, 37, 605-609.

- Ho, S.Y. and Nihoyannopoulos, P. (2006). Anatomy, echocardiography, and normal right ventricular dimensions. *Heart*, 92 Suppl 1, i2-i13.
- Hochner, H., Friedlander, Y., Calderon-Margalit, R., Meiner, V., Sagy, Y., Avgil-Tsadok, M., Burger, A., Savitsky, B., Siscovick, D.S. and Manor, O. (2012). Associations of maternal prepregnancy body mass index and gestational weight gain with adult offspring cardiometabolic risk factors: the Jerusalem Perinatal Family Follow-up Study. *Circulation*, 125, 1381-1389.
- Hopkins, T.A., Ouchi, N., Shibata, R. and Walsh, K. (2007). Adiponectin actions in the cardiovascular system. *Cardiovasc. Res.*, 74, 11-18.
- Hopps, E. and Caimi, G. (2012). Matrix metalloproteinases in metabolic syndrome. *Eur. J. Intern. Med.*, 23, 99-104.
- Howie, G.J., Sloboda, D.M., Kamal, T. and Vickers, M.H. (2009). Maternal nutritional history predicts obesity in adult offspring independent of postnatal diet. *J. Physiol.*, 587, 905-915.
- Huang, Y., Yan, X., Zhao, J.X., Zhu, M.J., McCormick, R.J., Ford, S.P., Nathanielsz, P.W., Ren, J. and Du, M. (2010). Maternal obesity induces fibrosis in fetal myocardium of sheep. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 299, E968-E975.
- Huke, S. and Bers, D.M. (2008). Ryanodine receptor phosphorylation at Serine 2030, 2808 and 2814 in rat cardiomyocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 376, 80-85.
- Iikuni, N., Lam, Q.L., Lu, L., Matarese, G. and La Cava, A. (2008). Leptin and Inflammation. *Curr. Immunol. Rev.*, 4, 70-79.
- Iliodromiti, S., Celis-Morales, C.A., Lyall, D.M., Anderson, J., Gray, S.R., Mackay, D.F., Nelson, S.M., Welsh, P., Pell, J.P., Gill, J.M.R. and Sattar, N. (2018). The impact of confounding on the associations of different adiposity measures with the incidence of cardiovascular disease: a cohort study of 296 535 adults of white European descent. *Eur. Heart J.*, 39, 1514-1520.
- Inamdar, A.A. and Inamdar A.C. (2016). Heart Failure: Diagnosis, Management and Utilization. *J. Clin. Med.*, 5, 62.
- Ingul, C.B., Lorås, L., Tegnander, E., Eik-Nes, S.H. and Brantberg, A. (2016). Maternal obesity affects fetal myocardial function as early as in the first trimester. *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, 47, 433-442.
- Intengan, H.D. and Schiffrin, E.L. (2000). Structure and mechanical properties of resistance arteries in hypertension: role of adhesion molecules and extracellular matrix determinants. *Hypertension*, 36, 312-318.
- Jablonka, E. and Raz G. (2009). Transgenerational epigenetic inheritance: prevalence, mechanisms, and implications for the study of heredity and evolution. *Q. Rev. Biol.*, 84, 131-176.
- Jackson, G., Gibbs, C.R., Davies, M.K. and Lip, G.Y. (2000). ABC of heart failure : Pathophysiology. *BMJ*, 320, 167-170.
- Jackson, W.F. (2000). Ion channels and vascular tone. *Hypertension*, 35, 173-178.
- Jamaluddin, M.S., Weakley, S.M., Yao, Q. and Chen, C. (2012). Resistin: functional roles and therapeutic considerations for cardiovascular disease. *Br. J. Pharmacol.*, 165, 622-632.

- Jeltsch, A., Ehrenhofer-Murray, A., Jurkowski, T.P., Lyko, F., Reuter, G., Ankri, S., Nellen, W., Schaefer, M. and Helm, M. (2017). Mechanism and biological role of Dnmt2 in Nucleic Acid Methylation. *RNA Biol.*, 14, 1108-1123.
- Jevitt, C., Hernandez, I. and Groër, M. (2007). Lactation complicated by overweight and obesity: supporting the mother and newborn. *J. Midwifery Womens Health*, 52, 606-613.
- Jo, Y., Okazaki, H., Moon, Y.A. and Zhao, T. (2016). Regulation of Lipid Metabolism and Beyond. *Int. J. Endocrinol.*, 2016, 5415767.
- Johansson, S., Villamor, E., Altman, M., Bonamy, A.E., Granath, F. and Cnattingius, S. (2014). Maternal overweight and obesity in early pregnancy and risk of infant mortality: a population based cohort study in Sweden. *BMJ*, 349, g6572.
- Kaati, G., Bygren, L.O., Pembrey, M. and Sjöström, M. (2007). Transgenerational response to nutrition, early life circumstances and longevity. *Eur. J. Hum. Genet.*, 15, 784-790.
- Kai, H., Kuwahara, F., Tokuda, K. and Imaizumi, T. (2005). Diastolic dysfunction in hypertensive hearts: roles of perivascular inflammation and reactive myocardial fibrosis. *Hypertens. Res.*, 28, 483-490.
- Kalliala, I., Markozannes, G., Gunter, M.J., Paraskevidis, E., Gabra, H., Mitra, A., Terzidou, V., Bennett, P., Martin-Hirsch, P., Tsilidis, K.K. and Kyrgiou, M. (2017). Obesity and gynaecological and obstetric conditions: umbrella review of the literature. *BMJ*, 359, j4511.
- Kandadi, M.R., Hua, Y., Zhu, M., Turdi, S., Nathanielsz, P.W., Ford, S.P., Nair, S. and Ren, J. (2013). Influence of gestational overfeeding on myocardial proinflammatory mediators in fetal sheep heart. *J. Nutr. Biochem.*, 24, 1982-1990.
- Kanherkar R.R., Bhatia-Dey, N. and Csoka, A.B. (2014). Epigenetics across the human lifespan. *Front. Cell. Dev. Biol.*, 2, 49.
- Kassi, E., Pervanidou, P., Kaltsas, G. and Chrousos, G. (2011). Metabolic syndrome: definitions and controversies. *BMC Med.*, 9, 48.
- Katz, A.M. (1992). Physiology of the heart, 5th edition. *Lippincott Williams & Wilkins*, 22.
- Kavanagh, K., Jones, K.L., Sawyer, J., Kelley, K., Carr, J.J., Wagner, J.D. and Rudel L.L. (2007). Trans fat diet induces abdominal obesity and changes in insulin sensitivity in monkeys. *Obesity*, 15, 1675-1684.
- Kaya, Z., Göser, S., Buss, S.J., Leuschner, F., Ottl, R., Li, J., Völkers, M., Zittrich, S., Pfitzer, G., Rose, N. R. and Katus, H.A. (2008). Identification of cardiac troponin I sequence motifs leading to heart failure by induction of myocardial inflammation and fibrosis. *Circulation*, 118, 2063-2072.
- Keller-Ross, M.L., Larson, M. and Johnson B.D. (2019). Skeletal Muscle Fatigability in Heart Failure. *Front. Physiol.*, 10, 129.
- Kenny, W.L., Wilmore, J.H. and Costill, D.L. (2011). Cardiovascular System and its Control. Physiology of Sport and Exercise, 5th edition. *Human Kinetics*, 140-150.
- Khan, I.Y., Dekou, V., Douglas, G., Jensen, R., Hanson, M.A., Poston, L. and Taylor, P.D. (2005). A high-fat diet during rat pregnancy or suckling induces cardiovascular dysfunction in adult offspring. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 288, R127-R133.

- Khan, S.S., Ning, H., Wilkins, J.T., Allen, N., Carnethon, M., Berry, J.D., Sweis, R.N. and Lloyd-Jones, D.M. (2018). Association of Body Mass Index With Lifetime Risk of Cardiovascular Disease and Compression of Morbidity. *JAMA Cardiol.*, 3, 280-287.
- Kim, G.H., Ryan, J.J., Marsboom, G. and Archer, S.L. (2011). Epigenetic mechanisms of pulmonary hypertension. *Pulm. Circ.*, 1, 347-356.
- King, L.K., March, L. and Anandacoomarasamy, A. (2013). Obesity & osteoarthritis. *Indian J. Med. Res.*, 138, 185-193.
- Kingma, J.G., Simard, D. and Rouleau, J.R. (2017). Influence of cardiac nerve status on cardiovascular regulation and cardioprotection. *World J. Cardiol.*, 9, 508-520.
- Kjellberg, E., Roswall, J., Andersson, J., Bergman, S., Karlsson, A.K., Svensson, P.A., Kullberg, J. and Dahlgren, J. (2019). Metabolic Risk Factors Associated with Visceral and Subcutaneous Adipose Tissue in a Sex-Specific Manner in Seven-Year-Olds. *Obesity*, 27, 982-988.
- Klabunde, R.E. (2012). Cardiovascular Physiology Concepts, 2nd edition. *Lippincott Williams & Wilkins*.
- Klingensmith, M.E., Chen, L.E. and Glasgow, S.C. (2008). The Washington manual of surgery. *Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins*. (Table 30-1 in: Goers, T.A., Klingensmith, M.E., Chen, L.E. and Glasgow, S.C. (2008). Washington University School of Medicine : Department of Surgery.)
- Klop, B., Elte, J.W. and Cabezas, M.C. (2013). Dyslipidemia in obesity: mechanisms and potential targets. *Nutrients*, 5, 1218-1240.
- Kouzarides, T. (2007). Chromatin modifications and their function. *Cell*, 128, 693-705.
- Krause, K.M., Lovelady, C.A. and Østbye, T. (2011). Predictors of breastfeeding in overweight and obese women: data from Active Mothers Postpartum (AMP). *Matern. Child Health J.*, 15, 367-375.
- Kuehnen, P., Mischke, M., Wiegand, S., Sers, C., Horsthemke, B., Lau, S., Keil, T., Lee, Y.-A., Grueters, A. and Krude, H. (2012). An Alu Element-Associated Hypermethylation Variant of the POMC Gene Is Associated with Childhood Obesity. *PLOS Genetics*, 8, e1002543.
- Kuk, J.L. and Ardern, C.I. (2010). Age and Sex Differences in the Clustering of Metabolic Syndrome Factors. *Diabetes Care*, 33, 2457-2461.
- Kutty, R.S., Jones, N. and Moorjani, N. (2013). Mechanical complications of acute myocardial infarction. *Cardiol. Clin.*, 31, 519-531.
- Kwon, E.J. and Kim, Y.J. (2017). What is fetal programming?: a lifetime health is under the control of in utero health. *Obstet. Gynecol. Sci.*, 60, 506-519.
- Lappas, L. and Filippatos, G. (2011). Pulmonary Congestion in Acute Heart Failure: From Hemodynamics to Lung Injury and Barrier Dysfunction. *Rev. Esp. Cardiol.*, 64, 735-738.
- Laukkanen, J.A., Kurl, S., Eränen, J., Huttunen, M. and Salonen, J.T. (2005). Left Atrium Size and the Risk of Cardiovascular Death in Middle-aged Men. *Arch. Intern. Med.*, 165, 1788-1793.

- Lawlor, D.A., Najman, J.M., Sterne, J., Williams, G.M., Ebrahim, S. and Davey Smith, G. (2004). Associations of parental, birth, and early life characteristics with systolic blood pressure at 5 years of age: findings from the Mater-University study of pregnancy and its outcomes. *Circulation*, 110, 2417-2423.
- Lawlor, D.A., Relton, C., Sattar, N. and Nelson, S.M. (2012). Maternal adiposity--a determinant of perinatal and offspring outcomes?. *Nat. Rev. Endocrinol.*, 8, 679-688.
- Layland, J., Solaro, R.J. and Shah, A.M. (2005). Regulation of cardiac contractile function by troponin I phosphorylation. *Cardiovasc. Res.*, 66, 12-21.
- Lechat, P., Eugène, M. and Komajda, M. (1986). Mécanismes de la contractilité cardiaque. *Med. Sci.*, 2, 73-80.
- Lecoutre, S., Oger, F., Pourpe, C., Butruille, L., Marousez, L., Dickes-Coopman, A., Laborie, C., Guinez, C., Lesage, J., Vieau, D., Junien, C., Eberlé, D., Gabory, A., Eeckhoutte, J. and Breton, C. (2017). Maternal obesity programs increased leptin gene expression in rat male offspring via epigenetic modifications in a depot-specific manner. *Mol. Metab.*, 6, 922-930.
- Leduc, L., Levy, E., Bouity-Voubou, M. and Delvin, E. (2010). Fetal programming of atherosclerosis: Possible role of the mitochondria. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 149, 127-130.
- Lee, K., Lee, S.H. and Kim, T.H. (2020). The Biology of Prostaglandins and Their Role as a Target for Allergic Airway Disease Therapy. *Int. J. Mol. Sci.*, 21, 1851.
- Leitinger, N. (2003). Oxidized phospholipids as modulators of inflammation in atherosclerosis. *Curr. Opin. Lipidol.*, 14, 421-430.
- Leiva, A., Pardo, F., Ramírez, M.A., Farías, M., Casanello, P. and Sobrevia, L. (2011). Fetoplacental Vascular Endothelial Dysfunction as an Early Phenomenon in the Programming of Human Adult Diseases in Subjects Born from Gestational Diabetes Mellitus or Obesity in Pregnancy. *Exp. Diabetes Res.*, 2011, 349286.
- Li, D. and Mehta, J.L. (2000). Antisense to LOX-1 inhibits oxidized LDL-mediated upregulation of monocyte chemoattractant protein-1 and monocyte adhesion to human coronary artery endothelial cells. *Circulation*, 101, 2889-2895.
- Li, M., Sloboda, D.M. and Vickers, M.H. (2011). Maternal Obesity and Developmental Programming of Metabolic Disorders in Offspring: Evidence from Animal Models. *Exp. Diabetes Res.*, 2011, 592408.
- Li, T., Quan, H., Zhang, H., Lin, L., Lin, L., Ou, Q. and Chen, K. (2021). Type 2 diabetes is more predictable in women than men by multiple anthropometric and biochemical measures. *Sci. Rep.*, 11, 6062.
- Liang, X., Yang, Q., Zhang, L., Maricelli, J.W., Rodgers, B.D., Zhu, M.J. and Du, M. (2016). Maternal high-fat diet during lactation impairs thermogenic function of brown adipose tissue in offspring mice. *Sci. Rep.*, 6, 34345.
- Liao, J.K., Shin, W.S., Lee, W.Y. and Clark, S.L. (1995). Oxidized lowdensity lipoprotein decreases the expression of endothelial nitric oxide synthase. *J. Biol. Chem.*, 270, 319-324.
- Lin, X., Yang, P., Reece, E.A. and Yang, P. (2017). Pregestational type 2 diabetes mellitus induces cardiac hypertrophy in the murine embryo through cardiac remodeling and fibrosis. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 217, 216.e1-216.e13.

- Litwin, L., Sundholm, J.K.M., Rönö, K., Koivusalo, S.B., Eriksson, J.G. and Sarkola, T. (2020). Transgenerational effects of maternal obesity and gestational diabetes on offspring body composition and left ventricle mass: the Finnish Gestational Diabetes Prevention Study (RADIEL) 6-year follow-up. *Diabet. Med.*, 37, 147-156.
- Liu, Y., Neumann, D., Glatz, J.F.C. and Luiken, J.J.F.P. (2018). Molecular mechanism of lipid-induced cardiac insulin resistance and contractile dysfunction. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 136, 131-141.
- Lo, K.A. and Sun, L. (2013). Turning WAT into BAT: a review on regulators controlling the browning of white adipocytes. *Biosci. Rep.*, 33, 711-719.
- Loche, E., Blackmore, H.L., Carpenter, A.A., Beeson, J.H., Pinnock, A., Ashmore, T.J., Aiken, C.E., de Almeida-Faria, J., Schoonejans, J.M., Giussani, D.A., Fernandez-Twinn, D.S. and Ozanne, S.E. (2018). Maternal diet-induced obesity programmes cardiac dysfunction in male mice independently of post-weaning diet. *Cardiovasc. Res.*, 114, 1372-1384.
- Long, N.M., Ford, S.P. and Nathanielsz, P.W. (2011). Maternal obesity eliminates the neonatal lamb plasma leptin peak. *J. Physiol.*, 589, 1455-1462.
- Long, N.M., Rule, D.C., Tuersunjiang, N., Nathanielsz, P.W. and Ford, S.P. (2015). Maternal obesity in sheep increases fatty acid synthesis, upregulates nutrient transporters, and increases adiposity in adult male offspring after a feeding challenge. *PLoS One*, 10, e0122152.
- Lorenzen, J.M., Martino, F. and Thum, T. (2012). Epigenetic modifications in cardiovascular disease. *Basic Res. Cardiol.*, 107, 245.
- Losordo, D.W., Chung, A., Chen, Z. and Cooke, J.P. (2016). Peripheral Arterial Disease (chapter 6). (In : Perin, E.C., Miller, L.W., Taylor, D.A. and Willerson, J.T. (2016). *Stem Cell and Gene Therapy for Cardiovascular Disease.*) Elsevier, 61-78.
- Louey, S. and Thornburg, K.L. (2004). The prenatal environment and later cardiovascular disease. *Early Hum. Dev.*, 81, 745-751.
- Loufrani, L. and Henrion, D. (2008). Role of the cytoskeleton in flow (shearstress)-induced dilation and remodeling in resistance arteries. *Med. Biol. Eng. Comput.*, 46, 451-460.
- Loufrani, L., Retailleau, K., Bocquet, A., Dumont, O., Danker, K., Louis, H., Lacolley, P. and Henrion, D. (2008). Key role of alpha(1)beta(1)-integrin in the activation of PI3-kinase-Akt by flow (shear stress) in resistance arteries. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 294, H1906-H1913.
- Lucchesi, P.A., Belmadani, S. and Matrougui, K. (2005). Hydrogen peroxide acts as both vasodilator and vasoconstrictor in the control of perfused mouse mesenteric resistance arteries. *J. Hypertens.*, 23, 571-579.
- Luchi, R.J. and Taffet, G.E. (2007). Congestive Heart Failure. Primary Care Geriatrics, 5th edition. Elsevier, 461-468.
- Lumey, L.H., Stein, A.D., Kahn, H.S. and Romijn, J.A. (2009). Lipid profiles in middle-aged men and women after famine exposure during gestation: the Dutch Hunger Winter Families Study. *Am. J. Clin. Nutr.*, 89, 1737-1743.

- Lutz, T.A. and Woods, S.C. (2012) Overview of animal models of obesity. *Curr. Protoc. Pharmacol.*, Chapter 5:Unit5.61.
- Manios, Y., Moschonis, G., Papandreou, C., Siatitsa, P.E., Iatridi, V., Lidoriki, I., Lionis, C., Chrousos, G.P. and Healthy Growth Study group (2014). Female sex, small size at birth and low family income increase the likelihood of insulin resistance in late childhood: the Healthy Growth Study. *Pediatr. Diabetes*, 15, 41-50.
- Madsen, N.L., Schwartz, S.M., Lewin, M.B. and Mueller, B.A. (2013). Prepregnancy BMI and Congenital Heart Defects. *Congenit. Heart Dis.*, 8, 131-141.
- Majed, B.H. and Khalil, R.A. (2012). Molecular mechanisms regulating the vascular prostacyclin pathways and their adaptation during pregnancy and in the newborn. *Pharmacol. Rev.*, 64, 540-582.
- Malik, A., Brito, D. and Chhabra, L. (2020). Congestive Heart Failure. *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*.
- Malik, S.B., Kwan, D., Shah, A.B. and Hsu, J.Y. (2015). The right atrium: gateway to the heart--anatomic and pathologic imaging findings. *Radiographics*, 35, 14-31.
- Maloyan, A., Muralimanoharan, S., Huffman, S., Cox, L.A., Nathanielsz, P.W., Myatt, L. and Nijland, M.J. (2013). Identification and comparative analyses of myocardial miRNAs involved in the fetal response to maternal obesity. *Physiol. Genomics*, 45, 889-900.
- Mameli, C., Mazzantini, S. and Zuccotti, G.V. (2016). Nutrition in the First 1000 Days: The Origin of Childhood Obesity. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 13, 838.
- Mamun, A.A., O'Callaghan, M., Callaway, L., Williams, G., Najman, J. and Lawlor, D.A. (2009). Associations of gestational weight gain with offspring body mass index and blood pressure at 21 years of age: evidence from a birth cohort study. *Circulation*, 119, 1720-1727.
- Manning, J. and Vehaskari, V.M. (2001). Low birth weight-associated adult hypertension in the rat. *Pediatr. Nephrol.*, 16, 417-422.
- Marciniak, A., Patro-Małyśza, J., Kimber-Trojnar, Ż., Marciniak, B., Oleszczuk, J. and Leszczyńska-Gorzela, B. (2017). Fetal programming of the metabolic syndrome. *Taiwan J. Obstet. Gynecol.*, 56, 133-138.
- Marco, A., Kisiouk, T., Tabachnik, T., Meiri, N. and Weller, A. (2014). Overweight and CpG methylation of the Pomc promoter in offspring of high-fat-diet-fed dams are not "reprogrammed" by regular chow diet in rats. *FASEB J.*, 28, 4148-4157.
- Marousez, L., Lesage, J. and Eberlé, D. (2019). Epigenetics: Linking Early Postnatal Nutrition to Obesity Programming?. *Nutrients*, 11, 2966.
- Marti, C.N., Georgiopoulou, V.V. and Kalogeropoulos, A.P. (2013). Acute Heart Failure: Patient Characteristics and Pathophysiology. *Curr. Heart Fail. Rep.*, 10, 427-433.
- Martínez, M.S., García, A., Luzardo, E., Chávez-Castillo, M., Olivares, L.C., Salazar, J., Velasco, M., Quintero, J.J.R. and Bermúdez, V. (2018). Correction: Energetic metabolism in cardiomyocytes: molecular basis of heart ischemia and arrhythmogenesis. *Vessel Plus*, 2, 32.
- Martinez-Lemus, L.A. and Galiñanes, E.L. (2011). Matrix metalloproteinases and small artery remodeling. *Drug Discov. Today Dis. Models*, 8, 21-28.

- Massov, L. (2015). Clinically overweight and obese mothers and low rates of breastfeeding: Exploring women's perspectives. *J. N. Z. Coll. Midwives*, 51, 23-29.
- Matoba, T., Shimokawa, H., Kubota, H., Morikawa, K., Fujiki, T., Kunihiro, I., Mukai, Y., Hirakawa, Y. and Takeshita, A. (2002). Hydrogen peroxide is an endothelium-derived hyperpolarizing factor in human mesenteric arteries. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 290, 909-913.
- Matsuzawa, Y. and Lerman, A. (2014). Endothelial Dysfunction and Coronary Artery Disease: Assessment, Prognosis and Treatment. *Coron. Artery Dis.*, 25, 713-724.
- McCarthy, M.M. (2008). Estradiol and the developing brain. *Physiol. Rev.*, 88, 91-124.
- McCurdy, C.E., Bishop, J.M., Williams, S.M., Grayson, B.E., Smith, M.S., Friedman, J.E. and Grove, K.L. (2009). Maternal high-fat diet triggers lipotoxicity in the fetal livers of nonhuman primates. *J. Clin. Invest.*, 119, 323-335.
- McDonald, S.D., Han, Z., Mulla, S., Beyene, J. and the Knowledge Synthesis Group (2010). Overweight and obesity in mothers and risk of preterm birth and low birth weight infants: systematic review and meta-analyses. *BMJ*, 341, c3428.
- McMillen, I.C., Adam, C.L. and Mühlhäusler, B.S. (2005). Early origins of obesity: programming the appetite regulatory system. *J. Physiol.*, 565 (Pt 1), 9-17.
- Megalla, S., Holtzman, D., Aronow, W.S., Nazari, R., Korenfeld, S., Schwarcz, A., Goldberg, Y. and Spevack, D.M. (2011). Predictors of cardiac hepatopathy in patients with right heart failure. *Med. Sci. Monit.*, 17, CR537-CR541.
- Meister, B. (2000). Control of food intake via leptin receptors in the hypothalamus. *Vitam. Horm.*, 59, 265-304.
- Meister, T.A., Rexhaj, E., Rimoldi, S.F., Scherrer, U. and Sartori, C. (2017). Fetal programming and vascular dysfunction. *Artery Res.*, 21:C, 69-77.
- Mendis, S., Puska, P. and Norrving, B. (2011). Global atlas on cardiovascular disease prevention and control, 1st edition. Geneva: World Health Organization ; World Heart Federation ; World Stroke Organization. 3-18.
- Meng, S., Cao, J., Feng, Q., Peng, J. and Hu, Y. (2013). Roles of chlorogenic Acid on regulating glucose and lipids metabolism: a review. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, 801457.
- Metra, M., Cotter, G., Gheorghiade, M., Dei Cas, L. and Voors, A.A. (2012). The role of the kidney in heart failure. *Eur. Heart. J.*, 33, 2135-2143.
- Meyer, K. and Zhang, L. (2007). Fetal Programming of Cardiac Function and Disease. *Reprod. Sci.*, 14, 209-216.
- Milagro, F.I., Campión, J., García-Díaz, D.F., Goyenechea, E., Paternain, L. and Martínez, J.A. (2009). High fat diet-induced obesity modifies the methylation pattern of leptin promoter in rats. *Physiol. Biochem.*, 65, 1-9.
- Milnerowicz, S., Milnerowicz, A. and Taboła, R. (2012). A middle mesenteric artery. *Surg. Radiol. Anat.*, 34, 973-975.
- Miranda, J.O., Ramalho, C., Henriques-Coelho, T. and Areias, J.C. (2017). Fetal programming as a predictor of adult health or disease: the need to reevaluate fetal heart function. *Heart. Fail. Rev.*, 22, 861-877.

- Miranda, J.O., Cerqueira, R.J., Ramalho, C., Areias, J.C. and Henriques-Coelho, T. (2018). A Conventional and Speckle-Tracking Echocardiographic Study. *J. Am. Soc. Echocardiogr.*, 31, 333-341.
- Mitchell, J.A., Ali, F., Bailey, L., Moreno, L. and Harrington, L.S. (2008). Role of nitric oxide and prostacyclin as vasoactive hormones released by the endothelium. *Exp. Physiol.*, 93, 141-147.
- Monks, J., Orlicky, D.J., Stefanski, A.L., Libby, A.E., Bales, E.S., Rudolph, M.C., Johnson, G.C., Sherk, V.D., Jackman, M.R., Williamson, K., Carlson, N.E., MacLean, P.S. and McManaman, J.L. (2018). Maternal obesity during lactation may protect offspring from high fat diet-induced metabolic dysfunction. *Nutr. Diabetes*, 8, 18.
- Moore, K.L. and Dalley, A.F. (2009). Clinically oriented anatomy, 6th edition. *Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins*.
- Moore, T.G., Arefadib, N., Deery, A., and West, S. (2017). The First Thousand Days: An Evidence Paper. Centre for Community Child Health, Murdoch Children's Research Institute.
- Morrow, D.A. and Bohula, E.A. (2016). Heart Failure and Cardiogenic Shock After Myocardial Infarction. Myocardial Infarction: A Companion to Braunwald's Heart Disease, 1st edition. *Elsevier*, 295-313.
- Mount, P.F., Kemp, B.E. and Power, D.A. (2007). Regulation of endothelial and myocardial NO synthesis by multi-site eNOS phosphorylation. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 42, 271-279.
- Mubiru, J.N., Garcia-Forey, M., Higgins, P.B., Hemmat, P., Cavazos, N.E., Dick, E.J. Jr, Owston, M.A., Bauer, C.A., Shade, R.E., Comuzzie, A.G. and Rogers, J. (2011). A preliminary report on the feeding of cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) with a high-sugar high-fat diet for 33 weeks. *J. Med. Primatol.*, 40, 335-341.
- Mühlhausler, B.S., Adam, C.L., Findlay, P.A., Duffield, J.A. and McMillen, I.C. (2006). Increased maternal nutrition alters development of the appetite-regulating network in the brain. *FASEB J.*, 20, 1257-1259.
- Mühlhausler, B.S., Duffield, J.A. and McMillen, I.C. (2007). Increased maternal nutrition increases lep-tin expression in perirenal and subcutaneous adipose tissue in the postnatal lamb. *Endocrinology*, 148, 6157-6163.
- Musikant, D., Sato, H., Capobianco, E., White, V., Jawerbaum, A. and Higa, R. (2019). Altered FOXO1 activation in the programming of cardiovascular alterations by maternal diabetes. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 479, 78-86.
- Nadruz, W. (2014). Myocardial remodeling in hypertension. *J. Hum. Hypertens.*, 29, 1-6.
- Nakayama, T. (2006). Prostacyclin analogues: prevention of cardiovascular diseases. *Cardiovasc. Hematol. Agents Med. Chem.*, 4, 351-359.
- Narchi, H. and Kulaylat, N. (2000). Heart disease in infants of diabetic mothers. *Images Paediatr. Cardiol.*, 2, 17-23.
- Nathanielsz, P.W., Ford, S.P., Long, N.M., Vega, C.C., Reyes-Castro, L.A. and Zambrano, E. (2013). Interventions to prevent adverse fetal programming due to maternal obesity during pregnancy. *Nutr. Rev.*, 71 (Suppl 1), S78-S87.

- Nedvídková, J., Smitka, K., Kopský, V. and Hainer, V. (2005). Adiponectin, an adipocyte-derived protein. *Physiol. Res.*, 54, 133-140.
- Newsholme, E.A. and Dimitriadis, G. (2001). Integration of biochemical and physiologic effects of insulin on glucose metabolism. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, 109 (Suppl 2), S122-134.
- Nicholas, L.M., Morrison, J.L., Rattanatray, L., Zhang, S., Ozanne, S.E. and McMillen, I.C. (2016). The early origins of obesity and insulin resistance: timing, programming and mechanisms. *Int. J. Obes.*, 40, 229-238.
- Nivoit, P., Morens, C., Van Assche, F.A., Jansen, E., Poston, L., Remacle, C. and Reusens, B. (2009). Established diet-induced obesity in female rats leads to offspring hyperphagia, adiposity and insulin resistance. *Diabetologia*, 52, 1133-1142.
- Nohara, K., Zhang, Y., Waraich, R.S., Laque, A., Tiano, J.P., Tong, J., Münzberg, H. and Mauvais-Jarvis, F. (2011). Early-Life Exposure to Testosterone Programs the Hypothalamic Melanocortin System. *Endocrinology*, 152, 1661-1669.
- Nohr, E.A., Bech, B.H., Davies, M.J., Frydenberg, M., Henriksen, T.B. and Olsen, J. (2005). Prepregnancy obesity and fetal death: a study within the Danish National Birth Cohort. *Obstet. Gynecol.*, 106, 250-259.
- Oben, J.A., Muralidarane, A., Samuelsson, A.M., Matthews, P.J., Morgan, M.L., McKee, C., Soeda, J., Fernandez-Twinn, D.S., Martin-Gronert, M.S., Ozanne, S.E., Sigala, B., Novelli, M., Poston, L., Taylor, P.D. (2010). Maternal obesity during pregnancy and lactation programs the development of offspring non-alcoholic fatty liver disease in mice. *J. Hepatol.*, 52, 913-920.
- Oddy, W.H. (2002). The impact of breastmilk on infant and child health. *Breastfeed Rev.*, 10, 5-18.
- Oh, G.C. and Cho, H.J. (2020). Blood pressure and heart failure. *Clin. Hypertens.*, 26, 1.
- Oikonomou, E., Tousoulis, D., Siasos, G., Zaromitidou, M., Papavassiliou, A.G. and Stefanadis, C. (2011). The Role of Inflammation in Heart Failure: New Therapeutic Approaches. *Hellenic J. Cardiol.*, 52, 30-40.
- Ojala, T., Aaltonen, J., Siira, S., Jalonen, J., Ekholm, E., Ekblad, U. and Laitinen, K. (2009). Fetal cardiac sympathetic activation is linked with maternal body mass index. *Early Hum. Dev.*, 85, 557-560.
- Orlando, A., Nava, E., Giussani, M. and Genovesi, S. (2019). Adiponectin and Cardiovascular Risk. From Pathophysiology to Clinic: Focus on Children and Adolescents. *Int. J. Mol. Sci.*, 20, 3228.
- Ostadfar, A. (2016). Chapter 2 - Macrocirculation System. *Biofluid Mechanics - Principles and Applications. Elsevier*, 61-86.
- Oyama, J. and Node, K. (2013). Endothelium-derived hyperpolarizing factor and hypertension. *Hypertens. Res.*, 36, 852-853.
- Ozkor, M.A. and Quyyumi, A.A. (2011). Endothelium-derived hyperpolarizing factor and vascular function. *Cardiol. Res. Pract.*, 2011, 156146.
- Palmieri, C.R., Simões, M.A., Silva, J.C., Santos, A.D., Silva, M.R. and Ferreira, B. (2017). Prevalence of Hypertrophic Cardiomyopathy in Fetuses of Mothers with Gestational Diabetes before Initiating Treatment. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.*, 39, 9-13.
- Parhofer, K.G. (2016). The Treatment of Disorders of Lipid Metabolism. *Dtsch. Arztebl. Int.*, 113, 261-268.
- Park, H.K. and Ahima, R.S. (2013). Resistin in rodents and humans. *Diabetes Metab. J.*, 37, 404-414.

- Park, H.K. and Ahima, R.S. (2014). Leptin signaling. *F1000Prime Rep.*, 6, 73.
- Patterson, A.J. and Zhang, L. (2010). Hypoxia and Fetal Heart Development. *Curr. Mol. Med.*, 10, 653-666.
- Perez, M.F. and Lehner, B. (2019). Intergenerational and transgenerational epigenetic inheritance in animals. *Nat. Cell. Biol.*, 21, 143-151.
- Persson, M., Johansson, S., Villamor, E. and Cnattingius, S. (2014). Maternal overweight and obesity and risks of severe birth-asphyxia-related complications in term infants: a population-based cohort study in Sweden. *PLoS Med.*, 11, e1001648.
- Persson, M., Razaz, N., Bonamy, A.K.E., Villamor, E. and Cnattingius, S. (2019). Maternal Overweight and Obesity and Risk of Congenital Heart Defects. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 73, 44-53.
- Polyzos, S.A., Kountouras, J. and Mantzoros, C.S. (2019). Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: From pathophysiology to therapeutics. *Metabolism*, 92, 82-97.
- Ponticos, M. and Smith, B.D. (2014). Extracellular matrix synthesis in vascular disease: hypertension, and atherosclerosis. *J. Biomed. Res.*, 28, 25-39.
- Poston, L. (2011). Influence of Maternal Nutritional Status on Vascular Function in the Offspring. *Microcirculation*, 18, 256-262.
- Preiser, J.C. (2012). Oxidative stress. *JPEN. J. Parenter. Enteral. Nutr.*, 36, 147-154.
- Prior, J.L., Head, G.A. and Armitage, J.A. (2011). Experimental Models of Maternal Obesity and High-Fat Diet During Pregnancy and Programmed Obesity in the Offspring. *Springer*, 30, 241-259.
- Puddu, P., Puddu, G.M., Zaca, F. and Muscari, A. (2000). Endothelial Dysfunction in Hypertension. *Acta. Cardiol.*, 55, 221-232.
- Puppala, S., Li, C., Glenn, J.P., Saxena, R., Gawrieh, S., Quinn, A., Palarczyk, J., Dick, E.J. Jr, Nathanielsz, P.W. and Cox, L.A. (2018). Primate fetal hepatic responses to maternal obesity: epigenetic signalling pathways and lipid accumulation. *J. Physiol.*, 596, 5823-5837.
- Purcell, R.H., Sun, B., Pass, L.L., Power, M.L., Moran, T.H. and Tamashiro, K.L. (2011). Maternal stress and high-fat diet effect on maternal behavior, milk composition, and pup ingestive behavior. *Physiol. Behav.*, 104, 474-479.
- Raafat, M., Aborizk, S., Saraya, M. and Soliman, H.H. (2020). Role of fetal echocardiography in morphologic and functional assessment of fetal heart in diabetic mothers. *Egypt. J. Radiol. Nucl. Med.*, 51, 84.
- Ramirez, L.A. and Sullivan, J.C. (2018). Sex Differences in Hypertension: Where We Have Been and Where We Are Going. *Am. J. Hypertens.*, 31, 1247-1254.
- Ramírez-Vélez, R. (2012). In utero fetal programming and its impact on health in adulthood. *Endocrinol. Nutr.*, 59, 383-393.
- Rana, T.M. (2007). Illuminating the silence: understanding the structure and function of small RNAs. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, 8, 23-36.
- Rankin, J., Tennant, P.W., Stothard, K.J., Bythell, M., Summerbell, C.D. and Bell, R. (2010). Maternal body mass index and congenital anomaly risk: a cohort study. *Int. J. Obes.*, 34, 1371-1380.

- Ravelli, A.C., van der Meulen, J.H., Michels, R.P., Osmond, C., Barker, D.J., Hales, C.N. and Bleker, O.P. (1998). Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. *Lancet Lond. Engl.*, 351, 173-177.
- Razaz, N., Villamor, E., Muraca, G.M., Bonamy, A.E. and Cnattingius, S. (2020). Maternal obesity and risk of cardiovascular diseases in offspring: a population-based cohort and sibling-controlled study. *Lancet Diabetes Endocrinol.*, 8, 572-581.
- Regitz-Zagrosek, V., Lehmkühl, E. and Weickert, M.O. (2006). Gender differences in the metabolic syndrome and their role for cardiovascular disease. *Clin. Res. Cardiol.*, 95, 136-147.
- Reynolds, C.M., Segovia, S.A. and Vickers, M.H. (2017). Experimental Models of Maternal Obesity and Neuroendocrine Programming of Metabolic Disorders in Offspring. *Front. Endocrinol.*, 8, 245.
- Reynolds, R.M., Allan, K.M., Raja, E.A., Bhattacharya, S., McNeill, G., Hannaford, P.C., Sarwar, N., Lee, A.J., Bhattacharya, S. and Norman, J.E. (2013). Maternal obesity during pregnancy and premature mortality from cardiovascular event in adult offspring: follow-up of 1 323 275 person years. *BMJ*, 347, f4539.
- Reynolds, R.M. and Gordon, A. (2018). Obesity, fertility and pregnancy: can we intervene to improve outcomes ?. *J. Endocrinol.*, 239, R47-R55.
- Rich-Edwards, J.W., Stampfer, M.J., Manson, J.E., Rosner, B., Hankinson, S.E., Colditz, G.A., Hennekens, C.H. and Willet, W.C. (1997). Birth weight and risk of cardiovascular disease in a cohort of women followed up since 1976. *BMJ*, 315, 396.
- Rinaudo, P. and Wang, E. (2012). Fetal Programming and Metabolic Syndrome. *Annu. Rev. Physiol.*, 74, 107-130.
- Ritter, O. and Neyses, L. (2003). The molecular basis of myocardial hypertrophy and heart failure. *Trends Mol. Med.*, 9, 313-321.
- Roberts, V.H., Frias, A.E. and Grove, K.L. (2015). Impact of maternal obesity on fetal programming of cardiovascular disease. *Physiology (Bethesda)*, 30, 224-231.
- Robertson, A.M. and Watton, P.N. (2013). Chapter 8 - Mechanobiology of the Arterial Wall. (In : Becker, S.M. and Kuznetsov, A.V. (2013). Transport in Biological Media.) *Elsevier*, 275-347.
- Rocha, A.M., Oliveira, R. and Leal, I. (2014). The influence of breastfeeding on children's health, well-being and development: A theoretical and empirical review. *Rev. Fac. Nac. Salud Pública*, 32, 103-114.
- Rodríguez-Rodero, S., Fernández-Morera, J.L., Fernandez, A.F., Menéndez-Torre, E. and Fraga, M.F. (2010). Epigenetic regulation of aging. *Discov. Med.*, 10, 225-233.
- Rodríguez-Rodríguez, P., Ramiro-Cortijo, D., Reyes-Hernández, C.G., López de Pablo, A.L., González, M.C. and Arribas, S.M. (2018). Implication of Oxidative Stress in Fetal Programming of Cardiovascular Disease. *Front. Physiol.*, 9, 602.
- Rogers, A.B. and Dintzis, R.E. (2018). Chapter 13 - Hepatobiliary System. (In : Treuting, P.M., Dintzis, S.M. and Montine, K.S. (2018). Comparative anatomy and histology : a mouse, rat, and human atlas, 2nd edition. *Elsevier*, 229-239.
- Ruud, J., Steculorum, S.M. and Brüning, J.C. (2017). Neuronal control of peripheral insulin sensitivity and glucose metabolism. *Nat. Commun.*, 8, 15259.

- Saad, A.F., Dickerson, J., Kechichian, T.B., Yin, H., Gamble, P., Salazar, A., Patrikeev, I., Motamedi, M., Saade, G.R. and Costantine, M.M. (2016). High-fructose diet in pregnancy leads to fetal programming of hypertension, insulin resistance, and obesity in adult offspring. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 215, 378.e1-378.e3786.
- Saad, M.F., Damani, S., Gingerich, R.L., Riad-Gabriel, M.G., Khan, A., Boyadjian, R., Jinagouda, S.D., el-Tawil, K., Rude, R.K. and Kamdar, V. (1997). Sexual dimorphism in plasma leptin concentration. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 82, 579-584.
- Saini, H.K., Arneja, A.S. and Dhalla, N.S. (2004). Role of cholesterol in cardiovascular dysfunction. *Can. J. Cardiol.*, 20, 333-346.
- Saklayen, M.G. (2018). The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *Curr. Hypertens. Rep.*, 20, 12.
- Samuelsson, A.M., Matthews, P.A., Argenton, M., Christie, M.R., McConnell, J.M., Jansen, E.H., Piersma, A.H., Ozanne, S.E., Twinn, D.F., Remacle, C., Rowlerson, A., Poston, L. and Taylor, P.D. (2008). Diet-induced obesity in female mice leads to offspring hyperphagia, adiposity, hypertension, and insulin resistance: a novel murine model of developmental programming. *Hypertension*, 51, 383-392.
- Samuelsson, A.M., Morris, A., Igosheva, N., Kirk, S.L., Pombo, J.M., Coen, C.W., Poston, L. and Taylor, P.D. (2010). Evidence for sympathetic origins of hypertension in juvenile offspring of obese rats. *Hypertension*, 55, 76-82.
- Samuelsson, A.M., Matthews, P.A., Jansen, E., Taylor, P.D. and Poston, L. (2013). Sucrose feeding in mouse pregnancy leads to hypertension, and sex-linked obesity and insulin resistance in female offspring. *Front. Physiol.*, 4, 14.
- Sandow, S.L. and Hill, C.E. (2000). Incidence of myoendothelial gap junctions in the proximal and distal mesenteric arteries of the rat is suggestive of a role in endothelium-derived hyperpolarizing factor-mediated responses. *Circ. Res.*, 86, 341-346.
- Santiago, A.M., Clegg, D.J. and Routh, V.H. (2016). Ventromedial hypothalamic glucose sensing and glucose homeostasis vary throughout the estrous cycle. *Physiol. Behav.*, 167, 248-254.
- Schrempft, S., van Jaarsveld, C.H., Fisher, A., Fildes, A. and Wardle, J. (2016). Maternal characteristics associated with the obesogenic quality of the home environment in early childhood. *Appetite*, 107, 392-397.
- Schulze, P.C., Drosatos, K. and Goldberg, I.J. (2016). Lipid Use and Misuse by the Heart. *Circ. Res.*, 118, 1736-1751.
- Sebire, N.J., Jolly, M., Harris, J.P., Wadsworth, J., Joffe, M., Beard, R.W., Regan, L. and Robinson, S. (2001). Maternal obesity and pregnancy outcome: a study of 287 213 pregnancies in London. *Int. J. Obes.*, 25, 1175-1182.
- Segovia, S.A., Vickers, M.H., Gray, C. and Reynolds, C.M. (2014). Maternal Obesity, Inflammation, and Developmental Programming. *BioMed Res. Int.*, 2014, 418975.
- Sengupta, P. (2013). The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. *Int. J. Prev. Med.*, 4, 624-630.
- Seo, M.J. and Oh, D.K. (2017). Prostaglandin synthases: Molecular characterization and involvement in prostaglandin biosynthesis. *Prog. Lipid Res.*, 66, 50-68.

- Shah, S., Gnanasegaran, G., Sundberg-Cohon, J. and Buscombe, J.R. (2009). The Heart: Anatomy, Physiology and Exercise Physiology. (In : Movahed, A., Gnanasegaran, G., Buscombe, J. and Hall, M. (2009). Integrating Cardiology for Nuclear Medicine Physicians.) *Springer*, 3-22.
- Shahoud, J.S., Miao, J.H. and Bolla, S.R. (2021). Anatomy, Thorax, Heart Aorta. *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*.
- Sharp, G.C. and Lawlor, D.A. (2019). Paternal impact on the life course development of obesity and type 2 diabetes in the offspring. *Diabetologia*, 62, 1802-1810.
- Shasa, D.R., Odhiambo, J.F., Long, N.M., Tuersunjiang, N., Nathanielsz, P.W. and Ford, S.P. (2015). Multigenerational impact of maternal overnutrition/obesity in the sheep on the neonatal leptin surge in granddaughters. *Int. J. Obes.*, 39, 695-701.
- Sheu, S. and Blaustein, M.P. (1986). Sodium/calcium exchange and regulation of cell calcium and contractility in cardiac muscle with a note about vascular smooth muscle. (In : Fozzard, H.A., Haber, E., Jennings, R.B. and Katz A.M. (1986). The heart and cardiovascular system: scientific foundations.) *Raven Press*, 509-536.
- Shimokawa, H., Yasutake, H., Fujii, K., Owada, M.K., Nakaike, R., Fukumoto, Y., Takayanagi, T., Nagao, T., Egashira, K., Fujishima, M. and Takeshita, A. (1996). The importance of the hyperpolarizing mechanism increases as the vessel size decreases in endothelium-dependent relaxations in rat mesenteric circulation. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 28, 703-711.
- Shrestha, N., Sleep, S., Helman, T., Holland, O., Cuffe, J., Perkins, A.V., McAinch, A.J., Headrick, J.P. and Hryciw, D.H. (2021). Maternal diet high in linoleic acid alters offspring fatty acids and cardiovascular function in a rat model. *Br. J. Nutr.*, 1-14.
- Simmonds, S.J., Cuijpers, I., Heymans, S. and Jones, E. (2020). Cellular and Molecular Differences between HFpEF and HFrEF: A Step Ahead in an Improved Pathological Understanding. *Cells*, 9, 242.
- Singh, A. and Mehta, Y. (2018). Heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF): Implications for the anesthesiologists. *J. Anaesthesiol. Clin. Pharmacol.*, 34, 161-165.
- Singh, R.M., Waqar, T., Howarth, F.C., Adeghate, E., Bidasee, K. and Singh, J. (2018). Hyperglycemia-induced cardiac contractile dysfunction in the diabetic heart. *Heart Fail. Rev.*, 23, 37-54.
- Small, J.V. and Gimona, M. (1998). The cytoskeleton of the vertebrate smooth muscle cell. *Acta. Physiol. Scand.*, 164, 341-348.
- Sorop, O., Olver, T.D., van de Wouw, J., Heinonen, I., van Duin, R.W., Duncker, D.J. and Merkus, D. (2017). The microcirculation: a key player in obesity-associated cardiovascular disease. *Cardiovasc. Res.*, 113, 1035-1045.
- Spector, L.G., Puumala, S.E., Carozza, S.E., Chow, E.J., Fox, E.E., Horel, S., Johnson, K.J., McLaughlin, C.C., Reynolds, P., Von Behren, J. and Mueller, B.A. (2009). Cancer risk among children with very low birth weight. *Pediatrics*, 124, 96-104.
- Spracklen, C.N., Wallace, R.B., Sealy-Jefferson, S., Robinson, J.G., Freudenheim, J.L., Wellons, M.F., Saftlas, A.F., Snetselaar, L.G., Manson, J.E., Hou, L., Qi, L., Chlebowski, R.T. and Ryckman, K.K. (2014). Birth weight and subsequent risk of cancer. *Cancer Epidemiol.*, 38, 538-543.

- Squire, J. (2019). Special Issue: The Actin-Myosin Interaction in Muscle: Background and Overview. *Int. J. Mol. Sci.*, 20, 5715.
- Stanner, S.A., Bulmer, K., Andrès, C., Lantseva, O.E., Borodina, V., Poteen, V.V. and Yudkin, J.S. (1997). Does malnutrition in utero determine diabetes and coronary heart disease in adulthood ? Results from the Leningrad siege study, a cross sectional study. *BMJ*, 315, 1342-1348.
- Stein, A.D., Kahn, H.S., Rundle, A., Zybert, P.A., van der Pal-de Bruin, K. and Lumey, L.H. (2007). Anthropometric measures in middle age after exposure to famine during gestation: evidence from the Dutch famine. *Am. J. Clin. Nutr.*, 85, 869-876.
- Stevenson, K., Lillycrop, K.A. and Silver, M.J. (2020). Fetal programming and epigenetics. *Curr. Opin. Endocr. Metab. Res.*, 13, 1-6.
- St John Sutton, M.G. and Sharpe, S. (2000). Left Ventricular Remodeling After Myocardial Infarction. Pathophysiology and Therapy. *Circulation*, 101, 2981-2988.
- St John Sutton, M.G., Morrison, A.R., Sinusas, A.J. and Ferrari, V.A. (2020). Cardiac Imaging in Heart Failure. Heart Failure: a Companion to Braunwald's Heart Disease, 4th edition. *Elsevier*, 418-448.
- Stocker, C.J., Arch, J.R. and Cawthorne, M.A. (2005). Fetal origins of insulin resistance and obesity. *Proc. Nutr. Soc.*, 64, 143-151.
- Stothard, K.J., Tennant, P.W., Bell, R. and Rankin, J. (2009). Maternal overweight and obesity and the risk of congenital anomalies: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*, 301, 636-650.
- Sun, B., Purcell, R.H., Terrillion, C.E., Yan, J., Moran, T.H. and Tamashiro, K.L. (2012). Maternal high-fat diet during gestation or suckling differentially affects offspring leptin sensitivity and obesity. *Diabetes*, 61, 2833-2841.
- Sung, D., Wi-young, S. and Ahn, H. (2012). Induction of vasodilation by hydrogen peroxide and its application in exercise science. *Biol. Sport*, 29, 87-92.
- Suter, M., Bockock, P., Showalter, L., Hu, M., Shope, C., McKnight, R., Grove, K., Lane, R. and Aagaard-Tillery, K. (2011). Epigenomics: maternal high-fat diet exposure in utero disrupts peripheral circadian gene expression in nonhuman primates. *FASEB J.*, 25, 714-726.
- Symonds, M.E., Sebert, S.P., Hyatt, M.A. and Budge, H. (2009). Nutritional programming of the metabolic syndrome. *Nat. Rev. Endocrinol.*, 5, 604-610.
- Tabib, A., Shirzad, N., Sheikhabaei, S., Mohammadi, S., Qorbani, M., Haghpanah, V., Abbasi, F., Hasani-Ranjbar, S. and Baghaei-Tehrani, R. (2013). Cardiac malformations in fetuses of gestational and pre gestational diabetic mothers. *Iran. J. Pediatr.*, 23, 664-668.
- Takaya, T., Hirata, K., Yamashita, T., Shinohara, M., Sasaki, N., Inoue, N., Yada, T., Goto, M., Fukatsu, A., Hayashi, T., Alp, N.J., Channon, K.M., Yokoyama, M. and Kawashima, S. (2007). A specific role for eNOS-derived reactive oxygen species in atherosclerosis progression. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 27, 1632-1637.
- Tamashiro, K.L.K., Terrillion, C.E., Hyun, J., Koenig, J.I. and Moran, T.H. (2009). Prenatal Stress or High-Fat Diet Increases Susceptibility to Diet-Induced Obesity in Rat Offspring. *Diabetes*, 58, 1116-1125.

- Tang, D.D. and Anfinogenova, Y. (2008). Physiologic properties and regulation of the actin cytoskeleton in vascular smooth muscle. *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.*, 13, 130-140.
- Tang, W.H., Cheng, W.T., Kravtsov, G.M., Tong, X.Y., Hou, X.Y., Chung, S.K. and Chung, S.S. (2010). Cardiac contractile dysfunction during acute hyperglycemia due to impairment of SERCA by polyol pathway-mediated oxidative stress. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 299, C643-C653.
- Tang, W.Y. and Ho, S.M. (2007). Epigenetic reprogramming and imprinting in origins of disease. *Rev. Endocr. Metab. Disord.*, 8, 173-182.
- Taveras, E.M. (2016). Childhood Obesity Risk and Prevention: Shining a Lens on the First 1000 Days. *Child Obes.*, 12, 159-161.
- Taylor, P.D., Khan, I.Y., Hanson, M.A. and Poston, L. (2004). Impaired EDHF-mediated vasodilatation in adult offspring of rats exposed to a fat-rich diet in pregnancy. *J. Physiol.*, 558, 943-951.
- Taylor, P.D., McConnell, J., Khan, I.Y., Holemans, K., Lawrence, K.M., Asare-Anane, H., Persaud, S.J., Jones, P.M., Petrie, L., Hanson, M.A. and Poston, L. (2005). Impaired glucose homeostasis and mitochondrial abnormalities in offspring of rats fed a fat-rich diet in pregnancy. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 288, R134-139.
- Thamer, S.J., Suker, D.K. and Al-Taha, T.J. (2014). Cross fostering to high fat fed dams impact the offspring Leptin sensitivity and obesity. *J. Sci. Eng. Res.*, 5, 289-296.
- Thomas, S.R., Chen, K. and Keaney, J.F., Jr (2002). Hydrogen peroxide activates endothelial nitric-oxide synthase through coordinated phosphorylation and dephosphorylation via a phosphoinositide 3-kinase-dependent signaling pathway. *J. Biol. Chem.*, 277, 6017-6024.
- Thompson, L.P., Song, H. and Polster, B.M. (2019). Fetal Programming and Sexual Dimorphism of Mitochondrial Protein Expression and Activity of Hearts of Prenatally Hypoxic Guinea Pig Offspring. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2019, 7210249.
- Thornburg, K.L., Shannon, J., Thuillier, P. and Turker, M.S. (2010). In utero life and epigenetic predisposition for disease. *Adv. Genet.*, 71, 57-78.
- Thornburg, K., Jonker, S., O'Tierney, P., Chattergoon, N., Louey, S., Faber, J. and Giraud, G. (2011). Regulation of the cardiomyocyte population in the developing heart. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 106, 289-299.
- Toemen, L., Gishti, O., van Osch-Gevers, L., Steegers, E.A., Helbing, W.A., Felix, J.F., Reiss, I.K., Duijts, L., Gaillard, R. and Jaddoe, V.W. (2016). Maternal obesity, gestational weight gain and childhood cardiac outcomes: role of childhood body mass index. *Int. J. Obes.*, 40, 1070-1078.
- Tomlinson, D.J., Erskine, R.M., Morse, C.I., Winwood, K. and Onambélé-Pearson, G. (2016). The impact of obesity on skeletal muscle strength and structure through adolescence to old age. *Biogerontology*, 17, 467-483.
- Torrens, C., Ethirajan, P., Bruce, K.D., Cagampang, F.R., Siow, R.C., Hanson, M.A., Byrne, C.D., Mann, G.E. and Clough, G.F. (2012). Interaction between maternal and offspring diet to impair vascular function and oxidative balance in high fat fed male mice. *PLoS One*, 7, e50671.
- Touyz, R.M. and Briones, A.M. (2011). Reactive oxygen species and vascular biology: implications in human hypertension. *Hypertens. Res.*, 34, 5-14.

- Touyz, R.M., Alves-Lopes, R., Rios, F.J., Camargo, L.L., Anagnostopoulou, A., Arner, A. and Montezano, A.C. (2018). Vascular smooth muscle contraction in hypertension. *Cardiovasc. Res.*, 114, 529-539.
- Trayhurn, P. and Beattie, J.H. (2001). Physiological role of adipose tissue: white adipose tissue as an endocrine and secretory organ. *Proc. Nutr. Soc.*, 60, 329-339.
- Tucker, W.D. and Mahajan, K. (2020). Anatomy, Blood Vessels. *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*.
- Tucker, W.D., Arora, Y. and Mahajan, K. (2021). Anatomy, Blood Vessels. *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*.
- Turck, D., Bocquet, A., Bresson, J., Briend, A., Chouraqui, J., Darmaun, D., Dupont, C., Frelut, M.-L., Ghisolfi, J., Girardet, J.-P., Goulet, O., Putet, G., Rieu, D., Rigo, J. and Vidailhet, M. (2005). Allaitement maternel : les bénéfices pour la santé de l'enfant et de sa mère. *Archives de pédiatrie*, 12, S145-S165.
- Ukkola, O. and Santaniemi, M. (2002). Adiponectin: a link between excess adiposity and associated comorbidities ?. *J. Mol. Med. (Berl.)*, 80, 696-702.
- Ullrich, N.D., Valdivia, H.H. and Niggli, E. (2012). PKA phosphorylation of cardiac ryanodine receptor modulates SR luminal Ca²⁺ sensitivity. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 53, 33-42.
- Van De Maele, K., Devlieger, R. and Gies, I. (2018). In utero programming and early detection of cardiovascular disease in the offspring of mothers with obesity. *Atherosclerosis*, 275, 182-195.
- Vaughan, K.L. and Mattison, J.A. (2016). Obesity and Aging in Humans and Nonhuman Primates: A Mini-Review. *Gerontology*, 62, 611-617.
- Vdoviaková, K., Petrovová, E., Krešáková, L., Maloveská, M., Teleky, J., Jenčová, J., Živčák, J. and Jenča, A. Jr. (2016). Importance Rat Liver Morphology and Vasculature in Surgical Research. *Med. Sci. Monit.*, 22, 4716-4728.
- Verduci, E., Gianni, M.L., Vizzari, G., Vizzuso, S., Cerasani, J., Mosca, F. and Zuccotti, G.V. (2021). The Triad Mother-Breast Milk-Infant as Predictor of Future Health: A Narrative Review. *Nutrients*, 13, 486.
- Villarreal-Molina, M.T. and Antuna-Puente, B. (2012). Adiponectin: anti-inflammatory and cardioprotective effects. *Biochimie*, 94, 2143-2149.
- Vincent, M.A., Montagnani, M. and Quon, M.J. (2003). Molecular and physiologic actions of insulin related to production of nitric oxide in vascular endothelium. *Curr. Diab. Rep.*, 3, 279-288.
- Vogt, M.C., Paeger, L., Hess, S., Steculorum, S.M., Awazawa, M., Hampel, B., Neupert, S., Nicholls, H.T., Mauer, J., Hausen, A.C., Predel, R., Kloppenburg, P., Horvath, T.L. and Brüning, J.C. (2014). Neonatal insulin action impairs hypothalamic neurocircuit formation in response to maternal high-fat feeding. *Cell*, 156, 495-509.
- Volpato, A.M., Schultz, A., Magalhães-da-Costa, E., Correia, M.L., Águila, M.B. and Mandarim-de-Lacerda, C.A. (2012). Maternal high-fat diet programs for metabolic disturbances in offspring despite leptin sensitivity. *Neuroendocrinology*, 96, 272-284.
- Vucenik, I. and Stains, J.P. (2012). Obesity and cancer risk: evidence, mechanisms, and recommendations. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1271, 37-43.

- Wadhera, R.K., Steen, D.L., Khan, I., Giugliano, R.P. and Foody, J.M. (2016). A review of low-density lipoprotein cholesterol, treatment strategies, and its impact on cardiovascular disease morbidity and mortality. *J. Clin. Lipidol.*, 10, 472-489.
- Walker, C.A. and Spinale, F.G. (1999). The structure and function of the cardiac myocyte: a review of fundamental concepts. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 118, 375-382.
- Waller, B.F., Orr, C.M., Slack, J.D., Pinkerton, C.A., Van Tassel, J. and Peters T. (1992). Anatomy, histology, and pathology of coronary arteries: a review relevant to new interventional and imaging techniques--Part I. *Clin. Cardiol.*, 15, 451-457.
- Wang, H., Quiroga, A.D. and Lehner, R. (2013). Analysis of lipid droplets in hepatocytes. *Methods Cell. Biol.*, 116, 107-127.
- Wang, J., Ma, H., Tong, C., Zhang, H., Lawlis, G.B., Li, Y., Zang, M., Ren, J., Nijland, M.J., Ford, S.P., Nathanielsz, P.W. and Li, J. (2010). Overnutrition and maternal obesity in sheep pregnancy alter the JNK-IRS-1 signaling cascades and cardiac function in the fetal heart. *FASEB J.*, 24, 2066-2076.
- Wang, Q., Zhu, C., Sun, M., Maimaiti, R., Ford, S.P., Nathanielsz, P.W., Ren, J. and Guo, W. (2019). Maternal obesity impairs fetal cardiomyocyte contractile function in sheep. *FASEB J.*, 33, 2587-2598.
- Wardinger, J.E. and Ambati, S. (2020). Placental Insufficiency. *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.*
- Webb, R.C. and Bohr, D.F. (1978). Potassium-Induced Relaxation as an Indicator of Na⁺-K⁺ ATPase Activity in Vascular Smooth Muscle. *J. Vasc. Res.*, 15, 198-207.
- Webb, R.C. (2003). Smooth muscle contraction and relaxation. *Adv. Physiol. Educ.*, 27, 201-206.
- Whitlock, M.C. and Hundley, W.G. (2015). Noninvasive Imaging of Flow and Vascular Function in Disease of the Aorta. *JACC Cardiovasc. Imaging*, 8, 1094-1106.
- WHO (2000). Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ. Tech. Rep. Ser.*, 894:i-xii, 1-253.
- Williams, C.B., Mackenzie, K.C. and Gahagan, S. (2014). The effect of maternal obesity on the offspring. *Clin. Obstet. Gynecol.*, 57, 508-515.
- Wojcicki, J.M. (2011). Maternal prepregnancy body mass index and initiation and duration of breastfeeding: a review of the literature. *J. Womens Health*, 20, 341-347.
- Wolinsky, H. and Glagov, S. (1967). Lamellar Unit of Aortic Medial Structure and Function in Mammals. *Circ. Res.*, 20, 99-111.
- Wong, M.K. and Vanhoutte, P. (2010). COX-mediated endothelium-dependent contractions: from the past to recent discoveries. *Acta. Pharmacol. Sin.*, 31, 1095-1102.
- Woo Baidal, J.A., Locks, L.M., Cheng, E.R., Blake-Lamb, T.L., Perkins, M.E. and Taveras, E.M. (2016). Risk Factors for Childhood Obesity in the First 1,000 Days: A Systematic Review. *Am. J. Prev. Med.*, 50, 761-779.
- Young, A. (2005). Inhibition of glucagon secretion. *Adv. Pharmacol.*, 52, 151-171.
- Young, M.E., Guthrie, P.H., Razeghi, P., Leighton, B., Abbasi, S., Patil, S., Youker, K.A. and Taegtmeier, H. (2002). Impaired long-chain fatty acid oxidation and contractile dysfunction in the obese Zucker rat heart. *Diabetes*, 51, 2587-2595.

- Zhang, L., Long, N.M., Hein, S.M., Ma, Y., Nathanielsz, P.W. and Ford, S.P. (2011). Maternal obesity in ewes results in reduced fetal pancreatic beta-cell numbers in late gestation and decreased circulating insulin concentration at term. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 40, 30-39.
- Zhao, G., Qiu, Y., Zhang, H.M. and Yang, D. (2019). Intercalated discs: cellular adhesion and signaling in heart health and diseases. *Heart Fail. Rev.*, 24, 115-132.
- Zhao, Z., Fan, L. and Frick, K.M. (2010). Epigenetic alterations regulate estradiol-induced enhancement of memory consolidation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 107, 5605-5610.
- Zhou, Y. and Rui, L. (2013). Leptin signaling and leptin resistance. *Front. Med.*, 7, 207-222.
- Zhu, Z., Cao, F. and Li, X. (2019). Epigenetic Programming and Fetal Metabolic Programming. *Front. Endocrinol.*, 10, 764.
- Zicha, J. and Kuneš, J. (1999). Ontogenetic aspects of hypertension development: analysis in the rat. *Physiol. Rev.*, 79, 1227-1282.
- Zielinsky, P. and Piccoli, A.L. Jr. (2012). Myocardial hypertrophy and dysfunction in maternal diabetes. *Early Hum. Dev.*, 88, 273-278.

ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussignée **Abigaëlle Guillot**
déclare être pleinement conscient(e) que le plagiat de documents ou d'une
partie d'un document publiée sur toutes formes de support, y compris l'internet,
constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée.
En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées
pour écrire ce rapport ou mémoire.

signé par l'étudiant(e) le **24 / 09 / 2021**

**Cet engagement de non plagiat doit être signé et joint
à tous les rapports, dossiers, mémoires.**

Présidence de l'université
40 rue de rennes – BP 73532
49035 Angers cedex
Tél. 02 41 96 23 23 | Fax 02 41 96 23 00



Titre : Impact des pathologies métaboliques de la mère sur la programmation fœtale de pathologies cardiovasculaires. Effets de l'alimentation post-natale et effets trans-générationnels.

Mots clés : Obésité maternelle ; Alimentation post-natale ; Programmation fœtale ; Fonction cardiovasculaire

Résumé : Au cours de l'obésité maternelle, le fœtus est soumis à une quantité excessive de nutriments mais également à un changement d'alimentation post-natale dès la naissance, les mères obèses ayant tendance à ne pas les allaiter. Cela amène à des environnements intra-utérin et post-natal défavorables, aboutissant à l'apparition d'anomalies cardiovasculaires et métaboliques chez la descendance.

Alors que les anomalies vasculaires semblent apparaître en parallèle des anomalies métaboliques chez la descendance de mères obèses, les effets de l'obésité maternelle et d'un changement d'alimentation post-natale dès la naissance sur le développement d'anomalies cardiaques n'est pas connu. Notre première étude s'est ainsi focalisée sur l'impact de l'obésité maternelle sur la programmation fœtale d'anomalies vasculaires.

Notre deuxième étude s'est ensuite concentrée sur l'impact de l'obésité maternelle et de l'alimentation post-natale sur la programmation fœtale d'anomalies cardiaques.

Grâce à un modèle de rats Sprague-Dawley, nous avons obtenu des mâles et des femelles (1) nés de mères contrôles (CMO) ou obèses (OMO), et (2) nés de mères contrôles (CM) ou obèses (OM) et adoptés de manière croisée à la naissance par une autre CM (CAC et OAC) ou OM (OAO et CAO) pour mimer les modifications de nutrition pré- et post-natale.

Dans notre première étude, la descendance de mères obèses de 4 mois présentait une altération sexe-dépendante de la vasorelaxation endothélium-dépendante, indépendamment des anomalies métaboliques. Dans notre deuxième étude, l'obésité maternelle et le changement d'alimentation post-natale n'induisent pas l'apparition d'anomalies cardiaques chez la descendance de 2,5 mois.

Title : Impact of the mother's metabolic pathologies on the fetal programming of cardiovascular pathologies. Effects of postnatal diet changes and transgenerational effects.

Keywords : Maternal obesity ; Postnatal diet change ; Fetal programming; Cardiovascular function

Abstract : In case of maternal obesity, the fetus tends to receive excessive amounts of nutrients and is also subjected to early postnatal diet changes as obese mothers tend not to breastfeed their infant, causing a mismatch between pre- and postnatal nutrition. This creates adverse intrauterine and postnatal environments leading to fetus' and neonates' adaptation through neonatal programming. Thereby maternal obesity leads to the development of metabolic and cardiovascular abnormalities in children. While vascular abnormalities seem to appear in parallel of metabolic dysfunctions, the impact of maternal obesity and a postnatal diet change at birth on offspring's cardiac function is unknown.

Our first study focused on the impact of maternal obesity on the fetal programming of vascular anomalies in the offspring.

Our second study focused on the effects of maternal obesity and a postnatal diet change on the fetal programming of cardiac anomalies in the offspring.

We studied males and females Sprague-Dawley rats (1) born to either control (CMO) or obese (OMO) dams, and (2) born to either control or obese dams and cross-fostered at birth by another control or obese dam, in order to mimic pre- and postnatal nutrition modifications; these pups were named Control adopted by Control (CAC) or Obese (CAO), and Obese adopted by Obese (OAO) or Control (OAC).

Our first study showed that maternal obesity induced a sex-dependent alteration of the endothelium-dependent vasodilation in 4-month-old offspring, independently of metabolic disorders. Our second study revealed that maternal obesity and a postnatal diet change have no impact on the cardiac function of 2.5-month-old offspring.