

Artigo de
Revisão

Programação Pré-Natal de Hipertensão Arterial na Vida Adulta

4

Prenatal Programming of Adult Arterial Hypertension

Alfredo de Souza Bomfim, Carlos Alberto Mandarin-de-Lacerda

Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Na busca da melhor compreensão da origem das doenças cardiovasculares, uma importante linha de investigação surgiu a partir da demonstração da associação entre o baixo peso ao nascer e o desenvolvimento de hipertensão arterial na idade adulta. Esta observação foi a base para a formulação da hipótese de que doenças cardiovasculares manifestadas na idade adulta podem ser programadas a partir de insultos ocorridos no período pré-natal. Diversos modelos experimentais apóiam esta teoria. Em animais de laboratório, estudos com desnutrição induzida durante a gestação resultaram em animais adultos com níveis mais elevados de pressão arterial do que os controles. Os mecanismos propostos envolvem a exposição fetal ao glicocorticóide, alterações na função renal e a participação do sistema renina-angiotensina-aldosterona. A intervenção farmacológica precoce e a identificação de padrões precisos de deficiência nutricional parecem caminhos mais promissores na direção da prevenção da hipertensão arterial programada.

Palavras-chave: Programação pré-natal, Hipertensão, Desnutrição pré-natal

In search for better understanding of the origin of the cardiovascular diseases, an important line of investigation was drawn from the demonstration of the association between low birth weight and the development of hypertension in adulthood. This observation was the basis for the hypothesis that adult cardiovascular disease can be programmed by insults occurring during the prenatal period. Several experimental models support this theory. In laboratory animals, studies on undernutrition induced during gestation resulted in adult animals with higher blood pressure than in the control groups. Possible mechanisms involve the fetal exposure to glucocorticoids, changes in renal function and the role of the rennin-angiotensin-aldosterone system. Early pharmacological intervention and the identification of precise patterns of nutritional deficiency are probably the best way towards the prevention of programmed hypertension.

Key words: Prenatal programming, Hypertension, Prenatal undernutrition

Nos últimos anos, um conjunto crescente de evidências tem sustentado a idéia de que distúrbios ocorridos em períodos críticos do desenvolvimento fetal podem determinar alterações permanentes ou de longo prazo na fisiologia ou morfologia de um determinado órgão¹. O conceito de "programação fetal" sugere que o feto pode ser programado durante o desenvolvimento intra-uterino para desenvolver doenças na idade adulta, e tem sido discutido como uma das chaves para entender a origem de algumas doenças cardiovasculares². A desnutrição pré-natal é o modelo mais extensamente

estudado de programação fetal de doenças cardiovasculares, em especial a hipertensão arterial^{3,4}. De acordo com essa teoria, alterações no estado nutricional materno, refletidas no peso ao nascer, bem como a exposição fetal ao glicocorticóide⁵, seriam a base para o desenvolvimento de hipertensão arterial e aterosclerose coronariana na idade adulta. Esta revisão descreve o modelo de desnutrição materno-fetal de programação da hipertensão arterial, os possíveis mecanismos envolvidos e um sumário das evidências epidemiológicas e experimentais que apóiam este conceito.

Evidências Epidemiológicas

O primeiro relato da associação de eventos precoces da vida com o desenvolvimento posterior de doença cardiovascular foi feito em 1977, por Forsdahl⁶. Na população estudada, a mortalidade por doença cardiovascular e cerebrovascular se correlacionou com as taxas de mortalidade infantil da mesma população. Mais impressionante, a queda progressiva das taxas de mortalidade infantil, que ocorreu com a melhora do nível de desenvolvimento socioeconômico, foi acompanhada de queda das taxas de mortalidade adulta. O estudo de Forsdahl deu origem a uma série de investigações que culminaram na concepção que atualmente é conhecida como "hipótese de Barker", em deferência ao autor inglês que se destacou na liderança das pesquisas deste campo do conhecimento. A idéia central dos trabalhos de Barker é a que o retardo do crescimento fetal aumenta o risco de desenvolver doença cardiovascular na fase adulta⁷⁻⁹.

Um número expressivo de estudos epidemiológicos tem mostrado a associação entre morbi-mortalidade e o peso ao nascer. Revendo a distribuição geográfica das mortes de natureza cardiovascular na Inglaterra e em Gales, observou-se que as taxas de mortalidade eram maiores em regiões marcadas por baixas condições socioeconômicas⁷. Havia sido demonstrada previamente a relação inversa entre o peso ao nascer e a pressão arterial em crianças¹⁰ (encontrada em nascidos pequenos para a idade gestacional e não em nascidos pequenos devido à prematuridade)¹¹, e a associação entre o baixo peso ao nascer e o risco (duas vezes maior) de morrer de doença coronariana¹². Além disso, também parece haver uma relação inversa entre a prevalência de diabetes não-dependente de insulina e o peso ao nascer¹³.

Barker et al.¹⁴⁻¹⁶ propuseram a existência de padrões de resposta à desnutrição intra-uterina e sua relação com o risco cardiovascular. Assim, a subnutrição no primeiro trimestre da gestação resultaria em bebês simetricamente pequenos e estaria associada a maior risco de hipertensão e acidente vascular encefálico. Resistência à insulina seria uma característica associada à subnutrição predominante no segundo trimestre, que resultaria em bebês de baixo peso e magros. Por fim, a subnutrição no último trimestre da gestação resultaria em bebês de peso normal, porém de baixa estatura em relação à circunferência da cabeça, que teriam maior risco para a hipertensão e para a doença coronariana.

Apesar do grande número de evidências epidemiológicas que sustentam as idéias de Barker,

o assunto ainda não é consenso. Paneth et al.¹⁷, com base em critérios epidemiológicos de inferência causal (especificidade, consistência, força e coerência biológica), afirmam que a teoria da programação fetal baseia-se num número grande de variáveis sem controle adequado para análise. Como alternativa, sugerem que o peso ao nascer é um marcador de baixas condições socioeconômicas, freqüentemente associadas à maior exposição a fatores de risco para doenças cardiovasculares. Ironicamente, esta hipótese também padece do mal dos estudos que ela critica: o grande número de variáveis socioeconômicas e de fatores de risco torna difícil estabelecer, de modo conclusivo, uma associação causal entre eles.

Foi postulado que o crescimento acelerado de bebês sadios nascidos com baixo peso pode determinar uma elevação acelerada dos níveis tensionais¹⁸. Assim, a hipertensão seria resultado do aumento da demanda metabólica e funcional dos órgãos para atingir a massa geneticamente prevista. Entretanto, outras evidências mostraram que o ganho de peso não se correlacionou com a pressão arterial posteriormente¹⁹. Mais inquietante é a observação de que não existe um padrão alterado de mortalidade adulta em gêmeos de diferentes pesos ao nascer. Além disso, a antropometria fetal não é afetada apenas por fatores nutricionais maternos, mas também por fatores raciais, variáveis socioeconômicas, doença materna sistêmica, tabagismo materno e outros. Embora estas observações não invalidem a teoria da programação, são questões que ainda aguardam análises mais precisas.

Evidências Experimentais

Enquanto ainda há controvérsia a respeito da interpretação de estudos epidemiológicos que originaram a hipótese de Barker, um conjunto considerável de evidências emerge de trabalhos experimentais e apóia o conceito de programação fetal.

As melhores evidências acerca das influências fetais na programação de doenças cardiovasculares surgiram a partir de trabalhos que empregaram métodos de manipulação da dieta materna de ratos durante a gestação, como meio de induzir restrição proteica materno-fetal. Variações no conteúdo de proteína da dieta foram planejadas para produzir restrição leve (12% de caseína), moderada (9%) e severa (6%)². Esses experimentos resultaram em alterações variáveis no peso dos recém-natos e no tamanho das placentas. Os animais desenvolveram hipertensão arterial a partir da quarta semana de

vida²⁰ e mantida até a idade adulta²¹. A restrição protéica materna anterior à gestação não afetou os resultados e mesmo períodos curtos (1 semana) de restrição protéica gestacional foram suficientes para induzir alterações na pressão arterial²².

Estes resultados se revestem de grande importância quando correlacionados com os achados epidemiológicos em humanos. Achados de baixo peso ao nascer relacionados à desnutrição materna e ao desenvolvimento futuro de hipertensão arterial são inteiramente compatíveis com a hipótese de Barker.

Outra importante linha de investigação são os modelos que empregam ratos espontaneamente hipertensos (SHR, da sigla em inglês), animais que nascem normotensos e desenvolvem hipertensão na idade adulta²³. Esse padrão de desenvolvimento de doença concorda com o conceito de programação fetal acima descrito. Portanto, é razoável supor que influências fetais estejam implicadas no desenvolvimento de hipertensão em modelos genéticos experimentais. Além disso, em muitos aspectos, o desenvolvimento da hipertensão arterial em SHR se parece com o da hipertensão essencial em humanos.

Um possível alvo para a intervenção precoce em SHR é o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA). Estudos prévios demonstraram que em ratos submetidos à dieta hipoproteica *in útero*, tanto a atividade da renina quanto a da enzima conversora da angiotensina (ECA) estavam aumentadas, e um curto período de tratamento com inibidor da ECA resultou em níveis tensionais mais baixos do que em controles não-tratados²⁴, enquanto o tratamento de SHR com captopril na fase pré-hipertensiva causou diminuição permanente dos níveis tensionais na idade adulta^{25,26}. Também foi sugerido que os SHR possuem concentração aumentada de glicocorticóide placentário que pode, por sua vez, potencializar a ação da angiotensina II²⁷. Em conjunto, esses achados apontam para a possibilidade de reprogramar os SHR para desenvolver uma forma mais branda da doença hipertensiva.

No Laboratório de Morfometria e Morfologia Cardiovascular (UERJ), o emprego do maleato de enalapril (um inibidor da ECA) durante o período gestacional em fêmeas SHR resultou em filhotes que expressaram uma forma mais branda de hipertensão arterial na idade adulta; a hipertrofia cardíaca nesses animais de mães tratadas situou-se numa posição intermediária entre os SHR não-tratados e os controles normotensos^{28,29}. Esses dados apontam para uma atenuação parcial da doença

hipertensiva e da hipertrofia miocárdica, e reforçam a idéia de que é possível intervir precocemente em indivíduos predispostos a desenvolver hipertensão arterial sistêmica antes que esta se manifeste, de modo a inibir ou atenuar a expressão da doença.

Mecanismos

Glicocorticóides (Figura 1)

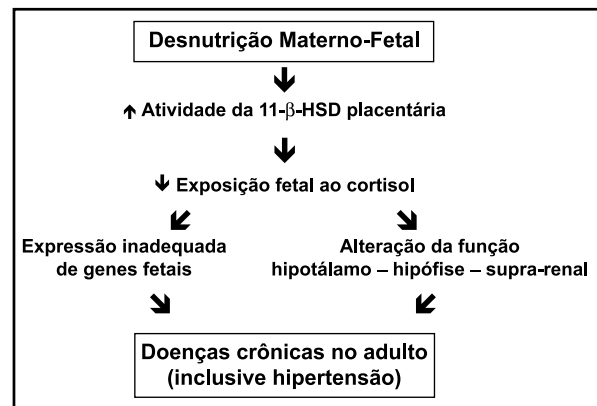


Figura 1

Esquema hierárquico do desenvolvimento de hipertensão na prole de mães com desnutrição durante a gestação por exposição fetal ao cortisol

Foi sugerido que os mecanismos da programação fetal da hipertensão arterial envolveriam a participação de glicocorticóides³⁰. É conhecido que os glicocorticóides são reguladores da expressão de uma série de genes. A ativação inadequada de determinados genes durante períodos críticos podem determinar alterações adversas no desenvolvimento fetal. Em condições normais, o feto é protegido da exposição ao corticóide materno pela ação da 11-β-hidroxiesteróide desidrogenase (11-β-HSD) placentária, que converte cortisol (em humanos) e corticosterona (em ratos) em seus metabólitos inativos (cortisona e 11-dehidrocorticosterona, respectivamente). Essa proteção prevalece até o final da gestação, quando a função supra-renal do feto é ativada e dá origem ao eixo hipotálamo-hipófise-supra-renal³¹.

O papel dos glicocorticóides no mecanismo de programação fetal da hipertensão arterial foi sugerido a partir da observação de que a atividade da 11-β-HSD se correlaciona com o peso corporal em ratos³⁰ e humanos³². Para sustentar essa teoria, alguns experimentos foram conduzidos. Em ratas gestantes, a injeção de dexametasona, um glicocorticóide sintético que não é metabolizado pela 11-β-HSD, resultou em filhotes de baixo peso ao nascer e que desenvolveram hipertensão na idade adulta³⁰. Além disso, a inibição da 11-β-HSD com

carbenoxolona durante a gestação teve resultados semelhantes nos filhotes. A supra-renalectomia das mães preveniu o efeito da carbenoxolona, sugerindo um efeito mediado por corticóides³³.

A exposição fetal aos glicocorticóides pode também alterar a função do eixo hipotálamo-hipófise-suprarrenal. A resposta pressora observada após administração tópica de glicocorticóides em humanos adultos hipertensos tipicamente é aumentada³⁴. Em experimentos com ratos, um aumento de sensibilidade aos corticóides resulta do aumento da atividade dos receptores. Assim, animais expostos a dietas hipoproteicas durante o desenvolvimento fetal apresentam níveis normais e corticosterona circulante associados à atividade aumentada de enzimas ativadas por glicocorticóides³⁵.

Os glicocorticóides podem alterar a pressão arterial de diversos modos. Em humanos adultos, a síndrome de excesso aparente de mineralocorticoide e a síndrome de Cushing são exemplos em que o excesso de glicocorticoide está associado à hipertensão arterial³⁶. A captação de Na^+ e Ca^{+2} pela parede do músculo liso vascular aumenta em resposta ao estímulo mediado por glicocorticóides³⁷. Além disso, a resposta do tecido vascular à angiotensina II aumenta pela ação dos glicocorticóides³⁸. A pressão arterial também pode ser modulada pela ação dos glicocorticóides através de mecanismos centrais ou de ação direta na vasculatura periférica.

Função renal (Figura 2)

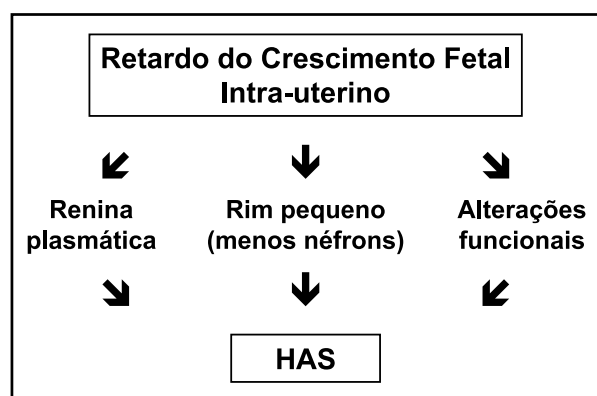


Figura 2

Esquema hierárquico do desenvolvimento de hipertensão na prole de mães com desnutrição durante a gestação por retardo do crescimento fetal e diminuição do número de néfrons na prole

O papel do rim como mediador do desenvolvimento de hipertensão arterial programada foi sugerido a partir da observação de alterações estruturais e

funcionais. No que diz respeito à estrutura renal, a alteração mais consistentemente encontrada refere-se à diminuição do número de néfrons, que pode ser resumido na expressão em inglês "*glomeruli and blood pressure: less of one more the other*"³⁹.

O número de néfrons é determinado ao nascer. Ratos geneticamente hipertensos, em geral, possuem um número expressivamente menor de néfrons do que seus controles normotensos⁴⁰. Deste modo, a diminuição da população de néfrons parece estar ligada à programação fetal da hipertensão arterial.

A diminuição do número de néfrons parece estar relacionada ao tamanho dos rins. Crianças que tiveram crescimento intra-uterino retardado têm rins pequenos e com menor número de néfrons⁴¹. Em ratos, modelos de hipertensão arterial programada resultam em rins de dimensões reduzidas, menor número de néfrons e função alterada⁴².

Há correlação forte entre a restrição protéica durante a gestação, a hipertensão e a diminuição do número de néfrons na prole⁴³. O assunto, entretanto, parece não ter ainda consenso, pois recentemente observou-se que o cruzamento de ratos geneticamente hipertensos (SHR) com seus controles normotensos (Wistar-Kyoto) dão a primeira e a segunda prole, F1 e F2, cada vez menos hipertensa, porém sem significativa alteração no número de néfrons⁴⁴.

As alterações funcionais renais envolvem o SRAA. A atividade da renina plasmática está aumentada em ratos filhos de mães expostas a dietas com baixo conteúdo de proteína durante a gestação²¹. De modo semelhante, em recém-natos humanos, a atividade da renina no sangue do cordão umbilical é maior em indivíduos com baixo peso ao nascer e diminuição do crescimento intra-uterino⁴⁵. Em SHR, curtos períodos de inibição precoce da ECA resultam em diminuição permanente (mesmo após a suspensão do tratamento) da pressão arterial e da resistência vascular renal^{46,47}.

Direções Futuras

Um importante foco de investigação se refere à identificação de nutrientes específicos e padrões de deficiência nutricional associados à programação e doença cardiovascular. Por exemplo, foi demonstrada a associação de baixo peso ao nascer e dieta materna com alto conteúdo de carboidratos e baixo teor de proteína⁴⁸. A deficiência de ácido fólico está associada a defeitos do tubo neural e é mais encontrada em populações de baixa renda⁴⁹.

As alterações nutricionais durante o desenvolvimento parecem interferir na prole de modo diferenciado quanto ao sexo^{43,50}.

No futuro, a identificação dos elementos nutricionais relacionados à programação de doença cardiovascular pode fornecer a base para uma abordagem racional e mais ampla da deficiência nutricional associada ao baixo nível socioeconômico, em especial em nosso país.

Outro ponto em discussão refere-se aos mecanismos de interação das alterações morfológicas induzidas no rim em modelos de hipertensão programada e mudanças adversas no funcionamento do órgão. Demonstrou-se que ratos expostos à dieta hipoproteica durante a gestação têm expressão aumentada de receptores de angiotensina tipo II, que sugere uma correlação entre o retardo do desenvolvimento renal e o desenvolvimento de hipertensão arterial⁵¹. A melhor compreensão destes mecanismos, por outro lado, pode prover meios para uma intervenção farmacológica precoce mais eficaz.

Conclusão

A adaptação à alteração ocorrida durante um período crítico do desenvolvimento fetal é necessária para a sobrevivência. As alterações induzidas podem programar o indivíduo para desenvolver mudanças na morfologia e na fisiologia de um determinado órgão. Deficiências nutricionais durante a gestação, em especial, associadas à condição socioeconômica desfavorável estão associadas à programação de doença cardiovascular. Os mecanismos envolvidos provavelmente envolvem a participação do SRAA e exposição fetal ao glicocorticóide.

A intervenção farmacológica precoce com inibidores da ECA é uma possível estratégia para reprogramar indivíduos para expressar formas mais brandas dessas doenças.

Referências

1. Ashton N. Perinatal development and adult blood pressure. *Braz J Med Biol Res.* 2000;33:731-40.
2. Langley-Evans SC, Gardner DS, Welham SJ. Intrauterine programming of cardiovascular disease by maternal nutritional status. *Nutrition.* 1998;14:39-47.
3. Edwards LJ, Coulter CL, Symonds ME, McMillen IC. Pre-natal undernutrition, glucocorticoids and the programming of adult hypertension. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2001;28:938-41.
4. Langley-Evans SC. Fetal programming of cardiovascular function through exposure to maternal undernutrition. *Proc Nutr Soc.* 2001;60:505-13.
5. Langley-Evans SC. Intrauterine programming of hypertension by glucocorticoids. *Life Sci.* 1997;60:1213-21.
6. Forsdahl A. Are poor living conditions in childhood and adolescence an important risk factor for arteriosclerotic heart disease? *Br J Prev Soc Med.* 1977;31:91-95.
7. Barker DJ. In utero programming of chronic disease. *Clin Sci (Lond).* 1998;95:115-28.
8. Barker DJ. Intra-uterine programming of the adult cardiovascular system. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 1997;6:106-10.
9. Barker DJ. The fetal and infant origins of disease. *Eur J Clin Invest.* 1995;25:457-63.
10. Law CM, Barker DJ, Bull AR, Osmond C. Maternal and fetal influences on blood pressure. *Arch Dis Child.* 1991;66:1291-295.
11. Barker DJ, Bull AR, Osmond C, Simmonds SJ. Fetal and placental size and risk of hypertension in adult life. *BMJ.* 1990;301:259-62.
12. Osmond C, Barker DJ, Winter PD, Fall CH, Simmonds SJ. Early growth and death from cardiovascular disease in women. *BMJ.* 1993;307:1519-524.
13. Hales CN, Barker DJ, Clark PM, et al. Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64. *BMJ.* 1991;303:1019-1022.
14. Martyn CN, Barker DJ, Jespersen S, Greenwald S, Osmond C, Berry C. Growth in utero, adult blood pressure, and arterial compliance. *Br Heart J.* 1995;73:116-21.
15. Barker DJ, Martyn CN, Osmond C, Wield GA. Abnormal liver growth in utero and death from coronary heart disease. *BMJ.* 1995;310:703-704.
16. Barker DJ. Growth in utero and coronary heart disease. *Nutr Rev.* 1996;54:S1-7.
17. Paneth N, Ahmed F, Stein AD. Early nutritional origins of hypertension: a hypothesis still lacking support. *J Hypertens.* 1996;14(Suppl):S121-29.
18. Ounsted MK, Cockburn JM, Moar VA, Redman CW. Factors associated with the blood pressures of children born to women who were hypertensive during pregnancy. *Arch Dis Child.* 1985;60:631-35.
19. Law CM, de Swiet M, Osmond C, et al. Initiation of hypertension in utero and its amplification throughout life. *BMJ.* 1993;306:24-27.
20. Langley SC, Jackson AA. Increased systolic blood pressure in adult rats induced by fetal exposure to maternal low protein diets. *Clin Sci (Lond).* 1994;86:217-22; discussion 121.
21. Langley-Evans SC, Jackson AA. Captopril normalizes systolic blood pressure in rats with hypertension induced by fetal exposure to maternal low protein diets. *Comp Biochem Physiol A Physiol.* 1995;110:223-28.
22. Langley-Evans SC, Welham SJ, Sherman RC, Jackson AA. Weanling rats exposed to maternal low-protein diets during discrete periods of gestation exhibit differing severity of hypertension. *Clin Sci (Lond).* 1996;91:607-15.

23. Pinto YM, Paul M, Ganten D. Lessons from rat models of hypertension: from Goldblatt to genetic engineering. *Cardiovasc Res.* 1998;39:77-88.
24. Sherman RC, Langley-Evans SC. Early administration of angiotensin-converting enzyme inhibitor captopril, prevents the development of hypertension programmed by intrauterine exposure to a maternal low-protein diet in the rat. *Clin Sci (Lond).* 1998;94:373-81.
25. Wu JN, Berecek KH. Prevention of genetic hypertension by early treatment of spontaneously hypertensive rats with the angiotensin converting enzyme inhibitor captopril. *Hypertension.* 1993;22:139-46.
26. Kost Jr CK, Rominski BR, Herzer WA, Jackson EK, Tofovic SP. Persistent improvement of cardiovascular risk factors in spontaneously hypertensive rats following early short-term captopril treatment. *Clin Exp Hypertens.* 2000;22:127-43.
27. Garvey D, Scott J. Placental and fetal contraindications of dexamethasone administration to pregnant rats. *Experientia.* 1981;37:757-59.
28. Bomfim A, Mandarin-de-Lacerda CA. Enalapril alters the formation of the collagen matrix in spontaneously hypertensive rats. *Arq Bras Cardiol.* 2003;81:69-72.
29. Bomfim AS, Mandarin-de-Lacerda CA. Effects of ACE inhibition during fetal development on cardiac microvasculature in adult spontaneously hypertensive rats. *Int J Cardiol.* 2005;101:237-42.
30. Benediktsson R, Lindsay RS, Noble J, Seckl JR, Edwards CR. Glucocorticoid exposure in utero: new model for adult hypertension. *Lancet.* 1993;341:339-41.
31. Seckl JR, Benediktsson R, Lindsay RS, Brown RW. Placental 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase and the programming of hypertension. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1995;55:447-55.
32. Stewart PM, Whorwood CB, Mason JI. Type 2 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase in fetal and adult life. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1995;55:465-71.
33. Lindsay RS, Lindsay RM, Edwards CR, Seckl JR. Inhibition of 11-beta-hydroxysteroid dehydrogenase in pregnant rats and the programming of blood pressure in the offspring. *Hypertension.* 1996;27:1200-204.
34. Walker BR, Best R, Shackleton CH, Padfield PL, Edwards CR. Increased vasoconstrictor sensitivity to glucocorticoids in essential hypertension. *Hypertension.* 1996;27:190-96.
35. Langley-Evans SC, Gardner DS, Jackson AA. Maternal protein restriction influences the programming of the rat hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *J Nutr.* 1996;126:1578-585.
36. Stewart PM, Corrie JE, Shackleton CH, Edwards CR. Syndrome of apparent mineralocorticoid excess. A defect in the cortisol-cortisone shuttle. *J Clin Invest.* 1988;82:340-49.
37. Kornel L. The role of vascular steroid receptors in the control of vascular contractility and peripheral vascular resistance. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1993;45:195-203.
38. Provencher PH, Saltis J, Funder JW. Glucocorticoids but not mineralocorticoids modulate endothelin-1 and angiotensin II binding in SHR vascular smooth muscle cells. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1995;52:219-25.
39. Brenner BM, Garcia DL, Anderson S. Glomeruli and blood pressure. Less of one, more the other? *Am J Hypertens.* 1988;1:335-47.
40. Mackenzie HS, Brenner BM. Fewer nephrons at birth: a missing link in the etiology of essential hypertension? *Am J Kidney Dis.* 1995;26:91-98.
41. Hinchliffe SA, Lynch MR, Sargent PH, Howard CV, Van Velzen D. The effect of intrauterine growth retardation on the development of renal nephrons. *Br J Obstet Gynaecol.* 1992;99:296-301.
42. Merlet-Benichou C, Gilbert T, Muffat-Joly M, Lelievre-Pegorier M, Leroy B. Intrauterine growth retardation leads to a permanent nephron deficit in the rat. *Pediatr Nephrol.* 1994;8:175-80.
43. Woods LL, Weeks DA, Rasch R. Programming of adult blood pressure by maternal protein restriction: role of nephrogenesis. *Kidney Int.* 2004;65:1339-348.
44. Black MJ, Briscoe TA, Constantinou M, Kett MM, Bertram JF. Is there an association between level of adult blood pressure and nephron number or renal filtration surface area? *Kidney Int.* 2004;65:582-88.
45. Konje JC, Bell SC, Morton JJ, de Chazal R, Taylor DJ. Human fetal kidney morphometry during gestation and the relationship between weight, kidney morphometry and plasma active renin concentration at birth. *Clin Sci (Lond).* 1996;91:169-75.
46. Harrap SB, Nicolaci JA, Doyle AE. Persistent effects on blood pressure and renal haemodynamics following chronic angiotensin converting enzyme inhibition with perindopril. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 1986;13:753-65.
47. Harrap SB, Van der Merwe WM, Griffin SA, Macpherson F, Lever AF. Brief angiotensin converting enzyme inhibitor treatment in young spontaneously hypertensive rats reduces blood pressure long-term. *Hypertension.* 1990;16:603-14.
48. Godfrey K, Robinson S, Barker DJ, Osmond C, Cox V. Maternal nutrition in early and late pregnancy in relation to placental and fetal growth. *BMJ.* 1996;312:410-14.
49. Langley-Evans SC, Langley-Evans AJ. Use of folic acid supplements in the first trimester of pregnancy. *J R Soc Health.* 2002;122:181-86.
50. Sanchez Moura A, Gomes Pereira F, Mandarin-de-Lacerda CA. Gender determines long-lasting effects on adult offspring heart after early-life malnourishment. *Biol Neonate.* 2004;85:256-62.
51. McMullen S, Gardner DS, Langley-Evans SC. Prenatal programming of angiotensin II type 2 receptor expression in the rat. *Br J Nutr.* 2004;91:133-40.