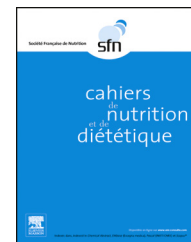




Disponible en ligne sur
SciVerse ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com



MÉDECINE ET NUTRITION

Environnement périnatal : marques épigénétiques et déterminisme des maladies métaboliques de l'adulte. Preuves de concept



Perinatal environment: Epigenetics marks and metabolic diseases in the adult. Proofs of concept

**Bernard Portha^{a,*}, Alexandra Fournier^b,
Marie Dominique Kioon^a, Valérie Mezger^b,
Jamileh Movassat^a**

^a *Laboratoire B2PE (biologie et pathologie du pancréas endocrine), unité BFA (biologie fonctionnelle et adaptative), université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, CNRS EAC 4413 CNRS, bâtiment BUFFON - 5^e étage, 4, rue Lagroua-Weill-Hallé, Case 7126, 75205 Paris cedex 13, France*

^b *Unité EDC (épigénétique et destin cellulaire), université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, CNRS UMR 7216 CNRS, bâtiment Lamarck, 4^e étage, 35, rue Hélène-Brion, Case 7042, 75205 Paris cedex 13, France*

Reçu le 23 mai 2013 ; accepté le 8 juillet 2013
Disponible sur Internet le 9 octobre 2013

MOTS CLÉS

Développement ;
Facteurs
d'environnement ;
Programmation
nutritionnelle ;
Empreinte
nutritionnelle ;
Marques
épigénétiques ;
Maladies
métaboliques de
l'adulte ;
DOHaD

Résumé Il existe maintenant dans la littérature un nombre de faits suffisamment convergents pour accréditer l'idée que des composés présents dans l'environnement (aliments ou polluants) peuvent 1/ modifier l'épigénome sans altérer les séquences de l'ADN, 2/ induire des modifications du phénotype, significatives, permanentes et transgénérationnelles. La mise en place de modifications épigénétiques touchant en particulier la méthylation de l'ADN et l'acétylation/méthylation des histones, permet en effet de créer une « mémoire » de la réponse biologique apportée à la contrainte imposée par l'environnement à un moment donné du développement (notion d'empreinte précoce). Les conséquences de cette mémoire biologique se font sentir plus tard au cours de la vie, et peuvent se révéler négatives si l'environnement auquel est exposé l'adulte (en particulier l'environnement nutritionnel) impose des contraintes biologiques nouvelles en décalage avec l'adaptation acquise précocement, autrement dit lorsque la robustesse de l'adaptation précoce est dépassée.

© 2013 Publié par Elsevier Masson SAS pour la Société française de nutrition.

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : portha@univ-paris-diderot.fr (B. Portha).

KEYWORDS

Development;
Environmental
factors;
Metabolic
programming;
Metabolic imprinting;
Epigenetic marks;
Adult onset
metabolic diseases;
DOHaD

Summary It is now becoming increasingly accepted that environmental compounds can produce changes in the genome that in spite of not altering DNA sequence can produce important, permanent and transgenerational alterations in the phenotype. Epigenetic changes, in particular DNA methylation and histone acetylation/methylation, provide a "memory" of developmental plastic responses to early environment and are central to the generation of phenotypes and their stability throughout the life course. Their effects may only become manifest later in life, e.g., in terms of altered responses to environmental challenges.

© 2013 Published by Elsevier Masson SAS on behalf of Société française de nutrition.

L'environnement auquel est soumis un être humain au début de son développement peut affecter de façon profonde et durable sa santé à long terme. Parmi les facteurs d'environnement influents, la nutrition et le stress sont particulièrement identifiés, dans la mesure où ils influencent fortement le risque que l'individu devenu adulte développe des maladies métaboliques telles que l'obésité, le diabète de type 2 et des pathologies cardiovasculaires [1]. Les sujets nés avec un faible poids de naissance ont en particulier un risque fortement accru à l'âge adulte d'intolérance glucidique et de morbidité et mortalité cardiovasculaires [2–4] (Fig. 1). Les conclusions de ces données épidémiologiques princeps datant de 1989 ont été largement confirmées et sont fortifiées par une multitude d'études expérimentales sur modèles animaux [5]. Au final, elles suggèrent que la biologie de l'adulte est d'une certaine manière déterminée au moins en partie, par le type de réponse à un environnement périnatal donné (notion de réponse précoce).

Le concept de l'origine développementale de l'état de santé de l'adulte (DOHaD, pour *developmental origins of health and disease*)

Sur la base de leurs données épidémiologiques, Hales et Barker ont proposé en 1992 le concept de «phénotype économe» pour formaliser la relation entre capacité de croissance périnatale et santé à long terme [6]. Ce concept repose sur l'idée que face à un environnement nutritionnel intra-utérin insuffisant, le fœtus adopte une stratégie de défense à court terme dont la finalité est d'optimiser ses chances de survie après la naissance dans des conditions nutritionnelles qui resteraient insuffisantes. Cette stratégie passe par la préservation de la croissance du cerveau aux dépens de celle d'autres tissus tels que les muscles squelettiques ou le pancréas, et elle règle (notion de programmation) le métabolisme énergétique dans le sens d'une efficacité accrue du stockage des nutriments lorsque ces derniers sont disponibles. Cette réponse que l'on peut qualifier d'adaptative, est donc bénéfique à court terme pour le jeune qui doit continuer d'affronter des conditions de sous-alimentation. Dans les populations humaines qui continuent de subir de telles conditions de sous-alimentation tout au long de leur vie, la prévalence des maladies métaboliques est très faible. En revanche, lorsque le jeune qui s'est adapté in utero aux conditions de sous-alimentation est exposé après sa naissance à un environnement nutritionnel différent, la réponse adaptative développée in utero n'est

plus appropriée. C'est ce conflit entre la nutrition anténatale et la nutrition postnatale, qui ferait le lit de l'apparition plus tard à l'âge adulte des pathologies du métabolisme énergétique (Fig. 2).

Outre la période fœtale, la période postnatale est aussi une période critique pour l'installation d'une réponse adaptative: par extension, on parle donc d'une origine développementale des pathologies de l'adulte.

La terminologie utilisée pour décrire les phénomènes biologiques propres au DOHaD varie selon les auteurs: Lucas [8] proposa le terme «programmation» (*programming* en anglais) par référence aux effets à long terme, voire permanents d'une atteinte survenue lors d'une période sensible plutôt précoce. Barker [1] introduit lui l'hypothèse de l'origine fœtale des maladies de l'adulte. La prise en compte du fait que la plasticité tissulaire reste très élevée aussi en période postnatale, a fait ensuite évoluer cette nomenclature [9]. Waterland et Garza [10] proposent ainsi l'expression d'«empreinte métabolique» pour nommer la réponse adaptative à une situation nutritionnelle non habituelle survenant en début de vie (périnatale). Chaque empreinte métabolique se met en place dans une fenêtre temporelle précoce bien précise et elle persiste tout au long de la vie adulte, même en l'absence de l'élément qui lui a donné naissance.

L'une des preuves les plus solides en faveur d'un rôle étiologique fort de l'environnement sur la relation croissance fœtale/maladie métaboliques de l'adulte (dans le cas précis, le diabète de type 2), a été fournie par l'étude des jumeaux homozygotes. Une étude danoise a ainsi montré que dans les paires de jumeaux adultes discordants pour le diabète de type 2, le jumeau diabétique avait toujours un poids de naissance plus faible que celui de son jumeau normoglycémique, et cela était vrai chez les jumeaux monozygotes (génétiquement identiques) comme chez les dizygotes (non identiques) [11]. Il reste difficile d'apprécier plus directement dans l'espèce humaine l'impact de la nutrition maternelle sur ses descendants. Néanmoins, on dispose de quelques études précieuses portant sur la santé adulte d'individus dont les mères ont subi une sous-nutrition pendant la gestation et l'allaitement. Ainsi, la pénurie sévère qui sévit dans la partie ouest des Pays-Bas de novembre 1944 à mai 1945 à la fin de la Seconde Guerre Mondiale, instaura une période de famine d'environ cinq mois. Cet événement bien défini dans le temps a créé les conditions d'une étude rétrospective des conséquences de la sous-nutrition des mères sur la tolérance glucidique de leurs descendants adultes [12]. Cette étude a montré que: 1/les individus qui étaient in utero pendant la famine ont une tolérance glucidique dégradée par rapport à celle

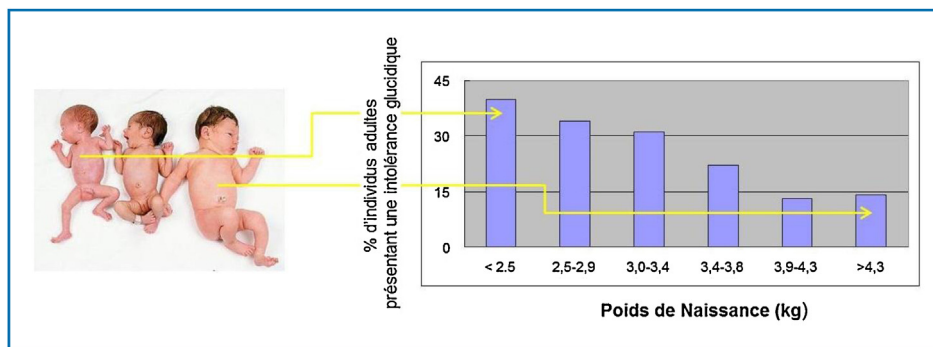


Figure 1. Les bases épidémiologiques du concept de programmation fœtale des maladies de l'adulte. Bien que l'origine de la notion de programmation biologique soit antérieure aux travaux de Barker et al., ce sont leurs travaux épidémiologiques en Grande-Bretagne à la fin des années 1980 qui les ont conduits à suggérer que la survenue de certains événements pendant la vie fœtale pouvait influencer le risque à long terme de développer une maladie métabolique. En étudiant une cohorte d'hommes nés dans le comté de Hertfordshire (GB) et âgés de 64 ans au moment de l'étude, ils mirent en évidence une relation statistique inverse entre leur pression sanguine systolique (et la surmortalité cardiovasculaire) et le poids de naissance. Avec la même cohorte, ils démontrèrent un lien inverse similaire entre poids de naissance et intolérance glucidique ou insulino-résistance. Dans cette étude, les individus avec le plus faible poids de naissance montraient un risque de développer un diabète ou au moins une intolérance glucidique, six fois plus élevé que les individus à poids de naissance normal. Ces conclusions ont été largement confirmées par la suite dans des études de populations d'éthnicités variées. Adapté d'après la référence [2].

des individus nés l'année avant la famine ; 2/les glycémies les plus élevées sont enregistrées chez les individus qui ont été exposés à la famine pendant seulement le premier trimestre de la gestation et qui sont devenus obèses à l'âge adulte. Ces conclusions sont donc cohérentes avec l'idée

que le risque de développer un diabète survient lorsque l'environnement nutritionnel de l'adulte est en discordance complète avec les conditions nutritionnelles préalablement subies in utero. L'étude de Li et al. [13] suggère aussi que les gens (8000 adultes nés entre 1954 et 1964) exposés à la

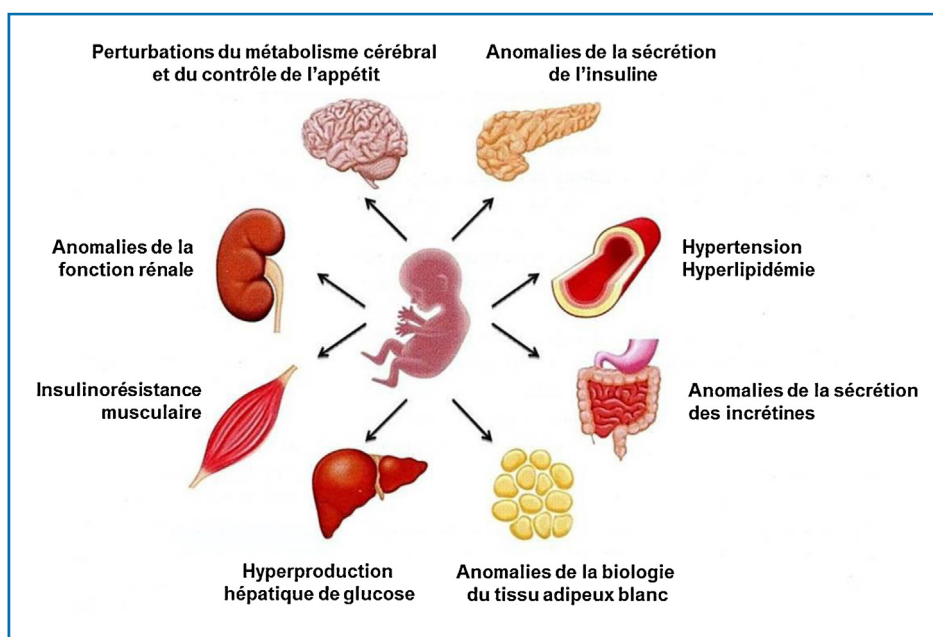


Figure 2. Les facteurs environnementaux agissant directement sur le développement précoce peuvent entraîner des effets durables sources de risque accru de maladie à l'âge adulte.

La réponse adaptative d'un individu donné à une situation nutritionnelle non habituelle survenant en début de vie (périnatale) est appelée « empreinte métabolique ». Chaque empreinte métabolique se met en place dans une fenêtre temporelle précoce bien précise et elle persiste tout au long de la vie adulte, même en l'absence de l'élément qui lui a donné naissance. Ces adaptations peuvent devenir en revanche défavorables dès lors que les conditions environnementales après la naissance divergent de celles rencontrées pendant la vie précoce. C'est l'idée de l'origine fœtale des maladies de l'adulte. Ainsi, lorsque le jeune qui s'est adapté in utero aux conditions de sous-alimentation, est exposé après sa naissance à un environnement nutritionnel différent (en particulier hypercalorique), la réponse adaptative développée in utero n'est plus appropriée. C'est ce conflit entre la nutrition anténatale et la nutrition postnatale, qui ferait le lit de l'apparition plus tard à l'âge adulte des pathologies du métabolisme énergétique. L'intolérance glucidique et le diabète de type 2 reflètent le dysfonctionnement de toute une série d'organes/tissus (foie, muscles, tissu adipeux, intestin, cerveau, pancréas). La notion de programmation développementale de ces organes offre une explication étiologique crédible de la multiplicité des atteintes caractéristiques du diabète de type 2. Adapté d'après la référence [7].

famine (en Chine, de 1959 à 1961) lors de leur développement intra-utérin, ont un risque accru de développer un diabète de type 2 à l'âge adulte. Bien sûr, dans ces études de populations humaines, il est impossible de définir la contribution propre de la malnutrition (à côté de celle des facteurs génétiques) puisque lui sont associés des facteurs de confusion tels que les infections et le stress. On sait en effet que les stress prénataux modulent de façon irréversible l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien et la sécrétion de cortisol. À lui seul, ce dernier mécanisme pourrait installer une programmation prénatale de la réponse au stress et contribuer à la prévalence accrue de l'hyperglycémie chez l'adulte.

Le concept d'origine développementale des maladies est maintenant accepté par l'OMS [14].

Plasticité au cours du développement et épigénétique

On appelle « plasticité » la capacité d'un génotype à produire des phénotypes différents selon la nature de l'environnement qui agit sur le génome. Cette capacité est maximale lors du développement de l'embryon. La notion de plasticité développementale a pour fonction de régler l'expression génique de telle sorte que le phénotype obtenu à la fin de la période de développement de l'organisme soit adapté de façon optimale à l'environnement ultérieur prédictible [15]. Lorsque le phénotype obtenu est confronté à un environnement conforme aux prédictions, l'organisme est en « bonne santé » de façon durable. Quand le phénotype obtenu est effectivement confronté à un environnement non conforme aux prédictions (environnement inadapté), la capacité d'adaptabilité de l'individu peut se révéler inadéquate et le risque de maladie augmente en fonction de la sévérité du décalage entre environnement prédictible et environnement réel [14].

Comment expliquer la variété des phénotypes ? Par la variété des génomes, c'est-à-dire uniquement des changements dans la séquence de l'ADN ? Cela ne suffit pas car de multiples observations épidémiologiques suggèrent que l'impact de l'environnement ne se limite pas à des modifications du génome. Ainsi :

- les études pangénomiques d'association de maladies avec des polymorphismes mononucléotidiques (SNPs) ont montré que la composante purement génétique rendait compte au mieux de 20 % seulement de la variation phénotypique [16,17] ;
- l'idée qu'une exploration détaillée du génome suffit pour comprendre la cause des maladies à traits complexes repose sur une vision réductionniste des relations génotype/phénotype [18] ;
- on sait que le risque pour les maladies métaboliques communes varie fortement selon la localisation géographique et l'origine ethnique des patients [16] ;
- la contribution de mécanismes épigénétiques à l'étiologie de certaines maladies a été rapportée : cela vaut pour les cancers du foie [19], de l'estomac [20], du côlon [21] et de la prostate [22], l'allergie [23], l'asthme [24], ou encore les maladies neurodégénératives [25] ;
- la prévalence de certaines maladies communes considérées jusque-là comme des maladies à déterminisme génétique classique, est souvent discordante au sein des fratries de jumeaux monozygotes [26] ;

- bien que de nombreux composés présents dans l'environnement soient à l'origine de pathologies, très peu de ces composés ont des effets mutagènes ou sur les séquences d'ADN. Par exemple, les métaux carcinogènes ont un faible pouvoir de mutagenèse [27] et les perturbateurs endocriniens exercent rarement un effet mutagène [28,29] ;
- au regard de l'évolution biologique, l'hypothèse de la survenue de mutations aléatoires n'est pas suffisante pour expliquer l'origine de la variété des phénotypes [30,31].

Il y a maintenant un large consensus pour admettre que ce sont des modifications épigénétiques qui gouvernent la plasticité développementale, et que ces modifications peuvent se propager chez un individu donné au cours de la division des cellules somatiques et même être transmises dans sa descendance en affectant la lignée germinale (transmission transgénérationnelle). Le mot « épigénétique » (du grec « épi », littéralement : au-dessus de la génétique) a été introduit par Waddington en 1939/1942 pour désigner l'ensemble des mécanismes développementaux qui à partir d'un génotype donné (identique pour toutes les cellules) permet d'obtenir des phénotypes divers (les différents types cellulaires). La définition de l'épigénétique reste cependant controversée [32,33]. Sans entrer dans les détails d'une discussion qui sort du cadre de cette revue, on retiendra que l'épigénétique correspond à l'héritabilité des informations régulant l'activité du génome (notamment le niveau d'expression des gènes), quand la génétique correspond à l'héritabilité de la séquence du génome (incluant les séquences des gènes). Avec cette définition opérationnelle, l'épigénétique est devenue incontournable pour comprendre l'empreinte génomique, la programmation développementale, ainsi que la relation entre altération de la programmation périnatale et augmentation du risque de maladies chez l'adulte. Une brève description de l'épigénome et de la machinerie épigénétique est donc proposée dans le paragraphe qui suit. Nous verrons ensuite à travers quelques exemples privilégiés, les mécanismes utilisés par la machinerie épigénétique pour moduler de façon durable l'expression de certains gènes cible impliqués dans le déterminisme de maladies complexes de l'adulte.

À propos d'épigénétique

L'épigénome

L'hérédité ne se limite pas à la transmission de l'information génétique, c'est-à-dire l'information contenue dans la séquence d'ADN. L'ADN réside au sein de la chromatine et il y est enroulé et compacté de façon à tenir dans le noyau cellulaire. Chez les eucaryotes, l'élément de construction de la chromatine est le nucléosome, constitué d'un octamère protéique d'histones autour duquel sont enroulées 147 paires de base d'ADN (Fig. 3). Chaque octamère comporte deux copies des histones H2A, H2B, H3, and H4. Les nucléosomes sont ensuite compactés en une structure chromatiniennne d'ordre supérieur grâce aux histones de liaison H1 et à des protéines non-histones, ainsi qu'à des ARN non-codants. Le degré de compaction du nucléosome, qui est variable, crée un premier niveau de régulation supplémentaire sur l'activité du génome : en effet, le compactage histone/ADN dépend des liaisons électrostatiques établies entre les charges positives des histones et les charges négatives de l'ADN. Les nucléosomes peuvent aussi subir des modifications

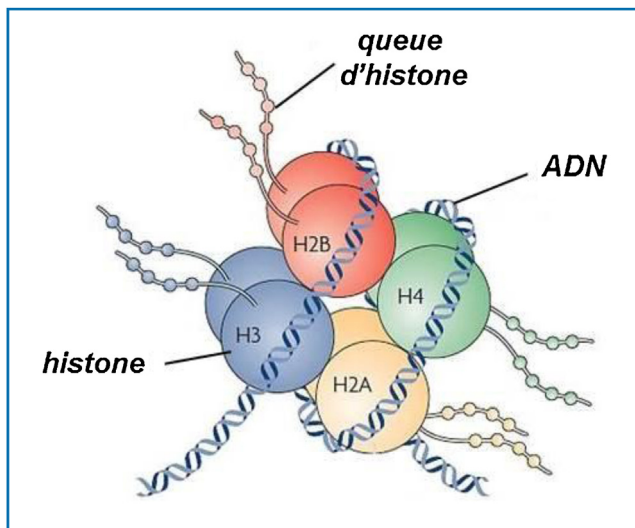


Figure 3. La structure du nucléosome.

Le nucléosome est constitué d'un octamère protéique d'histones autour duquel sont enroulées 147 paires de base d'ADN. Chaque octamère comporte deux copies des histones H2A, H2B, H3, and H4. Le degré de compaction du nucléosome est variable et cela représente un premier niveau de régulation de l'activité du génome : en effet, le compactage histone/ADN dépend des liaisons électrostatiques établies entre les charges positives des histones et les charges négatives de l'ADN.

Adapté d'après la référence [34].

covalentes, au niveau des histones et au niveau de l'ADN qu'ils renferment : ces modifications (appelées marques épigénétiques) déterminent de fait le niveau de compaction des gènes et en conséquence favorisent l'expression ou l'extinction des gènes. Il faut imaginer que ces marques épigénétiques apportent une dimension dynamique cruciale pour l'interprétation de l'information génétique, de façon à permettre que les gènes appropriés soient exprimés (ou réprimés) au bon moment durant les phases critiques de la différenciation cellulaire (acquisition des phénotypes adaptés). D'autres paramètres épigénétiques, qui ne seront pas discutés ici mais qui sont importants pour moduler la structure et l'activité du génome, incluent les variants d'histone, les ARN non-codants, les complexes de remodelages de la chromatine ou encore l'organisation spatiale de la chromatine dans le noyau. Le mot « épigénome » fait donc référence à l'information épigénétique globale qui est caractéristique de chaque cellule ou type cellulaire d'un individu. L'épigénome est dynamique et peut varier au cours de la vie en fonction du contexte environnemental : cela se traduit par des changements dans les marques épigénétiques sans atteinte de la séquence de l'ADN (alors que des changements du génome impliqueront des modifications de la séquence de l'ADN).

Les différents types cellulaires qui composent un organisme partagent le même génome. Pourtant chaque type cellulaire différencié possède son propre profil d'expression génique qui reste stable dans le temps. Seule une fraction des 20 000 à 25 000 gènes du génome humain est active dans un tissu donné et cette fraction est différente selon les tissus. Cela tient au fait que les facteurs de transcription et les marques épigénétiques qui règlent l'expression de ces familles de gènes, diffèrent [35]. Ainsi, les marques épigénétiques qui s'accumulent dans une cellule tout au long de sa différenciation diffèrent de celles qui caractérisent les cellules pluripotentes. L'habillage épigénétique du génome, ce

qu'on appelle l'épigénotype, est donc spécifique de chaque type cellulaire. Parce que durant la division cellulaire, les cellules filles acquièrent le même épigénotype que la cellule mère, les marques épigénétiques assurent une mémoire de l'identité cellulaire qui permet la stabilité de l'état différencié au sein d'un tissu donné malgré le renouvellement cellulaire [36].

Si les marques épigénétiques acquises progressivement au cours du développement sont stables dans les cellules somatiques adultes, elles sont néanmoins flexibles dans certaines situations : par exemple, elles sont effacées dans les cellules germinales et l'embryon primitif pour permettre la pluripotentialité embryonnaire, puis reconfigurées (reprogrammation) ; on sait maintenant que certaines d'entre elles sont modifiées par des facteurs d'environnement tels que le régime alimentaire ou des polluants chimiques (infra).

Les marques épigénétiques

Il s'agit ici de résumer brièvement les caractéristiques majeures des marques épigénétiques les plus étudiées et des machineries moléculaires qui assurent leur régulation (mise en place, maintien, effacement).

Les modifications de l'ADN

La marque épigénétique la plus explorée jusque-là correspond à la méthylation des cytosines de l'ADN (5-méthylC) au sein de doublets cytosine-guanine (dinucléotides CpG). Chez les mammifères, le génome est globalement pauvre en doublets CpG, exceptées les régions promotrices de beaucoup de gènes humains (de l'ordre de 60%) qui contiennent des éléments riches en CpG (appelés îlots CpG) qui sont le plus souvent dans un état déméthylé. On sait que leur méthylation est en général corrélée avec l'extinction de la transcription [37–39]. Cependant, l'effet de la méthylation de l'ADN dépend du contexte génomique. Chez les mammifères, la méthylation de l'ADN est assurée par des protéines appelées « ADN méthyltransférases » (DNMTs) (Fig. 4). Classiquement, DNMT3A et DNMT3B assurent la méthylation dite « de novo » (c'est-à-dire la mise en place de la méthylation sur de l'ADN préalablement non méthylé) alors que DNMT1 permet le maintien des patrons de méthylation de l'ADN lors des divisions cellulaires en re-méthylant l'ADN hémi-méthylé suite à la réplication (méthylation dite de maintien) [40].

La méthylation de l'ADN est essentielle au développement embryonnaire. Elle est impliquée dans des processus épigénétiques spectaculaires tels que l'empreinte génomique parentale (expression mono-allélique d'un gène en fonction de son origine parentale), ou l'inactivation d'un des chromosomes X chez les mammifères femelles. Elle joue également un rôle crucial dans la stabilité du génome. Des pertes massives de méthylation de l'ADN sont observées lors de la reprogrammation qui survient dans les cellules germinales primordiales ou chez l'embryon à certains stades précis du développement [42,43]. On sait aussi que la méthylation de l'ADN participe à la spécialisation cellulaire : des facteurs de transcription responsables de la pluripotence tels que OCT4 et NANOG, sont exprimés dans les cellules souche embryonnaires et sont inactivés par méthylation de l'ADN lors de la différenciation de ces cellules [43]. Par ailleurs, les patrons de méthylation de l'ADN diffèrent d'un tissu à l'autre : un gène peut être méthylé dans un tissu donné et déméthylé dans un autre, reflétant ainsi les différences d'identité et de fonction entre tissus [44–46]. On

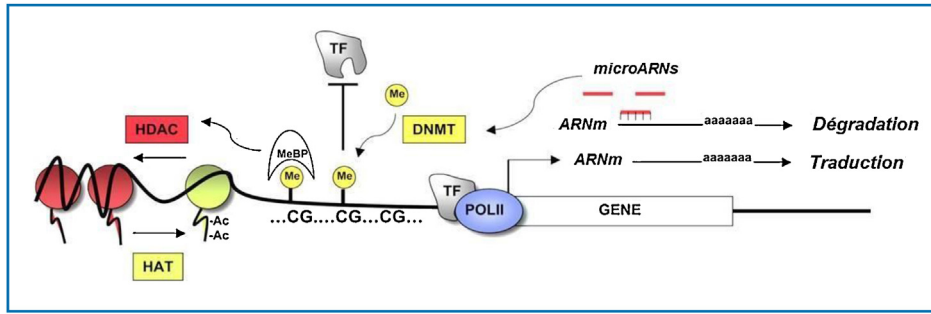


Figure 4. La régulation épigénétique de l'expression d'un gène.

La régulation épigénétique de l'expression d'un gène met en jeu des modifications stables de l'ADN et de la structure de la chromatine qui modifient l'expression de ce gène, et cela de façon indépendante de toute modification de la séquence de ce gène. Il existe plusieurs mécanismes de contrôle épigénétique. Les plus importants (en fait, les plus explorés jusque-là) sont la méthylation de l'ADN, assurée par des ADN méthyltransférases (DNMTs), et l'acétylation de la queue des histones, contrôlée par des histone acétyltransférases (HAT) et histone déacétylases (HDAC). En outre, certains microARNs sont aussi capables de réguler la méthylation de l'ADN. L'acétylation des histones favorise l'ouverture de la chromatine et est caractéristique des régions avec une intense activité de transcription génique. La déacétylation des histones, à l'inverse, favorise le retour à une configuration fermée et est associée avec la répression génique. La méthylation de dinucléotides de type cytosine-guanine (îlots CG) de l'ADN au niveau 5' du promoteur d'un gène, provoque généralement l'inactivation de la transcription du gène, en bloquant l'accès des facteurs de transcription et en provoquant le recrutement de corépresseurs de transcription ou de complexes modulateurs des histones. MeBP : protéine de liaison des îlots CG ; TF : facteur de transcription ; Pol II : ADN polymérase II. Adapté d'après la référence [41].

retiendra enfin que la méthylation de l'ADN joue un rôle clé lors de la différenciation des tissus en maintenant inactive la transcription des gènes dont l'expression n'est pas nécessaire. Par ailleurs, un intérêt croissant est actuellement porté à d'autres modifications de l'ADN dérivées de la méthylation, telles que l'hydroxyméthylation, mais elles ne seront pas développées ici.

Les modifications des histones

Chaque histone possède une partie N-terminale qui émerge librement du nucléosome et peut être soumise à des modifications post-traductionnelles très variées, telles que acétylation des lysines, méthylation des lysines et arginines, ubiquitylation et sumoylation des lysines, phosphorylation des sérines et thréonines [47]. Ces modifications des

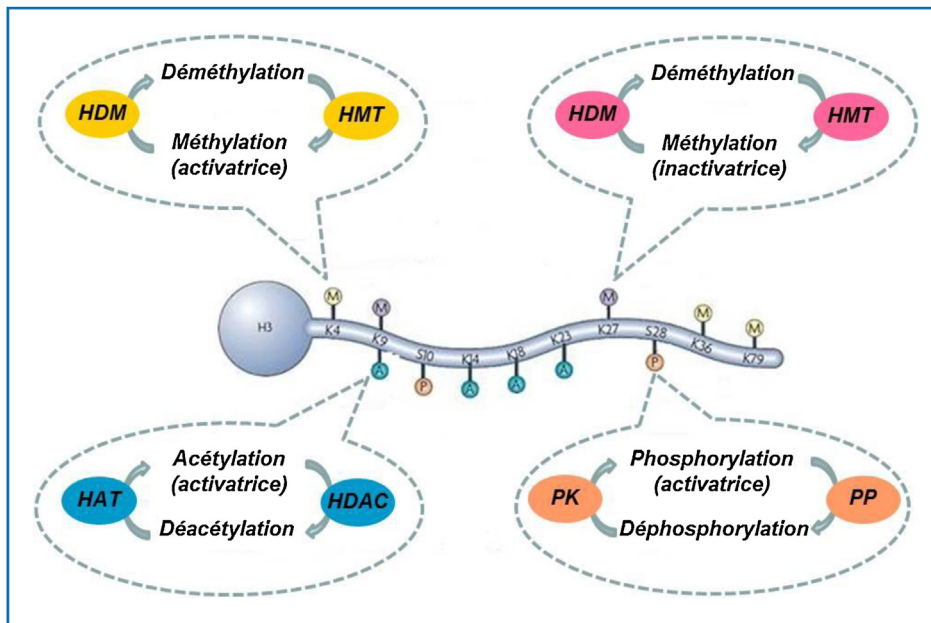


Figure 5. Modifications post-traductionnelles des histones.

Chaque histone possède une partie N-terminale qui émerge librement du nucléosome et peut être soumise à des modifications covalentes post-traductionnelles très variées, telles que acétylation des lysines, méthylation des lysines et arginines, ubiquitylation et sumoylation des lysines, phosphorylation des sérines et thréonines. L'acétylation est assurée par des histone acétyltransférases (HATs) et éliminée par des histone déacétylases (HDACs). La méthylation des lysines (activatrice ou inhibitrice) est facilitée par des histone méthyltransférases (HMTs) et éliminée par des histone déméthylases (HDMs). La phosphorylation est catalysée par des protéine kinases (PK) et éliminée par des protéine phosphatases (PP). K : résidu lysine ; S : résidu sérine. Adapté d'après la référence [34].

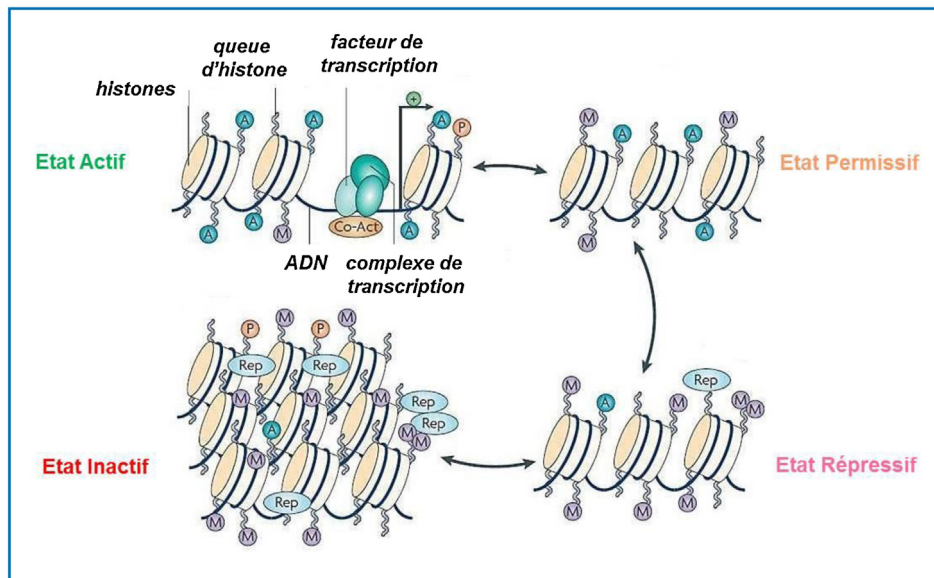


Figure 6. Euchromatine et hétérochromatine.

La chromatine est hétérogène et existe sous deux configurations structurales de base : l'euchromatine (en haut à gauche), décondensée (les nucléosomes sont ouverts ce qui facilite l'accès des activateurs de transcription) et active (elle porte des marques actives sur les histones), et l'hétérochromatine (en bas à gauche), condensée, inactive (les gènes y sont silencieux), avec des marques répressives au niveau des histones et un ADN plutôt méthylé. En fait, il existe un continuum d'états plus ou fonctionnel entre ces deux situations (actif, permissif, réprimé, inactif). L'état transcriptionnel d'un nucléosome est modulé par le niveau de modification de la queue des histones (acétylation : A ; méthylation : M) et par la fixation sur la chromatine du complexe basal de transcription, des facteurs de transcription, des co-activateurs (Co-Act) et des répresseurs (Rep). Adapté d'après la référence [34].

histones rendent alors possible le recrutement et la fixation de protéines régulatrices de l'activité du génome et in fine conduisent à une modulation de la transcription, de la réplication, de la recombinaison ou de la réparation de l'ADN. Les marques épigénétiques des histones constituent donc un niveau supplémentaire de signaux régulateurs spécifiques (on parle de « code histone ») qui, seuls ou en interaction avec d'autres marques, vont exercer des effets fonctionnels fugaces ou chroniques (Fig. 5).

La chromatine est en fait hétérogène : l'hétérochromatine est condensée, pauvre en gènes, porte des marques répressives au niveau des histones et son ADN est plutôt méthylé, alors que l'euchromatine est décondensée, riche en gènes et porte des marques actives sur les histones [47]. L'acétylation des histones ne touche que les résidus lysine, et son intensité dépend de l'activité relative des « histone acétyltransférases » (HATs) qui catalysent l'addition de groupes acétyl aux résidus lysine, et des histone déacétylases (HDACs) qui enlèvent les groupes acétyl aux résidus lysine [48]. Lorsque des HDACs déacétylent des lysines d'histone, chaque lysine retrouve une charge positive de plus et cela entraîne la condensation du nucléosome. Les nucléosomes riches en histones hypoacétylées se lient fortement aux phosphates de la molécule d'ADN et freineraient ainsi la transcription locale des gènes, probablement en empêchant l'accès des facteurs de transcription, des complexes régulateurs et de l'ARN polymérase à ces gènes. Lorsque des HATs acétylent des lysines d'histone, par exemple le résidu lysine 9 (K9) de l'histone H3 (H3K9ac), la neutralisation des charges positives sur les queues d'histones diminue l'affinité de liaison de ces histones pour l'ADN et provoque un désassemblage de l'ADN par ouverture de l'emballage nucléosomal. L'accès à l'ADN devenant possible, la transcription locale des gènes devient possible [49] (Fig. 6).

Par comparaison avec l'acétylation des histones, la méthylation des histones est plus complexe [50]. Elle touche les résidus lysine et arginine : jusqu'à trois groupes méthyl peuvent être accrochés sur un résidu lysine (mono-, di- et triméthylation), un ou deux peuvent être accrochés sur un résidu arginine. Les « histone méthyltransférases » (HMTs) sont les enzymes responsables de ces méthylation (Fig. 5). Là encore il existe des enzymes de déméthylation (HDMTs) qui rendent labile et dynamique la méthylation des histones [51]. Contrairement aux acétylations qui modifient les charges électriques des résidus aminés et ainsi modifient directement les interactions histone/histone et histone/ADN, la méthylation des histones modifie uniquement le recrutement de facteurs régulateurs. Par exemple, la triméthylation de la lysine 4 de l'histone H3 (H3K4me3) est associée à un promoteur actif, alors que la méthylation de H3K9 (H3K9me) est plutôt retrouvée au niveau de promoteurs de gènes inactifs. Cette classification binaire entre marques « actives » et marques « inactives » est cependant probablement trop simpliste car la marque H3K9me3 a été retrouvée aussi bien dans de l'hétérochromatine silencieuse que dans de l'euchromatine active [52]. L'état fonctionnel de la chromatine serait ainsi déterminé par une combinaison de modifications post-traductionnelles des histones, plutôt que par une marque isolée, associée à d'autres niveaux de régulation épigénétique (Fig. 6).

DOHaD : une affaire de dérégulation épigénétique ?

Ce qui se passe dans les phénomènes d'empreintes liés au DOHaD rentre dans le cadre de la plasticité développementale puisque des phénotypes non conformes sont générés à partir d'un génotype unique spécifique, du

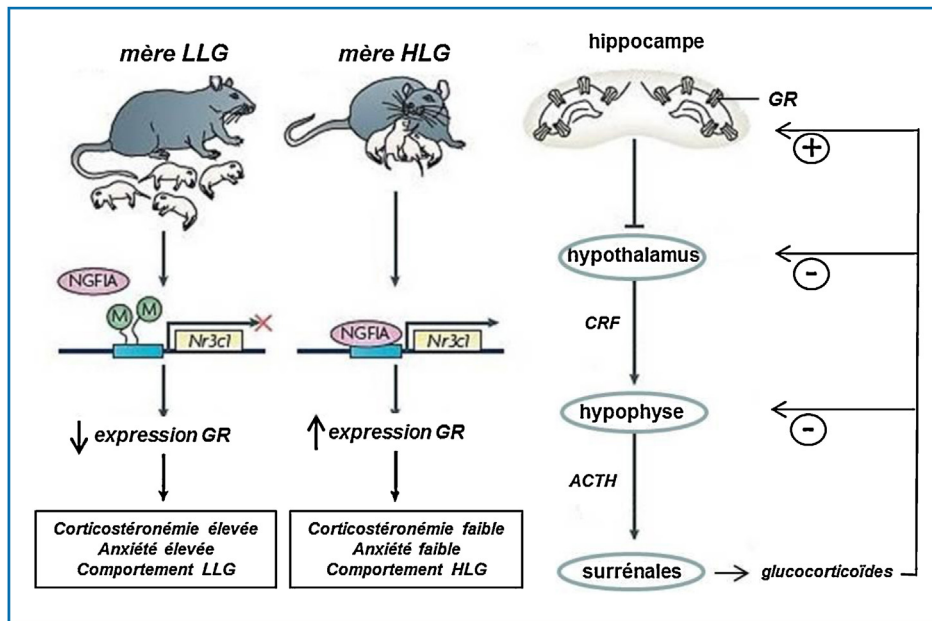


Figure 7. La réponse au stress de la progéniture est programmée épigénétiquement par le comportement maternel. La réponse au stress chez les mammifères est essentiellement médiée par la sécrétion de *corticotropin-releasing factor* (CRF) par certains neurones du noyau paraventriculaire. Le RF est libéré dans le système porte hypothalamo-hypophysaire et stimule la synthèse et la libération de l'ACTH par l'adénohypophyse, qui à son tour, stimule la sécrétion de glucocorticoïdes surrénaliens. Les glucocorticoïdes influencent plusieurs régions du cerveau via leur fixation sur les récepteurs GR, et en particulier dont l'hippocampe. L'effet global des glucocorticoïdes se traduit par un blocage de la sécrétion de CRF (feed-back négatif). Chez le rat, certaines femelles ont spontanément un comportement maternel optimal qui se traduit par de fréquents léchages/toilettages des nouveau-nés (mères dites *high-LG*, pour *high licking/grooming*) ; d'autres ont au contraire un faible comportement maternel (mères dites *low-LG*, pour *low licking/grooming*). Par comparaison avec les descendants de mères *low-LG*, les descendants adultes (F1) des mères *high-LG* ont une expression hippocampique de GR (ARNm et protéine) accrue, un feed-back négatif hypothalamique aux glucocorticoïdes plus efficace, une sécrétion hypothalamique de CRF réduite. Au final, ils sont moins anxieux et ont une sécrétion atténuée de corticostérone en réponse à un stress de contrainte. Les descendants de mères *low-LG* montrent une forte augmentation de la méthylation des îlots CpG localisés au niveau de la région de liaison du NGF1-A sur le promoteur GR. Cette différence de méthylation apparaît la première semaine de la naissance et persiste tout au long de la vie adulte. À l'âge adulte, les descendants de mères *low-LG* conservent cet handicap moléculaire puisque la méthylation de leur promoteur GR empêche la fixation de NGF1-A et bloque la transcription du gène GR. M: méthylation. Adapté d'après la référence [59].

fait de l'ajustement du programme développemental à des contraintes durables imposées par l'environnement [9,14,53,54].

Puisque le concept de DOHaD postule que les désordres résultent d'un conflit entre l'environnement in utero et l'environnement adulte (Fig. 2), il est logique de penser que la mémoire des réponses adaptatives fœtales est maintenue dans les organes tout au long de la vie adulte par des mécanismes épigénétiques de régulation des gènes (Fig. 3) [10,54]. On s'attend d'ailleurs à ce que les facteurs d'environnement qui agissent très précocement en modifiant le programme de développement (en pleine période de différenciation cellulaire), aient un impact plus fort, plus large et plus durable que ceux qui agissent lors de périodes moins « plastiques » (période adulte). À ce jour, on connaît encore très peu de situations dans lesquelles des gènes sont épigénétiquement dérégulés par des facteurs d'environnement et sont pour cette raison responsables du risque accru de maladie. Dans les paragraphes suivants, des exemples choisis illustrent ce propos et apportent la preuve de concept que des facteurs environnementaux communs (comportement, apport alimentaire) en modifiant très précocement le programme épigénétique normal, créent les conditions pour la survenue ultérieure et tardive (chez l'adulte vieillissant) de pathologies communes.

Stress postnatal précoce, modifications épigénétiques et pathologie chez l'adulte

L'activation de l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien (HHS) (glucocorticoïdes, adrénaline) et du système sympathique catécholaminergique est essentielle pour assurer la mobilisation de substrats métaboliques en situation de besoin énergétique et augmenter le flux sanguin. Les glucocorticoïdes protègent aussi contre le risque infectieux. Les glucocorticoïdes et les catécholamines affectent les fonctions cérébrales en particulier en augmentant le processus cognitif et la mémorisation des stimuli associés à un stress. De cette façon, ils augmentent les capacités de l'animal à exprimer un comportement d'évitement. Il s'agit là à l'évidence d'une réponse physiologique adaptative, et chez les individus confrontés à une adversité chronique (pathogènes, manque de nourriture, violence physique, prédation), l'amplification de la réponse HHS est à l'évidence avantageuse, en dépit de contraintes métaboliques obligatoires (hyperglycémie, hypertension, stockage de lipides, contra-régulation insulinique).

La réponse au stress chez l'adulte est soumise à une programmation pré- et postnatale [55,56]. Parmi les influences postnatales, la nature et la quantité de soins qu'un petit reçoit de sa mère conditionnent sa réaction au stress plus tard à l'âge adulte. Cet effet repose essentiellement sur

le fonctionnement des récepteurs aux glucocorticoïdes (GR) présents dans l'hippocampe [55].

Chez le rat, certaines femelles ont spontanément un comportement maternel optimal qui se traduit par de fréquents léchages/toilettages des nouveau-nés (mères dites *high-LG*, pour *licking/grooming*); d'autres ont au contraire un faible comportement maternel (mères dites *low-LG*) [57].

Weaver et al. [58] ont trouvé que les descendants adultes (F1) des mères *high-LG* étaient moins anxieux, avaient une sécrétion atténuée de corticostérone en réponse à un stress de contrainte et une expression hippocampique de GR (mARN et protéine) accrue, par comparaison aux descendants de mères *low-LG* (Fig. 7). L'augmentation des mARN de GR implique spécifiquement le variant *GR1₇* qui résulte d'un épissage alternatif du gène. Le promoteur qui pilote l'expression de ce variant est cerveau-spécifique et il renferme une séquence de fixation pour le *nerve growth factor inducible factor A* (NGFI-A) dont l'expression est elle-même up-régulée chez les petits issus de mères *high-LG* (Fig. 7). L'échange croisé à la naissance des portées entre mères *high-LG* et mères *low-LG* annule le phénotype, ce qui suggère que la relation entre la qualité des soins maternels et le développement de la réponse HHS est directe [55]. Enfin, quand on corrige l'effet sur le niveau d'expression du GR hippocampique, on élimine l'influence des soins maternels reçus précocement sur la réponse HHS au stress [55].

Weaver et al. [58] ont comparé l'état de méthylation des îlots CpG localisés au niveau de la région de liaison du NGFI-A sur le promoteur *GR1₇* chez les descendants de mères *high-LG* ou mères *low-LG*. Les descendants de mères *low-LG* montrent une forte augmentation de la méthylation au niveau de ces îlots (Fig. 7). Cette différence de méthylation apparaît la première semaine de la naissance et persiste tout au long de la vie adulte. À l'âge adulte les descendants de mères *low-LG* ont un handicap moléculaire puisque la méthylation de leur promoteur *GR1₇* empêche la fixation de NGFI-A et bloque efficacement la transcription du gène *GR*. L'échange croisé des portées à la naissance entre mères *high-LG* et *low-LG* inverse les différences de méthylation du promoteur *GR1₇*. Bien que ce changement épigénétique de méthylation soit de longue durée, on peut néanmoins le gommer en traitant les petits issus de mères *low-LG* avec la trichostatine, un inhibiteur des HDAC de classes 1 et 2 : le traitement augmente l'acétylation des histones H3, la déméthylation des cytosines et la fixation de NGFI-A sur le promoteur *GR1₇*. Dans une étude ultérieure les auteurs ont examiné les effets sur ce modèle, de l'administration centrale (canule intraventriculaire) de méthionine, ce qui augmente la disponibilité en SAM, un donneur de méthyl [60]. L'administration de méthionine à des adultes issus de mères *high-LG*, accroît le degré de méthylation des îlots CpG de l'élément de réponse à NGFI-A, diminue l'acétylation de H3-K9, la fixation de NGFI-A, l'expression du GR hippocampique et exacerbe la sécrétion de corticostérone en réponse à un stress calibré. Aucun effet de la méthionine n'était observé en revanche chez des adultes issus de mères *low-LG*. Ces données importantes accréditent donc l'existence d'un lien fonctionnel causal entre l'état de méthylation de l'élément de réponse au NGFI-A au niveau du promoteur *GR1₇* et l'expression du GR au sein de l'hippocampe.

Alors que la méthylation de l'ADN était jusqu'à récemment vue comme une marque épigénétique irréversible, cette étude a démontré que les patrons de méthylation de l'ADN pouvaient être modifiés, au moins dans certains cas et même dans des neurones adultes. Une autre idée importante illustrée par la réversibilité de la méthylation de

l'ADN obtenue après traitement par un inhibiteur de HDAC, est qu'il existe une interdépendance entre les modifications des histones et la méthylation de l'ADN. Il a été proposé qu'une augmentation de l'acétylation des histones du fait du recrutement de HATs consécutif à l'activation par certains seconds messagers, pourrait faciliter l'accès des ADN déméthylases au promoteur *GR*.

Ces données chez le rat, spectaculaires, sont extrapolables dans une certaine mesure à l'espèce humaine, puisque l'association entre l'exposition précoce à l'adversité chez l'enfant et la présence de marques épigénétiques plus tard dans la vie, a pu être décrite [61,62]. McGowan et al. [62] ont mesuré le degré de méthylation de certains promoteurs de gènes qui codent pour des rARN dans le cerveau de personnes suicidées. Un excès de méthylation de ces gènes et un déficit de rARN ont été trouvés chez les suicidés qui avaient subi dans leur enfance des abus sexuels, par comparaison avec des suicidés qui n'avaient pas subi ce type d'agression pendant leur enfance [62]. McGowan et al. ont aussi comparé l'état de l'exon *GR1₇* du promoteur de *GR* entre les deux groupes de suicidés. Ils relèvent des différences de méthylation qui sont associées à une réduction de l'expression du GR chez les suicidés qui ont dû affronter des abus pendant leur enfance [61].

Nutrition précoce, modifications épigénétiques et pathologie chez l'adulte

Nombreux sont les exemples montrant qu'une modification de l'alimentation maternelle pendant gestation ou juste après la mise bas, induit des changements de méthylation globale de l'ADN chez le descendant : ils sont décrits chez le mouton après supplémentation en vitamine B et méthionine pendant la période péri-conceptionnelle [63]; la supplémentation du régime en donneurs de méthyl pendant la gestation chez la souris entraîne la méthylation de gènes impliqués dans les pathologies respiratoires [64]; la restriction protéique chez la mère pendant la gestation modifie le niveau de méthylation du promoteur de *GR* [65], de PPAR α [66], et du récepteur de l'angiotensine [67] et ces changements sont associés à chaque fois à des changements dans l'expression des gènes concernés.

Des études récentes rapportent que dans l'espèce humaine aussi, le régime alimentaire de la mère peut modifier les marques épigénétiques : les individus qui ont été exposés in utero à la sous-nutrition pendant la famine hollandaise montrent à l'âge adulte des modifications de méthylation du gène de l'IGF2 dans les globules blancs [68].

Le point faible commun à toutes ces études descriptives est qu'elles ne permettent pas d'établir une relation de cause à effet entre modification des marques épigénétiques au niveau d'un gène candidat, modifications du niveau de transcription du gène concerné et conséquence fonctionnelle de ces modifications.

Le travail du groupe de Simmons apporte lui des données chez l'animal beaucoup plus convaincantes et significatives sur ce point crucial [69]. Il est l'un des premiers à établir une séquence d'événements au cours desquels des modifications épigénétiques induites par l'environnement utérin défectueux (RCIU, retard de croissance intra-utérin) induit expérimentalement chez le rat normal sans prédisposition génétique au diabète de type 2) vont progressivement s'accumuler au niveau d'un gène précis, crucial pour le

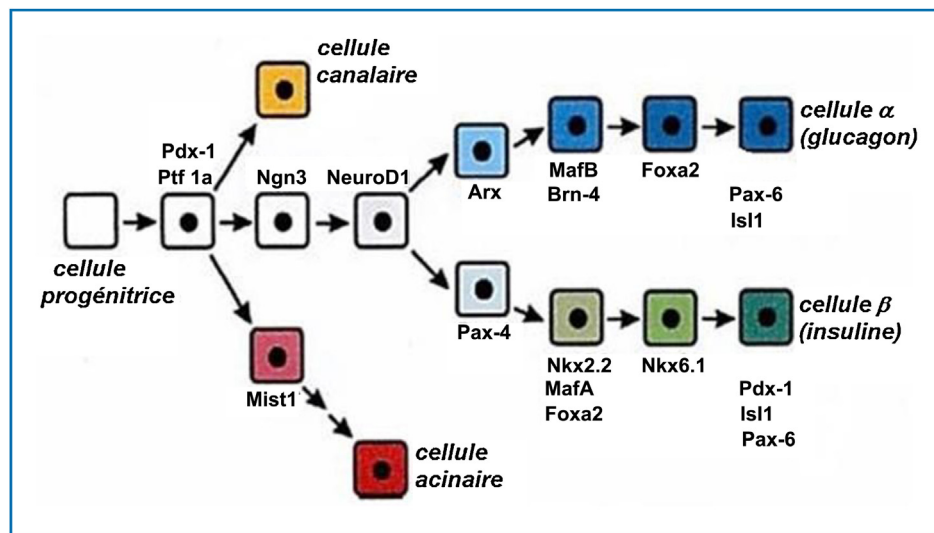


Figure 8. PDX1 et cellules bêta-pancréatiques.

Le facteur de transcription Pdx1 est une homéoprotéine qui joue un rôle central et très précoce au cours du développement normal du pancréas et de la différenciation des cellules bêta. Il est aussi essentiel à l'âge adulte pour la survie et le maintien de la fonctionnalité des cellules bêta (en particulier pour la transcription du gène de l'insuline). Le promoteur de *Pdx1* est une cible de choix pour d'éventuelles modifications épigénétiques, puisqu'il contient des îlots CG conservés et qu'il est entouré d'histones fortement acétylées.

maintien de la production de l'insuline, entraîner le dysfonctionnement de ce gène et rendre in fine possible l'installation du diabète de type 2 [70–72].

En utilisant un modèle de RCIU obtenu par ligatures des artères utérines chez la rate gestante, Simmons et al. ont d'abord montré que les descendants (F1) développaient tous progressivement et tardivement un diabète de type 2, dont l'apparition était liée à l'effondrement progressif dès la vie postnatale du nombre des cellules bêta-pancréatiques et de la sécrétion de l'insuline. Ces deux dernières caractéristiques étaient associées chronologiquement à la diminution progressive de l'expression du facteur de transcription PDX1 dans les îlots pancréatiques : l'expression était diminuée de 50% chez les fœtus en fin de vie intra-utérine et de 80% chez les descendants adultes. Le déficit d'expression de PDX1 précédant l'apparition des anomalies bêta-cellulaires et son aggravation au cours du temps évoluant de façon parallèle, on est en droit de penser que le déficit précoce et durable de PDX1 est en première ligne dans l'installation de la séquence pathogène qui mènera plus tard au diabète. On sait en effet que l'inactivation spécifique homozygote et ciblée du gène *Pdx1* chez la souris (*Pdx1*^{-/-}) entraîne une agénésie pancréatique et l'absence de cellules bêta, et que des mutations homozygotes touchant le locus *Pdx1* chez l'homme ont le même type de conséquences [73] (Fig. 8). Des réductions moins drastiques de l'expression de Pdx1 telles que celles obtenues chez la souris *Pdx1* ± permettent le développement pratiquement normal des cellules bêta, mais en revanche la sécrétion de l'insuline par ces cellules en réponse au glucose devient très faible [73]. Les sujets humains qui présentent des mutations non-sens hétérozygotes de *Pdx1* développent aussi des formes de diabète de type 2, tardives ou précoces [73]. Enfin, une diminution même modeste de l'expression de Pdx1 bloque la réponse compensatrice bêta induite par l'insulinorésistance [74–76]. Ces données indiquent donc que *Pdx1* joue un rôle central dans le fonctionnement normal (croissance, survie, fonction sécrétoire) des cellules bêta [73]. Or, le promoteur de *Pdx1* est une cible de choix pour d'éventuelles modifications épigénétiques puisqu'il contient des îlots CpG

conservés et qu'il est entouré d'histones fortement acétylées.

En reprenant leur modèle de RCIU chez le rat, Simmons et al. ont trouvé que les histones H3 et H4 présentes au niveau du promoteur *Pdx1* dans les îlots pancréatiques fœtaux, étaient partiellement déacétylées et que la fixation du facteur USF1 (*upstream stimulatory factor-1*) au promoteur *Pdx1* était perdue (Fig. 9). USF1 est un facteur activateur de la transcription de Pdx1 et en absence de liaison d'USF1, la transcription de Pdx1 chute, mais ne s'annule pas. Cela tient au recrutement d'histone déacétylases (HDAC1) et d'un co-répresseur appelé mSin3A (mammalian Sin 3) [69]. Après la naissance, la déacétylation des histones s'aggrave et est alors accompagnée d'une perte de méthylation de H3K4me3 et d'une augmentation de méthylation de H3K9me2 (Fig. 9). La triméthylation de H3K4 correspond habituellement à une activation de la transcription génique, alors que la diméthylation de H3K9 est considérée comme une marque répressive pour la transcription. À ce stade précoce (2 semaines après la naissance) il n'y a pas de méthylation des CpG du promoteur *Pdx1*. La modification des marques épigénétiques des histones est donc à elle-seule responsable de l'inactivation de *Pdx1* qui à ce stade, n'est encore que partielle. Il est important de retenir que ces modifications épigénétiques ne sont cependant pas irréversibles, puisque un traitement *in vitro* des îlots pancréatiques nouveau-nés par la trichostatine A ramène à la normale la quantité de H3K4me3 présente sur le promoteur de *Pdx1* [69]. À l'âge adulte (six mois) une méthylation *de novo* des îlots CpG du promoteur *Pdx1* devient détectable et est corrélée avec une extinction complète de la transcription de *Pdx1* (Fig. 9). Les auteurs proposent que la méthylation de l'ADN soit une conséquence de la méthylation de H3K9. Il est en effet montré que la méthylation de H3K9 précède les modifications du niveau de méthylation de l'ADN [77] et peut favoriser la fixation de ADN méthyltransférases spécifiques telle que DNMT3A, ce qui in fine induit le blocage complet de la transcription du gène [78].

Des modifications épigénétiques du même ordre ont pu être associées avec la diminution de l'expression du

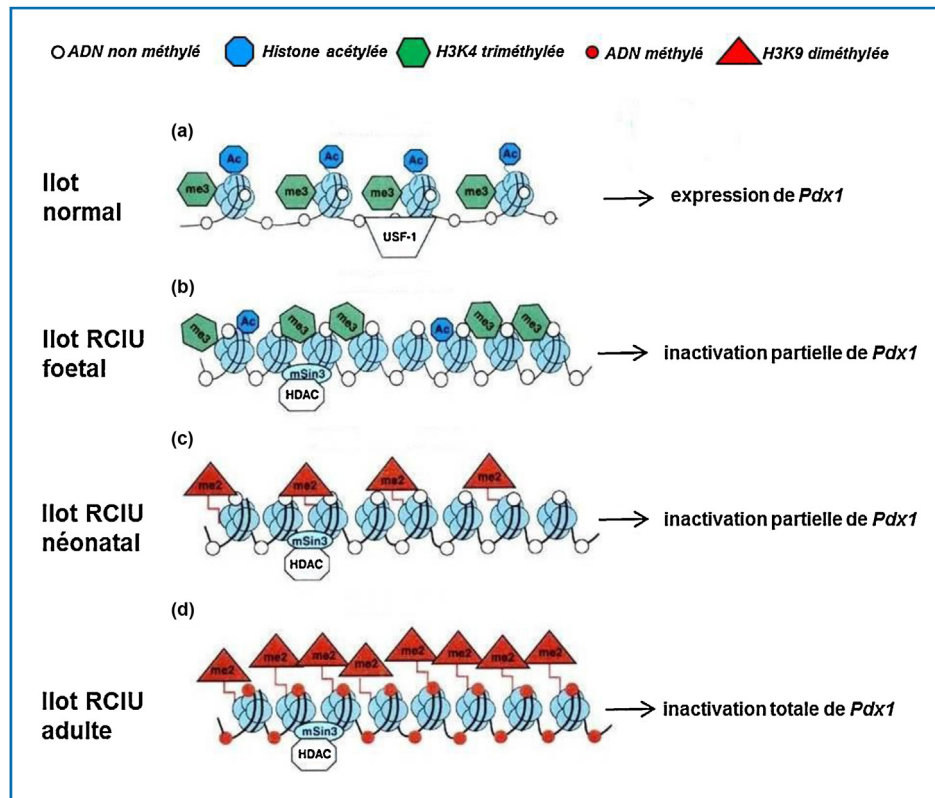


Figure 9. Le risque de diabète dans la descendance est programmé épigénétiquement par le retard de croissance intra-utérin. Chez le rat, les descendants (F1) ayant subi un retard de croissance intra-utérin (RCIU) (obtenu par ligatures des artères utérines chez la rate gestante), développent tous progressivement et tardivement un diabète de type 2, dont l'apparition est liée à l'effondrement progressif dès la vie postnatale du nombre des cellules bêta-pancréatiques et de la sécrétion de l'insuline. Ces deux dernières caractéristiques sont associées chronologiquement à la diminution progressive de l'expression du facteur de transcription PDX1 dans les îlots pancréatiques. Le déficit d'expression de PDX1 précède l'apparition des anomalies bêta-cellulaires et son aggravation au cours du temps évolue de façon parallèle. Dans les îlots pancréatiques normaux, le promoteur proximal de *Pdx-1* se trouve au sein d'une chromatine en configuration ouverte, non méthylée, permettant l'accès de divers facteurs de transcription dont USF1 qui est un facteur activateur de la transcription de *Pdx1*, et s'y trouve associé avec des histones H3 et H4 acétylées et H3 triméthylées (me3H3K4). Dans les îlots pancréatiques fœtaux RCIU (b), les histones H3 et H4 présentes au niveau du promoteur *Pdx1* sont partiellement déacétylées et la fixation du facteur USF1 (upstream stimulatory factor-1) au promoteur *Pdx1* est perdue. Cela est corrélé avec le recrutement d'histone déacétylases (HDAC1) et d'un co-répresseur appelé mSin3A (mammalian Sin 3). Le bilan se traduit par une diminution (sans disparition) de l'expression de *Pdx1*. Après la naissance (2 semaines) (c), la déacétylation des histones s'aggrave et est alors accompagnée d'une perte de méthylation de H3K4me3 et d'une augmentation de méthylation de H3K9 (me2H3K9) (c). La triméthylation de H3K4 correspond habituellement à une activation de la transcription génique, alors que la diméthylation de H3K9 est considérée comme une marque répressive pour la transcription. La modification des marques épigénétiques des histones est donc à elle-seule responsable de l'inactivation de *Pdx1* qui à ce stade, n'est encore que partielle. À l'âge adulte (six mois) (d), une méthylation de novo des îlots CG du promoteur *Pdx1* devient détectable et est corrélée avec une extinction complète de la transcription de *Pdx1*. Adapté d'après la référence [79].

transporteur de glucose Glut4 dans les muscles squelettiques de rats RCIU adultes [79] ou chez les rats dont les mères avaient subi une restriction calorique pendant la gestation et l'allaitement [80].

Finalement, ces études élégantes apportent la démonstration que des mécanismes épigénétiques induits par un environnement fœtal particulier peuvent être moteur dans l'apparition progressive des anomalies de transcription génique et ainsi faire le lit d'une pathologie métabolique chez l'adulte (ici, le diabète de type 2). Bien évidemment, elles soulèvent une multitude de questions qui restent aujourd'hui sans réponse : quel composant dans l'environnement métabolique fœtal déclenche la cascade de modifications épigénétiques ? ; quel mécanisme contribue à la méthylation progressive de l'ADN au cours du vieillissement ? ; existe-t-il des modèles similaires de régulation génique dans d'autres modèles animaux de stress

métabolique périnatal ? , dans d'autres tissus que le pancréas endocrine ? , dans l'espèce humaine ?

On pourrait retenir en première lecture que ces données conduisent à un certain pessimisme : le risque de diabète est programmé dès la vie prénatale et donc ce risque est probablement irrémédiable. Ce n'est sans doute pas exact car les études chez les modèles animaux s'accumulent et montrent qu'il existe des fenêtres temporelles au cours desquelles la plasticité tissulaire est encore suffisante pour rendre efficace une intervention visant à réduire le risque pathogène. Par exemple, dans le modèle RCIU, il a été montré que les marques épigénétiques délétères peuvent être gommées (et le risque de diabète à long terme, annulé) en intervenant pharmacologiquement peu après la naissance (plus loin, modifications des marques épigénétiques et phénotype associé : réversibles ?) [72,81,82].

Modifications des marques épigénétiques et phénotype associé : transmissibles ?

Un certain nombre d'études suggèrent qu'il existe une transmission non génomique entre générations des phénotypes acquis à la suite d'une exposition précoce mais temporaire à un environnement donné et que ce mécanisme pourrait contribuer à la propagation intergénérationnelle des maladies de l'adulte [54]. Ainsi, une étude épidémiologique portant sur les hommes nés à Överkalix dans le nord de la Suède en 1890, 1905 et 1920, a montré que la mortalité par diabète était accrue lorsque le grand-père paternel avait bénéficié d'une alimentation abondante tout au long de la croissance pré-pubertaire [83,84]. À l'opposé, la sous-alimentation maternelle est elle aussi associée à un risque accru de diabète de type 2 chez les descendants et sur plusieurs générations [85] : c'est vrai chez les indiens nord-américains et chez les hollandais dont les grands-parents ont subi in utero une sous-nutrition consécutive à la famine lors de la Seconde Guerre Mondiale [86]. Par ailleurs, l'exposition des femmes enceintes au diéthylstilbestrol est connue pour provoquer une augmentation des anomalies de l'appareil reproducteur chez leurs filles, pas seulement dans la F1 mais aussi jusqu'à la F3 : il s'agit donc d'un effet transgénérationnel transmis via la lignée maternelle [87].

Les données obtenues avec des modèles de rongeurs corroborent cette idée que certains phénotypes induits peuvent en effet passer au-delà de la F1 et persister pendant plusieurs générations, par un mécanisme non génomique. Chez le rat, l'alimentation des mères pendant la gestation (F0) avec un régime pauvre en protéine entraîne une élévation de la pression artérielle, un dysfonctionnement endothélial et une insulino-résistance chez les individus des générations F1 et F2, et cela malgré une alimentation adéquate des femelles F1 durant leur gestation [88–90]. L'intolérance glucidique caractéristique des descendants F1 de mères alimentées pendant leur gestation avec un régime pauvre en protéine, a été retrouvée aussi chez les descendants F2 et F3 [91]. L'administration de dexaméthasone en fin de gestation chez la rate provoque une augmentation de l'expression du GR et de la PEPCK dans le foie des descendants F1, F2, mais pas au-delà (pas d'augmentation dans la F3) [92]. Cela suggère que la transmission non génomique des phénotypes acquis n'est probablement pas une règle et que tout étude destinée à évaluer l'héritabilité éventuelle des marques épigénétiques nécessite d'inclure au moins les trois premières générations de descendants (F1,F2,F3) [28].

Le mécanisme de l'héritabilité des marques épigénétiques induites n'est pas connu. Quand la transmission s'arrête à la F2, on ne peut exclure a priori un effet direct du régime alimentaire donné à la mère F0 sur les cellules germinales qui donneront naissance à la F2. Une transmission de la F1 à la F2 et au-delà, implique la mise en place dans la lignée germinale de modifications des marques épigénétiques qui devraient ensuite être gardées intactes. Pour ce faire, elles devraient en particulier échapper à la déméthylation pan-génomique caractéristique qui se produit normalement au moment de la fécondation, par exemple par des mécanismes du type de ceux qui maintiennent la méthylation des gènes soumis à empreinte [93]. Il est aussi possible que la contrainte prénatale primitive induise des changements physiologiques chez la femelle F1 qui seront à l'origine de modifications de l'environnement intra-utérin à la gestation suivante et à leur tour, provoqueront l'apparition de nouvelles (ou des

mêmes) marques épigénétiques. Un tel scénario est en effet réaliste chez le rongeur : la malnutrition maternelle chez le rat entraîne une diminution de la masse bêta chez les femelles F1 ; ces femelles F1 nourries normalement vont néanmoins développer un diabète gestationnel du fait de leur déficit en cellules bêta ; l'hyperglycémie gestationnel chez les F1 va à son tour entraîner une diminution de la masse bêta chez les femelles F2 et ce cycle peut se répéter à l'identique sur plusieurs générations [94–96]. Dans ce cas-là, l'héritabilité du phénotype morbide impliquerait l'induction de novo des modifications épigénétiques à chaque génération. Enfin, l'importance de l'effet induit, épigénétique ou phénotypique, pourrait être néanmoins plus variable d'une génération à l'autre.

Modifications des marques épigénétiques et phénotype associé : réversibles ?

L'identification des mécanismes épigénétiques qui conditionnent l'induction des maladies de l'adulte par les contraintes environnementales prénatales, laisse espérer la possibilité d'interventions à visée thérapeutique. La validité de ce type de stratégie a été testée sur des modèles animaux appropriés en utilisant des hormones telles que la leptine [97] ou l'exendin-4 [72], ou encore des micronutriments impliqués dans le métabolisme de radicaux méthyles. Le mérite de ces expériences est d'avoir apporté la preuve que le concept est viable ; elles ont aussi permis d'identifier les bénéfices et les écueils possibles à prendre en compte dans une perspective de prévention de la maladie.

À titre d'illustration, les données récentes obtenues avec l'utilisation de l'exendine-4 (Ex4) dans la prévention du risque de diabète de type 2, méritent d'être détaillées. Ex4 est un analogue de longue durée d'action de l'hormone intestinale GLP1 et elle est couramment utilisée pour la thérapie des diabètes de type 2 chez l'homme. Dans une première étape, Simmons et al. ont montré que l'administration de Ex4 in vivo pendant la période postnatale lorsque les animaux ne sont pas encore hyperglycémiques mais souffrent déjà d'un déficit partiel en cellules bêta, prévient la survenue du diabète chez les rats RCIU. La prévention du diabète dans ce cas-là est due à la restauration de l'expression de Pdx1 et à la normalisation de la masse bêta [72]. Ils viennent de montrer que Ex4 interrompt l'enchaînement néfaste des modifications épigénétiques induites par le RCIU [82]. Ex4 en activant sa phosphorylation, restaure la capacité de USF1 à se fixer au promoteur Pdx1. En outre, les niveaux d'acétylation des histones et de méthylation de H3K4 redeviennent normaux, ce qui empêche en retour la méthylation de H3K9 et la méthylation de l'ADN. En augmentant l'activité des histone acétyltransférases (HATs), Ex4 corrige donc les modifications épigénétiques induites par le RCIU et ramène à la normale l'expression de Pdx1.

La méthylation de l'ADN et des histones est évidemment étroitement liée aux voies métaboliques qui fournissent les groupes méthyl aux différentes méthyltransférases. Des expériences de suppléments en donneurs de méthyl ont donc été réalisées dans divers modèles animaux. Lorsque des souris gestantes agouti sont supplémentées en vitamine B12, choline, et bétaine, on enregistre une diminution de la prévalence de l'obésité chez descendants agouti viable yellow (Avy), due à une augmentation de la méthylation des îlots CpG du locus A^{vy} [98]. De façon analogue, la supplémentation en génistéine (un phytoestrogène présent dans

le soja) induit une hyperméthylation des CpG du locus A^V et protège les descendants F1 de l'obésité [99]. Chez les mères gestantes recevant un régime pauvre en protéine, la supplémentation par l'acide folique prévient la dyslipidémie chez les descendants adultes F1 [100], ou encore l'hypométhylation des promoteurs PPAR α and GR dans le foie [101]. En revanche, la même supplémentation par l'acide folique lorsqu'elle est réalisée chez les femelles gestantes sur la base d'un régime normal, entraîne une détérioration de la dysfonction endothéliale et une dyslipidémie dans la F1 [100,102].

Dans l'espèce humaine, un statut maternel carencé en vitamine B12 est en général associé avec un petit poids de naissance et une insulino-résistance chez les descendants F1 [103,104]. Lorsque le statut maternel en B12 est plutôt excessif, l'adiposité est accrue chez les descendants F1 et une insulino-résistance est aussi présente [104]. Quant à la supplémentation en micronutriments, elle a donné des résultats très variables d'un groupe humain à l'autre et le bénéfice escompté n'est pas toujours obtenu [105,106]. La supplémentation systématique n'est donc pas actuellement justifiée, ni souhaitable.

Enfin, plusieurs inhibiteurs pharmacologiques de la méthylation de l'ADN et des modulateurs des DNMT sont disponibles. Le procainamide par exemple qui est utilisé largement comme anti-arythmique, est un inhibiteur des DNMT et il provoque une hypométhylation de l'ADN. L'hydralazine, utilisée en clinique comme vasodilatateur périphérique pour le traitement des hypertensions, est également un agent hypométhyliant. L'acide valproïque, utilisé largement comme antiépileptique et stabilisateur de l'humeur, est quant à lui un inhibiteur de HDAC (histone déacétylases).

Pour revenir au domaine de l'alimentation, il a été rapporté que la consommation accrue de crucifères entraînait une modification de l'épigénome en rapport avec la richesse naturelle de ces végétaux en inhibiteurs de HDAC. Par exemple, le disulfure de diallyle de l'ail et le sulforaphane du brocoli sont des inhibiteurs des HDAC de classes I et II [107]. Le butyrate, issu de la fermentation des fibres alimentaires et qui représente le substrat énergétique majeur des cellules épithéliales du côlon est lui aussi un inhibiteur de HDAC. D'autres composés d'origine alimentaire peuvent modifier l'activité HDAC de façon différente : le resvératrol, un polyphénol du vin rouge, active SIRT1, une protéine de la famille des sirtuines, acteurs importants de l'inactivation des gènes [108] ; l'épigallocatechin-3-gallate, polyphénol majoritaire dans le thé vert, inhibe les DNMT et réveille l'activité de certains gènes rendus silencieux auparavant par méthylation [109].

Conclusions

Il existe maintenant un certain nombre de faits convergents qui accèdent l'idée que des composés présents dans l'environnement (aliments ou polluants) peuvent 1/modifier l'épigénome sans altérer les séquences de l'ADN, 2/induire des modifications du phénotype, significatives, permanentes et transgénérationnelles. La mise en place de modifications épigénétiques touchant en particulier la méthylation de l'ADN et l'acétylation/méthylation des histones, permet en effet de créer une « mémoire » de la réponse biologique apportée à la contrainte imposée par l'environnement à un moment donné du développement (notion d'empreinte précoce) [110]. Les conséquences de cette mémoire biologique se font sentir plus tard au cours de la vie, et

peuvent se révéler négatives si l'environnement auquel est exposé l'adulte (en particulier l'environnement nutritionnel) impose des contraintes biologiques nouvelles en décalage avec l'adaptation acquise précocement, autrement dit lorsque la robustesse de l'adaptation précoce est dépassée [110]. Une meilleure connaissance des phénomènes épigénétiques impliqués devrait permettre 1/de trouver des pistes pour corriger les anomalies épigénétiques et intervenir dans un but préventif ou/et curatif, 2/d'identifier à des fins préventives les individus à risque accru.

Déclaration d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

Remerciements

Les études menées au laboratoire B2PE et évoquées dans cette revue ont été financées par le CNRS, l'ANR (programme Prograbeta, n° ANR-06-PHYSIO-028-01), l'association EGIDE (PHC franco-espagnol PICASSO 2008-2009), l'Association Naturalia et Biologia, la Fondation NESTLE-France, l'Association française du diabète (Alfediam/SFD), la région Île-de-France (CORDDIM) et la Société française de nutrition (SFN).

Références

- [1] Barker DJ. Fetal origins of coronary heart disease. *BMJ* 1995;311:171–4.
- [2] Hales CN, Barker DJ, Clark PM, et al. Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64. *BMJ* 1991;303(6809):1019–22.
- [3] Barker DJ. The fetal and infant origins of disease. *Eur J Clin Invest* 1995;25:457–63.
- [4] Barker DJ. In utero programming of chronic disease. *Clin Sci* 1998;95:115–28.
- [5] Gluckman PD, Hanson MA, Cooper C, Thornburg KL. Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease. *N Engl J Med* 2008;359:61–73.
- [6] Hales CN, Barker GJ. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia* 1992;35:444–6.
- [7] Vaag AA, Grunnet LG, Arora GP, et al. The thrifty phenotype hypothesis revisited. *Diabetologia* 2012;55(8):2085–8.
- [8] Lucas A. Programming by early nutrition in man. *Ciba Found Symp* 1991;156:38–50.
- [9] Gluckman PD, Hanson MA. Developmental origins of disease paradigm: a mechanistic and evolutionary perspective. *Pediatr Res* 2004;56:311–7.
- [10] Waterland RA, Garza C. Potential mechanisms of metabolic imprinting that lead to chronic disease. *Am J Clin Nutr* 1999;69:179–97.
- [11] Poulsen P, Vaag AA, Kyvik KO, et al. Low birth weight is associated with NIDDM in discordant monozygotic and dizygotic twin pairs. *Diabetologia* 1997;40:439–46.
- [12] Ravelli AC, van der Meulen JH, Michels RP, et al. Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. *Lancet* 1998;351:173–7.
- [13] Li Y, He Y, Qi L, Jaddoe VW, et al. Exposure to the Chinese famine in early life and the risk of hyperglycemia and type 2 diabetes in adulthood. *Diabetes* 2010;59:2400–6.

- [14] Godfrey KM, Lillycrop KA, Burdge G, et al. Epigenetic mechanisms and the mismatch concept of the developmental origins of health and disease. *Pediatr Res* 2007;61:5R–10R.
- [15] Gluckman PD, Hanson MA. The developmental origins of the metabolic syndrome. *Trends Endocrinol Metab* 2004;15:183e–7e.
- [16] Wallace DC. Bioenergetics and the epigenome: interface between the environment and genes in common diseases. *Dev Disabil Res Rev* 2010;16:114–9.
- [17] Yuan Y, Ferguson LR. Nutrigenetics and prostate cancer: 2011 and beyond. *J Nutrigenet Nutrigenomics* 2011;4:121–36.
- [18] Dipple KM, Phelan JK, McCabe ER. Consequences of complexity within biological networks: robustness and health, or vulnerability and disease. *Mol Genet Metab* 2001;74:45–50.
- [19] Pogribny IP, Ross SA, Wise C, Pogribna M, et al. Irreversible global DNA hypomethylation as a key step in hepatocarcinogenesis induced by dietary methyl deficiency. *Mutat Res* 2006;593:80–7.
- [20] Nan HM, Song YJ, Yun HY, et al. Effects of dietary intake and genetic factors on hypermethylation of the hMLH1 gene promoter in gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2005;11:3834–41.
- [21] Choong MK, Tsafnat G. Genetic and epigenetic biomarkers of colorectal cancer. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012;10(1):9–15.
- [22] Perry AS, Watson RW, Lawler M, et al. The epigenome as a therapeutic target in prostate cancer. *Nat Rev Urol* 2010;7:668–80.
- [23] Kuriakose JS, Miller RL. Environmental epigenetics and allergic diseases: recent advances. *Clin Exp Allergy* 2010;40:1602–10.
- [24] Martino D, Prescott S. Epigenetics and prenatal influences on asthma and allergic airways disease. *Chest* 2011;139:640–7.
- [25] Kaminsky Z, Tochigi M, Jia P, et al. A multi-tissue analysis identifies HLA complex group 9 gene methylation differences in bipolar disorder. *Mol Psychiatry* 2012;17(7):728–40.
- [26] Bell JT, Spector TD. A twin approach to unraveling epigenetics. *Trends Genet* 2011;27:116–25.
- [27] Martinez-Zamudio R, Ha HC. Environmental epigenetics in metal exposure. *Epigenetics* 2011;6:820–7.
- [28] Skinner MK. What is an epigenetic transgenerational phenotype? F3 or F2. *Reprod Toxicol* 2008;25:2e6.
- [29] Guerrero-Bosagna C, Valladares L. Endocrine disruptors, epigenetically induced changes, and transgenerational transmission of characters and epigenetic states. In: Gore EAC, editor. *Endocrine-disrupting chemicals: from basic research to clinical practice*. Totowa, NJ: Humana Press, Inc; 2007. p. 175–89.
- [30] Brisson D. The directed mutation controversy in an evolutionary context. *Crit Rev Microbiol* 2003;29:25–35.
- [31] Lenski RE, Mittler JE. The directed mutation controversy and neo-Darwinism. *Science* 1993;259:188–94.
- [32] Haig D. The (dual) origin of epigenetics. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 2004;69:67–70.
- [33] Bird A. Perceptions of epigenetics. *Nature* 2007;447:396–8.
- [34] Tsankova N, Renthal W, Kumar A, et al. Epigenetic regulation in psychiatric disorders. *Nat Rev Neurosci* 2007;8(5):355–67.
- [35] Rakan VK, Preis J, Morgan HD, et al. The marks, mechanisms and memory of epigenetic states in mammals. *Biochem J* 2001;356:1–10.
- [36] Kelley RL, Meller VH, Gordadze PR, et al. Epigenetic spreading of the *Drosophila* dosage compensation complex from roX RNA genes into flanking chromatin. *Cell* 1999;98:513–22.
- [37] Illingworth RS, Bird AP. CpG islands - 'A rough guide'. *FEBS Lett* 2009;583:1713–20.
- [38] Ching TT, Maunakea AK, Jun P, et al. Epigenome analyses using BAC microarrays identify evolutionary conservation of tissue-specific methylation of SHANK3. *Nat Genet* 2005;37:645–51.
- [39] Shen L, Kondo Y, Guo Y, et al. Genome-wide profiling of DNA methylation reveals a class of normally methylated CpG island promoters. *PLoS Genet* 2007;3:2023–36.
- [40] Ooi SK, O'Donnell AH, Bestor TH. Mammalian cytosine methylation at a glance. *J Cell Sci* 2009;122:2787–91.
- [41] Heerwagen MJ, Miller MR, Barbour LA, et al. Maternal obesity and fetal metabolic programming: a fertile epigenetic soil. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2010;299(3):R711–22.
- [42] Jirtle RL, Skinner MK. Environmental epigenomics and disease susceptibility. *Nat Rev Genet* 2007;8:253–62.
- [43] Reik W. Stability and flexibility of epigenetic gene regulation in mammalian development. *Nature* 2007;447:425–32.
- [44] Weber M, Davies JJ, Wittig D, et al. Chromosome-wide and promoter specific analyses identify sites of differential DNA methylation in normal and transformed human cells. *Nat Genet* 2005;37:853–62.
- [45] Rakan VK, Down TA, Thorne NP, et al. An integrated resource for genome-wide identification and analysis of human tissue-specific differentially methylated regions (tDMRs). *Genome Res* 2008;18:1518–29.
- [46] Lister R, Pelizzola M, Dowen RH, et al. Human DNA methylomes at base resolution show widespread epigenomic differences. *Nature* 2009;462:315–22.
- [47] Margueron R, Reinberg D. Chromatin structure and the inheritance of epigenetic information. *Nat Rev Genet* 2010;11:285–96.
- [48] Kuo MH, Allis CD. Roles of histone acetyltransferases and deacetylases in gene regulation. *Bioessays* 1998;20:615–26.
- [49] Jenuwein T, Allis CD. Translating the histone code. *Science* 2001;293:1074–80.
- [50] Zhang Y, Reinberg D. Transcription regulation by histone methylation: interplay between different covalent modifications of the core histone tails. *Genes Dev* 2001;15:2343–60.
- [51] Cloos PA, Christensen J, Agger K, et al. Erasing the methyl mark: histone demethylases at the center of cellular differentiation and disease. *Genes Dev* 2008;22:1115–40.
- [52] Vakoc CR, Mandat SA, Olenchok BA, et al. Histone H3 lysine 9 methylation and HP1g are associated with transcription elongation through mammalian chromatin. *Mol Cell* 2005;19:381–91.
- [53] Bateson P, Barker D, Clutton-Brock T, et al. Developmental plasticity and human health. *Nature* 2004;430:419–21.
- [54] Gluckman PD, Hanson MA, Beedle AS. Early life events and their consequences for later disease: a life history and evolutionary perspective. *Am J Hum Biol* 2007;19:1–19.
- [55] Meaney MJ, Szyf M, Seckl JR. Epigenetic mechanisms of perinatal programming of hypothalamic-pituitary-adrenal function and health. *Trends Mol Med* 2007;13(7):269–77.
- [56] Meaney MJ. Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. *Annu Rev Neurosci* 2001;24:1161–92.
- [57] Champagne FA, Francis DD, Mar A, et al. Variations in maternal care in the rat as a mediating influence for the effects of environment on development. *Physiol Behav* 2003;79(3):359–71.
- [58] Weaver IC, Cervoni N, Champagne FA, et al. Epigenetic programming by maternal behavior. *Nat Neurosci* 2004;7:847–54.
- [59] Hackman DA, Farah MJ, Meaney MJ. Socioeconomic status and the brain: mechanistic insights from human and animal research. *Nat Rev Neurosci* 2010;11(9):651–9.
- [60] Weaver IC, Champagne FA, Brown SE, et al. Reversal of maternal programming of stress responses in adult offspring through methyl supplementation: altering epigenetic marking later in life. *J Neurosci* 2005;25(47):11045–54.
- [61] McGowan PO, Sasaki A, D'Alessio AC, et al. Epigenetic regulation of the glucocorticoid receptor in human brain associates with childhood abuse. *Nat Neurosci* 2009;12:342–8.
- [62] McGowan PO, Sasaki A, Huang TC, et al. Promoter-wide hypermethylation of the ribosomal RNA gene promoter in the suicide brain. *PLoS ONE* 2008;3:e2085.
- [63] Sinclair KD, Allegrucci C, Singh R, et al. DNA methylation, insulin resistance, and blood pressure in offspring determined by maternal periconceptional B vitamin and methionine status. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:19351–6.

- [64] Hollingsworth JW, Maruoka S, Boon K, et al. In utero supplementation with methyl donors enhances allergic airway disease in mice. *J Clin Invest* 2008;118:3462–9.
- [65] Lillycrop KA, Phillips ES, Jackson AA, et al. Dietary protein restriction of pregnant rats induces and folic acid supplementation prevents epigenetic modification of hepatic gene expression in the offspring. *J Nutr* 2005;135:1382–6.
- [66] Lillycrop KA, Phillips ES, Torrens C, et al. Feeding pregnant rats a protein-restricted diet persistently alters the methylation of specific cytosines in the hepatic PPAR alpha promoter of the offspring. *Br J Nutr* 2008;100:278–82.
- [67] Bogdarina I, Welham S, King PJ, et al. Epigenetic modification of the renin angiotensin system in the fetal programming of hypertension. *Circ Res* 2007;100:520–6.
- [68] Heijmans BT, Tobi EW, Stein AD, et al. Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:17046–9.
- [69] Park JH, Stoffers DA, Nicholls RD, et al. Development of type 2 diabetes following intrauterine growth retardation in rats is associated with progressive epigenetic silencing of Pdx1. *J Clin Invest* 2008;118:2316–24.
- [70] Simmons RA, Templeton L, Gertz S, et al. Intrauterine growth retardation leads to type II diabetes in adulthood in the rat. *Diabetes* 2001;50:2279–86.
- [71] Simmons RA, Saponitsky-Kroyter I, Selak MA. Progressive accumulation of mitochondrial DNA mutations and decline in mitochondrial function lead to beta-cell failure. *J Biol Chem* 2005;280:28785–91.
- [72] Stoffers DA, Desai BM, DeLeon DD, et al. Neonatal exendin-4 prevents the development of diabetes in the intrauterine growth retarded rat. *Diabetes* 2003;52(3):734–40.
- [73] Bernardo AS, Hay CW, Docherty K. Pancreatic transcription factors and their role in the birth, life and survival of the pancreatic beta cell. *Mol Cell Endocrinol* 2008;294:1–9.
- [74] Brissova M, Blaha M, Spear C, et al. Reduced PDX-1 expression impairs islet response to insulin resistance and worsens glucose homeostasis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005;288:E707–14.
- [75] Kulkarni RN, Jhala US, Winnay JN, et al. PDX-1 haploinsufficiency limits the compensatory islet hyperplasia that occurs in response to insulin resistance. *J Clin Invest* 2004;114:828–36.
- [76] Holland AM, Gonez LJ, Naselli G, et al. Conditional expression demonstrates the role of the homeodomain transcription factor Pdx1 in maintenance and regeneration of beta-cells in the adult pancreas. *Diabetes* 2005;54:2586–95.
- [77] Li H, Rauch T, Chen ZX, et al. The histone methyltransferase SETDB1 and the DNA methyltransferase DNMT3A interact directly and localize to promoters silenced in cancer cells. *J Biol Chem* 2006;281(28):19489–500.
- [78] Kouzarides T. Histone methylation in transcriptional control. *Curr Opin Genet Dev* 2002;12(2):198–209.
- [79] Pinney SE, Simmons RA. Epigenetic mechanisms in the development of type 2 diabetes. *Trends Endocrinol Metab* 2010;21(4):223–9.
- [80] Raychaudhuri N, Raychaudhuri S, Thamotharan M, et al. Histone code modification repress glucose transporter 4 expression in the intrauterine growth-restricted offspring. *J Biol Chem* 2008;283:13611–26.
- [81] Jimenez-Chillaron JC, Hernandez-Valencia M, Lightner A, et al. *Diabetologia* 2006;49:1974–84.
- [82] Pinney SE, Jaekle Santos LJ, Han Y, et al. Exendin-4 increases histone acetylase activity and reverses epigenetic modifications that silence Pdx1 in the intrauterine growth retarded rat. *Diabetologia* 2011;54(10):2606–14.
- [83] Kaati G, Bygren LO, Edvinsson S. Cardiovascular and diabetes mortality determined by nutrition during parents' and grandparents' slow growth period. *Eur J Hum Genet* 2002;10:682–8.
- [84] Pembrey ME, Bygren LO, Kaati G, ALSPAC Study Team, et al. Sex-specific, male-line transgenerational responses in humans. *Eur J Hum Genet* 2006;14:159–66.
- [85] Benyshek DC, Martin JF, Johnston CS. A reconsideration of the origins of the type 2 diabetes epidemic among Native Americans and the implications for intervention policy. *Med Anthropol* 2001;20(1):25–64.
- [86] Stein AD, Lumey LH. The relationship between maternal and offspring birth weights after maternal prenatal famine exposure: the Dutch famine birth cohort study. *Hum Biol* 2000;72:641–54.
- [87] Brouwers MM, Feitz WF, Roelofs LA, et al. Hypospadias: a transgenerational effect of diethylstilbestrol? *Hum Reprod* 2006;21:666–9.
- [88] Torrens C, Poston L, Hanson A. Transmission of raised blood pressure and endothelial dysfunction to the F2 generation induced by maternal protein restriction in the F0, in the absence of dietary challenge in the F1 generation. *Br J Nutr* 2008;100:760–6.
- [89] Martin JF, Johnston CS, Han CT, et al. Nutritional origins of insulin resistance: a rat model for diabetes-prone human populations. *J Nutr* 2000;130:741–4.
- [90] Zambrano E, Martinez-Samayoá PM, Bautista CJ, et al. Sex differences in transgenerational alterations of growth and metabolism in progeny (F-2) of female offspring (F-1) of rats fed a low protein diet during pregnancy and lactation. *J Physiol (Lond)* 2005;566:225–36.
- [91] Benyshek DC, Johnston CS, Martin JF. Glucose metabolism is altered in the adequately-nourished grand-offspring (F-3 generation) of rats malnourished during gestation and perinatal life. *Diabetologia* 2006;49:1117–9.
- [92] Drake AJ, Walker BR, Seckl JR. Intergenerational consequences of fetal programming by in utero exposure to glucocorticoids in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005;288:R34–8.
- [93] Lane N, Dean W, Erhardt S, et al. Resistance of IAPs to methylation reprogramming may provide a mechanism for epigenetic inheritance in the mouse. *Genesis* 2003;35:88–93.
- [94] Portha B, Chavey A, Movassat J. Early-life origins of type 2 diabetes: fetal programming of the beta-cell mass. *Exp Diabetes Res* 2011;2011:105076.
- [95] Chavey A, Movassat J, Portha B. Impact and mechanisms of pancreatic beta-cell mass programming by maternal diabetes – insight from animal model studies. In: Miroslav R, editor. *Gestational diabetes*. Rijeka, Croatia: InTech; 2011 [ISBN: 978-953-307-581-5] <http://www.intechopen.com/articles/show/title/impact-and-mechanisms-of-pancreatic-beta-cell-mass-programming-by-maternal-diabetes-insight-from-ani>
- [96] Ah-Kioon MD, Bailbé D, Maulny L, et al. Impact de l'hyperglycémie maternelle sur l'homéostasie glucidique de la descendance à l'âge adulte. 10èmes Journées Francophones de Nutrition. JFN 2012 - Lyon, France - déc 12-14, 2012. *Cah Nutr Dietet* 2012;47:549.
- [97] Vickers MH, Gluckman PD, Coveny AH, et al. Neonatal leptin treatment reverses developmental programming. *Endocrinology* 2005;146(10):4211–6.
- [98] Waterland RA, Travisano M, Tahiliani KG, et al. Methyl donor supplementation prevents transgenerational amplification of obesity. *Int J Obes* 2008;32:1373–9.
- [99] Dolinoy DC, Weidman JR, Waterland RA, et al. Maternal genotype alters coat color and protects Avy mouse offspring from obesity by modifying the fetal epigenome. *Environ Health Perspect* 2006;114:567–72.
- [100] Burdge GC, Lillycrop KA, Jackson AA, et al. The nature of the growth pattern and of the metabolic response to fasting in the rat are dependent upon the dietary protein and folic acid intakes of their pregnant dams and post-weaning fat consumption. *Br J Nutr* 2008;99(3):540–9.
- [101] Lillycrop KA, Phillips ES, Torrens C, et al. Feeding pregnant rats a protein-restricted diet persistently alters the methylation of specific cytosines in the hepatic PPAR alpha promoter of the offspring. *Br J Nutr* 2008;100(2):278–82.
- [102] Torrens C, Brawley L, Anthony FW, et al. Folate supplementation during pregnancy improves offspring cardiovascular

- dysfunction induced by protein restriction. *Hypertension* 2006;47(5):982–7.
- [103] Muthayya S, Kurpad AV, Duggan CP, et al. Low maternal vitamin B12 status is associated with intrauterine growth retardation in urban South Indians. *Eur J Clin Nutr* 2006;60:791–801.
- [104] Yajnik CS, Deshpande SS, Jackson AA, et al. Vitamin B12 and folate concentrations during pregnancy and insulin resistance in the offspring: the Pune Maternal Nutrition Study. *Diabetologia* 2008;51:29–38.
- [105] Katz J, Christian P, Dominici F, et al. Treatment effects of maternal micronutrient supplementation vary by percentiles of the birth weight distribution in rural Nepal. *J Nutr* 2006;136:1389–94.
- [106] Fall CH, Yajnik CS, Rao S, et al. Micronutrients and fetal growth. *J Nutr* 2003;133:1747S–56S.
- [107] Dashwood RH, Ho E. Dietary histone deacetylase inhibitors: from cells to mice to man. *Semin Cancer Biol* 2007;17:363–9.
- [108] Borra MT, Smith BC, Denu JM. Mechanism of human SIRT1 activation by resveratrol. *J Biol Chem* 2005;280:17187–95.
- [109] Fang MZ, Wang Y, Ai N, et al. Tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibits DNA methyltransferase and reactivates methylation-silenced genes in cancer cell lines. *Cancer Res* 2003;63:7563–70.
- [110] Ozanne SE, Constancia M. Mechanisms of disease: the developmental origins of disease and the role of the epigenotype. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2007;3:539–46.