

Université de Montréal

Variation de l'expression et de l'activité des 11 β -hydroxystéroïde déshydrogénases
rénales, cardiaques et placentaires au cours de la gestation de la rate

Par

Mathieu BARRETTE

Programme de sciences biomédicales

Faculté de médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de Maîtrise ès Sciences (M.Sc.)
en sciences biomédicales

Août 2009

© Mathieu Barrette, 2009

Université de Montréal

Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

Variation de l'expression et de l'activité des 11 β -hydroxystéroïde déshydrogénases
rénales, cardiaques et placentaires au cours de la gestation de la rate.

Présenté par :

Mathieu BARRETTE

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Dre Julie L. Lavoie :	Président rapporteur
Dre Michèle Brochu :	Directrice de recherche
Dre Cathy Vaillancourt :	Membre du jury

RÉSUMÉ

L'activation du système rénine-angiotensine-aldostérone peut entraîner le développement d'une hypertension artérielle et de la fibrose cardiaque. Toutefois, au cours de la grossesse, malgré une hausse substantielle des niveaux d'aldostérone, ces effets délétères ne sont pas observés. L'aldostérone exerce ses effets via les récepteurs des minéralocorticoïdes, les MR, qui peuvent également lier le cortisol avec une affinité similaire. La régulation des niveaux locaux de ce glucocorticoïde par les 11 β -hydroxystéroïde déshydrogénases (11 β -HSD) est donc essentielle pour éviter une stimulation inappropriée des MR. Nous suggérons que, durant la grossesse, ces enzymes sont impliquées dans la protection de la mère et du fœtus contre les niveaux élevés d'aldostérone et de cortisol. Notre hypothèse de travail est que les mécanismes d'adaptation qui prennent place au cours de la grossesse nécessitent des changements d'expression (ARNm et protéine) et d'activité des 11 β -HSD spécifiques selon le tissu. Des rates Sprague-Dawley ont été sacrifiées aux jours 14, 17, 19 et 22 de gestation (terme = jour 23) et leurs organes ont été collectés. Dans le rein, les niveaux protéiques des 11 β -HSD sont diminués en fin de gestation. Dans le placenta, on observe une importante chute de l'expression génique et protéique de la 11 β -HSD1 au jour 17 tandis que la 11 β -HSD2 y est augmentée. L'expression et l'activité de la 11 β -HSD2 sont par la suite diminuées jusqu'à terme. Aucune différence significative n'est retrouvée dans le ventricule gauche cardiaque. En conclusion, nos résultats démontrent que la gestation est accompagnée d'importants changements dans le placenta, possiblement pour assurer un développement fœtal adéquat, tandis que le rein et le cœur sont peu ou pas affectés. Des études plus approfondies sur l'expression des MR dans ces tissus nous aideront à mieux comprendre l'implication des 11 β -HSD au fil de la gestation.

Mots-clés : 11 β -hydroxystéroïde déshydrogénases, glucocorticoïdes, minéralocorticoïdes, grossesse, rétention sodique, fibrose cardiaque, développement fœtal

ABSTRACT

The activation of the renin-angiotensin-aldosterone system can lead to hypertension and cardiac fibrosis. However, despite a substantial elevation of aldosterone during pregnancy, those adverse effects are not observed. Aldosterone acts via the mineralocorticoid receptors (MR) which can also bind cortisol with a similar affinity. Regulation of the local levels of this glucocorticoid by the 11 β -hydroxysteroid dehydrogenases (11 β -HSD) is thus crucial to avoid overstimulation of MRs. We believe that these enzymes are involved in the maternal and fetal protections against the high levels of aldosterone and cortisol observed during pregnancy. We propose that the adaptative mechanisms occurring during normal pregnancy involve tissue-specific changes in the expression (mRNA and protein) and activity of both 11 β -HSDs. Pregnant Sprague-Dawley rats were sacrificed on day 14, 17, 19 or 22 of gestation (term = day 23) and their organs were collected. In the kidney, our results have shown that 11 β -HSDs protein levels decrease in late gestation. In the placenta, a dramatic decrease of 11 β -HSD1 mRNA and protein expressions is observed on day 17 while 11 β -HSD2 levels are increased. Expression and activity of the 11 β -HSD2 are then decreased up to day 22. No significant differences were detected in the left cardiac ventricle. In conclusion, our results demonstrate that gestation is associated with important modifications in the placenta, possibly to ensure a normal fetal growth, while expression in the kidney and the heart is barely changed. More studies on MR expression in those tissues will be required to better characterise the function of the 11 β -HSDs throughout pregnancy.

Key words: 11 β -hydroxysteroid dehydrogenases, glucocorticoids, mineralocorticoids, pregnancy, salt retention, cardiac fibrosis, fetal development

TABLE DES MATIÈRES

Page de présentation du mémoire	i
Page de présentation du jury	ii
Résumé et mots-clés	iii
Abstract and key words	iv
Table des matières	v
Liste des figures et tableaux	vii
Liste des abréviations	viii

1. INTRODUCTION

1.1. La grossesse	2
1.1.1 Effets de la grossesse chez la femme	2
1.1.2 Gestation chez la rate	4
1.2. Le rein	5
1.2.1. Morphologie générale	5
1.2.2. Néphron : unité fonctionnelle	6
1.2.3. Homéostasie des ions et régulation du volume extracellulaire	8
1.2.4. Le rein au cours de la grossesse	9
1.3. Le cœur	9
1.3.1. Morphologie et physiologie cardiaques	9
1.3.2. Hypertrophie et fibrose cardiaques	11
1.3.3. Le cœur au cours de la grossesse	13
1.4. Le placenta	14
1.4.1. Placentation chez la femme	14
1.4.2. Placentation chez la rate	17
1.4.3. Échanges fœto-maternels	18
1.4.4. Fonction endocrine	19
1.5. L'aldostérone et ses récepteurs	20
1.5.1. Stéroïdogenèse	20
1.5.2. Régulateurs de la synthèse de l'aldostérone	22
1.5.2.1. Système rénine-angiotensine	22
1.5.2.2. Corticotrophine	23
1.5.2.3. Ion potassique	24

1.5.2.4. Autres	24
1.5.3. Récepteurs de l'aldostérone	24
1.5.3.1 Récepteurs des minéralocorticoïdes	24
1.5.3.2 Récepteurs des glucocorticoïdes	26
1.5.4. Fonctions de l'aldostérone	26
1.5.4.1 Tissus épithéliaux	27
1.5.4.2 Tissus non-épithéliaux	27
1.6. Le cortisol	29
1.6.1. Régulation de la synthèse du cortisol par l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien	29
1.6.1.1. L'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien maternel au cours de la grossesse	30
1.6.2. Récepteurs du cortisol	31
1.6.3. Fonctions des glucocorticoïdes	31
1.6.3.1. Régulation du métabolisme physiologique	31
1.6.3.2. Réponse inflammatoire	32
1.6.3.3. Embryogénèse	33
1.6.4. Opposition entre minéralocorticoïdes et glucocorticorticoïdes	34
1.7. Les 11β-hydroxystéroïde déshydrogénases	35
1.7.1. Structure des 11 β -HSD	35
1.7.2. La 11 β -HSD1	35
1.7.2.1. Distribution et fonctions de la 11 β -HSD1	36
1.7.3. La 11 β -HSD2	38
1.7.3.1. Distribution et fonctions de la 11 β -HSD2	38
1.8. Hypothèse de travail et objectifs	41
2. <u>ARTICLE</u>	43
<i>TISSUE- AND TIME-DEPENDANT EXPRESSION AND ACTIVITY OF THE 11β-HYDROXYSTEROID DEHYDROGENASES DURING RAT GESTATION</i>	
3. <u>DISCUSSION</u>	65
4. <u>BIBLIOGRAPHIE</u>	76
5. <u>REMERCIEMENTS</u>	98

LISTE DES FIGURES

Figure 1.	Comparaison entre la grossesse humaine et la gestation de la rate.	4
Figure 2.	L'anatomie du rein.	6
Figure 3.	La morphologie du néphron.	7
Figure 4.	L'anatomie du cœur.	10
Figure 5.	L'adhésion et l'implantation du blastocyste humain.	15
Figure 6.	La structure du placenta de rat.	18
Figure 7.	La stéroïdogénèse dans la surrénale humaine.	21
Figure 8.	Les actions épithéliales de l'aldostérone sur le transport du sodium.	28
Figure 9.	Régulation de la synthèse du cortisol par l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien.	30
Figure 10.	La fonction protectrice de la 11 β -HSD2.	38

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.	Similitudes et différences entre la grossesse humaine et la gestation de la rate.	67
-------------------	---	----

LISTE DES ABBRÉVIATIONS

- 11 β -HSD** : 11 β -hydroxystéroïde déshydrogénase
- 11 β -HSD1** : 11 β -hydroxystéroïde déshydrogénase de type I
- 11 β -HSD2** : 11 β -hydroxystéroïde déshydrogénase de type II
- 3 β -HSD** : 3 β -hydroxystéroïde déshydrogénase
- ACE** : enzyme de conversion de l'angiotensine (*angiotensin-converting enzyme*)
- ACTH** : corticotrophine (*adrenocorticotropic hormone*)
- ADN** : acide désoxyribonucléique
- AG** : acide glycyrrhétinique
- AME** : excès apparent de minéralocorticoïdes (*apparent mineralocorticoid excess*)
- AMPc** : 3',5'-adénosine monophosphate cyclique
- ANGI** : angiotensine I
- ANGII** : angiotensine II
- ANP** : peptide natriurétique auriculaire (*atrial natriuretic peptide*)
- AP-1** : *activator protein-1*
- ARNm** : acide ribonucléique messenger
- AT₁** : *angiotensine II receptor type 1*
- ATP** : adénosine triphosphate
- AVC** : accident vasculaire cérébral
- AVP** : hormone antidiurétique (*antidiuretic hormone*) ou vasopressine
- BNP** : *B-type natriuretic peptide*
- Ca²⁺** : ion calcique
- CaMK** : kinase Ca²⁺-calmoduline dépendante (*Ca²⁺/calmodulin-dependent kinase*)
- CBG** : transcortine ou globuline de liaison des corticostéroïdes (*corticosteroid binding globulin*)
- CRH** : corticolibérine (*corticotropin-releasing hormone*)
- CYP11A1** : cytochrome P450 *cholesterol side-chain cleavage enzyme*
- CYP11B1** : cytochrome P450 11 β -hydroxylase
- CYP11B2** : cytochrome P450 aldostérone synthase
- CYP17** : cytochrome P450 17 α -hydroxylase/17,20 lyase
- CYP21** : cytochrome P450 21 β -hydroxylase
- DAG** : diacylglycérol

DOC : 11-désoxycorticostérone

DTT : dithiothréitol

ENaC : canal sodique épithélial (*epithelial sodium channel*)

FSH : hormone folliculostimulante (*follicle-stimulating hormone*)

GALF : glycyrrhétinic acid-like factors

GLUT : transporteur du glucose (*glucose transporter*)

GnRH : gonadolibérine (*gonadotropin-hormone releasing hormone*)

GR : récepteur des glucocorticoïdes (*glucocorticoid receptor*)

GRE : élément de réponse aux glucocorticoïdes (*glucocorticoid response element*)

hCG : gonadotrophine chorionique humaine (*human chorionic gonadotropin*)

HDL : lipoprotéine de haute densité (*high density lipoprotein*)

hsp90 : *heat shock protein 90*

HLA : antigène des leucocytes humains (*human leukocyte antigen*)

HPA : hypothalamo-hypophysio-surrénalien (*hypothalamic-pituitary-adrenal*)

HRE : élément de réponse aux hormones (*hormone response element*)

HVG : hypertrophie du ventricule gauche

IgG : immunoglobuline G

IL-1 β : interleukine-1 β

IP₃ : inositol-1-4-5-triphosphate

K⁺ : ion potassique

KCl : chlorure de potassium

LBD : domaine de liaison au ligand (*ligand binding domain*)

LEC : liquide extracellulaire

Na⁺ : ion sodium

MR : récepteur des minéralocorticoïdes (*mineralocorticoid receptor*)

NaCl : chlorure de sodium

NAD : nicotinamide adénine dinucléotide

NADP : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NADPH : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit

Na⁺/K⁺ ATPase : pompe sodium-potassium dépendante de l'ATP

Nedd4-2 : *neuronal precursor cells-expressed developmentally down-regulated 4-2*

NF- κ B : *nuclear factor κ B*

nGRE : élément de réponse aux glucocorticoïdes négatif (*negative glucocorticoid response element*)

NO : monoxyde d'azote

PAI-1 : *plasminogen activator inhibitor-1*

PIP₂ : phosphatidylinositol diphosphate

RE : réticulum endoplasmique

REL : réticulum endoplasmique lisse

RCIU : restriction de croissance intra-utérine

ROS : espèces réactives de l'oxygène (*reactive oxygen species*)

RT-PCR : *reverse transcription polymerase chain reaction*

SDR : *short-chain dehydrogenase/reductase*

Sgk : *serum/glucocorticoid induced kinase*

SHR : *spontaneously hypertensive rats*

SNC : système nerveux central

SNP : système nerveux parasympathique

SNS : système nerveux sympathique

SRAA : système rénine-angiotensine-aldostérone

StAR : *steroidogenic acute regulatory protein*

TNF α : *tumoral necrosis factor α*

1. INTRODUCTION

La grossesse est associée à de nombreux changements physiologiques importants essentiels au bien-être de la mère et au développement normal du fœtus. Ces modifications comprennent, entre autres, une activation du système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA) ainsi qu'une rétention d'eau et de sel accrue qui, chez une personne non-enceinte, devraient conduire à une hypertension et à de la fibrose cardiaque. Ces effets délétères, causés entre autres par l'aldostérone, ne sont toutefois pas retrouvés lors de la grossesse. Les glucocorticoïdes, capables de lier les récepteurs de l'aldostérone, de même que les enzymes responsables de leur régulation locale, les 11 β -hydroxystéroïde déshydrogénases (11 β -HSD), pourraient être impliqués dans la mise en place de ces adaptations maternelles à la grossesse.

La revue de littérature qui suit décrira d'abord les diverses modifications physiologiques présentes lors de la grossesse. Par la suite, un survol de la physiologie d'organes particulièrement touchés par la grossesse, soit le rein, le cœur et le placenta sera présenté. Finalement, une synthèse des connaissances actuelles sur l'aldostérone, le cortisol et les 11 β -HSD sera abordée.

1.1. LA GROSSESSE

De nombreuses adaptations maternelles se mettent en place au cours de la grossesse afin de favoriser le développement et la croissance du fœtus. Cette section traitera des adaptations cardiovasculaires présentes chez la femme et la rate, excellent modèle animal pour étudier la grossesse.

1.1.1. Adaptations maternelles à la grossesse

Au cours de la grossesse, une importante augmentation du volume plasmatique est observée dès le premier trimestre. Celle-ci s'accroît en mi-grossesse et atteint son point culminant vers la 36^e semaine (54). Cette hausse du volume sanguin, qui varie de 25 à 40%, entraîne une augmentation du poids de la mère, une hémodilution de même qu'une élévation du débit cardiaque (103). Malgré une production de globules rouges accrue (217; 240), une diminution de l'hématocrite et des concentrations en hémoglobine est observée

au cours de la grossesse et s'explique par cette importante hausse du volume circulant (214).

L'expansion du volume plasmatique est facilitée par des changements dans la sécrétion d'hormones impliquées dans le contrôle de la balance hydrosodée. En effet, bien que les niveaux de la vasopressine (AVP; *antidiuretic hormone*) restent stables au cours de la grossesse, les valeurs seuil du déclenchement de sa relâche et de la stimulation de la soif sont abaissées lors des premières semaines (65). La consommation d'eau est ainsi favorisée et les liquides corporels s'en trouvent dilués. Les niveaux du peptide natriurétique auriculaire (ANP : *atrial natriuretic peptide*) sont augmentés uniquement à partir de la 12^e semaine de grossesse tandis que l'activation du SRAA débute dès la 6^e semaine (54). En effet, l'activité de la rénine plasmatique de même que les niveaux circulants d'aldostérone augmentent graduellement au fil de la grossesse pour atteindre leur paroxysme à terme (80). Paradoxalement, cette importante activation du SRAA n'est pas associée à l'hypokaliémie, à l'hyponatrémie de même qu'à la hausse de pression artérielle normalement observées chez des personnes non-enceintes. Les mécanismes induisant la baisse de pression artérielle au cours de la grossesse ne sont pas encore bien compris et l'implication de l'angiotensine II (ANGII) dans ce phénomène reste à être élucidée. En effet, bien que les niveaux de l'ANGII soient augmentés chez les femmes enceintes normotendues, celles-ci sont réfractaires aux effets vasopresseurs de ce peptide (94). Les niveaux urinaires du cortisol libre sont eux aussi augmentés au cours de la grossesse, passant d'environ 55 mg par jour lors du premier trimestre à plus de 110 mg par jour durant le troisième trimestre (97). Cette augmentation des niveaux de cortisol s'expliquerait par l'élévation remarquable de la CRH (*corticotropin-releasing hormone*) synthétisée et relâchée par le placenta et les membranes fœtales (97). Parallèlement, la concentration des transcortines, ou globulines de liaison des corticostéroïdes (CBG; *corticosteroid binding globulin*), est doublée lors du 6^e mois de grossesse comparativement aux taux circulants d'une personne non enceinte (72).

Peu de temps après la conception s'effectue un important remodelage cardiovasculaire qui débute d'abord avec une expansion de la vascularisation utéro-placentaire (167) et une réduction de la résistance vasculaire périphérique (54). Le flot des artères utérines

augmente de façon importante entre la 6^e et 12^e semaine de grossesse, possiblement en réponse à la hausse de production d'hormones libérées par le placenta à ce stade (28).

1.1.2. Gestation chez la rate

La rate constitue un excellent modèle pour étudier la physiologie de la grossesse. En effet, la courte durée de la gestation, qui est de 22 jours comparativement à 40 semaines chez l'humain, facilite les expérimentations. De plus, tel qu'illustré à la figure 1, la troisième et dernière semaine de gestation de la rate ressemble beaucoup au second trimestre de la grossesse humaine quant aux différentes modifications anatomiques et physiologiques qui s'y manifestent. En effet, tout comme pour la femme enceinte, le volume plasmatique de la rate augmente au cours de la gestation (16). L'activité de la rénine plasmatique ainsi que les niveaux de l'aldostérone sérique sont également augmentés et atteindront leur sommet tout juste avant la parturition (39). Les concentrations de progestérone, tout comme celles de l'œstradiol, augmentent elles aussi progressivement au fil de la gestation (96). En ce qui a trait aux niveaux plasmatiques de corticostérone, ils semblent diminuer au cours de la dernière semaine avant de remonter une journée avant la parturition (V. Houde et M. Brochu, en préparation). Finalement, la diminution paradoxale de la pression artérielle est également retrouvée chez la rate gestante et débute au jour 17 (24).

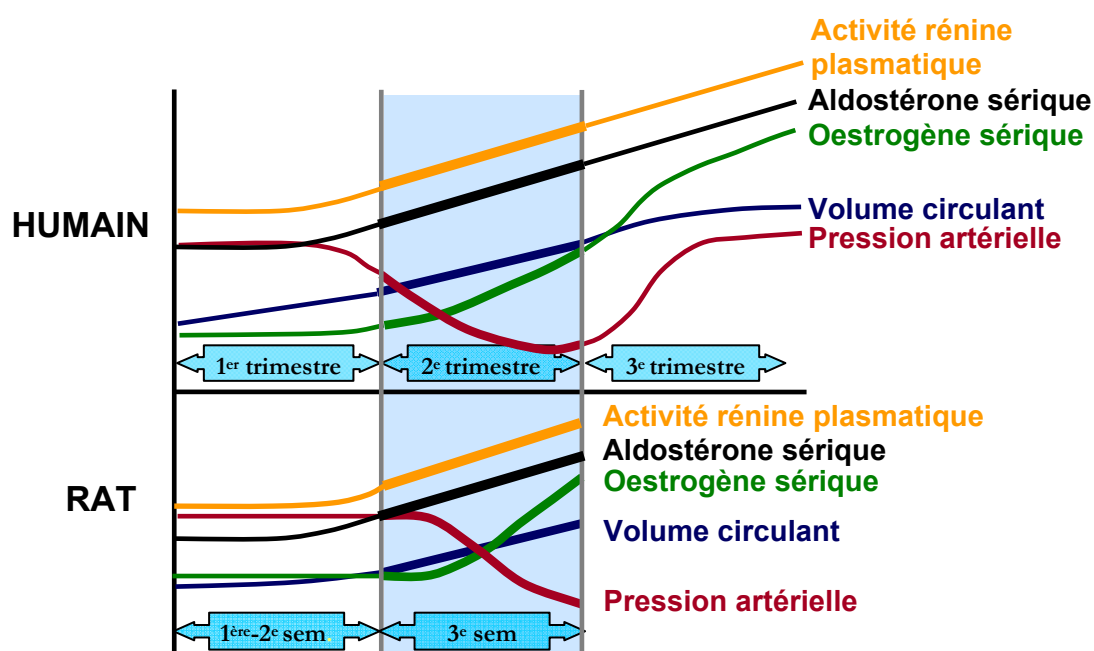


Figure 1. Comparaison entre la grossesse humaine et la gestation de la rate.

1.2. LE REIN

Le rein est le principal organe responsable de l'excrétion. Il filtre le plasma, éliminant dans l'urine les toxines venant du foie et autres déchets métaboliques, tout en conservant les substances et ions nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme. Les reins sont également garants du contrôle du volume et de la composition du sang en maintenant un juste équilibre entre l'eau et les électrolytes.

1.2.1. Morphologie générale

La face médiale du rein présente une fente verticale appelée hile rénal où passent l'uretère, les vaisseaux sanguins rénaux, des vaisseaux lymphatiques et des nerfs (figure 2). Trois couches distinctes composent le rein : le cortex rénal qui est la partie la plus externe, la médulla rénale ainsi que le pelvis. On retrouve dans la médulla les pyramides rénales, masses de tissus coniques dont la base est orientée vers le cortex tandis que leur sommet, aussi appelé papille rénale, pointe vers l'intérieur du rein. Le pelvis rénal, ou bassinnet, se présente sous la forme d'un entonnoir composé de calices rénaux majeurs qui se ramifient en calices rénaux mineurs, cavités où débouchent les papilles rénales. L'uretère, embranché au bassinnet, transporte l'urine jusqu'à la vessie pour ensuite l'excréter hors de l'organisme via l'urètre (108; 173).

La circulation rénale est un système porte doté de deux importants réseaux de capillaires successifs qui permettent de purifier le sang et d'équilibrer son contenu. On retrouve d'abord les capillaires glomérulaires dont l'endothélium tapissé de pores permet le passage de petites substances telles que l'eau, le sodium, l'urée, le glucose et les protéines de faible taille. Cette microcirculation est sise entre les artérioles afférentes et efférentes qui sont les deux principaux sites de résistance dans le rein. Suivent ensuite les capillaires péritubulaires qui succèdent aux artérioles efférentes et irriguent le cortex ainsi que les *vasa recta*, ou vaisseaux droits, retrouvés dans la médulla. La réabsorption vers la lumière vasculaire se fait principalement par ces vaisseaux péritubulaires (104; 173).

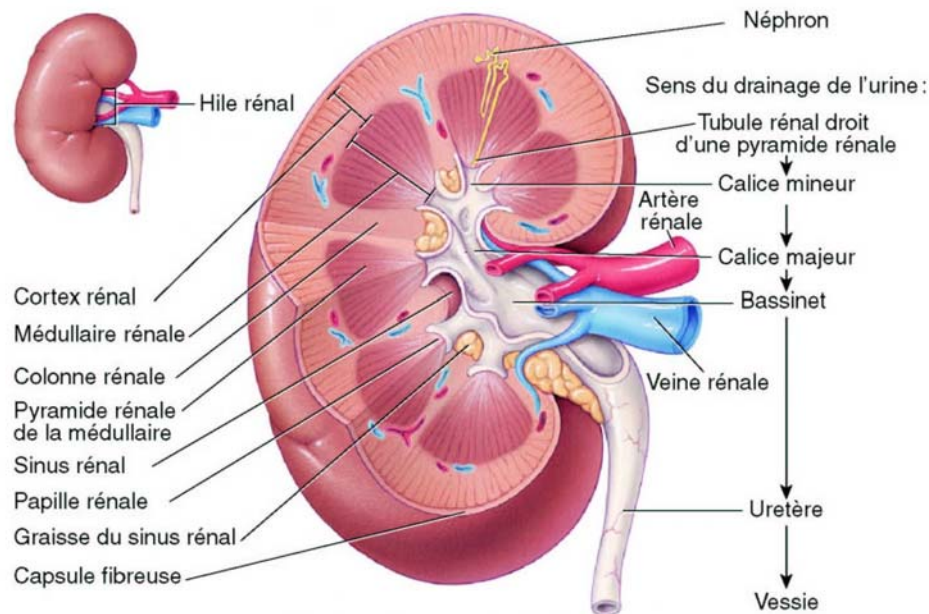


Figure 2. L'anatomie du rein.
Adapté de Tortora GJ (270).

L'innervation du rein est assurée par un réseau de neurofibres et de ganglions du système nerveux sympathique appelé plexus rénal. Ces fibres adrénrgiques innervent les branches principales de l'artère rénale de même que artérioles afférentes et efférentes dont elles peuvent ajuster le diamètre pour régir le débit sanguin rénal. Ainsi, en activant les récepteurs $\alpha 1$ -adrénrgiques présents dans les muscles lisses vasculaires, la libération de norépinéphrine entraîne une vasoconstriction directe des artérioles rénales (104; 173).

1.2.2. Néphron : unité fonctionnelle

Le néphron constitue l'unité structurale et fonctionnelle du rein (figure 3) où il s'acquitte de trois fonctions principales : la filtration glomérulaire ainsi que la réabsorption et la sécrétion tubulaires. La filtration glomérulaire constitue la première étape de la formation de l'urine. Le liquide présent dans la lumière du capillaire glomérulaire est filtré à travers trois couches pour terminer dans l'espace de Bowman. Ces couches successives sont l'endothélium vasculaire, la membrane basale glomérulaire et l'épithélium de la capsule de Bowman. Le glomérule possède une perméabilité sélective, c'est-à-dire qu'il laisse

traverser les molécules selon leur taille, leur charge électrique ainsi que leur forme. Ainsi, les molécules de faible poids moléculaire, telles l'urée ou l'inuline, franchissent aisément la membrane tandis que l'albumine, beaucoup plus volumineuse, en est incapable en condition normale. Une protéine de charge positive et flexible aura également plus de facilité à traverser. À l'instar de tous les lits capillaires, la filtration glomérulaire est un phénomène passif dépendant du gradient de pression hydrostatique, favorable à la filtration, et du gradient de pression oncotique, opposé à la filtration. Le gradient de pression hydrostatique correspond à la pression exercée sur la membrane par l'eau et les solutés tandis que le gradient oncotique résulte de la présence de protéines plasmatiques dans le sang du glomérule. L'écoulement du filtrat vers la capsule de Bowman est possible puisque la pression hydrostatique retrouvée dans le glomérule est plus élevée que la force qui lui est opposée. Ainsi, la vasoconstriction ou la vasodilatation des artérioles rénales influencent grandement la pression hydrostatique ce qui se répercute directement sur le débit de filtration (105; 173).

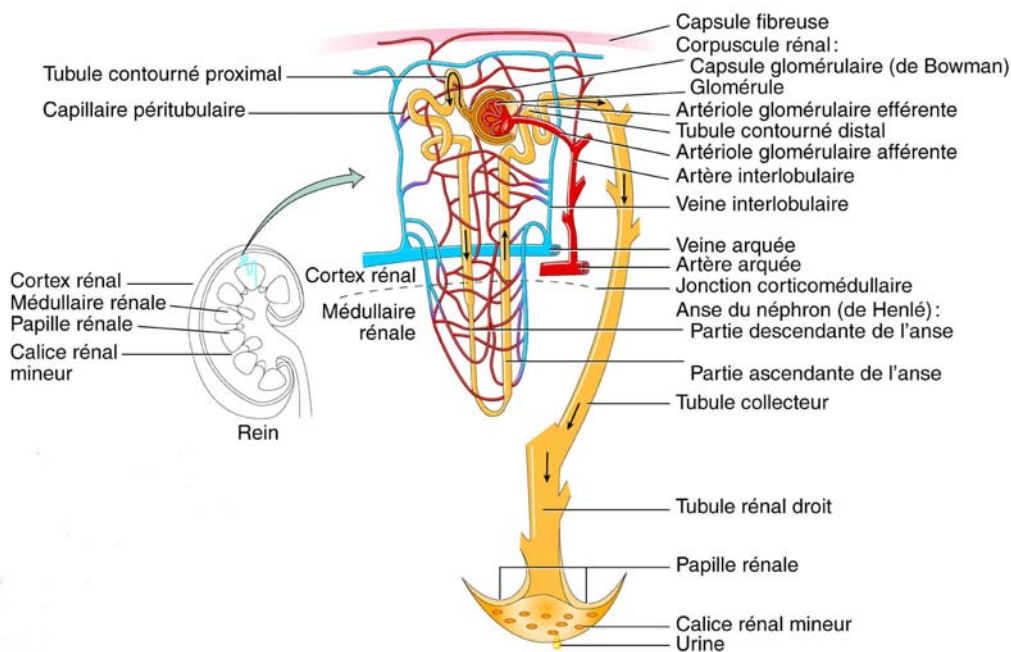


Figure 3. La morphologie du néphron.

Adapté de Tortora GJ (270).

La régulation de la filtration glomérulaire est assurée par des phénomènes d'autorégulation rénale de même que par l'action de diverses hormones et substances vasoactives. Deux

mécanismes d'autorégulation distincts contribuent à la vasodilatation ou la vasoconstriction des artérioles afférentes: les facteurs myogéniques intrinsèques à ces vaisseaux de même qu'un mécanisme de rétroaction tubulo-glomérulaire. Le contrôle direct du système nerveux sympathique (SNS) ainsi que la libération de plusieurs substances synthétisées dans le glomérule jouent également un rôle dans la contraction ou la dilatation des artérioles rénales. L'ANGII, les endothélines et l'adénosine sont des exemples d'agents vasoconstricteurs responsables de l'augmentation de filtration glomérulaire tandis que le monoxyde d'azote (NO) ou la bradykinine sont des composés vasodilatateurs aux effets opposés (104; 173).

Quotidiennement, les reins filtrent près de 180 litres de liquide et n'en excrètent qu'environ 1,5 litre, soit moins de 1%, sous forme d'urine. Sans réabsorption tubulaire, le plasma serait complètement éliminé en moins d'une heure. Ce mécanisme permet également de conserver certains solutés, comme le glucose ou les acides aminés, et ions essentiels au bon fonctionnement de l'organisme. La sécrétion tubulaire permet, quant à elle, d'éliminer dans l'urine les substances nuisibles qui ont été réabsorbées passivement, tels l'urée et l'acide urique, de se débarrasser des excès d'ions potassique (K^+) et de régler le pH sanguin. Bien que toutes les parties du tubule rénal participent à la réabsorption et à la sécrétion tubulaires, chacune d'elles possède des caractéristiques et capacités qui lui sont propres (106; 173).

1.2.3. Homéostasie des électrolytes et régulation du volume extracellulaire

Le volume du liquide extracellulaire (LEC) représente environ 20% du poids corporel et dépend du contenu total en Na^+ et des anions qui l'accompagnent. Afin de conserver une osmolalité plasmatique constante, le volume liquidien et le contenu sodique varient simultanément. Ainsi, la régulation de la balance externe en Na^+ , soit la différence entre son ingestion et sa sécrétion, permet le bon maintien du volume du LEC. En condition normale, cette balance externe nette est à peu près nulle. Toutefois, les habitudes alimentaires et une grande variété de conditions pathologiques peuvent perturber cette balance et résulter en une expansion ou contraction du volume du LEC. De nombreux barorécepteurs extra- et intrarénaux à haute pression détectent les déviations normales du volume liquidien. Les récepteurs présents dans la crosse aortique et les sinus carotidiens

inhibent le SNS en réponse à une hausse de pression intravasculaire. À l'inverse, une diminution de pression est détectée par les barorécepteurs retrouvés dans l'appareil juxtaglomérulaire induisant l'activation du SRAA. Ainsi, les fluctuations du volume du LEC ont pour conséquence de moduler le débit de filtration glomérulaire de même que la réabsorption de Na^+ dans certains segments du tubule collecteur afin de rétablir l'équilibre liquidien (107).

1.2.4. Le rein au cours de la grossesse

Parallèlement aux diverses adaptations cardiovasculaires, la circulation rénale est modifiée en début de grossesse avec une réduction de la résistance vasculaire rénale dès la 6^e semaine (54). Le flot sanguin rénal subit une hausse de 35 à 60% suite à cette diminution de résistance vasculaire rénale ainsi que par l'augmentation du volume sanguin et du débit cardiaque (78). Conséquemment, le taux de filtration glomérulaire est lui aussi augmenté dès les premières semaines de grossesse pour atteindre un sommet à la fin du premier trimestre (54). De plus, chez la rate, la réabsorption de Na^+ et d'eau est plus élevée en fin de gestation (15), résultant vraisemblablement de l'activation du SRAA (111). Le flot sanguin rénal de même que le taux de filtration glomérulaire sont également augmentés chez la rate gestante [pour une revue (22)].

1.3. LE COEUR

Tandis que le rein joue un rôle important dans le contrôle du volume et de la composition du sang, le cœur est l'organe responsable de sa propulsion à travers un immense réseau de vaisseaux sanguins. Bien que de nombreuses conditions cardiovasculaires puissent affecter la fonction du cœur, nous nous intéresserons dans cette section à deux d'entre elles, soit l'hypertrophie du ventricule gauche ainsi que la fibrose cardiaque.

1.3.1. Morphologie et physiologie cardiaques

Le cœur (figure 4) est enveloppé dans un sac à double paroi appelé péricarde dont la couche externe, le péricarde fibreux, est composé de tissu conjonctif dense qui le protège et l'amarre au diaphragme et aux gros vaisseaux. La paroi du cœur est formée de trois

tuniques : l'épicaarde, le myocarde et l'endocarde. L'épicaarde, ou lame viscérale du péricarde séreux, fait partie intégrante de la paroi du cœur. La tunique intermédiaire, le myocarde, est principalement composée de cellules musculaires cardiaques, ou cardiomyocytes, et constitue en soi le muscle cardiaque. L'endocarde est, quant à lui, l'endothélium qui tapisse les cavités du cœur et recouvre les valves cardiaques (174).

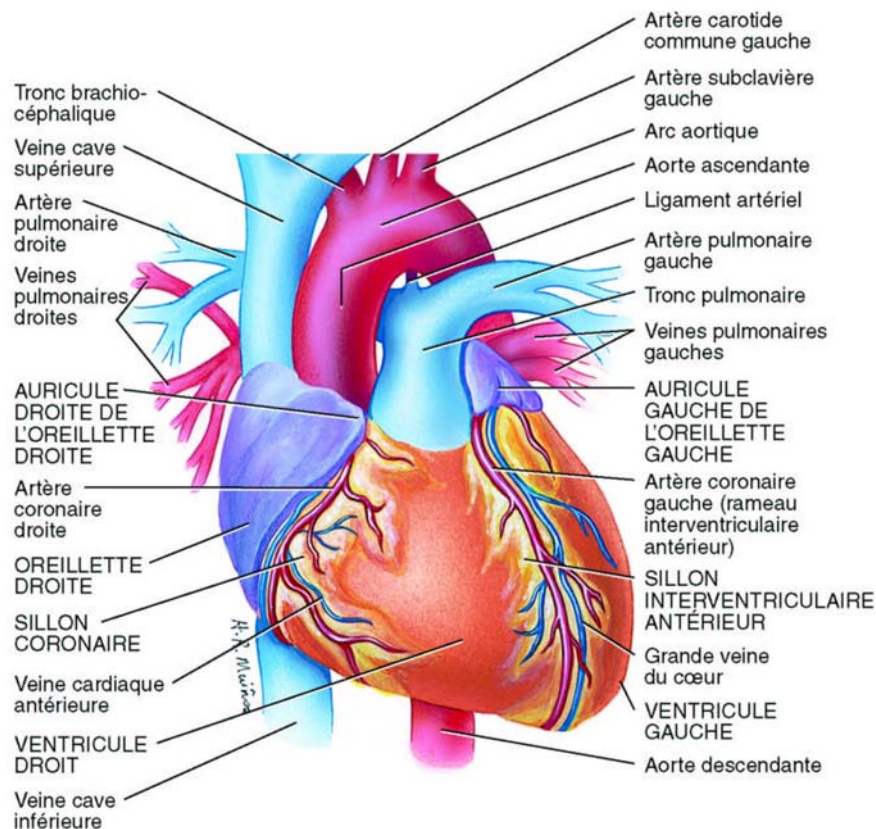


Figure 4. L'anatomie du cœur.
Adapté de Tortora GJ (271).

Bien que le cœur possède sa propre autonomie de contraction, les fibres du système nerveux autonome peuvent modifier légèrement le rythme cardiaque en faisant varier la fréquence des battements. Les centres cardio-accelérateur sympathique et cardio-inhibiteur parasympathique, dont les prolongements cheminent jusqu'au cœur, sont tous deux retrouvés dans le bulbe rachidien. En situation de stress émotionnel ou physique, les neurones sympathiques libèrent de la norépinéphrine qui se lie aux récepteurs β_1 -adrénergique. Cette stimulation a pour effet de diminuer le seuil d'excitation du nœud

sinusal et de favoriser la pénétration du calcium dans les cellules contractiles, augmentant ainsi le rythme et la force du battement cardiaque. À l'opposé, une stimulation du système nerveux parasympathique (SNP) aura pour conséquence de réduire la fréquence cardiaque en libérant de l'acétylcholine dont la liaison aux récepteurs muscariniques M₂ entraîne l'hyperpolarisation des membranes des cellules musculaires (174).

1.3.2. Hypertrophie et fibrose cardiaques

L'hypertrophie cardiaque, c'est-à-dire l'augmentation de la masse du cœur en réponse à une charge hémodynamique anormale ou une blessure, peut être de nature physiologique ou pathologique. L'hypertension, les maladies valvulaires de même que les infarctus du myocarde sont des exemples de stimuli conduisant au développement d'une hypertrophie pathologique (156). À l'opposé, l'hypertrophie physiologique est le résultat d'une activité physique régulière [pour une revue (85)] ou d'une condition particulière telle que la grossesse. Qu'elle soit physiologique ou pathologique, l'hypertrophie peut prendre une forme excentrique (épaississement des parois cardiaques sans changement au niveau des cavités) ou concentrique (augmentation du volume des cavités sans changement dans l'épaisseur des parois). En condition pathologique, une surcharge de pression, causée par une hypertension artérielle par exemple, induit une hypertrophie concentrique tandis qu'une surcharge volumétrique (ex. régurgitation aortique) mène à une hypertrophie de type excentrique (113). En ce qui a trait à l'hypertrophie physiologique, la forme adoptée dépend du type d'exercice, soit isotonique ou statique (215), ou de la condition. Ce type d'hypertrophie est réversible, bénéfique et sans effet délétère sur la fonction cardiaque à long terme (215; 234). Les hypertrophies physiologique et pathologique se distinguent par leur structure et leur base moléculaire. En effet, en situation pathologique, les fibroblastes cardiaques ainsi que les protéines de la matrice extracellulaire s'accumulent dans le cœur de façon excessive et disproportionnée [pour une revue (40)]. De plus, l'hypertrophie pathologique est associée à une augmentation de l'expression de gènes fœtaux tels que ANP, BNP (*B-type natriuretic peptide*) et les chaînes lourdes de l' α -actine et de la β -myosine squelettiques (180). À l'inverse, une hypertrophie physiologique génère la formation d'un fin réseau de fibres de collagène autour des cardiomyocytes leur offrant ainsi un support supplémentaire (40). La réactivation des gènes fœtaux est peu fréquente dans ce type d'hypertrophie (180).

L'hypertrophie du ventricule gauche (HVG) se définit comme étant un remodelage structurel du cœur en réponse à une hypertension systémique ou autres anomalies cardiovasculaires (109). En plus de prédire le développement de conditions pathologiques cardiovasculaires dans la population hypertensive, l'HVG est un facteur de risque important pour les maladies coronariennes, l'insuffisance cardiaque et les accidents vasculaires cérébraux (AVC) (157; 282; 283). Le processus de remodelage consiste en de nombreux changements structurels incluant une hypertrophie des cardiomyocytes, un épaississement des artères coronariennes intra-myocardiques ainsi que de la fibrose. Ces altérations tissulaires ont pour conséquences délétères une diminution du flot sanguin coronarien, une dysfonction diastolique et l'induction d'arythmies ventriculaires [pour une revue (109)]. L'hypertrophie des cardiomyocytes découle, en partie, des forces d'étirement et de cisaillement présentes de façon marquée lors de surcharges de volume et de pression dans les ventricules cardiaques. En plus du stress mécanique, plusieurs hormones telles que la norépinéphrine, l'endothéline, l'ANGII et l'aldostérone contribuent à cette hypertrophie cellulaire. En effet, il a été démontré, dans des études animales, que l'infusion de norépinéphrine induit l'hypertrophie cardiaque en plus d'augmenter la production des chaînes lourdes de myosine cardiaque, un marqueur d'hypertrophie des cardiomyocytes (19; 38; 261). L'ANGII, synthétisée entre autres lors d'un stress mécanique, a pour effet d'augmenter la synthèse protéique via l'expression de proto-oncogènes, de facteurs de croissance et de cytokines (17; 229). Quant à l'aldostérone, il a été observé dans un modèle animal que l'administration de ce stéroïde additionnée de 1% NaCl (chlorure de sodium) et de 0.3% de KCl (chlorure de potassium) induit une hypertension artérielle accompagnée d'une HVG (224). Chez l'humain, il a été observé que l'HVG est plus fréquente chez les personnes atteintes d'hyperaldostéronisme primaire que dans les cas d'hypertension essentielle de même sévérité (263). Dans la même veine, l'étude 4E (*Eplerenone, Enalapril, and Eplerenone/Enalapril Combination Therapy in Patients with Left Ventricular Hypertrophy*) a démontré que la prise d'éplérénone, un antagoniste des récepteurs de l'aldostérone, diminue significativement la masse du ventricule gauche (213). Finalement, une surexpression des récepteurs de l'aldostérone dans le cœur de souris entraîne une HVG sans changement dans la pression artérielle (154). Ces résultats suggèrent que l'hypertrophie cardiaque découle des effets directs de l'aldostérone sur le cœur plutôt que d'une élévation de la pression artérielle. Les mécanismes exacts de ce

phénomène demeurent incertains bien que les effets inflammatoires et oxydants résultant de l'activation des récepteurs de l'aldostérone soient soupçonnés d'y jouer un rôle (183; 226).

La fibrose cardiaque est associée à une perturbation de la structure normale du cœur de même qu'à un dépôt et une accumulation excessive de protéines de la matrice extracellulaire telles que le collagène I et III [pour une revue (272)]. Cette accumulation débute d'abord autour des artères coronariennes intra-myocardiques et se propage par la suite entre les cardiomyocytes, entraînant un épaississement de la matrice extracellulaire. Ce processus a pour effet de réduire l'apport en énergie des cellules cardiaques et d'induire leur mort cellulaire. Les fibroblastes avoisinants, principaux médiateurs cellulaires de la fibrose, synthétisent alors une nouvelle matrice dans le but de remplacer les cellules endommagées, formant ainsi un tissu cicatriciel [pour une revue (199)]. Il s'agit ici d'un processus appelé fibrose réparatrice. L'inflammation (199), la pression intra-coronarienne ainsi que les hormones du SRAA sont tous des facteurs soupçonnés de jouer un rôle dans l'initiation du développement de la fibrose, soit par l'activation des fibroblastes ou d'autres mécanismes. En effet, il a été démontré dans des modèles expérimentaux que l'aldostérone induit de la fibrose cardiaque et un remodelage vasculaire, et ce de façon plus aigüe en présence de sodium (82; 290). L'aldostérone produit ces effets via l'induction d'un stress oxydatif (132) et d'une inflammation vasculaire (226) de même que par l'expression de divers marqueurs inflammatoires tels que la cyclooxygénase-2, PAI-1 (*plasminogen activator inhibitor-1*) et l'ostéopontine (175). Cette dernière est impliquée dans la migration et la prolifération cellulaires ainsi que le dépôt de matrice extracellulaire (231). De plus, il a été observé que l'aldostérone augmente la synthèse de collagène I et III dans les fibroblastes cardiaques (224).

1.3.3. Le cœur au cours de la grossesse

Lors de la grossesse, on observe une hausse de la fréquence cardiaque d'environ 15% qui débute entre la 2^e et 5^e semaine pour atteindre un sommet lors de la 32^e semaine (225). Conséquemment, à partir de la 5^e semaine de grossesse s'amorce un accroissement graduel du débit cardiaque pour atteindre une hausse d'environ 30 à 50% dès le premier trimestre (69). Cette élévation se poursuit jusqu'au second trimestre où elle atteint alors un plateau. Malgré cette augmentation marquée du débit cardiaque et du volume plasmatique, la

pression artérielle moyenne et diastolique diminuent jusqu'en mi-grossesse pour ensuite revenir graduellement à des valeurs semblables à la pré-grossesse, et ce jusqu'à terme (169). Les causes de cette diminution restent nébuleuses, mais pourraient impliquer certaines substances vasodilatatrices (239). Quant à la pression artérielle systolique, elle reste plutôt stable au fil de la grossesse. Une légère hypertrophie myocardique physiologique est également observée dans la paroi du ventricule gauche (234) en réponse à la surcharge volumétrique à laquelle fait face le cœur de la mère. Cette hypertrophie de type excentrique est réversible et s'accompagne d'une diminution de la fonction diastolique et d'une dysfonction systolique à court terme (234). Elle permet d'augmenter la capacité d'éjection du cœur, améliorant ainsi son efficacité mécanistique. L'élévation de la fréquence et du débit cardiaques (2; 248) ainsi que l'hypertrophie cardiaque maternelle (20) sont également retrouvées chez la rate gestante.

1.4. LE PLACENTA

Issu de deux organismes différents, le placenta est un organe unique hautement vascularisé jouant un rôle essentiel dans les échanges entre la mère et le fœtus, assurant les fonctions respiratoires, excrétoires et nutritives de ce dernier. Il agit également en tant que barrière capable de protéger le fœtus en développement et possède une fonction endocrinienne extrêmement efficace.

1.4.1. Placentation chez la femme

Au cours des premiers jours suivant la fécondation, le zygote nouvellement formé subit un ensemble de divisions sans croissance cellulaire appelé segmentation. Ces divisions engendrent de nombreuses cellules filles de plus petite taille, les blastomères, qui forment alors la morula, petite masse cellulaire entourée de la zone pellucide. Au cours de la migration vers l'utérus, le nombre de blastomères s'accroît et ceux-ci adoptent également un nouveau phénotype. Ainsi, les cellules les plus externes de la morula s'aplatissent et acquièrent une polarité favorisant les contacts intercellulaires. Ce phénomène de compaction mène à la formation du blastocyste, sphère creuse dans laquelle se retrouve une cavité remplie de liquide : le blastocœle. Le blastocyste est constitué de deux types cellulaires distincts : les cellules trophoblastiques qui forment la couronne externe et

l'embryoblaste, un amas de cellules retrouvé à l'intérieur du blastocyste (figure 5). La masse cellulaire externe, qui prend alors le nom de trophoblaste, est à l'origine du développement du placenta et de ses structures connexes. L'embryoblaste formera, quant à lui, l'embryon (138; 171; 268).

Une fois la cavité utérine atteinte, le blastocyste se libère de la zone pellucide et baigne alors dans les sécrétions utérines où il interagit directement avec l'endomètre. Les processus d'adhésion et d'implantation débutent environ 6 jours après la fécondation, lorsque les taux sanguins des œstrogènes et de la progestérone sont adéquats. Le blastocyste s'appose d'abord sur l'épithélium utérin, puis, à l'aide des microvillosités présentes à leur surface, les cellules trophoblastiques forment des complexes d'interpénétration avec les cellules épithéliales utérines. Les cellules trophoblastiques commencent alors à proliférer et se différencient en deux couches cellulaires distinctes, soit le cytotrophoblaste et le syncytiotrophoblaste.

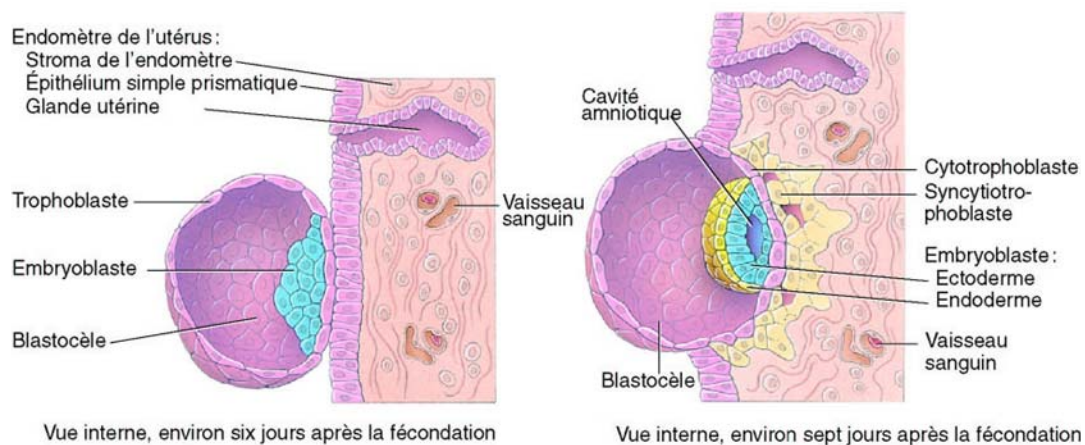


Figure 5. L'adhésion et l'implantation du blastocyste humain.

Adapté de Tortora GJ (268).

La différenciation des cytotrophoblastes s'effectue selon deux voies, soient les voies du trophoblaste villositaire et extra-villositaire. Le trophoblaste extra-villositaire envahit les artères utérines maternelles et permet l'implantation du placenta dans l'endomètre. Quant au trophoblaste villositaire, celui-ci est responsable de la formation des villosités flottantes qui sont constituées de cytotrophoblastes fusionnés formant une masse multinucléée, le syncytium. Chez la femme, on parle d'une implantation de type interstitiel puisque le

complexe embryonnaire pénètre complètement le tissu conjonctif maternel. En effet, le syncytiotrophoblaste sécrète des enzymes protéolytiques qui induisent l'apoptose des cellules épithéliales de la muqueuse utérine permettant au blastocyste de s'enfouir dans l'endomètre. Au milieu de la deuxième semaine de grossesse, de larges lacunes, initialement gorgées de fluides tissulaires et de sécrétions utérines, apparaissent dans le syncytiotrophoblaste. Suite à l'activité lytique de celui-ci, ces lacunes se remplissent de sang après anastomose avec les vaisseaux utérins maternels et formeront les chambres intervilleuses. Peu de temps après, le blastocyste implanté est recouvert et isolé grâce à la prolifération des cellules endométriales, complétant ainsi l'implantation (138; 171; 281).

Le développement de la circulation utéro-placentaire se déroule en plusieurs étapes et débute dès le 9^e jour de grossesse. Au départ, des cellules du cytotrophoblaste prolifèrent et pénètrent dans les travées du syncytiotrophoblaste pour former les villosités trophoblastiques primaires. Apparaîtront par la suite les villosités secondaires ainsi que les villosités tertiaires, dont les vaisseaux sanguins se connectent à ceux du fœtus. À leur tour, les villosités tertiaires génèrent de nombreuses villosités «filles» qui restent libres et flottent dans les chambres intervilleuses ou s'ancrent à la paroi utérine. Les villosités chorioniques sont ainsi formées. À partir de ce moment, les gaz, les nutriments ainsi que les déchets circulant dans le sang maternel et fœtal doivent franchir quatre couches tissulaires successives: l'endothélium des capillaires des villosités, le tissu conjonctif, le cytotrophoblaste ainsi que le syncytiotrophoblaste. Ces structures forment à proprement dit la barrière placentaire. Le cytotrophoblaste, présent au niveau de la villosité chorionique, permet le renouvellement du syncytiotrophoblaste tout au long de la grossesse. Au cours du quatrième mois, la distance entre la circulation maternelle et fœtale se réduit, facilitant les échanges. Il est important de souligner que bien que les sangs fœtal et maternel se côtoient de très près, ils n'entrent jamais en contact en situation normale (131; 138; 268).

À la fin du troisième mois, le placenta est généralement bien formé mais son développement se poursuivra jusqu'en fin de grossesse pour s'adapter aux besoins métaboliques de l'embryon en croissance. Au 4^e mois de grossesse, on peut observer dans le placenta toutes les structures constitutives essentielles, c'est-à-dire le cordon ombilical, l'amnios qui le recouvre, la plaque chorionique, l'arborisation villositaire, la plaque basale

et la structure des cotylédons, les unités fonctionnelles vasculaires. La partie fœtale du placenta est constituée de la plaque chorionique qui contient les villosités placentaires où se font les échanges entre la mère et le fœtus. La plaque basale est, quant à elle, d'origine composite, avec des tissus provenant de la mère et de l'embryon. À la naissance, le placenta présente deux surfaces : une surface maternelle bosselée épousant la forme des masses de villosités chorioniques et une surface fœtale lisse et luisante où se branche le cordon ombilical (84; 138; 171).

1.4.2. Placentation chez la rate

Chez le rat, les processus d'implantation et de formation du placenta diffèrent de ceux retrouvés chez l'humain en certains points. D'abord, une fois fertilisés, les ovocytes de la rate, devenus blastocystes, atteignent la cavité utérine après 3 ou 4 jours et s'y implantent. Tout comme le blastocyste humain, le blastocyste de rat est formé d'une monocouche de cellules trophoblastiques dans laquelle se retrouve l'embryoblaste. Les contractions utérines présentes au 5^e jour de gestation permettent de disperser les blastocystes le long des deux cornes utérines en des intervalles réguliers. Ceux-ci s'implantent sur la face anti-mésométriale de la corne, permettant à l'embryoblaste de s'enfouir dans la décidua. Le placenta se formera, quant à lui, du côté mésométrial. Ainsi, contrairement à l'humain, ce sont les cellules trophoblastiques du pôle mésométrial qui se divisent et envahissent la muqueuse utérine. Suite à la prolifération trophoblastique, un cône préplacentaire, aussi appelé «Träger», se développe du côté opposé au site d'implantation, débutant ainsi la formation du placenta. Au même moment, des cellules trophoblastiques géantes apparaissent en périphérie du cône et envahissent la décidua grâce à leur activité phagocytaire. Au 10^e jour, c'est au tour des cellules du trophoblaste et du syncytiotrophoblaste d'apparaître autour du Träger. Les lacunes remplies de sang se formeront au milieu de ces cellules à partir desquelles se poursuivra le développement placentaire. Chez la rate, on parle d'une implantation de type excentrique puisque l'invasion trophoblastique du stroma est partielle et que le complexe embryonnaire continue à saillir de façon plus ou moins marquée dans la cavité utérine.

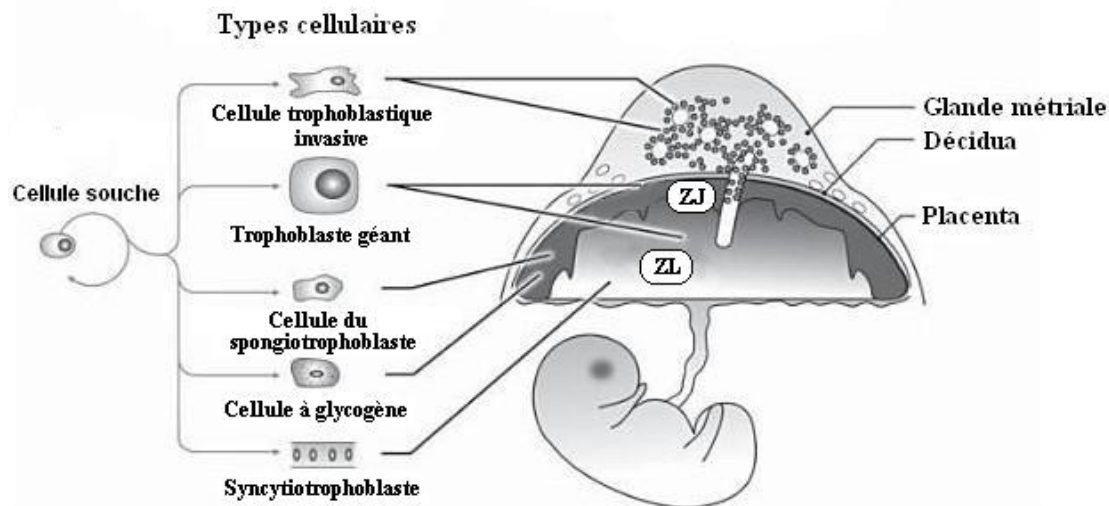


Figure 6. La structure du placenta de rat.

Adapté de Saghal N (230).

ZJ : Zone jonctionnelle ; ZL : Zone labyrinthe

Au 12^e jour de gestation, cinq couches morphologiques distinctes sont observées du côté placentaire (figure 6). Ces structures seront présentes tout au long de la gestation, bien que certaines d'entre elles subiront des différenciations postérieures. On retrouve ainsi le myomètre utérin, la décidua mésométriale, une couche de cellules trophoblastiques géantes, le spongiotrophoblaste et, finalement, une couche comprenant de nombreuses lacunes qui deviendront capillaires. Cette dernière couche constitue la zone labyrinthe du placenta et est responsable des échanges entre la mère et le fœtus. Contrairement aux cellules du syncytiotrophoblaste humain, ce sont les spongiotrophoblastes, les cellules trophoblastiques géantes ainsi que les cellules trophoblastiques invasives qui assurent la fonction endocrinienne du placenta chez la rate (1; 6; 26; 67; 138).

1.4.3. Échanges fœto-maternels

La circulation placentaire regroupe à la fois les circulations maternelle et fœtale, situées de part et d'autre du placenta et séparées par la barrière placentaire. Le nombre important de villosités retrouvées dans la plaque chorionique facilite les échanges entre la mère et le fœtus. Les échanges entre les deux circulations peuvent s'effectuer par des mécanismes de transport passif ou actif, mais également au travers de brèches dans la barrière placentaire. Les molécules de petite taille telles que les gaz sanguins, le Na⁺, l'eau et l'urée de même

que certaines molécules non polaires, comme les acides gras et les stéroïdes non conjugués, franchissent la barrière par simple diffusion. À l'opposé, le glucose, les acides aminés, les vitamines hydrosolubles, les protéines plasmatiques et le cholestérol doivent emprunter des mécanismes de transport actif ou de transport vésiculaire pour traverser le placenta. On retrouve ainsi à la barrière placentaire les transporteurs du glucose, les GLUT (*glucose transporter*), qui représente la principale source d'énergie du fœtus de même que différents transporteurs d'acides aminés. Grâce aux différents mécanismes de transport, le sang artériel placentaire extrait l'oxygène, le glucose et autres nutriments essentiels à la survie et au développement du fœtus. Ceux-ci sont véhiculés par le sang veineux placentaire tandis que les déchets sont éliminés dans la circulation veineuse utérine (139).

1.4.4. Fonction endocrine

En plus d'assurer un apport en oxygène et nutriments adéquat pour le fœtus, le placenta sécrète une variété d'hormones stéroïdiennes et peptidiques qui influencent le déroulement de la grossesse. C'est plus précisément le syncytiotrophoblaste, véritable «cellule» endocrine placentaire, qui s'acquitte de cette fonction. Dès sa formation, le placenta sécrète de la gonadotrophine chorionique humaine, l'hCG (*human chorionic gonadotropin*), qui permet de maintenir la synthèse des œstrogènes et de la progestérone par le corps jaune dont l'activité diminue progressivement dès la 8^e semaine de grossesse. À partir de ce moment, les cellules syncytiotrophoblastiques prennent le relais et poursuivent la libération de ces hormones dont les concentrations sanguines augmenteront progressivement jusqu'en fin de grossesse. N'exprimant pas la CYP17 (Cytochrome P450 17 α -hydroxylase/17,20 lyase), le placenta est incapable de synthétiser les androgènes qu'il transforme en produits œstrogéniques tels que l'estriol, l'estrone et l'oestradiol. À l'opposé, les glandes surrénales fœtales possèdent, quant à elle, la machinerie nécessaire à la synthèse des androgènes. Cependant, l'enzyme P450aromatase étant absente dans ce tissu, elles sont incapables de les transformer en œstrogènes. Ainsi, placenta et fœtus collaborent afin de fournir les œstrogènes nécessaires au maintien de la grossesse. À l'opposé, chez la rate, la synthèse des œstrogènes et de la progestérone est assurée par les ovaires tout au long de la gestation. Grâce à ses propriétés immuno-suppressives et anti-inflammatoires, la progestérone contribue à prévenir le rejet du fœtus et du placenta. De plus, elle permet de retarder le début des contractions tout en augmentant leur fréquence une fois celles-ci déclenchées. En

effet, le retrait de la progestérone du myomètre utérin permettrait le déclenchement de la parturition par les œstrogènes [pour une revue (264)]. À partir de la 7^e semaine, le syncytiotrophoblaste sécrète également l'hormone placentaire lactogène humaine qui, conjointement avec les œstrogènes et la progestérone, stimulent le développement des glandes mammaires et les préparent à la lactation. En libérant l'hormone thyroïdienne placentaire, le placenta participe, dans une certaine mesure, au métabolisme maternel. En effet, en augmentant les niveaux plasmatiques de parathormone et de vitamine D, la femme enceinte a tendance à avoir un bilan calcique positif ce qui permet au fœtus de disposer de tout le calcium dont il a besoin pour sa croissance. Finalement, de nombreux neuropeptides, facteurs de croissance et cytokines libérés par le placenta et impliqués dans la croissance fœto-placentaire ont également été retrouvés. Chez la femme, cela inclut l'ocytocine, le neuropeptide Y de même que la GnRH (*gonadotropin releasing hormone*) et la CRH (140; 171).

1.5. L'ALDOSTÉRONNE ET SES RÉCEPTEURS

Caractérisée depuis plusieurs années, l'aldostérone joue un rôle important dans la physiologie rénale et cardiaque. Cette section traitera de la stéroïdogénèse, des régulateurs de la synthèse de l'aldostérone, de même que de ses récepteurs et fonctions.

1.5.1. Stéroïdogénèse

Historiquement, la synthèse de l'aldostérone a été confinée à la zone glomérulée du cortex surrénalien. Il a toutefois été démontré que ce minéralocorticoïde pouvait être également formé dans le système cardiovasculaire (262) de même que le système nerveux central (SNC) (61). Sa synthèse partage avec celle du cortisol de nombreuses enzymes de la voie de la stéroïdogénèse. Pour débiter, le cholestérol présent dans le cytoplasme doit franchir la membrane externe de la mitochondrie où se situe la première enzyme de cette voie (figure 7). Ce transport, qui constitue l'étape limitante de la synthèse des stéroïdes, est assuré par la protéine StAR (*steroidogenic acute regulatory protein*) [pour une revue (259)]. Une fois dans la mitochondrie, l'enzyme CYP11A1 (P450 *cholesterol side-chain cleavage enzyme*) transforme le cholestérol en prégnénolone suite à trois réactions enzymatiques successives (158). La prégnénolone est par la suite libérée dans le cytosol où

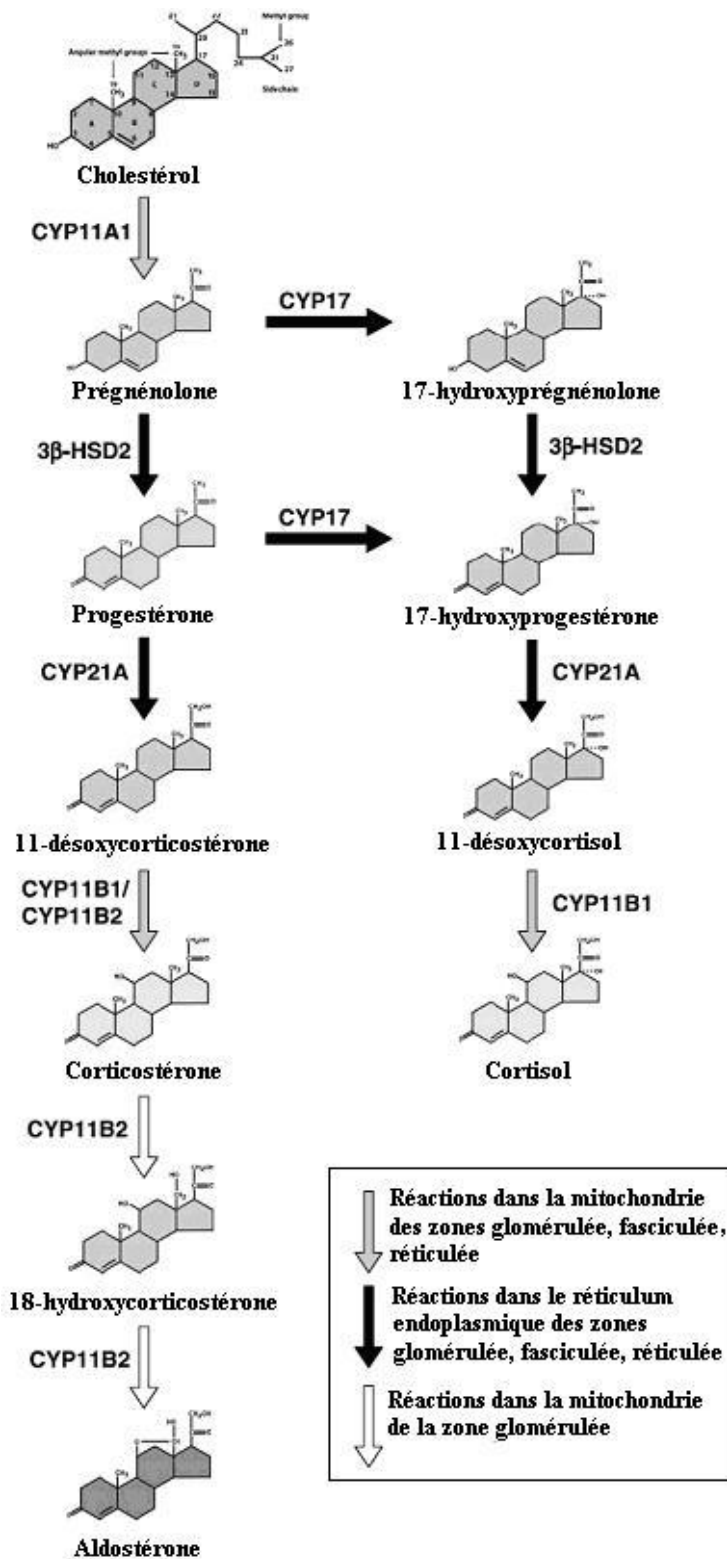


Figure 7. La stéroïdogénèse dans la surrénale humaine.

Adapté de Connell JM (60).

3β-HSD : 3β-hydroxystéroïde déshydrogénase ; CYP11A : cytochrome P450 *cholesterol side chain cleavage enzyme* ; CYP11B1 : cytochrome P450 11β-hydroxylase ; CYP11B2 : cytochrome P450 aldostérone synthase ; CYP17 : cytochrome P450 17α-hydroxylase ; CYP21 : cytochrome P450 21β-hydroxylase.

elle est convertie en progestérone par la 3 β -hydroxystéroïde déshydrogénase (3 β -HSD) retrouvée à la membrane du réticulum endoplasmique lisse (REL). Par la suite, la CYP21A permet la 21-hydroxylation de la progestérone qui devient alors de la 11-désoxycorticostérone (DOC) (247). Finalement, la formation de l'aldostérone à partir de la DOC est assurée par l'aldostérone synthase (CYP11B2). Cette enzyme, située sur la membrane interne mitochondriale, catalyse les trois dernières réactions, soit d'abord une 11 β -hydroxylation de la DOC qui forme la corticostérone, suivie d'une 11 β -hydroxylation pour obtenir de la 18-hydroxycorticostérone et, pour finir, une 18-méthoxydation qui complète la formation d'aldostérone [pour une revue (60)]. Du côté des glucocorticoïdes, la prégnénolone et la progestérone peuvent entrer dans la voie de biosynthèse du cortisol en subissant une 17 α -hydroxylation pour donner de la 17-hydroxyprégnénolone et de la 17-hydroxyprogestérone respectivement. Cette conversion est rendue possible par l'enzyme CYP17 [pour une revue (159)]. La CYP21A convertit ensuite la 17-hydroxyprogestérone en 11-désoxycortisol qui sera finalement transformé en cortisol par la CYP11B1 (60). La CYP17 étant absente de la surrénale des rongeurs, la corticostérone constitue le principal glucocorticoïde chez ces animaux (153).

1.5.2. Régulateurs de la synthèse de l'aldostérone

Bien que plusieurs facteurs puissent stimuler ou inhiber la synthèse de l'aldostérone, les trois principaux régulateurs de cette hormone demeurent le système rénine-angiotensine, la corticotrophine et la concentration extracellulaire de potassium (172).

1.5.2.1. Système rénine-angiotensine

Le système rénine-angiotensine constitue le principal mécanisme de régulation de la libération d'aldostérone. Cette cascade de régulation débute par la synthèse et la relâche de rénine par les cellules juxtaglomérulaires suite à une diminution de volume intravasculaire ou en réponse à un faible niveau de Na⁺ dans la macula densa (172). La rénine est une enzyme qui catalyse la conversion de l'angiotensinogène, protéine plasmatique essentiellement produite par le foie, en angiotensine I (ANGI). L'ANGI pourra alors être transformée en ANGII sous l'action de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE;

angiotensin-converting enzyme). Cette dernière est principalement retrouvée dans les poumons et l'endothélium vasculaire, mais également dans plusieurs autres tissus [pour une revue (170)]. En plus de son action vasoconstrictrice, l'ANGII entraîne la production d'aldostérone dans la zone glomérulée surrénalienne. La réponse à une stimulation par l'ANGII s'effectue dans les minutes, suggérant que la voie sous-jacente ne nécessite pas de synthèse protéique. Elle impliquerait plutôt la formation de composés intermédiaires de la voie de stéroïdogénèse. Il a été observé qu'une stimulation chronique à l'ANGII induit une hypertrophie et une hyperplasie de la zone glomérulée surrénalienne et augmente l'expression de l'aldostérone synthase [pour une revue (60)]. L'ANGII agit sur des récepteurs couplés aux protéines G, les récepteurs AT1, activant l'enzyme phospholipase C qui catalyse l'hydrolyse du phosphatidylinositol diphosphate membranaire (PIP₂) en diacylglycérol (DAG) et inositol-1-4-5-triphosphate (IP₃). La libération d'IP₃ a pour effet d'augmenter la concentration intracellulaire de calcium libre (Ca²⁺) permettant ainsi l'activation de protéines kinases Ca²⁺-calmoduline dépendantes (CaMK; Ca²⁺/calmodulin-dependent kinase) [pour une revue (121)]. Une fois activées, les CaMK peuvent réguler l'expression de CYP11B2 via la phosphorylation et l'activation de différents facteurs de transcription [pour une revue (254)].

1.5.2.2. Corticotrophine

En condition normale, la corticotrophine, ou ACTH (*adrenocorticotropic hormone*), a très peu ou pas d'effet sur la libération d'aldostérone. En effet, cette hormone peptidique de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HPA; *hypothalamic-pituitary-adrenal*) exerce principalement un contrôle sur la production des glucocorticoïdes (172). Toutefois, en situation de stress, la sécrétion de CRH par l'hypothalamus élève les niveaux sanguins d'ACTH qui pourra ainsi intensifier la libération d'aldostérone. Cette augmentation de synthèse implique des voies de signalisation de l'adénosine monophosphate cyclique (AMPc) ainsi que des mécanismes indépendants de la synthèse protéique (62; 63). À l'opposé, une stimulation chronique à l'ACTH diminue les niveaux plasmatiques d'aldostérone (90; 125). Ce phénomène pourrait s'expliquer par une baisse d'expression des récepteurs à l'ANGII sous l'action de l'AMPc (300). L'ACTH pourrait également transformer les cellules de la zone glomérulée en cellules de la zone fasciculée ou détourner

les précurseurs des minéralocorticoïdes vers la voie de synthèse des glucocorticoïdes (178; 285).

1.5.2.3. Ion potassique

La synthèse de l'aldostérone est très sensible aux variations des concentrations plasmatiques des ions K^+ . En effet, une élévation de celles-ci entraîne la dépolarisation des cellules de la zone glomérulée, ouvrant ainsi différents canaux calciques voltage-dépendants. Tout comme pour l'ANGII, la hausse du calcium intracellulaire qui en résulte stimule la transcription du gène codant pour CYP11B2 suite à l'activation de facteurs de transcription (254). Ainsi, les effets des ions K^+ et de l'ANGII sont synergiques quant à la libération de l'aldostérone (56).

1.5.2.4. Autres

Bien qu'exerçant des effets plus restreints, de nombreux autres facteurs stimulant ou inhibant la synthèse de l'aldostérone ont été identifiés tels que l'adrénaline, la sérotonine, l'ANP, l'ouabaïne, la dopamine et l'héparine [pour une revue (60)]. Certains facteurs lipidiques libérés par le tissu adipeux pourraient également participer à la production d'aldostérone par des mécanismes qui restent à être élucidés (102).

1.5.3. Récepteurs de l'aldostérone

L'aldostérone exerce ses effets par l'entremise de récepteurs à haute affinité, les récepteurs des minéralocorticoïdes (MR; *mineralocorticoid receptor*). Toutefois, cette hormone peut également lier les récepteurs des glucocorticoïdes, les GR (*glucocorticoid receptor*), avec qui les MR partagent une grande homologie.

1.5.3.1. Récepteurs des minéralocorticoïdes

Les MR, tout comme les GR, font partie de la superfamille des récepteurs stéroïdiens/thyroïdiens (221) et ont pour particularité de lier deux classes d'hormones : les minéralocorticoïdes, avec l'aldostérone comme principal représentant, ainsi que les

glucocorticoïdes, dont fait partie le cortisol (212). Chez l'humain, le cortisol et l'aldostérone lient les MR avec une affinité similaire (13). Quant à la corticostérone, autre glucocorticoïde important, elle lie le MR humain avec une affinité environ trois fois plus élevée que celle de l'aldostérone (91). Présents tout particulièrement dans les tissus épithéliaux, dont le tubule distal rénal, les MR sont également retrouvés en quantité appréciable dans l'hippocampe, les neurones hypothalamiques, les cardiomyocytes, le placenta, le système vasculaire ainsi que dans le tissu adipeux [pour une revue (284)].

Le gène codant pour le MR humain a été identifié sur le chromosome 4, dans la région q31.1-q31.2 (86; 189). Comme tous les membres de la superfamille des récepteurs nucléaires, le MR est composé de quatre domaines structurellement distincts soit, dans l'ordre, le domaine N-terminal, le domaine de liaison à l'acide désoxyribonucléique (ADN), la région charnière et le domaine de liaison au ligand (LBD; *ligand binding domain*) en C-terminal (212). Le LBD du MR humain est un domaine complexe et multifonctionnel qui partage environ 55% d'homologie avec celui du GR (13). Différentes études structurales ont démontré que la spécificité de liaison de l'aldostérone est assurée par des interactions indirectes avec les acides aminés 820 à 844 de ce LBD (33; 227). La spécificité aux minéralocorticoïdes serait, quant à elle, partiellement déterminée par la formation d'un pont hydrogène entre l'asparagine-770 retrouvée sur l'hélice 3 du MR et le groupe C₂₁-OH du ligand (303). En effet, une mutation de ce résidu a pour effet de transformer la progestérone, normalement antagoniste, en activateur des MR (220).

En absence de ligand, le MR est retrouvé principalement dans le cytoplasme (165) où il est associé à de nombreuses protéines chaperonnes telles que les hsp90 (*heat shock protein 90*) (31). Ces interactions jouent un rôle essentiel dans le maintien des MR dans une conformation appropriée pour la liaison du ligand. Une fois lié, le MR se dissocie de ses protéines chaperonnes et se dimérise avant de subir une translocation vers le noyau [pour une revue (120)]. Cette dimérisation peut s'effectuer avec un autre MR (homodimérisation), ou avec un GR (hétérodimérisation) (161). Le complexe ainsi formé peut maintenant se lier aux différents éléments de réponse aux hormones (HRE: *hormone response element*) présents sur les gènes cibles et induire leur transcription (164).

1.5.3.2. Récepteurs des glucocorticoïdes

Bien que les glucocorticoïdes puissent lier les MR avec une forte affinité, ils exercent principalement leurs fonctions en activant les GR [pour une revue (3)]. L'aldostérone, quand à elle, ne lie les GR qu'à de très hautes concentrations non-physiologiques (284).

Le gène humain codant pour ce récepteur est situé sur le chromosome 5 et est formé de neuf exons (81). Deux isoformes, issus de l'épissage alternatif, ont été identifiées pour ce récepteur, soit GR α et GR β [pour une revue (157)]. Le récepteur GR β , plus court de 35 acides aminés, est incapable de lier les glucocorticoïdes endogènes ou synthétiques (157; 302). Il peut cependant jouer un rôle dans l'expression génique en bloquant l'action de GR α par la formation d'un hétérodimère inactif avec lui (55).

En absence de ligand, le GR forme un important complexe hétéromérique avec plusieurs protéines, notamment les hsp90, qui se dissocieront suite à la liaison d'un ligand (216). S'ensuit alors la dimérisation du récepteur (273) et la translocation au noyau. Finalement, la liaison du dimère à l'ADN induit la transcription ou la répression de gènes cibles [pour une revue (233)]. Le complexe agoniste-GR α peut influencer l'expression des gènes de plusieurs façons [pour une revue (112)]. Par exemple, dans le modèle d'activation de transcription *cis*, les homodimères GR α se lient aux éléments de réponse aux glucocorticoïdes (GRE : *glucocorticoid response element*) et induisent la transcription des gènes cibles. Une séquence consensus des GRE a été identifiée à l'aide d'analyses séquentielles de plusieurs promoteurs et consiste en un motif palindromique de 15 paires de bases: GGTA \overline{C} Ann \overline{n} TGTTCT (23). Le mécanisme de répression transcriptionnelle implique, quant à lui, la liaison de GRE négatifs (nGRE : *negative glucocorticoid response element*) (74). Dans le cas de la régulation *trans*, GR α doit interagir avec différents facteurs de transcription afin d'activer ou de réprimer la transcription des gènes (112).

1.5.4. Fonctions de l'aldostérone

Le rôle classique associé à l'aldostérone regroupe la régulation des concentrations d'électrolytes (principalement celles du Na⁺ et du K⁺), le contrôle de la balance liquidienne et, conséquemment, la régulation de la pression artérielle (172). Toutefois, au cours des

dernières années, plusieurs études ont démontré que ce minéralocorticoïde peut agir sur différents tissus non-épithéliaux et induire des effets variés.

1.5.4.1. Tissus épithéliaux

La fonction première de l'aldostérone est la régulation du transport du Na^+ , du K^+ et de l'eau dans les tissus épithéliaux, principalement dans le tubule collecteur rénal, mais également dans la glande parotide et le colon. L'aldostérone exerce ses effets en liant les MR présents dans le cytosol (13). L'activation de ces récepteur a pour conséquence d'induire la transcription et la synthèse de protéines impliquées dans la réabsorption du Na^+ [pour une revue (202)]. L'une des premières protéines produites suite à l'action de l'aldostérone est la Sgk (*serum/glucocorticoid induced kinase*) de type I (197). Cette sérine-thréonine kinase a pour fonction la phosphorylation de la protéine Nedd4-2 (*neuronal precursor cells-expressed developmentally down-regulated 4-2*), une protéine d'ubiquitinylation impliquée dans la dégradation protéique (figure 8). Phosphorylée, Nedd4-2 ne peut plus interagir avec le canal sodique épithélial (ENaC; *epithelial sodium channel*) (253). ENaC peut alors être exprimé à la membrane apicale où il permet au Na^+ présent dans l'environnement extracellulaire de pénétrer la monocouche de cellules épithéliales. Conséquemment, une surproduction chronique d'aldostérone, comme dans les cas d'hyperaldostéronisme primaire [pour une revue (211)], entraîne une élévation de la pression artérielle résultant d'une augmentation du volume plasmatique et des concentrations corporelles de Na^+ .

1.5.4.2. Tissus non-épithéliaux

Les MR ont été identifiés dans certains tissus non-épithéliaux, tout particulièrement dans le système cardiovasculaire et le SNC. L'aldostérone est capable d'agir directement sur le tonus vasculaire, probablement en augmentant la réponse aux catécholamines et en favorisant la synthèse des récepteurs à l'ANGII (136; 236), pouvant ainsi induire une hypertension. De plus, tel que vu précédemment, l'aldostérone peut également entraîner le développement d'une HVG ainsi que de la fibrose cardiaque.

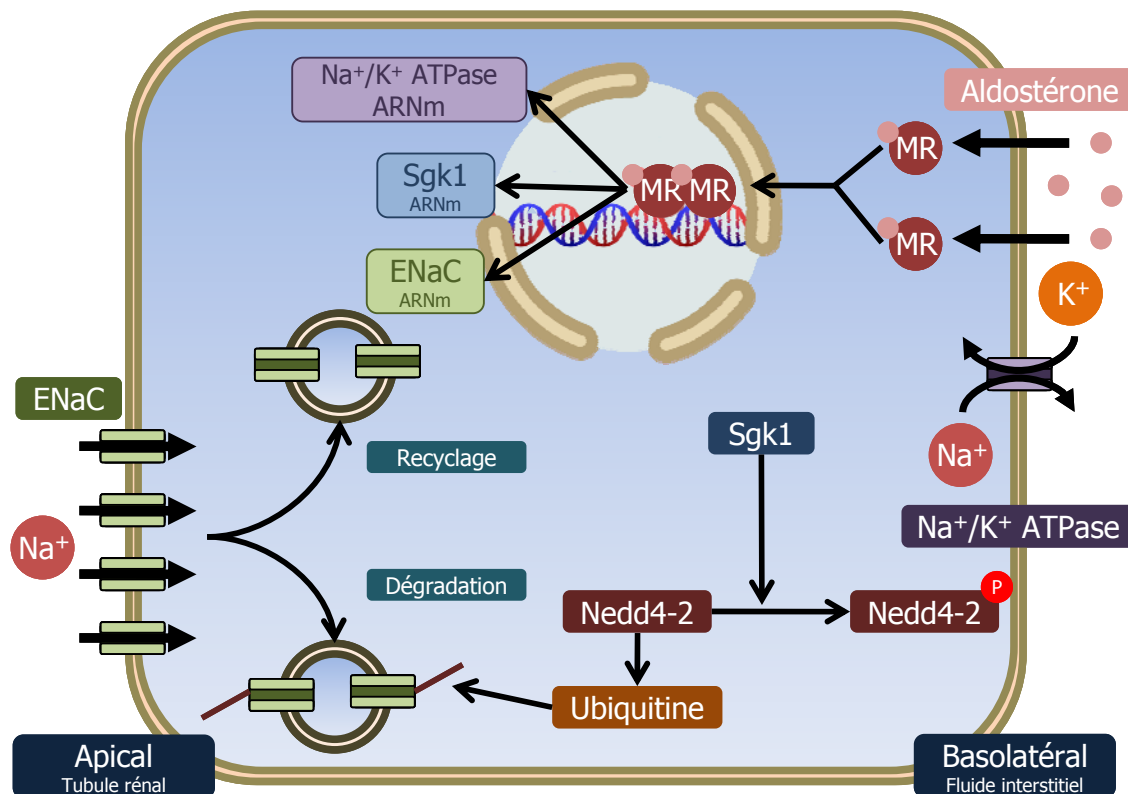


Figure 8. Les actions épithéliales de l'aldostérone sur le transport du sodium.

ENaC : canal sodique épithélial ; MR : récepteur des minéralocorticoïdes ; Na⁺/K⁺ ATPase : pompe sodium-potassium dépendante de l'ATP ; Nedd 4-2 : *neural precursor cell-expressed, developmentally down-regulated protein 4-2* ; Sgk1 : *serum/glucocorticoid induced kinase type 1*.

Gracieuseté de Véronique Houde

Grâce à ses propriétés lipophiles, l'aldostérone est capable de franchir aisément la barrière placentaire (21) ainsi que la barrière hémato-encéphalique, bien qu'une large portion soit rejetée par la glycoprotéine-P dans cette dernière (276). Comparativement aux tissus épithéliaux, les MR sont très peu présents dans le SNC et sont principalement retrouvés dans l'hippocampe, le septum et les cellules granulaires du cervelet (5). L'une des conséquences de l'activation de ces récepteurs par l'aldostérone est la régulation de la pression artérielle, et ce, indépendamment de changements dans le transport sodique (209). Le SNC jouerait également un rôle dans les effets hypertenseurs résultant d'un excès systémique de minéralocorticoïdes. En effet, l'administration de RU-28318, un antagoniste des MR, diminue les effets hypertenseurs de l'administration intra-cérébro-ventriculaire d'aldostérone en plus de normaliser l'activité baroréflexe et de réduire le tonus sympathique (98; 135).

1.6. LE CORTISOL

Les glucocorticoïdes, dont font partie le cortisol et la corticostérone, jouent un rôle essentiel dans la régulation du métabolisme et la réponse immunologique. Cette section s'intéressera à la régulation de leur synthèse de même qu'à leurs principaux effets.

1.6.1. Régulation de la synthèse du cortisol par l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien

La synthèse du cortisol est finement régulée par l'axe HPA sur lequel les glucocorticoïdes exercent un rétrocontrôle négatif (172). L'ACTH libérée par l'hypothalamus est le principal facteur impliqué dans la régulation de la sécrétion des glucocorticoïdes [pour une revue (275)]. Cependant, certaines hormones et cytokines peuvent également participer à ce phénomène (123). La CRH est le plus important stimulateur de l'axe HPA (figure 9). Toutefois, l'AVP exerce un effet synergique avec la CRH sur la libération d'ACTH, tandis que, seule, elle a très peu d'effet (152). En conditions exemptes de stress, la CRH et l'AVP sont sécrétées dans le système porte hypothalamo-hypophysaire selon un rythme circadien, avec environ 2 à 3 épisodes de libération par heure (83). En période de repos, la sécrétion de ces deux facteurs augmente tôt le matin ce qui déclenche la relâche d'ACTH et de cortisol dans la circulation systémique (127). Cependant, lors d'un stress aigu, l'amplitude et la fréquence de la relâche de la CRH et de l'AVP sont augmentées, multipliant ainsi les épisodes de sécrétion d'ACTH, et donc de cortisol (274). Selon le type de stress encouru, plusieurs autres facteurs, tels que l'ANGII et diverses cytokines, peuvent agir sur l'axe HPA et potentialiser son activité (210). Une fois sécrétés, les glucocorticoïdes constituent le dernier effecteur de l'axe HPA. Ils jouent un rôle important dans la régulation de l'activité basale de l'axe et de la réponse au stress en exerçant un rétrocontrôle négatif sur l'hypothalamus et l'hypophyse de même que sur des centres extra-hypothalamiques [pour une revue (66)]. La diminution de libération d'ACTH qui en résulte aura pour conséquence de limiter la durée d'exposition des tissus face aux glucocorticoïdes, minimisant ainsi les différents effets de ces hormones.

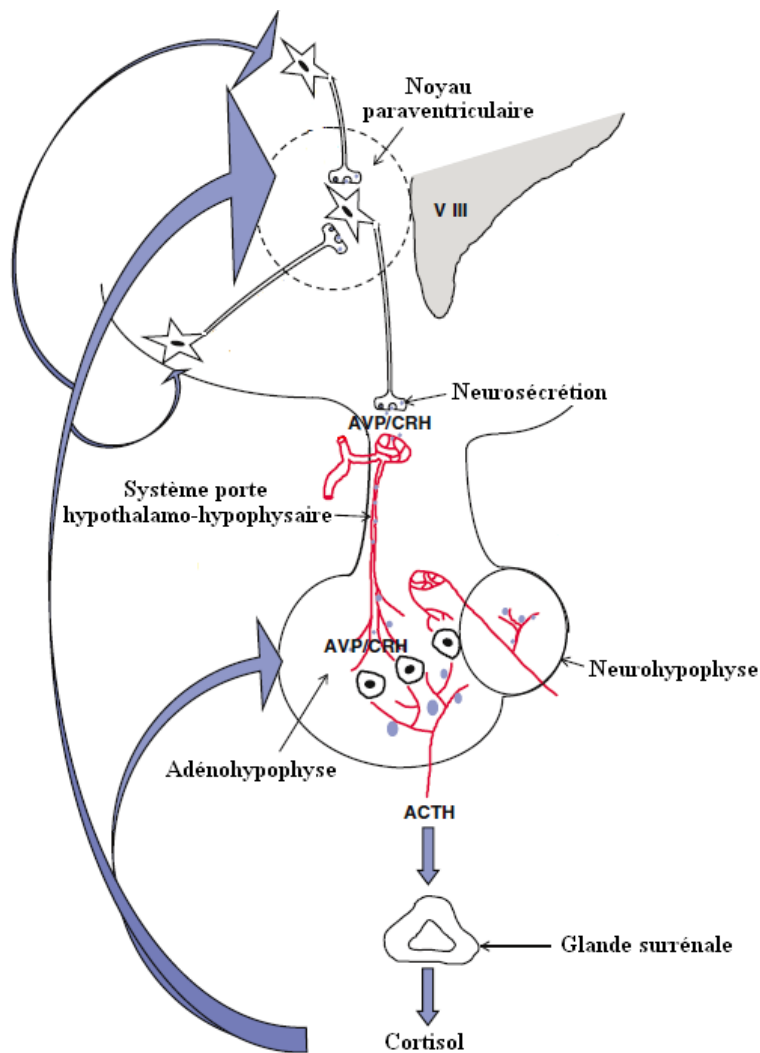


Figure 9. Régulation de la synthèse du cortisol par l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien.

Adapté de Buckingham JC (44).

ACTH : corticotrophine ; AVP : vasopressine ; CRH : corticolibérine

1.6.1.1. L'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien maternel au cours de la grossesse

Au cours de la grossesse humaine, l'axe HPA maternel subit des modifications qui permettent d'expliquer l'importante élévation des taux du cortisol libre observée entre le premier et le troisième trimestre. En effet, les gènes codants pour la CRH et ses récepteurs sont fortement exprimés dans le placenta (293), une condition unique aux primates (251). Ainsi, au fil de la grossesse, la production et la relâche de la CRH placentaire sont augmentées de façon exponentielle, stimulant la synthèse du cortisol par les glandes surrénales de la mère. Contrairement à son effet dans l'hypothalamus, le cortisol induit la

production de la CRH dans le placenta, établissant ainsi un rétrocontrôle positif sur la libération des glucocorticoïdes qui perdure jusqu'à terme [pour une revue (110)]. La CRH placentaire, identique à celle synthétisée dans l'hypothalamus (208), serait impliquée dans la différenciation cellulaire fœtale, la croissance et la maturation ainsi que dans la physiologie de la parturition [pour une revue (122)].

1.6.2. Récepteurs du cortisol

Le cortisol est transporté dans le sang à près de 95% sous forme liée aux CBG et à l'albumine (114). En plus d'assurer la distribution systémique du cortisol, les CBG permettent sa relâche spécifique dans certains tissus cibles à l'aide de mécanismes de clivage et de liaison à des récepteurs [pour une revue (267)]. Le cortisol exerce ses fonctions via le récepteur de faible affinité (Kd pour le cortisol/corticostérone : environ 10-20 nM), mais de haute capacité, GR [pour une revue (44)]. L'expression de ce récepteur est ubiquitaire, ce qui explique en partie l'importance des nombreux effets des glucocorticoïdes sur tout l'organisme.

1.6.3. Fonctions des glucocorticoïdes

Hormones du stress, les glucocorticoïdes exercent une multitude de fonctions, de la réponse immunitaire au comportement, en passant par la prolifération cellulaire et la survie. Cette section s'intéressera à certaines d'entre elles, soit la régulation du métabolisme, la réponse inflammatoire ainsi que l'embryogénèse.

1.6.3.1. Régulation du métabolisme physiologique

Les glucocorticoïdes jouent un rôle essentiel dans le maintien de l'homéostasie et dans la réponse de l'organisme face à un stress. Ils permettent, entre autres, le catabolisme de protéines emmagasinées afin de libérer des acides aminés qui seront dorénavant affectés dans la synthèse d'enzymes destinées aux processus métaboliques (172). Le principal effet métabolique du cortisol est la néoglucogénèse. Principalement effectuée dans le foie, cette synthèse de glucose à partir de molécules non glucidiques a pour but de fournir le glucose nécessaire au fonctionnement du système nerveux qui l'utilise comme principale source

d'énergie. Sous l'action des glucocorticoïdes, la lipolyse, c'est-à-dire la dégradation des triacylglycérols, est également favorisée tandis les acides gras du tissu adipeux sont libérés dans le sang (269). Cette augmentation de la lipolyse résulte de l'activation de la lipase hormono-sensible présente dans les dépôts de gras périphérique (249). À l'opposé, dans le foie, il a été démontré que l'administration de glucocorticoïdes chez des rats augmente la synthèse des triglycérides, diminue l'oxydation des acides gras et mène conséquemment à l'accumulation de lipides dans cet organe (58). Le cortisol joue aussi un rôle dans le contrôle de la pression artérielle en modifiant la sensibilité des tissus aux catécholamines [pour une revue (298)]. Cette augmentation de la pression artérielle assure ainsi un apport en oxygène et nutriments plus rapide aux cellules de l'organisme. Les glucocorticoïdes sont également impliqués dans la synthèse et la relâche de neuropeptides hypothalamiques impliqués dans la prise de nourriture tels que le neuropeptide Y [pour une revue (14)]. La libération de la leptine, qui joue également un rôle dans la prise de nourriture et du poids corporel, est elle aussi augmentée sous l'action des glucocorticoïdes [pour une revue (155)]. Finalement, ces stéroïdes sont impliqués dans la régulation de la température corporelle, de la perception de la douleur ainsi que dans la fonction neuroendocrinienne (205).

1.6.3.2. Réponse inflammatoire

Lors de l'inflammation, les lymphocytes et macrophages activés sécrètent différentes cytokines pro-inflammatoires telles que TNF α (*tumoral necrosis factor α*) et l'interleukine-1 β (IL-1 β) [pour une revue (47)]. En plus d'activer des éléments du système inflammatoire, ces cytokines induisent l'expression et la relâche de CRH qui conduira ultimement à la synthèse des glucocorticoïdes [pour une revue (252)]. Ces hormones, à leur tour, induiront des effets anti-inflammatoires sur de nombreux types cellulaires dont les cellules T, les macrophages et les mastocytes. Ainsi, en interrompant les voies de signalisation pro-inflammatoires des cytokines et en induisant l'apoptose de certaines cellules immunitaires, les glucocorticoïdes génèrent une importante boucle de rétrocontrôle endocrinienne face à l'inflammation. De plus, en liant les GR, ces hormones stimulent la synthèse de diverses protéines anti-inflammatoires [pour une revue (18)].

Le mécanisme d'action des glucocorticoïdes dans la réponse inflammatoire ne se limite pas uniquement à la transcription de gènes. En fait, le plus puissant effet anti-inflammatoire des glucocorticoïdes résulte d'interactions protéine-protéine entre GR et différents facteurs de transcription dont NF- κ B (*nuclear factor κ B*) (68; 119) et AP-1 (*activator protein-1*) (204; 278). En interagissant directement avec des sous-unités de ces facteurs de transcription, le récepteur GR α est capable d'inhiber l'activité de ceux-ci (10; 179; 235). Il a également été démontré que l'effet inhibiteur des glucocorticoïdes pouvait passer par des altérations dans la traduction des ARNm (acide ribonucléique messager) de certains gènes inflammatoires (10; 207; 265). Les mécanismes par lesquels s'effectue cette régulation post-transcriptionnelle sont nombreux et encore très peu connus [pour une revue (256)].

1.6.3.3. Embryogénèse

De par leur caractère lipophile, les glucocorticoïdes franchissent aisément les barrières biologiques dont le placenta. Une fois retrouvées dans le sang fœtal, ces hormones ont de puissants effets sur le développement tissulaire, particulièrement au niveau du poumon [pour une revue (291)]. En effet, leur récepteur est exprimé dans la plupart des tissus fœtaux, et ce à partir de stades embryonnaires précoces (255). Les GR sont également retrouvés dans le placenta (77; 141) où ils assureraient des fonctions métaboliques et anti-inflammatoires.

Les glucocorticoïdes sont essentiels au bon développement de nombreux systèmes, organes et tissus incluant le SNC, le système cardiovasculaire, le pancréas et le tissu adipeux [pour une revue (243)]. Chez l'humain, les effets de ces hormones varient en fonction du stade de la grossesse et du sexe du fœtus. En effet, des études suggèrent que l'impact du stress maternel périnatal est plus important entre le premier et second trimestre de grossesse et que les bébés de sexe masculin sont plus vulnérables que ceux du sexe féminin [pour des revues (242; 288)]. La majeure partie des connaissances que nous possédons sur l'interaction entre les glucocorticoïdes et l'embryogénèse provient d'études où le fœtus en développement est surexposé à ces stéroïdes à des fins thérapeutiques ou non. Depuis longtemps il a été observé que les traitements aux glucocorticoïdes, autant dans les modèles animaux (133; 198) que chez l'humain (64; 88), diminuent significativement le poids de naissance, et ce de façon plus marquée lorsqu'ils sont administrés en fin de gestation (200).

Cette surexposition a également des répercussions délétères sur le développement tissulaire fœtal. En condition normale, les glucocorticoïdes permettent, entre autres, le remodelage des axones et des dendrites ainsi que la survie cellulaire dans la plupart des régions du SNC en formation (181). Cependant l'administration prénatale de ces hormones a des effets néfastes sur la structure des neurones et la formation des synapses (11) pouvant altérer la structure du cerveau de façon permanente [pour une revue (176)]. De plus, le développement du système dopaminergique s'en trouve également affecté (71), ce qui est associé à un risque accru de développement de schizophrénie une fois l'âge adulte atteint (147). Au niveau cardiovasculaire, un excès chronique de cortisol élève la pression artérielle à la naissance, autant dans un modèle animal de mouton (29) que chez l'humain (143). D'autre part, le développement des connexions sympathiques et parasympathiques dans le cœur est altéré suite à cette surexposition (30). Dans le pancréas fœtal, l'élévation des niveaux de corticostérone chez le rat interfère dans le développement des cellules β pancréatiques (34). Finalement, il a été observé que l'exposition anténatale au dexaméthasone, un glucocorticoïde synthétique, augmente l'expression des GR dans le tissu adipeux viscéral de rats (57) et de moutons (297) une fois l'âge adulte atteint. Ce phénomène pourrait contribuer au développement de la résistance à l'insuline tant au niveau hépatique qu'adipeux.

1.6.4. Opposition entre minéralocorticoïdes et glucocorticoïdes

En condition normale, les niveaux plasmatiques du cortisol sont environ 1000 à 2000 fois plus élevés que ceux de l'aldostérone [pour une revue (92)]. En retirant la fraction des glucocorticoïdes liée aux protéines plasmatiques, donc incapable de lier directement le GR, la différence de concentration entre le cortisol et l'aldostérone demeure tout de même très élevée avec un ratio de 100:1. Ainsi, puisque le cortisol est très abondant et qu'il lie les MR avec une haute affinité, la majeure partie de ces récepteurs devrait être occupée et activée par ce glucocorticoïde. Conséquemment, il est raisonnable de se demander comment l'aldostérone peut lier les MR et ainsi exercer ses fonctions. La réponse réside en partie dans l'action des enzymes 11β -HSD, capables de convertir les glucocorticoïdes en leurs métabolites inactifs et vice-versa.

1.7. LES 11 β -HYDROXYSTÉROÏDE DÉSHYDROGÉNASES

La régulation des niveaux intracellulaires du cortisol, phénomène retrouvé sous le nom de métabolisme pré-récepteurs, est fortement modulée par deux isoenzymes de la 11 β -HSD : la 11 β -HSD de type I (11 β -HSD1) et 11 β -HSD de type II (11 β -HSD2). Ces enzymes, issues de deux gènes différents, ne possèdent qu'environ 14% d'homologie entre elles chez l'humain (7) et diffèrent dans leur fonction, affinité de substrat et distribution.

1.7.1. Structure des 11 β -HSD

Les 11 β -HSD font toutes deux partie de la superfamille des déshydrogénases/réductases à chaîne courte (SDR; *short-chain dehydrogenase/reductase*) qui regroupe plus de 140 enzymes distinctes à ce jour, dont près de 70 chez l'humain (203). Tous les membres de cette famille possèdent la capacité de lier les dinucléotides NAD (nicotinamide adénine dinucléotide) et NADP (NAD phosphate), soit sous forme réduite ou oxydée. Ils partagent également un arrangement structural, appelé repliement de Rossmann, formé d'hélices- α et de feuillets- β nécessaire à la liaison du cofacteur [pour une revue (144)]. Pour la plupart d'entre eux, le site catalytique est formé d'une tyrosine flanquée des résidus sérine et lysine (53; 144). On retrouve également chez les enzymes SDR une région flexible qui, très souvent, change de conformation une fois le substrat lié et permet la spécificité de l'enzyme (128). Chacune des enzymes 11 β -HSD dispose d'une ancre en N-terminal essentielle à leur localisation dans la membrane du réticulum endoplasmique (RE) (201). Celle de la 11 β -HSD1 est formée d'une seule hélice transmembranaire tandis que la 11 β -HSD2 traverse la membrane en trois endroits (201). Alors que le domaine catalytique de la 11 β -HSD1 fait face à la lumière du RE (195; 201), celui de la 11 β -HSD2 est situé du côté cytoplasmique (196; 201).

1.7.2. La 11 β -HSD1

Bien qu'elle fut la première découverte, la 11 β -HSD1 ne suscitera un réel intérêt de recherche que quelques années plus tard, principalement pour son implication dans l'obésité et la résistance à l'insuline. Cette enzyme microsomale possède une activité bidirectionnelle, quoique majoritairement réductase, dépendante au NADP (4; 150; 185).

Ainsi, cette enzyme permet de régénérer les glucocorticoïdes actifs, le cortisol ou la corticostérone, à partir de leurs métabolites inactifs soit la cortisone ou la 11-déshydrocorticostérone respectivement (134; 151). Néanmoins, dans certains types cellulaires, la 11 β -HSD1 présente des caractéristiques singulières. Par exemple, dans les cellules stromales du tissu adipeux omental humain, l'activité enzymatique, à l'origine déshydrogénase, devient réductase lors de la différenciation de ces cellules en adipocytes (46). Dans les cellules de Leydig, ces deux activités ont pu y être observées (95; 151). Dans tous les cas, l'activité réductase nécessite des cellules intactes pour être pleinement fonctionnelle (168). Ce phénomène s'expliquerait par la localisation spécifique de la 11 β -HSD1 dans la lumière du RE où des enzymes avoisinantes, dont l'hexose-6-phosphate déshydrogénase [pour une revue (296)], fourniraient le cofacteur NADP réduit (NADPH) en quantité importante. En ce qui a trait à l'affinité de la 11 β -HSD1 pour ses différents substrats, elle varie sensiblement selon l'organe [pour une revue (266)] et l'espèce étudiée (12).

1.7.2.1. Distribution et fonctions de la 11 β -HSD1

L'expression de la 11 β -HSD1 est ubiquitaire [pour une revue (266)], bien qu'elle soit principalement concentrée dans les tissus cibles des glucocorticoïdes où les GR sont abondants. Selon le tissu, la 11 β -HSD1 exerce différentes fonctions qui vont de pair avec les effets du cortisol dont elle permet la régénération et l'amplification locale.

La 11 β -HSD1 est fortement exprimée dans le foie humain, particulièrement autour de la veine centrale (223), où elle présente une activité majoritairement réductase (222). Dans ce tissu, la 11 β -HSD1 joue un rôle important dans la régulation du métabolisme physiologique tel qu'il a été démontré par plusieurs études effectuées sur des souris n'exprimant pas l'enzyme. Ces animaux présentent, entre autres, des niveaux élevés de lipoprotéines de haute densité (HDL : *high density lipoprotein*) et une faible concentration en triglycérides sanguins. Ces effets résulteraient d'une diminution des niveaux locaux de corticostérone, donc d'une réduction de néoglucogénèse et d'une augmentation de l'oxydation des lipides dans le foie [pour une revue (190)]. La 11 β -HSD1 est également hautement exprimée dans le tissu adipeux omental (45). Elle y jouerait un rôle important dans le développement de l'obésité [pour une revue (166)] et dans la différenciation cellulaire (118). Chez la femme

et la rate, la 11 β -HSD1 est exprimée dans les ovocytes en développement ainsi que dans les cellules lutéinisées de la thèque (182; 223). De fait, les glucocorticoïdes affectent la fonction ovarienne de plusieurs façons avec, entre autres, l'inhibition de l'activité aromatasé induite par l'hormone folliculostimulante (FSH; *follicle-stimulating hormone*) (129). Dans ce tissu, la direction de l'activité enzymatique demeure encore incertaine (182; 299). Chez l'homme et le rat, la 11 β -HSD1 est retrouvée dans les cellules de Leydig (37; 290), mais est absente des cellules de Sertoli (287). La 11 β -HSD1 est également fortement exprimée dans le cerveau de rat, notamment dans le cervelet, l'hypophyse et l'hippocampe (184) où elle exerce, entre autres, un contrôle dans la régulation de la fonction de l'axe HPA (117).

La 11 β -HSD2 est l'isoforme principale dans le rein où elle joue un rôle essentiel dans la protection des MR. Cependant, la 11 β -HSD1 y est également présente et ce de façon plus marquée au niveau des tubules proximaux et des cellules interstitielles de la médulla (101). Chez le rat, les cellules mésangiales du glomérule expriment elles aussi cette enzyme qui modulerait les effets anti-inflammatoires des glucocorticoïdes à cet endroit (250). Toutefois, la fonction de la 11 β -HSD1 dans la physiologie rénale humaine reste encore à être élucidée. Au niveau cardiovasculaire, en plus d'être exprimée dans les cellules du muscle lisse vasculaire et les cellules endothéliales de l'aorte (36; 289), cette enzyme est également retrouvée dans les fibroblastes interstitiels de l'endocarde (37). Par sa présence dans ces tissus, elle pourrait être impliquée dans la pathogénèse de l'inflammation vasculaire coronarienne (301). Il est intéressant de noter que dans des cardiomyocytes isolés, en condition normale, le cortisol est un antagoniste des MR, bloquant les effets de l'aldostérone. Cependant, dans un contexte de dommage tissulaire et de formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS; *reactive oxygen species*), le cortisol agit en tant qu'agoniste des MR, mimant les effets de l'aldostérone [pour une revue (92)]. Ainsi, grâce à la 11 β -HSD1 cardiaque, le cœur pourrait être protégé des effets délétères de l'aldostérone tels que la fibrose et l'HVG. Finalement, les cellules trophoblastiques intermédiaires du placenta de même que le chorion et la décidua expriment la 11 β -HSD1 au cours de la grossesse. L'augmentation locale de cortisol produite par cette enzyme pourrait réguler l'apoptose de certaines populations cellulaires du placenta et de la décidua (52) en plus de participer au déclenchement de la parturition (260).

1.7.3. La 11 β -HSD2

La 11 β -HSD2 fut découverte lors de travaux portant sur le métabolisme des glucocorticoïdes dans les cellules du tubule collecteur rénal, d'où son surnom d'isoenzyme rénale. La 11 β -HSD2 est une déshydrogénase unidirectionnelle dépendante du NAD (7). Sa fonction consiste à transformer les glucocorticoïdes biologiquement actifs, le cortisol et la corticostérone, en leurs métabolites inactifs (93). À l'opposé de la 11 β -HSD1, cette enzyme possède une très haute affinité pour ses substrats endogènes (Km du cortisol : 50 nM et Km de la corticostérone : 5 nM) (7; 41; 257). La 11 β -HSD2 existe également sous la forme d'un dimère inactif, faisant de la dimérisation de cette enzyme un mécanisme de régulation de son activité déshydrogénase (99).

1.7.3.1. Distribution et fonctions de la 11 β -HSD2

La 11 β -HSD2 est exprimée dans une variété de tissus, mais tout particulièrement dans les tissus cibles des minéralocorticoïdes (79). La fonction de la 11 β -HSD2 dans le rein est de protéger les MR contre leur occupation massive par les hauts niveaux de glucocorticoïdes circulants (93). En convertissant le cortisol et la corticostérone en cortisone et 11-déshydrocorticostérone, deux métabolites incapables de se lier aux récepteurs, elle permet la liaison de l'aldostérone au MR (figure 10).

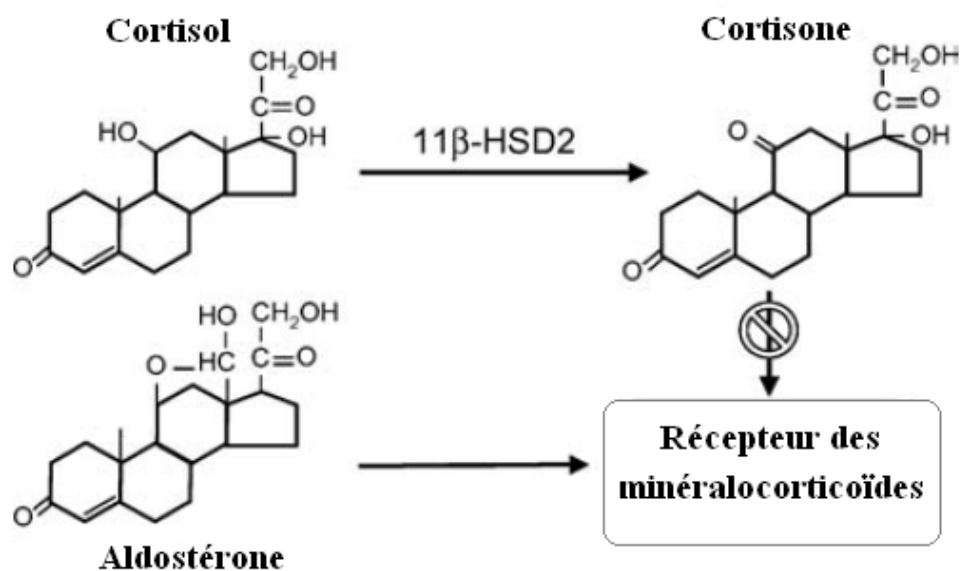


Figure 10. La fonction protectrice de la 11 β -HSD2.
Adapté de Funder JW (91).

Grâce à son pont hémiacétal retrouvé entre les carbones 18 et 20, l'aldostérone est, quant à elle, protégée contre cette inactivation (91). La conversion des glucocorticoïdes en leurs métabolites inactifs n'est toutefois pas suffisante pour expliquer le rôle protecteur de la 11 β -HSD2 dans le rein. En effet, malgré l'important pouvoir d'inactivation de cette enzyme, les niveaux de glucocorticoïdes intracellulaires resteraient toujours au moins 10 fois plus élevés que ceux de l'aldostérone [pour une revue (92)]. Ainsi, la fonction première de la 11 β -HSD2 serait d'empêcher l'activation des MR plutôt que leur liaison aux glucocorticoïdes. À l'inverse, lors d'une inhibition partielle ou totale de cette enzyme, les glucocorticoïdes deviennent incontestablement agonistes des MR, un phénomène qui impliquerait le NAD, cofacteur de la 11 β -HSD2, de même que le statut redox intracellulaire [pour une revue (91)]. La 11 β -HSD2 est fortement exprimée dans le tubule distal, l'anse de Henlé de même que dans le tubule collecteur du rein où elle est colocalisée avec les MR (124). Conséquemment, lorsque la 11 β -HSD2 est non fonctionnelle, le cortisol, présent en forte concentration, engendre une hypertension, une importante rétention sodique, une hypokaliémie ainsi qu'une diminution des taux plasmatiques d'aldostérone et de rénine, résultats d'une stimulation excessive des MR rénaux [pour une revue (295)]. Pareilles conditions sont retrouvées lors de mutations dans le gène codant pour la 11 β -HSD2 et lors de la prise de certaines molécules. En effet, il existe une rare forme d'hypertension appelée syndrome d'excès apparent de minéralocorticoïdes (AME; *apparent mineralocorticoid excess*) caractérisée par ces symptômes (295). Chez les personnes atteintes, les niveaux circulants de minéralocorticoïdes sont faibles et leur métabolisme des glucocorticoïdes est anormal. Ainsi, la demi-vie du cortisol y est pratiquement doublée alors que ses métabolites urinaires sont retrouvés en très forte concentration comparativement aux métabolites de la cortisone (277). L'origine de cette pathologie résulte de mutations dans le gène *HSD11B2* qui entraînent l'inactivation partielle ou complète de l'enzyme 11 β -HSD2 [pour une revue (294)]. Ce déficit a pour conséquence l'activation inadéquate des MR par le cortisol dans les tissus cibles de l'aldostérone. Certains composés peuvent conduire à des effets similaires à ceux observés dans le syndrome d'AME. C'est le cas des racines de la réglisse dont l'un des composés actifs, l'acide glycyrrhétinique (AG), est un inhibiteur compétitif de la 11 β -HSD2 (186). Utilisé comme remède contre les ulcères gastriques depuis des centaines d'années, la prise excessive de réglisse, induit des effets similaires à ceux des minéralocorticoïdes incluant de l'œdème, de l'hypertension et une hypokaliémie (50). Conséquemment, l'administration

d'AG chez des sujets sains diminue les niveaux plasmatiques de cortisone et augmente le temps de demi-vie du cortisol plasmatique (142). Il est intéressant de noter que des composés endogènes similaires à l'AG, les GALF (*glycyrrhetic acid-like factors*), ont été extraits de l'urine de personnes normotendues (188).

L'expression de la 11 β -HSD2 dans le cœur est relativement faible et semble limitée à certains types cellulaires spécifiques tels que les cellules du muscle lisse vasculaire (9; 148; 250). Ainsi, dans les cardiomyocytes, les MR sont majoritairement occupés par les glucocorticoïdes endogènes. Dans les tissus non-épithéliaux, les glucocorticoïdes semblent agir comme antagonistes des MR (301), protégeant le cœur des effets délétères de l'aldostérone. L'utilisation de souris transgéniques surexprimant la 11 β -HSD2 dans les cardiomyocytes a renforcé cette hypothèse. Bien qu'elles soient normotendues, ces souris développent une hypertrophie cardiaque, de la fibrose et de l'insuffisance cardiaque (219). Ces résultats, similaires à ceux observés lors d'une surexpression des MR, suggèrent que l'aldostérone, par sa liaison à ses récepteurs, induit des dommages cardiaques et qu'en situation physiologique les glucocorticoïdes peuvent prévenir ces effets.

La 11 β -HSD2 est également fortement exprimée dans le placenta, plus précisément dans le syncytiotrophoblaste chez l'humain (42) et dans la zone labyrinthe dans le placenta des rongeurs (48). Dans ce tissu, elle forme une barrière efficace et essentielle contre le passage des glucocorticoïdes maternels, ne laissant traverser qu'environ 15% des stéroïdes (27). Ainsi, à terme, les concentrations plasmatiques du cortisol maternel sont environ 10 fois plus élevées que celles du fœtus (25; 73). Comme il a été discuté précédemment, les glucocorticoïdes jouent un rôle important dans la maturation des organes fœtaux. Cependant, en excès, ils peuvent induire une restriction de croissance intra-utérine (RCIU) (198). La fonction placentaire de la 11 β -HSD2 est donc critique pour un développement fœtal normal. En effet, une diminution significative de l'expression et de l'activité de cette enzyme a été observée dans les placentas humains de grossesses associées à une RCIU ou à de la prééclampsie (237; 245). De plus, de nombreuses études ont démontré une association importante entre le poids de naissance et l'expression de la 11 β -HSD2 placentaire (193; 258; 260). Ainsi, une déficience en 11 β -HSD2 conduit à une surexposition fœtale aux glucocorticoïdes, entraînant un retard de croissance associé à un risque plus élevé de développer certaines conditions pathologiques telles que l'hypertension et le diabète de

type II une fois l'âge adulte atteint [pour une revue (241)]. Il a également été démontré que l'administration de carbénoxolone, un inhibiteur des 11 β -HSD, réduit la croissance fœtale (160). Certains tissus fœtaux, dont les os, le cerveau et le tissu adipeux, expriment eux aussi la 11 β -HSD2, possiblement dans le but de se protéger contre les effets des glucocorticoïdes (59).

La 11 β -HSD2 est exprimée dans quelques aires du cerveau adulte impliquées principalement dans le contrôle de la balance hydrosodique et de la pression artérielle. Une fois de plus, son rôle est de protéger les MR contre les niveaux élevés des glucocorticoïdes (126). Finalement, cette enzyme pourrait également favoriser la prolifération des cellules cancéreuses en inhibant l'action antiproliférative des glucocorticoïdes (149; 304).

1.8 HYPOTHÈSE DE TRAVAIL ET OBJECTIFS

La grossesse est associée à de nombreux changements physiologiques nécessaires pour assurer le bien-être de la mère et la croissance normale du fœtus. On retrouve parmi ces modifications une activation du SRAA de même qu'une rétention d'eau et de sel accrue qui, chez une personne non enceinte, peuvent entraîner le développement d'une hypertension et de la fibrose cardiaque. Cependant, malgré une hausse substantielle des niveaux circulants d'aldostérone au cours du troisième trimestre de grossesse, ces effets délétères ne sont pas observés. L'aldostérone exerce ses effets via ses récepteurs, les MR, qui peuvent également lier le cortisol avec une affinité similaire. Puisque les niveaux de cortisol libre sont environ 100 fois plus élevés que ceux de l'aldostérone, la régulation des niveaux locaux de ce glucocorticoïde est essentielle pour éviter une stimulation inappropriée des MR. Cette fonction est assurée par les 11 β -HSD qui convertissent le cortisol en son métabolite inactif et vice-versa, permettant ainsi de conserver la spécificité de liaison des minéralocorticoïdes. La distribution et la fonction de ces enzymes dans le rein, le cœur et le placenta sont assez bien documentées. Cependant, leur devenir au cours de la grossesse, condition physiologique caractérisée par une élévation des niveaux circulants d'aldostérone et de cortisol, reste encore peu connu. Ainsi, l'hypothèse de ce mémoire est que les mécanismes d'adaptation hémodynamique qui prennent place au cours de la grossesse nécessitent des changements d'expression des 11 β -HSD spécifiques selon le tissu.

Les objectifs de cette étude sont de déterminer l'expression génique (ARNm) et protéique ainsi que l'activité enzymatique de la 11 β -HSD 1 et 2 dans le rein, le cœur et le placenta au fil de la grossesse. Pour ce faire, des rates gestantes Sprague-Dawley sont sacrifiées, et leurs organes collectés, au cours de la troisième et dernière semaine de gestation, soit aux jours 14, 17, 19 et 22 (terme = 23). Le jour 14 se situe avant la baisse de la pression artérielle qui survient autour du jour 17 ainsi qu'avant le début de l'élévation du volume circulant et des niveaux d'aldostérone sérique qui augmentent entre les jours 15 et 22. Le choix des jours 17 et 19 permet de déterminer les changements d'expression et d'activité des 11 β -HSD en fonction du temps jusqu'au jour 22, soit une journée avant la parturition. Ces travaux permettront une meilleure compréhension de l'implication de ces enzymes, ainsi que celle des glucocorticoïdes, dans la mise en place et la réponse aux adaptations maternelles à la grossesse.

ARTICLE

TISSUE- AND TIME-DEPENDANT EXPRESSION AND ACTIVITY OF THE 11 β -HYDROXYSTEROID DEHYDROGENASES DURING RAT GESTATION

Auteurs

Mathieu Barrette, Véronique Houde, Jean St-Louis et Michèle Brochu

Cet article sera soumis à l'automne 2009 dans la revue

American Journal Physiology: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology

Contribution de chaque auteur

Mathieu Barrette: Réalisation de la totalité des mises au point et des expérimentations,
rédaction du manuscrit

Véronique Houde : Supervision à la maîtrise, révision du manuscrit

Dr Jean St-Louis : Collaboration au projet, révision du manuscrit

Dre Michèle Brochu : Directrice de recherche, révision du manuscrit

RÉSUMÉ

L'aldostérone en forte concentration est associée au développement d'hypertension et de fibrose cardiaque. Cependant, malgré une hausse substantielle des niveaux d'aldostérone plasmatique au cours du troisième trimestre de grossesse, ces effets délétères ne sont pas observés. L'aldostérone exerce ses effets via les récepteurs des minéralocorticoïdes (MR) qui peuvent également lier le cortisol (corticostérone chez le rat). Ce dernier agit en tant qu'agoniste des MR dans le rein tandis qu'il devient antagoniste dans le cœur. La régulation des niveaux locaux des glucocorticoïdes par les enzymes 11 β -hydroxystéroïde déshydrogénases (11 β -HSD) est essentielle pour éviter une stimulation inappropriée des MR. Nous proposons que les mécanismes de protection maternel et fœtal qui prennent place au cours de la grossesse normale nécessitent des variations des isoformes de la 11 β -HSD (11 β -HSD1 et 2), et ce de façon spécifique selon le tissu. Pour ce faire, nous avons déterminé l'expression (ARNm et protéine) des deux 11 β -HSD de même que l'activité déshydrogénase de la 11 β -HSD2 dans le rein, le cœur et le placenta de rates entre les jours 14 et 22 de gestation (D14, 17, 19 et 22; terme = 23). Dans le cœur, la gestation n'a pas eu d'effet sur l'expression de la 11 β -HSD1 tandis que la 11 β -HSD2 y était indétectable. Dans le rein, aucune différence n'est observée entre les groupes quant aux niveaux d'ARNm des deux 11 β -HSD. Toutefois, les niveaux protéiques de la 11 β -HSD2 sont augmentés en fin de gestation mais sans effet sur l'activité déshydrogénase. Les changements les plus notables ont été retrouvés dans le placenta. Au jour 17, l'expression de la 11 β -HSD1 placentaire est substantiellement diminuée tandis qu'une importante hausse des niveaux de 11 β -HSD2 est observée. Elle est suivie d'une diminution progressive de l'expression génique et protéique de la 11 β -HSD2 jusqu'au jour 22. Le profil de l'activité déshydrogénase de cette enzyme au cours de la troisième semaine de gestation est similaire, sans toutefois obtenir de changement statistiquement significatif. Ces résultats démontrent que la régulation des 11 β -HSD rénaux et cardiaques ne semble pas impliquée dans l'homéostasie cardiovasculaire maternelle au cours de la grossesse. Par contre, la régulation placentaire des 11 β -HSD pourrait jouer un rôle important dans la croissance normale du fœtus.

Mots-clés : grossesse, glucocorticoïdes, récepteurs des minéralocorticoïdes, 11 β -hydroxystéroïde déshydrogénases

ABSTRACT

High levels of aldosterone are associated with the development of hypertension and cardiac fibrosis. Interestingly, despite the considerable rise in plasma aldosterone concentrations during the third trimester of pregnancy, these adverse effects are not observed. Aldosterone acts via the mineralocorticoid receptors (MR) which also bind cortisol (corticosterone in rats) that acts as an agonist in the kidney but as an antagonist in the heart. Regulation of local glucocorticoids levels by the 11 β -hydroxysteroid dehydrogenases (11 β -HSD) is crucial to prevent overstimulation of MRs. We propose that the maternal and fetal protection mechanisms occurring during normal pregnancy involve tissue-specific variations of the 11 β -HSD isoforms (11 β -HSD1 and 2). We have therefore determined the expression (mRNA and protein) of both 11 β -HSDs as well as the dehydrogenase activity of the 11 β -HSD2 in rat heart, kidney and placenta during the last week of gestation (D14, 17, 19 and 22; term = 23 days). In heart, gestation did not affect the gene and protein expressions of 11 β -HSD1 whereas 11 β -HSD2 was undetectable. In kidney, mRNA of both 11 β -HSDs was not significantly different between groups. However, 11 β -HSD2 protein levels, but not activity, were decreased in late gestation. The most important changes are observed in placenta. On D17, 11 β -HSD1 gene and protein expressions were dramatically decreased compared to D14 while gene expression of 11 β -HSD2 was increased. Then, a progressive diminution of 11 β -HSD2 mRNA and protein levels occurred up to D22. A similar tendency is observed for the 11 β -HSD2 activity without reaching statistical significance. These results demonstrate that cardiac and renal regulation of 11 β -HSDs are not of prime importance in maternal cardiovascular homeostasis during pregnancy but placental regulation of 11 β -HSDs could be crucial to ensure a normal fetal growth.

Keywords: pregnancy, glucocorticoids, mineralocorticoid receptors, 11 β -hydroxysteroid dehydrogenases

INTRODUCTION

Maternal hemodynamic adaptation and several marked physiological changes are observed throughout pregnancy in both humans and rats to ensure maternal well-being and normal fetal growth. These modifications include activation of the renin-angiotensin-aldosterone system and increased water and salt retention (4) which, in non-pregnant individuals, would lead to hypertension and cardiac fibrosis (16; 28). Indeed, in a community-based cohort, increased serum aldosterone levels, within physiological values, have been associated with a higher risk of hypertension development (28). Moreover, in uninephrectomized rats drinking 1% NaCl and receiving aldosterone (75 μg / h subcutaneous), increased systolic blood pressure, left ventricular hypertrophy and collagen deposition have been observed after 8 weeks of treatment (31). However, despite the substantial elevation of aldosterone levels in the third trimester of pregnancy (5), these adverse effects are not observed.

Aldosterone acts via the mineralocorticoid receptors (MRs) which also bind cortisol with similar affinity (19). Such binding can produce either the same or different physiological effects, depending on the targeted tissue. For instance, under normal conditions, cortisol or corticosterone, in rodents, bind MRs in the heart without activating them (7) and could thus prevent the deleterious effects of aldosterone. On the other hand, in the kidney, binding of aldosterone and cortisol to MRs induce similar action i.e. water and salt retention (6). Since plasma free concentrations of cortisol are around 100 times higher than those of aldosterone, regulation of the local levels of this glucocorticoid is crucial to prevent overstimulation of MRs, particularly in the kidney, and to allow a mineralocorticoid binding specificity. This function is achieved by two isoforms of the 11β -hydroxysteroid dehydrogenase (11β -HSD) which interconverts cortisol (corticosterone) and its inactive

metabolite cortisone (11-dehydrocorticosterone). The type 1 enzyme (11 β -HSD1) is bidirectional, but mostly reductase, and uses NADPH as cofactor (1; 15; 17). At the opposite, 11 β -HSD type 2 (11 β -HSD2) shows only a NAD-dependant dehydrogenase activity (2) forming inactive cortisone.

In human kidney, a classical mineralocorticoid target tissue, 11 β -HSD2 is highly expressed in the distal nephron (30) whereas 11 β -HSD1 is located in the proximal tubules and in medullary interstitial cells (12). Some studies have shown that both 11 β -HSDs are present in the heart (3; 14; 24). Besides, cortisol plays an important role in maturation of fetal organs (for review (22)) while excess levels in the fetal circulation can lead to intrauterine growth restriction (13; 20). Several studies have shown a strong correlation between the expression and activity of placental 11 β -HSDs and birth weight (18; 25; 26). However, little is known about the evolution of both enzymes in placenta and other tissues during pregnancy, a physiological condition associated with high levels of aldosterone.

Consequently, we proposed that the important hemodynamic adaptative mechanisms occurring during normal pregnancy to ensure maternal well-being and fetal growth involve tissue-specific changes in the expression of 11 β -HSDs throughout the last third of rat gestation. The objective of the present study is to determine the expression (mRNA and protein) of the 11 β -HSD1 and 2 and the dehydrogenase activity of the 11 β -HSD2 in rat kidney, heart and placenta throughout pregnancy.

MATERIALS AND METHODS

Animals

Experiments were performed on female Sprague-Dawley rats (Charles River Canada, St-Constant, QC, Canada) weighing between 225 and 250g. They were mated with a known fertile male. Day 1 of pregnancy was determined by the presence of spermatozoa in vaginal smears. All animals were housed under controlled light (12:12-h light-dark cycle) and temperature ($21 \pm 3^{\circ}\text{C}$). They were fed a normal diet containing 0.23% NaCl (Teklad global 18% protein rodent diet, Harlan Teklad, Montreal, QC, Canada) and were placed on tap water during the entire gestation period. The animals were sacrificed by decapitation on days D14, D17, D19 and D22 of gestation (term=D23). Kidney cortex and outer medulla (separated manually), left cardiac ventricle and placentas (each sample (n) represents 2-3 placentas per dam) were rapidly removed from the animals, snap-frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C for further analysis. This study was approved by the local Animal Care Committee, which is accredited by the Canadian Council on Animal Care.

Quantitative real-time RT-PCR

Total cellular RNA from frozen kidneys and placentas (n=9/group) was extracted, washed and treated with the RNeasy Plus Mini Kit (QIAGEN, Mississauga, ON, Canada) following manufacturer's instructions. For the left cardiac ventricle, the RNeasy Fibrous Tissue Mini Kit (QIAGEN) was used. Total RNA (0.75 μg) was converted to single-stranded cDNA by reverse transcription (QuantiTect Reverse Transcription Kit; QIAGEN). Amplification of the PCR products was achieved using certified QuantiTect Primers Assays (QIAGEN) listed in table 1. Real-time PCR was performed with the QuantiTect SYBR Green PCR Kit (QIAGEN) on a ABI Prism 7000 Sequence Detection System (Applied Biosystems, Foster City, CA) according to manufacturer's instructions. Each reaction consisted of 2.5 μL

cDNA, 12.5 μ L QuantiTect SYBr Green Master Mix (QIAGEN), 2.5 μ L QuantiTect Primer Assay (QIAGEN), 7.0 μ L RNase-free water and 0.5 μ L (0.5 unit) uracil-DNA-glycosylase (UDG; Invitrogen Canada Inc., Burlington, ON, Canada). The procedure was carried out on triplicates from individual animals. Results were reported using 18S as internal control gene.

Western Blot analysis

Frozen kidneys, left cardiac ventricles and placentas (n=6/group) were homogenized in extraction buffer containing 20 mM KH_2PO_4 (pH 7.6), 250 mM sucrose, 1 mM EDTA and 0.1 mM PMSF and centrifuged at 2,500 g for 15 min at 4°C. Supernatants collected were centrifuged at 100,000 g for 1 h at 4°C and resulting pellets were resuspended in extraction buffer. Protein concentration was determined by the Bio-Rad assay kit (Bio-Rad Laboratories, Mississauga, ON, Canada) and Laemmli buffer was added to the protein preparations. Equal amounts of proteins (11 β -HSD1: kidney 100 μ g, left cardiac ventricle and placenta 50 μ g; 11 β -HSD2: kidney 25 μ g, left cardiac ventricle 100 μ g and placenta 15 μ g) were separated by SDS polyacrylamide (11 β -HSD1: 12%; 11 β -HSD2: 15%) gel electrophoresis and transferred to nitrocellulose membranes (Fisher Scientific, Nepean, ON, Canada). Membranes were blocked for 1h at room temperature in 5% skim milk in PBS/0.1% Tween 20 (PBST) and then incubated with either rabbit anti-11 β -HSD1 (kidney 1:250, left cardiac ventricle and placenta 1:100; Cayman Chemical, Ann Arbor, MI) or sheep anti-11 β -HSD2 (left cardiac ventricle 1:100, kidney and placenta 1:1,000; Millipore, Temecula, CA) overnight at 4°C. Membranes were washed and then incubated with horseradish peroxidase-conjugated donkey anti-rabbit IgG (1:5,000; GE HealthCare Biosciences Inc., Montreal, QC, Canada) or donkey anti-sheep/goat IgG (1:5,000; Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany) for 45 min at room temperature. Equal

protein loading was determined using mouse anti- β -actin primary antibody (1:100,000 in the kidney and placenta; Abcam, Cambridge, MA) or rabbit anti-GAPDH (1:10,000 in the left cardiac ventricle; Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA) primary antibodies. Immunoreactive bands were visualized with the enhanced ECL chemiluminescence detection system (GE HealthCare Biosciences Inc.). Bands were quantified using Alpha Imager software (Alpha Innotech Corporation, San Leandro, CA). Results are expressed as densitometric units relative to β -actin or GAPDH.

Enzyme activity assays

Frozen kidneys, left cardiac ventricles and placentas (n=6/group) were homogenized in 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4) containing 250 mM sucrose and centrifuged at 10,000 g for 30 min at 4°C. Supernatants collected were centrifuged at 105,000 g for 1 h at 4°C and the resulting pellets which are microsomal fractions were resuspended in 0.1 M phosphate buffer without sucrose. Protein concentration was determined by the Bio-Rad assay kit (Bio-Rad). 11 β HSD2 activity was carried out by incubating microsomal fractions (kidney 15 μ g, placenta 75 μ g and left cardiac ventricle 100 μ g) for 15 min at 37°C in 0.08 M BICINE buffer (pH 9.0) containing 10 mM DTT (dithiothreitol), 0.5 mM NAD⁺ and [³H]corticosterone (~300,000 cpm/reaction). 11 β HSD1 activity was measured by incubating microsomes (kidney, left cardiac ventricle and placenta 100 μ g) for 24 h at 37°C in 0.05 M phosphate buffer (pH 7.4) containing 0.05 M NADPH and [³H]cortisone (~300,000 cpm/reaction). The reactions were stopped by adding one volume of diethyl ether. The steroids in the organic phase were extracted using diethyl ether and resuspended in dichloromethane. [³H]-labelled steroids were then separated using unlabelled steroids as controls on thin layer

chromatography plates (Whatman, Maidstone, Kent, England) with dichloromethane-methanol (95:5) as a mobile phase. Control steroids were revealed under UV light and corresponding bands in samples were scrapped and counted with a β -counter system (Beckman Instruments Inc., Fullerton, CA, USA). The procedure was carried out on duplicate samples. Enzyme activity is expressed as percentage conversion of [^3H]corticosterone to [^3H]11-dehydrocorticosterone (11 β HSD2) or [^3H]cortisone to [^3H]cortisol (11 β HSD1).

Statistical analysis

Results are expressed as means \pm SEM and analysed using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by a Dunnett's multiple comparison test. D14 was used as control group. Statistical significance was assumed with a value of $P < 0.05$.

RESULTS

Effects of gestation on left cardiac ventricular 11 β -HSDs

As shown in Figure 1, 11 β -HSD1 expression (mRNA and protein levels) in the left cardiac ventricle was not statistically different during the last week of gestation. 11 β -HSD2 mRNA and protein expressions, as well as the enzyme activity, were undetectable.

Effects of gestation on renal 11 β -HSDs

In renal cortex, 11 β -HSD1 mRNA and protein levels followed the same pattern with a decreased expression on day 22 of gestation (Fig. 2, left panel). The statistical significance is only reached with the protein. The expression of 11 β -HSD2 is quite different (Fig. 2,

right panel). Indeed, although the protein levels are decreased on D17, D19 and D22 compared to D14, the mRNA levels and activity were unchanged.

In kidney outer medulla, 11 β -HSD1 mRNA and protein followed a similar pattern with a decrease on D19 that is only significant for the protein (Fig.3, left panel). On the other hand, 11 β -HSD2 gene and protein expressions decreased from D17 to D22 without reaching a statistical significance compared to D14. This pattern was not observed for the dehydrogenase activity and there is no difference between the different days of gestation.

Effects of gestation on placental 11 β -HSDs

Marked and significant decreases of the 11 β -HSD1 mRNA and protein levels were observed on D17 compared to D14 (Fig. 4A and B, left panel). From D17, a slight increase in mRNA levels was noted until the end of the gestation but this is not reflected in the protein levels. The 11 β -HSD2 gene and protein expressions, as well as the dehydrogenase activity, showed a similar pattern, i.e. an increase on D17 followed by a decrease to reach the lowest level on D22 that is only significant for the protein (Fig. 4, right panel).

DISCUSSION

This study was conducted to determine the expression and enzyme activity of the 11 β -HSDs throughout rat pregnancy in the heart, kidney, and placenta. We observed substantial tissue-specific variations in both mRNA and protein levels in the last gestational week. Our results reveal 1) unchanged 11 β -HSD1 expression in left cardiac ventricle; 2) a diminution of renal 11 β -HSDs protein levels in late gestation; and 3) most interestingly, in the placenta, a switch of the 11 β -HSD isoforms on D17 compared to D14 with a substantial decrease in 11 β -HSD1 expression and higher 11 β -HSD2 levels. Expression and activity of

the 11 β -HSD2 are then decreased up to D22. It is important to note that we were able to measure the 11 β -HSD1 reductase activity in the liver but not in the studied tissues, suggesting a very low activity, at least during pregnancy.

High levels of aldosterone are associated with the development of cardiac fibrosis (16). In pregnancy, despite the considerable elevation of aldosterone concentrations within the third trimester (5), this adverse effect is not observed. Since active glucocorticoids act as MR antagonists in the heart (7), we expected that 11 β -HSD1 expression in this tissue would be upregulated during the last week of rat gestation to avoid overstimulation of these receptors by aldosterone. The present study demonstrated, however, that 11 β -HSD1 levels are similar during the last gestational week. The 11 β -HSD2 levels were below the limits of detection in this tissue, confirming previous works (21; 23). These results suggest that cardiac 11 β -HSDs are not the main regulators protecting the heart against the excess of mineralocorticoids observed during gestation.

In kidney, a mineralocorticoid target tissue, the protective function of 11 β -HSD2 on MR is well documented (8) and numerous studies have described the effects associated with a partial or complete enzyme inactivation (for review (29)). Although 11 β -HSD1 is abundant in the tissue (12), little is known on its functions in human renal physiology. It has been shown *in vivo* that expression of both enzymes in this organ is highly regulated by oestradiol (11). Indeed, subcutaneous administration of oestradiol to intact and castrated male rats significantly increased renal 11 β -HSD2 mRNA and protein levels while 11 β -HSD1 expression was remarkably downregulated by the treatment. Since oestradiol concentrations are enhanced during the last gestational week (9), we expected to detect these variations in the kidney of pregnant rats. Thereby, our results demonstrated a significant

decrease of 11 β -HSD1 protein levels in the renal cortex and outer medulla in the last week of gestation. This observation is in agreement with the literature (11). However, 11 β -HSD2 expression did not increase. Actually, 11 β -HSD2 protein levels are decreased from D17 up to term. However, this diminution is not reflected in gene expression or in enzyme activity suggesting the involvement of some unknown post-translational or post-translational mechanism. Thus, rising levels of oestradiol during gestation seem to play a limited role in the 11 β -HSDs regulation, at least for the 11 β -HSD2 protein and activity. Compared to the observations in males (11), oestradiol could be less effective in female rats since they are already exposed to higher oestradiol levels than males. It is also possible that the oestradiol rise during the last gestational week is not sufficient to induce major expression changes in 11 β -HSD2. However, we demonstrated larger effects for the 11 β -HSD1 expression than for 11 β -HSD2, which is consistent with the findings of Gomez-Sanchez *et al* (11). Since few 11 β -HSDs variations are observed in the kidney, our results suggest that these enzymes do not play a crucial role in the increased water and salt retention found in late pregnancy.

In placenta, both 11 β -HSDs play an essential role in the control of the transplacental passage of maternal glucocorticoids. It is well known that glucocorticoids have potent effects on foetal tissues development (for review (22)), notably on the lung. In contrast, glucocorticoids overexposure leads to intrauterine growth restriction and subsequent diseases in adult life. Consequently, regulation of the placental 11 β -HSDs ensures the well-being of the foetus. In this study, we have shown a marked decrease of 11 β -HSD1 mRNA levels from D17 to term which is well correlated with protein expression, confirming the recent observations made by Vagnerová *et al* (27). In contrast, 11 β -HSD2 gene expression is upregulated on D17 and then decreases up to D22. This expression pattern is highly reflected by the protein levels and activity. Vagnerová *et al* (27) have also observed this

pattern for mRNA and protein but they measured increased 11 β -HSD2 activity on D22 which is inconsistent with the protein levels observed. This difference could be explained, in part, by the addition of the reducing agent dithiothreitol (DTT) to our incubation mixture. Indeed, since 11 β -HSD2 exists as an inactive dimer (10), the presence of DTT to the microsome preparation maximizes the conversion of corticosterone to 11-dehydrocorticosterone. Thus, in the present study, the potential deshydrogenase activity has been measured, which may reflect more efficiently protein expression. Together, these results demonstrate that 11 β -HSDs are highly regulated during gestation, possibly to ensure a proper time-specific delivery of glucocorticoids to the foetus.

In conclusion, we demonstrated tissue-specific variations in both 11 β -HSDs gene and protein expression in the last week of gestation, with marked effects in the kidney and placenta. Our results suggest that 11 β -HSDs may not be involved into the maternal cardioprotection or in the increased water and salt retention observed in late pregnancy. However, both 11 β -HSDs seem to play an important role in the transplacental corticosteroids passage, allowing normal organ maturation while protecting the fetus from glucocorticoids overexposure. We have also shown that these modifications are established early in the third gestational week. A better localisation of those variations in the developing placenta by immunohistochemical studies will help to characterise the mechanisms involved in the regulation of the 11 β -HSDs.

TABLE 1. QIAGEN Primers Sets for Real-Time quantitative RT-PCR analysis

Gene (GeneBank Accession no.)	QIAGEN QT Primer assay
18S (M11188)	QT00199374
11β-HSD1 (NM_017080)	QT00182070
11β-HSD2 (NM_017081)	QT00381486

FIGURE LEGENDS

Figure 1: 11 β -HSDs expression and activity in left cardiac ventricle. The results are expressed as means \pm SEM. Expression of mRNA (9 animals per group) is shown in (A). A representative Western blot and corresponding densitometric analyses (6 animals per group) are shown in (B).

Figure 2: 11 β -HSDs expression and activity in renal cortex. The results are expressed as means \pm SEM. 11 β -HSD1 (on left panels) and 11 β -HSD2 (on right panels). Expression of mRNA (9 animals per group) is shown in (A). A representative Western blot and corresponding densitometric analyses (6 animals per group) are shown in (B). In (C), 11 β HSD2 activity is expressed as percentage conversion of [3 H]corticosterone to [3 H]11-dehydrocorticosterone. Groups significantly different from D14 are indicated by * P <0.05.

Figure 3: 11 β -HSDs expression and activity in renal outer medulla. The results are expressed as means \pm SEM. 11 β -HSD1 (on left panels) and 11 β -HSD2 (on right panels). Expression of mRNA (9 animals per group) is shown in (A). A representative Western blot and corresponding densitometric analyses (6 animals per group) are shown in (B). In (C),

11 β HSD2 activity is expressed as percentage conversion of [³H]corticosterone to [³H]11-dehydrocorticosterone. Groups significantly different from D14 are indicated by * P <0.05.

Figure 4: 11 β -HSDs expression and activity in placenta. The results are expressed as means \pm SEM. Expression of mRNA (9 animals per group) is shown in (A). A representative Western blot and corresponding densitometric analyses (6 animals per group) are shown in (B). In (C), 11 β HSD2 activity is expressed as percentage conversion of [³H]corticosterone to [³H]11-dehydrocorticosterone. Groups significantly different from D14 are indicated by * P <0.05.

Figure 1.

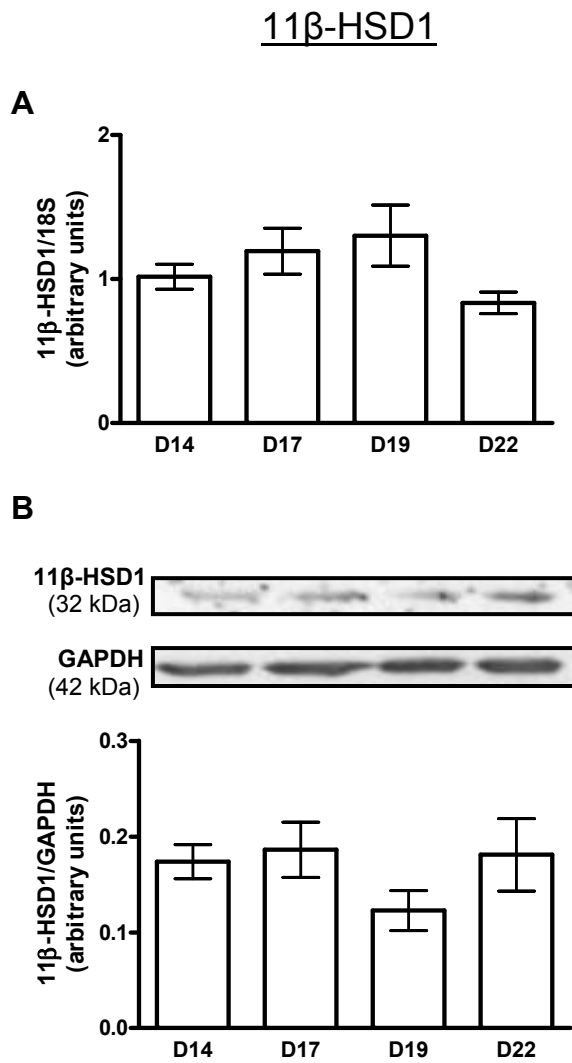


Figure 2.

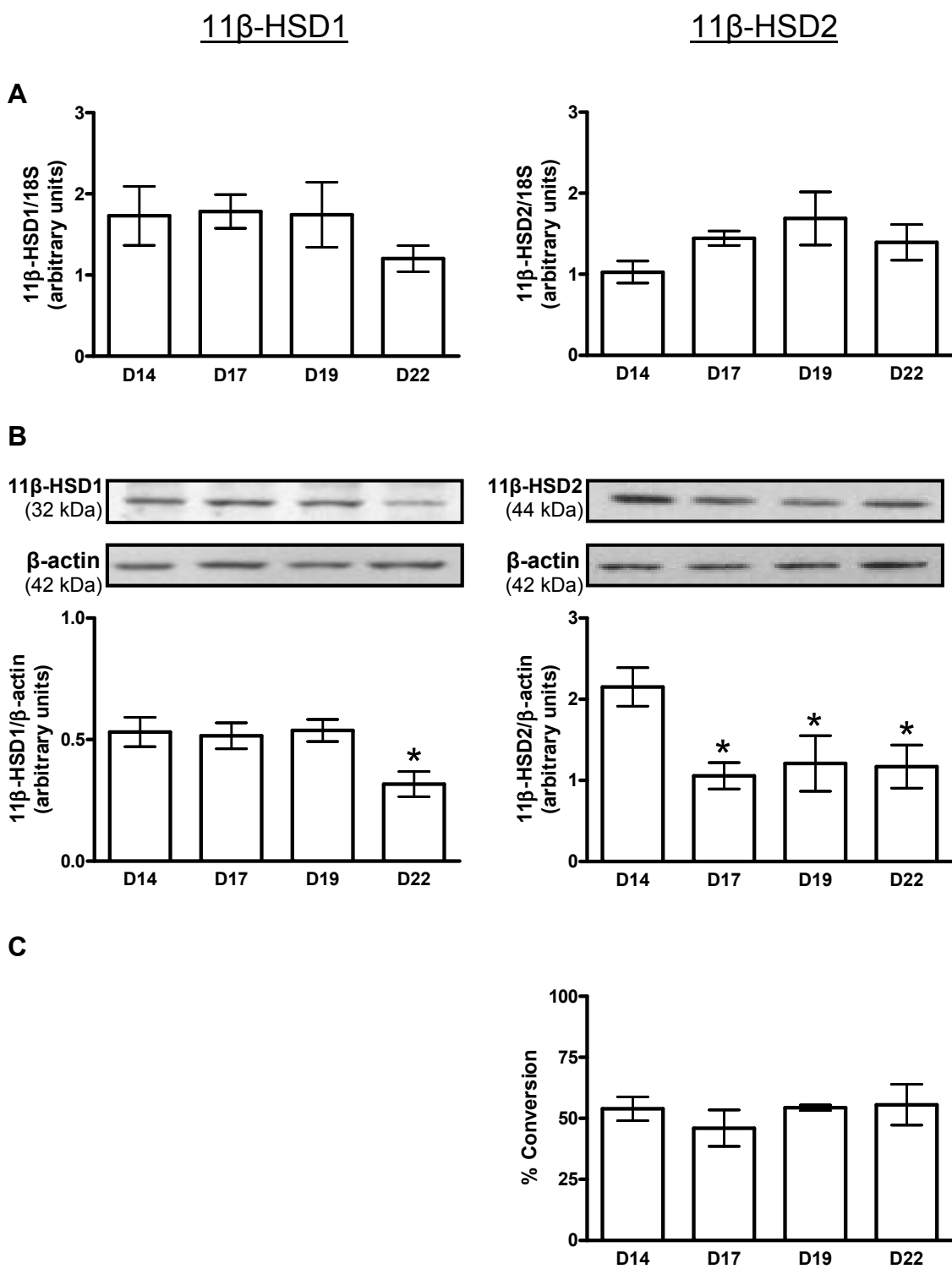


Figure 3.

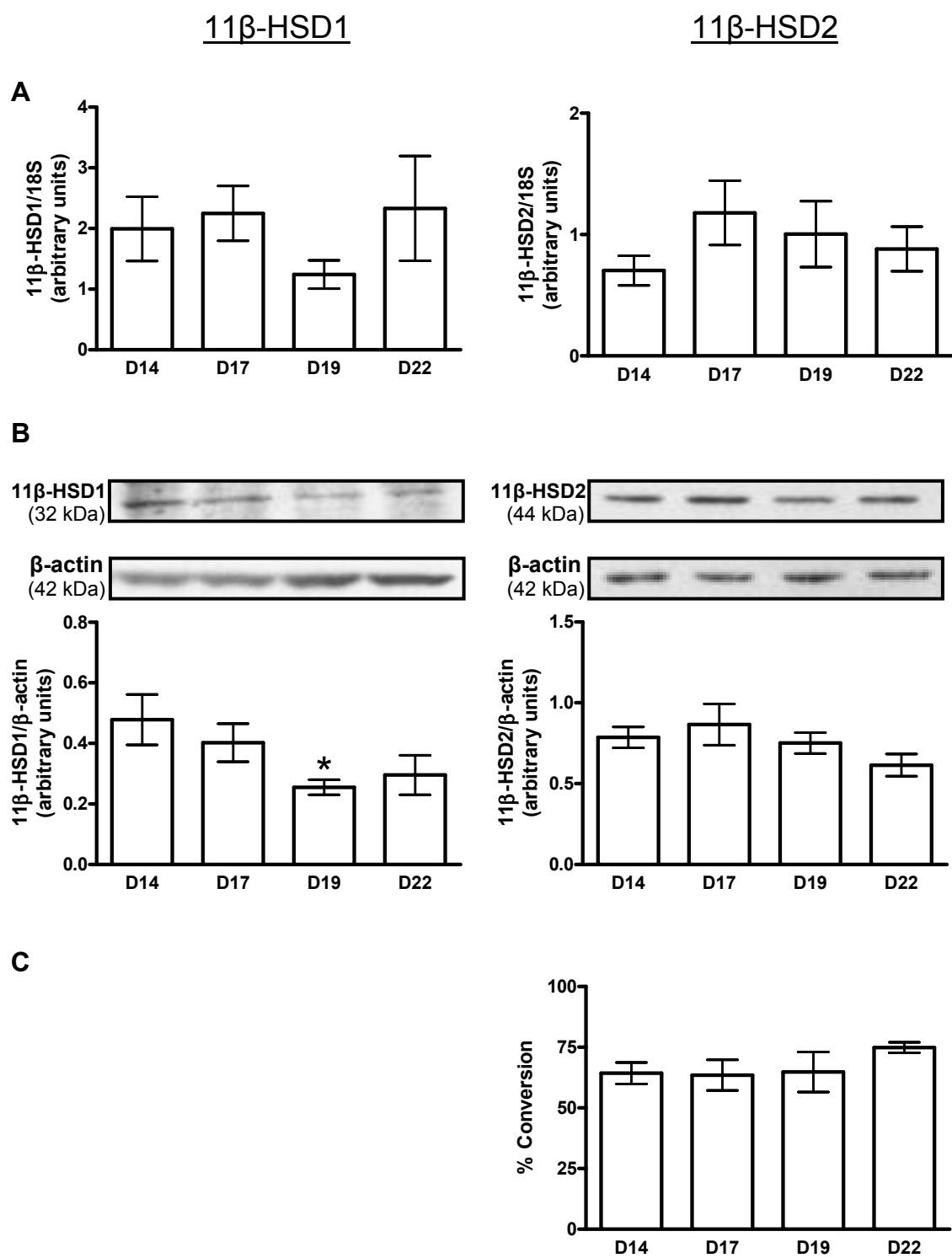
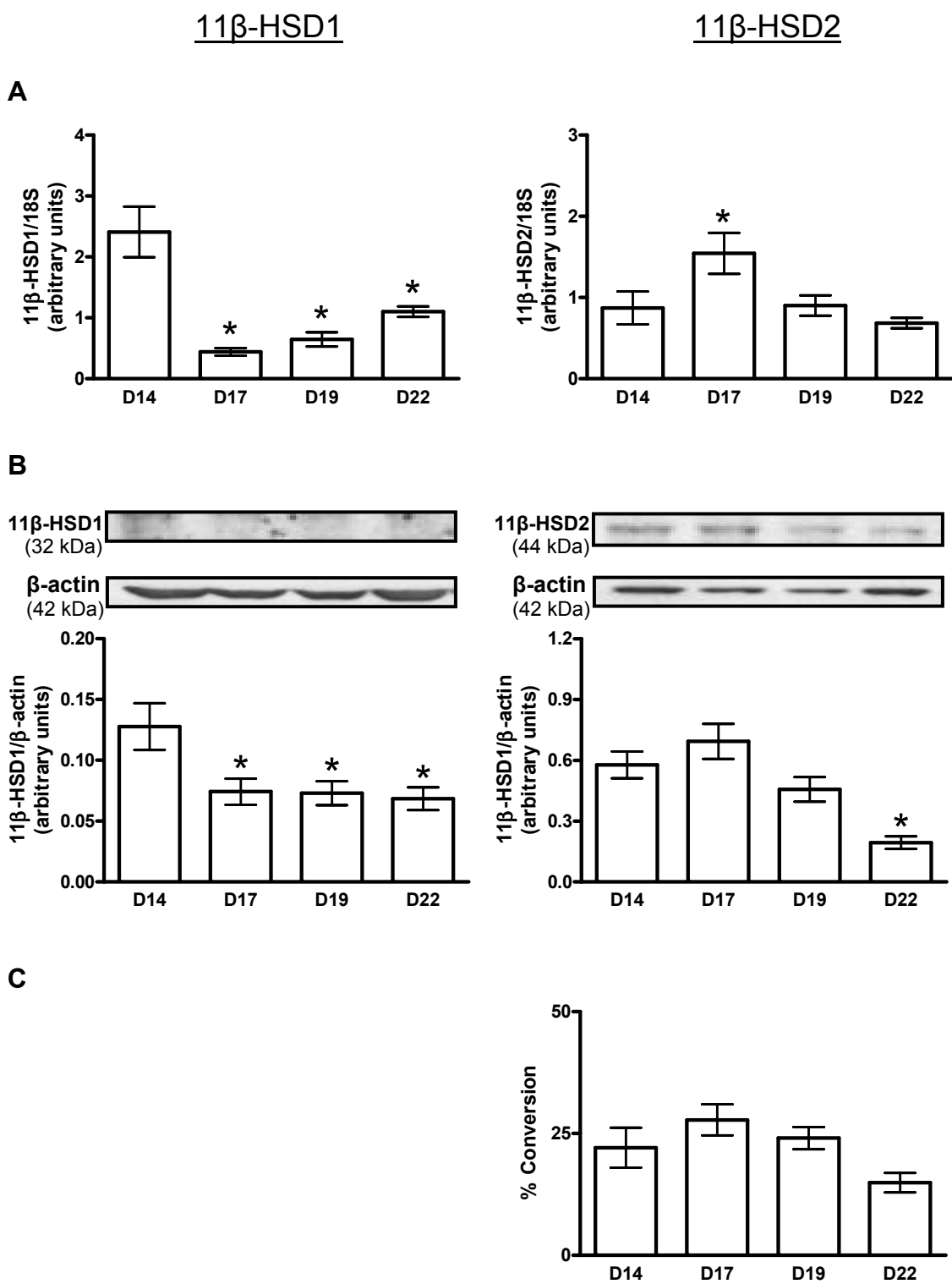


Figure 4.



REFERENCES

1. **Agarwal AK, Monder C, Eckstein B and White PC.** Cloning and expression of rat cDNA encoding corticosteroid 11 beta-dehydrogenase. *J Biol Chem* 264: 18939-18943, 1989.
2. **Albiston AL, Obeyesekere VR, Smith RE and Krozowski ZS.** Cloning and tissue distribution of the human 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 enzyme. *Mol Cell Endocrinol* 105: R11-R17, 1994.
3. **Brereton PS, van Driel RR, Suhaimi F, Koyama K, Dilley R and Krozowski Z.** Light and electron microscopy localization of the 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type I enzyme in the rat. *Endocrinology* 142: 1644-1651, 2001.
4. **Chapman AB, Abraham WT, Zamudio S, Coffin C, Merouani A, Young D, Johnson A, Osorio F, Goldberg C, Moore LG, Dahms T and Schrier RW.** Temporal relationships between hormonal and hemodynamic changes in early human pregnancy. *Kidney Int* 54: 2056-2063, 1998.
5. **Elsheikh A, Creatsas G, Mastorakos G, Milingos S, Loutradis D and Michalas S.** The renin-aldosterone system during normal and hypertensive pregnancy. *Arch Gynecol Obstet* 264: 182-185, 2001.
6. **Ferrari P.** Cortisol and the renal handling of electrolytes: role in glucocorticoid-induced hypertension and bone disease. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 17: 575-589, 2003.
7. **Funder JW.** Reconsidering the roles of the mineralocorticoid receptor. *Hypertension* 53: 286-290, 2009.
8. **Funder JW, Pearce PT, Smith R and Smith AI.** Mineralocorticoid action: target tissue specificity is enzyme, not receptor, mediated. *Science* 242: 583-585, 1988.
9. **Garland HO, Atherton JC, Baylis C, Morgan MR and Milne CM.** Hormone profiles for progesterone, oestradiol, prolactin, plasma renin activity, aldosterone and corticosterone during pregnancy and pseudopregnancy in two strains of rat: correlation with renal studies. *J Endocrinol* 113: 435-444, 1987.
10. **Gomez-Sanchez EP, Ganjam V, Chen YJ, Liu Y, Clark SA and Gomez-Sanchez CE.** The 11beta hydroxysteroid dehydrogenase 2 exists as an inactive dimer. *Steroids* 66: 845-848, 2001.
11. **Gomez-Sanchez EP, Ganjam V, Chen YJ, Liu Y, Zhou MY, Toroslu C, Romero DG, Hughson MD, de RA and Gomez-Sanchez CE.** Regulation of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase enzymes in the rat kidney by estradiol. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 285: E272-E279, 2003.
12. **Gong R, Morris DJ and Brem AS.** Human renal 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase 1 functions and co-localizes with COX-2. *Life Sci* 82: 631-637, 2008.

13. **Jensen EC, Gallaher BW, Breier BH and Harding JE.** The effect of a chronic maternal cortisol infusion on the late-gestation fetal sheep. *J Endocrinol* 174: 27-36, 2002.
14. **Konishi A, Tazawa C, Miki Y, Darnel AD, Suzuki T, Ohta Y, Suzuki T, Tabayashi K and Sasano H.** The possible roles of mineralocorticoid receptor and 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in cardiac fibrosis in the spontaneously hypertensive rat. *J Steroid Biochem Mol Biol* 85: 439-442, 2003.
15. **Lakshmi V and Monder C.** Evidence for independent 11-oxidase and 11-reductase activities of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase: enzyme latency, phase transitions, and lipid requirements. *Endocrinology* 116: 552-560, 1985.
16. **Minnaard-Huiban M, Hermans JJ, Essen H, Bitsch N and Smits JF.** Comparison of the effects of intrapericardial and intravenous aldosterone infusions on left ventricular fibrosis in rats. *Eur J Heart Fail* 10: 1166-1171, 2008.
17. **Monder C, Lakshmi V and Miroff Y.** Kinetic studies on rat liver 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase. *Biochim Biophys Acta* 1115: 23-29, 1991.
18. **Murphy VE, Zakar T, Smith R, Giles WB, Gibson PG and Clifton VL.** Reduced 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 activity is associated with decreased birth weight centile in pregnancies complicated by asthma. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 1660-1668, 2002.
19. **Myles K and Funder JW.** Type I (mineralocorticoid) receptors in the guinea pig. *Am J Physiol* 267: E268-E272, 1994.
20. **Newnham JP, Evans SF, Godfrey M, Huang W, Ikegami M and Jobe A.** Maternal, but not fetal, administration of corticosteroids restricts fetal growth. *J Matern Fetal Med* 8: 81-87, 1999.
21. **Roland BL and Funder JW.** Localization of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in rat tissues: in situ studies. *Endocrinology* 137: 1123-1128, 1996.
22. **Seckl JR and Meaney MJ.** Glucocorticoid programming. *Ann N Y Acad Sci* 1032: 63-84, 2004.
23. **Sheppard KE and Autelitano DJ.** 11Beta-hydroxysteroid dehydrogenase 1 transforms 11-dehydrocorticosterone into transcriptionally active glucocorticoid in neonatal rat heart. *Endocrinology* 143: 198-204, 2002.
24. **Slight SH, Ganjam VK, Gomez-Sanchez CE, Zhou MY and Weber KT.** High affinity NAD(+)-dependent 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase in the human heart. *J Mol Cell Cardiol* 28: 781-787, 1996.
25. **Stewart PM, Rogerson FM and Mason JI.** Type 2 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase messenger ribonucleic acid and activity in human placenta and fetal membranes: its relationship to birth weight and putative role in fetal adrenal steroidogenesis. *J Clin Endocrinol Metab* 80: 885-890, 1995.

26. **Struwe E, Berzl GM, Schild RL, Beckmann MW, Dorr HG, Rascher W and Dotsch J.** Simultaneously reduced gene expression of cortisol-activating and cortisol-inactivating enzymes in placentas of small-for-gestational-age neonates. *Am J Obstet Gynecol* 197: 43-46, 2007.
27. **Vagnerova K, Vackova Z, Klusonova P, Staud F, Kopecky M, Ergang P, Miksik I and Pacha J.** Reciprocal changes in maternal and fetal metabolism of corticosterone in rat during gestation. *Reprod Sci* 15: 921-931, 2008.
28. **Vasan RS, Evans JC, Larson MG, Wilson PW, Meigs JB, Rifai N, Benjamin EJ and Levy D.** Serum aldosterone and the incidence of hypertension in nonhypertensive persons. *N Engl J Med* 351: 33-41, 2004.
29. **White PC, Mune T and Agarwal AK.** 11 beta-Hydroxysteroid dehydrogenase and the syndrome of apparent mineralocorticoid excess. *Endocr Rev* 18: 135-156, 1997.
30. **Yakirevich E, Morris DJ, Tavares R, Meitner PA, Lechpammer M, Noble L, de Rodriguez AF, Gomez-Sanchez CE, Wang LJ, Sabo E, Delellis RA and Resnick MB.** Mineralocorticoid receptor and 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type II expression in renal cell neoplasms: a tissue microarray and quantitative RT-PCR study. *Am J Surg Pathol* 32: 874-883, 2008.
31. **Young M, Fullerton M, Dilley R and Funder J.** Mineralocorticoids, hypertension, and cardiac fibrosis. *J Clin Invest* 93: 2578-2583, 1994.

3. DISCUSSION

L'objectif principal de cette étude était de déterminer les profils d'expression et d'activité enzymatique de la 11 β -HSD1 et de la 11 β -HSD2 dans le rein, le cœur et le placenta de rates gestantes. Nos travaux ont démontré des variations substantielles dans les niveaux d'ARNm et de protéine de ces enzymes de même que dans l'activité de la 11 β -HSD2 au fil de la gestation, et ce en fonction du tissu étudié. Ces résultats étant abordés et commentés dans l'article, je présenterai ici les lignes directrices de cette étude en lien avec la littérature scientifique tout en proposant des perspectives pour le futur du projet.

Notre modèle animal

Tel que discuté en introduction, la troisième et dernière semaine de gestation de la rate ressemble beaucoup au second trimestre de la grossesse humaine, notamment en ce qui a trait aux changements cardio-vasculaires qui s'y manifestent. Malgré quelques différences, nous croyons que notre modèle animal est tout à fait adéquat pour notre étude. Un résumé des similitudes et des différences entre la grossesse humaine et la gestation de la rate est présenté au tableau 1.

Physiologie rénale

La fonction protectrice de la 11 β -HSD2 dans le rein n'est plus à démontrer. De nombreuses études ont caractérisé les effets minéralocorticoïdes associés à l'inactivation partielle ou complète de cette enzyme. À l'opposé, l'implication de la 11 β -HSD1 dans la physiologie rénale humaine reste toujours nébuleuse à un point tel que, pendant longtemps, certains affirmaient que son expression et activité y étaient très faibles, voire inexistantes (149; 244). Cette confusion proviendrait d'études antérieures effectuées sur des reins fœtaux humains dans lesquels seule la 11 β -HSD2 était retrouvée (257). Il a cependant été démontré que, bien qu'absente lors de la période fœtale, l'expression de la 11 β -HSD1 rénale chez les mammifères débute après la naissance (35). Dans le rein adulte, ses niveaux sont comparables à ceux de la 11 β -HSD2, autant chez le rat que chez l'humain (35; 222). Dans la présente étude, le cortex et la médulla externe du rein ont été divisés et étudiés séparément. En effet, puisque la sensibilité à l'aldostérone est plus importante dans le cortex que dans la médulla externe (89), nous avons voulu déterminer si les profils

d'expression des 11 β -HSD pouvaient également varier entre ces tissus. Nos travaux ont effectivement démontré que la diminution des niveaux protéiques de la 11 β -HSD2 en fin de gestation est uniquement retrouvée dans le cortex rénal. Cette observation suggère que la distribution de la 11 β -HSD2 puisse varier le long du tubule collecteur où elle est fortement exprimée, ou encore que sa régulation diffère selon la zone rénale. Des études d'immunohistochimie permettront d'approfondir cette idée.

	Grossesse humaine	Gestation de la rate
Similitudes		
Pression artérielle	↓ lors du 2 ^e trimestre; retour à la normale au 3 ^e trimestre (169)	↓ au cours de la 3 ^e semaine (24)
Volume plasmatique	↑ dès le 1 ^{er} trimestre (54)	↑ à la mi-gestation (16)
Activité de la rénine plasmatique	↑ à partir de la 6 ^e semaine (80)	↑ au cours de la 3 ^e semaine (39)
Aldostérone sérique	↑ à partir de la 6 ^e semaine (80)	↑ au fil de la 3 ^e semaine (39)
Progestérone sérique	↑ au cours de la grossesse (140)	↑ au fil de la gestation (96)
Œstrogène sérique	↑ au cours de la grossesse (140)	↑ au fil de la gestation (96)
CBG	↑ (doublée lors du 6 ^e mois) (72)	↑ au cours de la gestation (163)
Flot sanguin rénal	↑ 35 à 60% au cours de la grossesse (78)	↑ 30% à la mi-gestation; retour à la normale avant terme (22)
Taux de filtration glomérulaire	↑ dès le premier trimestre (54)	↑ au cours de la gestation (22)
Débit cardiaque	↑ 30 à 50% lors du 1 ^{er} trimestre (69)	↑ au cours de la gestation (2)
Structure du blastocyste	Monocouche de cellules trophoblastiques + embryoblaste (138)	
Type d'implantation blastocystaire	Interstitiel (138)	Excentrique (138)
Hypertrophie cardiaque physiologique (20; 234)		
Différences		
Durée	40 semaines (140)	22 jours (140)
Cortisol/corticostérone libre	↑ (doublé entre 1 ^{er} et 3 ^e trimestre) (97)	↓ au cours de la gestation (V. Houde et M. Brochu, en préparation)
Stéroïdogénèse	Participation de l'unité fœto-placentaire (140)	Assurée par les ovaires (140)
Cellules endocrines du placenta	Cellules du syncytiotrophoblaste (1)	Spongiotrophoblastes, cellules trophoblastiques géantes et cellules trophoblastiques invasives (6)
CRH placentaire	Forte expression (293)	Pas d'expression (251)
Développement du placenta (1; 67; 84; 138; 171; 268; 281)		
Structure du placenta (67; 171; 268)		

Tableau 1. Similitudes et différences entre la grossesse humaine et la gestation de la rate.

À l'opposé des travaux de Gomez-Sanchez *et al* qui ont démontré d'importants changements dans le rein de rats mâles (100), nos résultats suggèrent que l'œstradiol semble exercer un effet limité au cours de la gestation. Il est possible que l'effet régulateur

de l'œstradiol soit déjà à son plein potentiel chez les rates femelles puisque celles-ci, gestantes ou non, sont déjà exposées à des niveaux d'œstradiol circulants plus élevés que les mâles. Afin de confirmer cette hypothèse, il serait facile et intéressant de comparer l'expression des deux enzymes dans les reins de rats mâles et femelles, gestantes ou non.

Il a été démontré que l'activité inhibitrice des GALF est augmentée dans l'urine des femmes enceintes, atteignant de hauts niveaux lors du second et du troisième trimestre de grossesse (162). Cette observation est intéressante puisque les GALF, similaires à l'AG, représentent une autre classe de molécules capable d'inhiber l'activité et la synthèse des 11 β -HSD rénales. Les plus puissants d'entre eux dérivent principalement du cortisol et de la corticostérone [pour une revue (187)]. Cependant, seuls les dérivés 5 α des stéroïdes surrénaliens peuvent inhiber sélectivement les 11 β -HSD, leurs dérivés 5 β étant inactifs. Il a été démontré dans un modèle *in vivo* qu'une diète faible en Na⁺ transforme le métabolisme hépatique des stéroïdes surrénaliens, passant de la voie 5 β -réductase à la voie 5 α -réductase. À l'opposé, une diète riche en Na⁺ augmente la synthèse des composé 5 β . Ces observations suggèrent que l'homéostasie du Na⁺ puisse réguler l'activité des 11 β -HSD en modulant la synthèse de certains GALF. Il serait intéressant de déterminer si de tels composés dérivés de la corticostérone sont présents au cours de la gestation de la rate et quelles en seraient les implications. Dans un second temps, nous pourrions vérifier si le métabolisme hépatique de la corticostérone est modifié durant la gestation puisque celle-ci est caractérisée par une rétention de Na⁺ accrue.

Physiologie cardiaque

Bien que restreinte, l'expression des 11 β -HSD est observée dans le cœur des rats (177). La 11 β -HSD1 est principalement retrouvée dans les fibroblastes interstitiels de l'endocarde (37) tandis que l'expression de la 11 β -HSD2 semble surtout concentrée dans les cellules du muscle lisse vasculaire (9; 148). Dans la présente étude, les niveaux de la 11 β -HSD2 étaient trop faibles pour être détectés par RT-PCR (*Reverse transcription polymerase chain reaction*) ou par immunobuvardage de type Western. Ces résultats viennent en contradiction avec les travaux d'équipes qui ont mesuré l'expression génique et l'activité de cette enzyme dans le cœur de rats normotendus et hypertendus (148; 177). Cette

différence pourrait s'expliquer, en partie, par la souche de rat utilisée lors des expérimentations. En effet, la 11 β -HSD2 a été observée chez les Wistar-Kyoto (146; 177) et les rats SHR (*spontaneously hypertensive rats*) (148), issus des Wistar-Kyoto. À l'opposé, nos travaux, de même que ceux d'autres équipes (228; 246) utilisant des rats Sprague-Dawley n'ont pas démontré cette expression cardiaque. Ainsi, les travaux de Mazancová *et al* ont démontré que l'expression génique de la 11 β -HSD2 est significativement diminuée dans les cœurs hypertrophiés de rats SHR comparativement aux rats Wistar-Kyoto (177). Conséquemment, puisque la grossesse est associée à une certaine hypertrophie cardiaque physiologique (20), il est raisonnable de se demander si l'expression de cette enzyme puisse être diminuée à des valeurs indétectables dans le cœur de nos rates gestantes. Afin de confirmer cette hypothèse, l'expression des 11 β -HSD cardiaques pourra être mesurée chez des rates Sprague-Dawley non-gestantes. Il serait également intéressant de comparer les effets d'une hypertrophie cardiaque pathologique à ceux d'une hypertrophie physiologique, telle que retrouvée durant la grossesse, quant à l'expression des 11 β -HSD.

Comme il a brièvement été mentionné en introduction, en condition normale, les glucocorticoïdes lient les MR des cardiomyocytes sans les activer. Ils agissent ainsi en tant qu'antagonistes compétitifs de ces récepteurs, bloquant les effets de l'aldostérone sur le transport membranaire. Cependant, dans un contexte de dommage tissulaire, les glucocorticoïdes deviennent agonistes des MR. Un nombre croissant d'études suggère que ce phénomène s'applique également aux tissus épithéliaux [pour une revue (92)]. En effet, malgré l'importante activité de la 11 β -HSD2 dans ces tissus, les niveaux intracellulaires des glucocorticoïdes resteraient au moins 10 fois plus élevés que ceux de l'aldostérone. Conséquemment, les MR des tissus épithéliaux seraient, eux aussi, occupés en majeure partie par les glucocorticoïdes, sans pour autant être activés. La fonction principale de la 11 β -HSD2 serait alors d'empêcher l'activation des MR plutôt que leur occupation par les glucocorticoïdes. De fait, lorsque cette enzyme est déficiente ou bloquée, comme dans les cas du syndrome d'AME ou de prise excessive de réglisse, ces stéroïdes agissent indubitablement en tant qu'agonistes des MR. Comment est-ce possible? L'une des hypothèses de ce changement implique le NAD, cofacteur de la 11 β -HSD2, ainsi que le statut redox intracellulaire reflétant le ratio NAD:NADH [pour une revue (92)]. Chaque

conversion du cortisol en cortisone, ou corticostérone en 11-déshydrocorticostérone, est accompagnée de la formation d'une molécule de NADH par la réaction de déshydrogénation. En général, les niveaux intracellulaires du NAD sont environ 600 fois plus élevés que ceux du NADH. Ainsi, sous l'action de la 11 β -HSD2, une petite réduction des taux de NAD, passant par exemple de 600 à 500 fois plus élevés, résulte en une augmentation très importante des concentrations de NADH. À l'opposé, lorsque l'enzyme est bloquée, les niveaux de NADH chuteraient rapidement, permettant l'activation des MR. Le mécanisme par lequel le NADH contrôlerait les complexes cortisol-MR n'est toutefois pas encore élucidé. Il impliquerait possiblement une réduction de l'activité transcriptionnelle des MR via l'activation de corépresseurs comme il a déjà été observé pour d'autres systèmes (87). Cette hypothèse n'explique toutefois pas pleinement le rôle bivalent des glucocorticoïdes dans les tissus non-épithéliaux, tels que les cardiomyocytes, qui ne sont pas protégés par la 11 β -HSD2. Des études de «patch-clamp» effectuées sur des cardiomyocytes isolés de lapin, ont confirmé qu'en condition normale les glucocorticoïdes sont des antagonistes des MR (92). Cependant, l'ajout de glutathion oxydé, qui reproduit les effets d'un changement de statut redox et de formation de ROS, a pour conséquence de transformer le cortisol en agoniste des MR, mimant l'action de l'aldostérone. Ainsi, autant dans les tissus exprimant la 11 β -HSD2 que dans les autres, les MR, fortement occupés par les glucocorticoïdes, semblent répondre aux différents changements du statut redox, que ce soit via le ratio NAD:NADH ou d'autres phénomènes. En admettant cette hypothèse, on peut conclure que, dans notre étude, les MR présents dans le ventricule gauche cardiaque des rates gestantes sont massivement occupés par les glucocorticoïdes puisque la 11 β -HSD2 y est très peu ou pas exprimée. Ainsi, le statut redox pourrait y jouer un rôle critique. Il est important d'ajouter que la grossesse est une condition favorisant l'établissement d'un stress oxydatif [pour une revue (51)]. En effet, celle-ci est caractérisée par de nombreux changements dynamiques qui augmentent la consommation basale d'oxygène. De plus, la structure hautement vascularisée et riche en mitochondries du placenta en développement favorise la production de ROS [pour une revue (194)]. Le NO, synthétisé localement dans le placenta, contribue lui aussi au stress oxydatif (75). Afin de contrer d'éventuels dommages causés par ces radicaux libres, divers mécanismes de protection sont mis en place chez la femme enceinte. Par exemple, l'antioxydant bilirubine de même que l'activité de la superoxyde dismutase placentaire, une enzyme responsable de la dégradation des

ROS, sont toutes deux augmentées au fil de la grossesse (75; 218; 292). Conséquemment, il serait intéressant d'évaluer le statut redox dans le cœur et les reins des rates afin de déterminer si les changements hémodynamiques maternels mis en place au cours de la grossesse peuvent activer les MR et induire ses différents effets.

Physiologie placentaire

Les 11 β -HSD sont toutes deux présentes dans le placenta où elles jouent un rôle important dans la maturation fœtale. Pour cette raison, de nombreuses études se sont penchées sur le devenir des profils d'expression et d'activité de ces enzymes au fil de la grossesse. Il s'est avéré qu'il existe de nombreuses différences entre les espèces. En effet, chez la souris, une diminution importante de l'expression génique de la 11 β -HSD2 est observée en fin de gestation (43) tandis que chez le lapin, l'activité placentaire de cette enzyme demeure stable au cours de la dernière semaine (130). Dans le placenta de cobaye, on observe une diminution des niveaux d'ARNm de même que de l'activité de la 11 β -HSD2 (232). L'expression de la 11 β -HSD1 est, quant à elle, augmentée en fin de gestation dans le placenta de babouin (206) et de porc (145). Chez l'humain, les résultats sont plutôt controversés. En effet, certaines études ont démontré une augmentation progressive de l'expression et de l'activité enzymatique de la 11 β -HSD2 au fil de la grossesse (238; 245; 258). D'autres équipes ont plutôt observé une diminution d'activité à partir de la 36^e semaine (191), ou du début de la gestation (32), sans changement dans l'expression génique ou protéique. Quant à la 11 β -HSD1, son expression semble augmenter (191) ou diminuer (8) légèrement en fin de gestation. Ainsi, pour étudier l'évolution des profils d'expression et d'activité des 11 β -HSD placentaires, aucun modèle animal n'est parfait. Dans cette étude, nous avons opté pour le rat puisque la troisième semaine de gestation chez cet animal ressemble beaucoup au second trimestre de la grossesse humaine. Cependant, tel que vu en introduction, la formation et la structure du placenta diffèrent entre ces deux espèces, ce qui constitue l'une des limites de notre étude (voir tableau 1). Ainsi, il est possible que les résultats obtenus pour l'expression et l'activité des 11 β -HSD ne soient pas parfaitement reflétés dans le placenta humain.

Les profils d'expression des 11 β -HSD au cours de la grossesse diffèrent selon la zone placentaire étudiée, c'est-à-dire soit la zone labyrinthe où s'effectuent les échanges fœto-maternels ou la zone jonctionnelle. En effet, les travaux de Burton *et al* ont démontré qu'au jour 22 de gestation (terme = jour 23) les niveaux d'ARNm de la 11 β -HSD2 sont augmentés dans la zone jonctionnelle tandis qu'ils sont diminués dans la zone labyrinthe par rapport au jour 16 (48). Quant à la 11 β -HSD1, ils ont noté une augmentation de son expression génique dans les deux zones, et ce de façon marquée dans la zone labyrinthe. Nos résultats confirment ces observations, bien que nos expérimentations aient été effectuées sur des homogénats de placenta entier. Ainsi, puisque la zone labyrinthe est beaucoup plus abondante que la zone jonctionnelle (286), nous avons démontré une diminution progressive de l'expression de la 11 β -HSD2 dans le placenta entier. De plus, l'analyse des résultats obtenus pour la 11 β -HSD1 aux jours 17 et 22 confirme l'importante augmentation d'expression génique observée par Burton *et al* ($P < 0.0001$, résultat non présenté). Cependant, en choisissant le 16^e jour de gestation comme référence, cette équipe a raté la baisse substantielle d'expression de la 11 β -HSD1 démontrée dans notre étude (48). En ce qui a trait à l'activité de la 11 β -HSD2, nos travaux confirment certaines études (70) mais viennent en contradiction avec d'autres (49; 130; 280). En effet, Vagnerová *et al* ont récemment démontré une augmentation significative de l'activité déshydrogénase de la 11 β -HSD2 en fin de gestation, et ce malgré une baisse de ses niveaux d'ARNm et de protéine (280). L'utilisation de l'agent réducteur dithiothréitol (DTT) pourrait expliquer, du moins en partie, ces résultats opposés. En effet, puisque la 11 β -HSD2 existe sous forme de dimère inactif, l'ajout de DTT augmente significativement l'activité de cette enzyme (99) en empêchant sa dimérisation. À l'opposé, Vagnerová *et al* ont mesuré l'activité déshydrogénase en absence de DTT, provenant donc uniquement des monomères de 11 β -HSD2 actifs. Dans un second temps, ils ont démontré que l'effet du DTT est plus efficace en fin de gestation que dans les jours précédents. Conséquemment, cela suggère que le taux de dimérisation de l'enzyme est plus élevé au jour 22 qu'au jour 17, ce qui est en contradiction avec leurs autres résultats. En effet, si l'expression génique et protéique ainsi que la fraction monomérique, donc active, de la 11 β -HSD2 sont diminuées en fin de gestation, comment est-il possible que l'activité enzymatique puisse être augmentée au jour 22? Pour expliquer ces résultats, cette équipe suppose qu'un nouveau mécanisme soit impliqué dans la stimulation de l'activité placentaire de la 11 β -HSD2 en fin de gestation,

hypothèse qui reste à être confirmée. Il serait intéressant de vérifier, avec notre technique, si de pareils résultats pourraient être obtenus en absence de DTT.

Dans le placenta du rat, en plus de moduler le transfert des glucocorticoïdes maternels, la 11 β -HSD1 pourrait également jouer un rôle dans le déclenchement de la parturition, bien que les données sur le sujet demeurent controversées [pour une revue (137)]. En plus du phénomène de dimérisation enzymatique, la régulation de l'expression et de l'activité des 11 β -HSD placentaires peut se faire à plusieurs niveaux. D'abord il a été démontré que, chez l'humain, l'activité enzymatique de la 11 β -HSD2 est supérieure dans le placenta des fœtus femelles que dans celui des mâles (192), observation qui n'a toutefois pas été confirmée par d'autres (260). Afin d'amoindrir les conséquences possibles d'une telle différence dans notre étude, de 2 à 3 placentas d'une même portée ont été regroupés pour chaque échantillon. Il serait très intéressant de déterminer si le placenta de rat possède un sexe et si un tel dimorphisme sexuel est retrouvé au cours de la gestation. En effet, si l'activité de la 11 β -HSD2 est diminuée dans le placenta des fœtus femelles, cela suggérerait que ceux-ci sont exposés à des niveaux de corticostérone plus élevés ce qui peut se répercuter sur le développement fœtal.

L'injection de dexaméthasone, un glucocorticoïde synthétique, a pour effet de réduire l'expression génique de la 11 β -HSD2 sans altérer ses niveaux protéiques (279). La 11 β -HSD1 demeure, quant à elle, inchangée suite au traitement. De plus, la fonction d'inactivation de la corticostérone par la 11 β -HSD2 est diminuée suite à cette administration, ce qui résulterait en la saturation de l'enzyme. Il a également été démontré *in vitro* que l'activité de la 11 β -HSD2 est augmentée significativement lors de la différenciation des cellules trophoblastiques en cellules syncytiotrophoblastiques (116). Puisque ces dernières sont responsables de la synthèse de nombreuses enzymes et hormones chez l'humain, l'induction de la 11 β -HSD2 durant cette différenciation cellulaire pourrait jouer un rôle dans la fonction endocrine du placenta. Il serait intéressant de vérifier si de tels changements surviennent au cours du développement du placenta de la rate et d'en déterminer les conséquences physiologiques. Finalement, de nombreux autres mécanismes contrôlant l'expression et l'activité de la 11 β -HSD1 et de la 11 β -HSD2 ont été décrits, incluant des régulations transcriptionnelles, des mécanismes post-traductionnels,

l'inhibition par divers composés et bien d'autres phénomènes [pour des revues (134; 266)]. Il reste ainsi beaucoup de chemin à faire avant de bien comprendre les mécanismes qui régissent les changements de profil d'expression et d'activité des 11 β -HSD placentaires.

Activité réductase de la 11 β -HSD1

Comme d'autres équipes (191), nous avons été incapables d'obtenir une sensibilité suffisante pour mesurer l'activité réductase de la 11 β -HSD1. Tout d'abord, nous avons décidé d'utiliser de la cortisone plutôt que de 11-déshydrocorticostérone pour nos essais, les paramètres cinétiques étant relativement similaires pour la 11 β -HSD1 de rat (12). La technique que nous avons employée a été sensiblement la même que pour l'activité déshydrogénase de la 11 β -HSD2; seuls la solution tampon, le cofacteur ainsi que le substrat étaient différents. Les essais effectués sur des préparations microsomales de foie, notre contrôle positif, ont démontré une courbe de conversion en fonction du temps tout à fait normale. Les essais avec le rein, le ventricule gauche cardiaque ou le placenta ont cependant été infructueux. En effet, l'activité enzymatique n'a guère dépassé les 10 % de conversion, et ce même après plus de 24 heures d'incubation et des concentrations protéiques et de NADPH plus élevées. Ces résultats confirment deux faits. Premièrement, les niveaux d'expression de la 11 β -HSD1 rénale, cardiaque et placentaire sont très faibles par rapport à ceux retrouvés dans le foie. Dans un deuxième temps, l'activité réductase de cette enzyme semble nécessiter des cellules intactes pour être pleinement fonctionnelle. En effet, dans de nombreux systèmes cellulaires intacts, incluant les hépatocytes (134), les fibroblastes (115) et les cellules du tissu adipeux (45), l'activité réductase est observée. Cependant, lorsque les cellules sont lysées ou l'enzyme purifiée, cette activité est perdue. Cette différence s'expliquerait par la localisation de la 11 β -HSD1 dans la lumière du RE [pour une revue (266)]. En effet, à cet endroit, des enzymes avoisinantes, telles l'hexose-6-phosphate déshydrogénase (296), joueraient un rôle important dans la régénération du cofacteur NADPH. Ainsi, l'activité réductase de la 11 β -HSD1 dans les cellules intactes découlerait des hauts niveaux de NADPH dans la lumière du RE tandis que dans les homogénats cellulaires, le simple ajout de cofacteur ne serait pas suffisant. Une façon de contourner ce problème vient de l'ajout d'un système de régénération de NADPH, constitué de l'enzyme cytosolique glucose-6-phosphate déshydrogénase et de son substrat,

à l'homogénat tissulaire (76). Ainsi, avec cette technique, nous pourrions possiblement mesurer l'activité réductase de la 11 β -HSD1 non seulement dans le foie, mais également dans les autres tissus qui nous intéressent.

En conclusion, nos travaux démontrent que les profils d'expression et d'activité des 11 β -HSD sont modifiés au cours de la dernière semaine de gestation, et ce selon le tissu. Nous avons observé que différentes variations prennent place dans le rein et le placenta de rates gestantes, tandis qu'aucun changement marqué n'est observé dans le ventricule gauche cardiaque. Notre étude suggère que les 11 β -HSD ne sont pas impliqués dans la rétention sodique et la cardioprotection maternelle face à l'augmentation d'aldostérone observées au cours de la grossesse. Ces enzymes joueraient toutefois un rôle essentiel dans le contrôle du passage placentaire des glucocorticoïdes, favorisant un développement fœtal adéquat. Des études plus approfondies des mécanismes et composés endogènes ou exogènes régissant l'expression et l'activité des 11 β -HSD seront nécessaires pour mieux comprendre l'implication et la fonction physiologique de ces enzymes. L'expression des MR dans ces tissus sera également déterminée afin de bien cerner les effets de l'aldostérone et du cortisol lors de la grossesse.

4. BIBLIOGRAPHIE

1. **Abrahamsohn PA and Zorn TM.** Implantation and decidualization in rodents. *J Exp Zool* 266: 603-628, 1993.
2. **Abreu N, Tardin JC, Boim MA, Campos RR, Bergamaschi CT and Schor N.** Hemodynamic parameters during normal and hypertensive pregnancy in rats: evaluation of renal salt and water transporters. *Hypertens Pregnancy* 27: 49-63, 2008.
3. **Adcock IM and Barnes PJ.** Molecular mechanisms of corticosteroid resistance. *Chest* 134: 394-401, 2008.
4. **Agarwal AK, Monder C, Eckstein B and White PC.** Cloning and expression of rat cDNA encoding corticosteroid 11 beta-dehydrogenase. *J Biol Chem* 264: 18939-18943, 1989.
5. **Agarwal MK, Mirshahi F, Mirshahi M and Rostene W.** Immunochemical detection of the mineralocorticoid receptor in rat brain. *Neuroendocrinology* 58: 575-580, 1993.
6. **Ain R, Konno T, Canham LN and Soares MJ.** Phenotypic analysis of the rat placenta. *Methods Mol Med* 121: 295-313, 2006.
7. **Albiston AL, Obeyesekere VR, Smith RE and Krozowski ZS.** Cloning and tissue distribution of the human 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 enzyme. *Mol Cell Endocrinol* 105: R11-R17, 1994.
8. **Alfaidy N, Li W, MacIntosh T, Yang K and Challis J.** Late gestation increase in 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase 1 expression in human fetal membranes: a novel intrauterine source of cortisol. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 5033-5038, 2003.
9. **Alzamora R, Michea L and Marusic ET.** Role of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase in nongenomic aldosterone effects in human arteries. *Hypertension* 35: 1099-1104, 2000.
10. **Amano Y, Lee SW and Allison AC.** Inhibition by glucocorticoids of the formation of interleukin-1 alpha, interleukin-1 beta, and interleukin-6: mediation by decreased mRNA stability. *Mol Pharmacol* 43: 176-182, 1993.
11. **Antonow-Schlorke I, Schwab M, Li C and Nathanielsz PW.** Glucocorticoid exposure at the dose used clinically alters cytoskeletal proteins and presynaptic terminals in the fetal baboon brain. *J Physiol* 547: 117-123, 2003.
12. **Arampatzis S, Kadereit B, Schuster D, Balazs Z, Schweizer RA, Frey FJ, Langer T and Odermatt A.** Comparative enzymology of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 from six species. *J Mol Endocrinol* 35: 89-101, 2005.
13. **Arriza JL, Weinberger C, Cerelli G, Glaser TM, Handelin BL, Housman DE and Evans RM.** Cloning of human mineralocorticoid receptor complementary DNA: structural and functional kinship with the glucocorticoid receptor. *Science* 237: 268-275, 1987.
14. **Asensio C, Muzzin P and Rohner-Jeanrenaud F.** Role of glucocorticoids in the physiopathology of excessive fat deposition and insulin resistance. *Int J Obes Relat Metab Disord* 28 Suppl 4: S45-S52, 2004.
15. **Atherton JC, Bielinska A, Davison JM, Haddon I, Kay C and Samuels R.** Sodium and water reabsorption in the proximal and distal nephron in conscious pregnant rats and third trimester women. *J Physiol* 396: 457-470, 1988.

16. **Atherton JC, Dark JM, Garland HO, Morgan MR, Pidgeon J and Soni S.** Changes in water and electrolyte balance, plasma volume and composition during pregnancy in the rat. *J Physiol* 330: 81-93, 1982.
17. **Baker KM and Aceto JF.** Angiotensin II stimulation of protein synthesis and cell growth in chick heart cells. *Am J Physiol* 259: H610-H618, 1990.
18. **Barnes PJ.** Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clin Sci (Lond)* 94: 557-572, 1998.
19. **Barth W, Deten A, Bauer M, Reinohs M, Leicht M and Zimmer HG.** Differential remodeling of the left and right heart after norepinephrine treatment in rats: studies on cytokines and collagen. *J Mol Cell Cardiol* 32: 273-284, 2000.
20. **Bassien-Capsa V, Fouron JC, Comte B and Chorvatova A.** Structural, functional and metabolic remodeling of rat left ventricular myocytes in normal and in sodium-supplemented pregnancy. *Cardiovasc Res* 69: 423-431, 2006.
21. **Bayard F, Ances IG, Tapper AJ, Weldon VV, Kowarski A and Migeon CJ.** Transplacental passage and fetal secretion of aldosterone. *J Clin Invest* 49: 1389-1393, 1970.
22. **Baylis C.** Impact of pregnancy on underlying renal disease. *Adv Ren Replace Ther* 10: 31-39, 2003.
23. **Beato M, Chalepakis G, Schauer M and Slater EP.** DNA regulatory elements for steroid hormones. *J Steroid Biochem* 32: 737-747, 1989.
24. **Beausejour A, Auger K, St-Louis J and Brochu M.** High-sodium intake prevents pregnancy-induced decrease of blood pressure in the rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 285: H375-H383, 2003.
25. **Beitins IZ, Bayard F, Ances IG, Kowarski A and Migeon CJ.** The metabolic clearance rate, blood production, interconversion and transplacental passage of cortisol and cortisone in pregnancy near term. *Pediatr Res* 7: 509-519, 1973.
26. **Ben-Zimra M, Koler M, Melamed-Book N, Arensburg J, Payne AH and Orly J.** Uterine and placental expression of steroidogenic genes during rodent pregnancy. *Mol Cell Endocrinol* 187: 223-231, 2002.
27. **Benediktsson R, Calder AA, Edwards CR and Seckl JR.** Placental 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase: a key regulator of fetal glucocorticoid exposure. *Clin Endocrinol (Oxf)* 46: 161-166, 1997.
28. **Bernstein IM, Ziegler WF, Leavitt T and Badger GJ.** Uterine artery hemodynamic adaptations through the menstrual cycle into early pregnancy. *Obstet Gynecol* 99: 620-624, 2002.
29. **Berry LM, Polk DH, Ikegami M, Jobe AH, Padbury JF and Ervin MG.** Preterm newborn lamb renal and cardiovascular responses after fetal or maternal antenatal betamethasone. *Am J Physiol* 272: R1972-R1979, 1997.
30. **Bian X, Seidler FJ and Slotkin TA.** Fetal dexamethasone exposure interferes with establishment of cardiac noradrenergic innervation and sympathetic activity. *Teratology* 47: 109-117, 1993.

31. **Binart N, Lombes M and Baulieu EE.** Distinct functions of the 90 kDa heat-shock protein (hsp90) in oestrogen and mineralocorticosteroid receptor activity: effects of hsp90 deletion mutants. *Biochem J* 311 (Pt 3): 797-804, 1995.
32. **Blasco MJ, Lopez BA and Turnbull AC.** 11 beta-Hydroxysteroid dehydrogenase activity of the human placenta during pregnancy. *Horm Metab Res* 18: 638-641, 1986.
33. **Bledsoe RK, Madauss KP, Holt JA, Apolito CJ, Lambert MH, Pearce KH, Stanley TB, Stewart EL, Trump RP, Willson TM and Williams SP.** A ligand-mediated hydrogen bond network required for the activation of the mineralocorticoid receptor. *J Biol Chem* 280: 31283-31293, 2005.
34. **Blondeau B, Lesage J, Czernichow P, Dupouy JP and Breant B.** Glucocorticoids impair fetal beta-cell development in rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 281: E592-E599, 2001.
35. **Brem AS, Bina B, Matheson KL, Barnes JL and Morris DJ.** Developmental changes in rat renal 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase. *Kidney Int* 45: 679-683, 1994.
36. **Brem AS, Bina RB, King TC and Morris DJ.** Localization of 2 11beta-OH steroid dehydrogenase isoforms in aortic endothelial cells. *Hypertension* 31: 459-462, 1998.
37. **Brereton PS, van Driel RR, Suhaimi F, Koyama K, Dilley R and Krozowski Z.** Light and electron microscopy localization of the 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type I enzyme in the rat. *Endocrinology* 142: 1644-1651, 2001.
38. **Briest W, Holz A, Rassler B, Deten A, Leicht M, Baba HA and Zimmer HG.** Cardiac remodeling after long term norepinephrine treatment in rats. *Cardiovasc Res* 52: 265-273, 2001.
39. **Brochu M, Gauvin JP and St-Louis J.** Increase of aldosterone secretion in adrenal cortex suspensions derived from pregnant rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 212: 147-152, 1996.
40. **Brower GL, Gardner JD, Forman MF, Murray DB, Voloshenyuk T, Levick SP and Janicki JS.** The relationship between myocardial extracellular matrix remodeling and ventricular function. *Eur J Cardiothorac Surg* 30: 604-610, 2006.
41. **Brown RW, Chapman KE, Edwards CR and Seckl JR.** Human placental 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase: evidence for and partial purification of a distinct NAD-dependent isoform. *Endocrinology* 132: 2614-2621, 1993.
42. **Brown RW, Chapman KE, Kotelevtsev Y, Yau JL, Lindsay RS, Brett L, Leckie C, Murad P, Lyons V, Mullins JJ, Edwards CR and Seckl JR.** Cloning and production of antisera to human placental 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2. *Biochem J* 313 (Pt 3): 1007-1017, 1996.
43. **Brown RW, Diaz R, Robson AC, Kotelevtsev YV, Mullins JJ, Kaufman MH and Seckl JR.** The ontogeny of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 and mineralocorticoid receptor gene expression reveal intricate control of glucocorticoid action in development. *Endocrinology* 137: 794-797, 1996.
44. **Buckingham JC.** Glucocorticoids: exemplars of multi-tasking. *Br J Pharmacol* 147 Suppl 1: S258-S268, 2006.
45. **Bujalska IJ, Kumar S and Stewart PM.** Does central obesity reflect "Cushing's disease of the omentum"? *Lancet* 349: 1210-1213, 1997.

46. **Bujalska IJ, Walker EA, Hewison M and Stewart PM.** A switch in dehydrogenase to reductase activity of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 upon differentiation of human omental adipose stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 1205-1210, 2002.
47. **Burger D and Dayer JM.** Cytokines, acute-phase proteins, and hormones: IL-1 and TNF-alpha production in contact-mediated activation of monocytes by T lymphocytes. *Ann N Y Acad Sci* 966: 464-473, 2002.
48. **Burton PJ, Smith RE, Krozowski ZS and Waddell BJ.** Zonal distribution of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase types 1 and 2 messenger ribonucleic acid expression in the rat placenta and decidua during late pregnancy. *Biol Reprod* 55: 1023-1028, 1996.
49. **Burton PJ and Waddell BJ.** 11 beta-Hydroxysteroid dehydrogenase in the rat placenta: developmental changes and the effects of altered glucocorticoid exposure. *J Endocrinol* 143: 505-513, 1994.
50. **Card WI, Mitchell W, Strong JA, Taylor NR, Tompsett SL and Wilson JM.** Effects of liquorice and its derivatives on salt and water metabolism. *Lancet* 1: 663-668, 1953.
51. **Casanueva E and Viteri FE.** Iron and oxidative stress in pregnancy. *J Nutr* 133: 1700S-1708S, 2003.
52. **Chan J, Rabbitt EH, Innes BA, Bulmer JN, Stewart PM, Kilby MD and Hewison M.** Glucocorticoid-induced apoptosis in human decidua: a novel role for 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase in late gestation. *J Endocrinol* 195: 7-15, 2007.
53. **Chang YH, Chuang LY and Hwang CC.** Mechanism of proton transfer in the 3alpha-hydroxysteroid dehydrogenase/carbonyl reductase from *Comamonas testosteroni*. *J Biol Chem* 282: 34306-34314, 2007.
54. **Chapman AB, Abraham WT, Zamudio S, Coffin C, Merouani A, Young D, Johnson A, Osorio F, Goldberg C, Moore LG, Dahms T and Schrier RW.** Temporal relationships between hormonal and hemodynamic changes in early human pregnancy. *Kidney Int* 54: 2056-2063, 1998.
55. **Charmandari E, Chrousos GP, Ichijo T, Bhattacharyya N, Vottero A, Souvatzoglou E and Kino T.** The human glucocorticoid receptor (hGR) beta isoform suppresses the transcriptional activity of hGRalpha by interfering with formation of active coactivator complexes. *Mol Endocrinol* 19: 52-64, 2005.
56. **Chen XL, Bayliss DA, Fern RJ and Barrett PQ.** A role for T-type Ca²⁺ channels in the synergistic control of aldosterone production by ANG II and K⁺. *Am J Physiol* 276: F674-F683, 1999.
57. **Cleasby ME, Kelly PA, Walker BR and Seckl JR.** Programming of rat muscle and fat metabolism by in utero overexposure to glucocorticoids. *Endocrinology* 144: 999-1007, 2003.
58. **Cole TG, Wilcox HG and Heimberg M.** Effects of adrenalectomy and dexamethasone on hepatic lipid metabolism. *J Lipid Res* 23: 81-91, 1982.
59. **Condon J, Gosden C, Gardener D, Nickson P, Hewison M, Howie AJ and Stewart PM.** Expression of type 2 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase and corticosteroid hormone receptors in early human fetal life. *J Clin Endocrinol Metab* 83: 4490-4497, 1998.
60. **Connell JM and Davies E.** The new biology of aldosterone. *J Endocrinol* 186: 1-20, 2005.

61. **Connell JM, MacKenzie SM, Freel EM, Fraser R and Davies E.** A lifetime of aldosterone excess: long-term consequences of altered regulation of aldosterone production for cardiovascular function. *Endocr Rev* 29: 133-154, 2008.
62. **Cooke BA.** Signal transduction involving cyclic AMP-dependent and cyclic AMP-independent mechanisms in the control of steroidogenesis. *Mol Cell Endocrinol* 151: 25-35, 1999.
63. **Cozza EN, Vila MC, Acevedo-Duncan M, Farese RV and Gomez-Sanchez CE.** Treatment of primary cultures of calf adrenal glomerulosa cells with adrenocorticotropin (ACTH) and phorbol esters: a comparative study of the effects on aldosterone production and ACTH signaling system. *Endocrinology* 126: 2169-2176, 1990.
64. **Davis EP, Waffarn F, Uy C, Hobel CJ, Glynn LM and Sandman CA.** Effect of prenatal glucocorticoid treatment on size at birth among infants born at term gestation. *J Perinatol* 2009.
65. **Davison JM, Vallotton MB and Lindheimer MD.** Plasma osmolality and urinary concentration and dilution during and after pregnancy: evidence that lateral recumbency inhibits maximal urinary concentrating ability. *Br J Obstet Gynaecol* 88: 472-479, 1981.
66. **De Kloet ER.** Stress in the brain. *Eur J Pharmacol* 405: 187-198, 2000.
67. **de Rijk EP, van EE and Flik G.** Pregnancy dating in the rat: placental morphology and maternal blood parameters. *Toxicol Pathol* 30: 271-282, 2002.
68. **De BK, Vanden Berghe W, Vermeulen L, Plaisance S, Boone E and Haegeman G.** Glucocorticoids repress NF-kappaB-driven genes by disturbing the interaction of p65 with the basal transcription machinery, irrespective of coactivator levels in the cell. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97: 3919-3924, 2000.
69. **Descamps P, Marret H, Binelli C, Chaplot S and Gillard P.** [Body changes during pregnancy]. *Neurochirurgie* 46: 68-75, 2000.
70. **Diaz R, Brown RW and Seckl JR.** Distinct ontogeny of glucocorticoid and mineralocorticoid receptor and 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase types I and II mRNAs in the fetal rat brain suggest a complex control of glucocorticoid actions. *J Neurosci* 18: 2570-2580, 1998.
71. **Diaz R, Fuxe K and Ogren SO.** Prenatal corticosterone treatment induces long-term changes in spontaneous and apomorphine-mediated motor activity in male and female rats. *Neuroscience* 81: 129-140, 1997.
72. **Doe RP, Fernandez R and Seal US.** Measurement of corticosteroid-binding globulin in man. *J Clin Endocrinol Metab* 24: 1029-1039, 1964.
73. **Dormer RA and France JT.** Cortisol and cortisone levels in umbilical cord plasma and maternal plasma of normal pregnancies. *Steroids* 21: 497-510, 1973.
74. **Dostert A and Heinzel T.** Negative glucocorticoid receptor response elements and their role in glucocorticoid action. *Curr Pharm Des* 10: 2807-2816, 2004.
75. **Dotsch J, Hogen N, Nyul Z, Hanze J, Knerr I, Kirschbaum M and Rascher W.** Increase of endothelial nitric oxide synthase and endothelin-1 mRNA expression in human placenta during gestation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 97: 163-167, 2001.

76. **Draper N, Walker EA, Bujalska IJ, Tomlinson JW, Chalder SM, Arlt W, Lavery GG, Bedendo O, Ray DW, Laing I, Malunowicz E, White PC, Hewison M, Mason PJ, Connell JM, Shackleton CH and Stewart PM.** Mutations in the genes encoding 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and hexose-6-phosphate dehydrogenase interact to cause cortisol deficiency. *Nat Genet* 34: 434-439, 2003.
77. **Driver PM, Kilby MD, Bujalska I, Walker EA, Hewison M and Stewart PM.** Expression of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase isozymes and corticosteroid hormone receptors in primary cultures of human trophoblast and placental bed biopsies. *Mol Hum Reprod* 7: 357-363, 2001.
78. **Dunlop W.** Serial changes in renal haemodynamics during normal human pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 88: 1-9, 1981.
79. **Edwards CR, Stewart PM, Burt D, Brett L, McIntyre MA, Sutanto WS, De Kloet ER and Monder C.** Localisation of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase--tissue specific protector of the mineralocorticoid receptor. *Lancet* 2: 986-989, 1988.
80. **Elsheikh A, Creatas G, Mastorakos G, Milingos S, Loutradis D and Michalas S.** The renin-aldosterone system during normal and hypertensive pregnancy. *Arch Gynecol Obstet* 264: 182-185, 2001.
81. **Encio IJ and Detera-Wadleigh SD.** The genomic structure of the human glucocorticoid receptor. *J Biol Chem* 266: 7182-7188, 1991.
82. **Endemann DH, Touyz RM, Iglarz M, Savoia C and Schiffrin EL.** Eplerenone prevents salt-induced vascular remodeling and cardiac fibrosis in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 43: 1252-1257, 2004.
83. **Engler D, Pham T, Fullerton MJ, Ooi G, Funder JW and Clarke IJ.** Studies of the secretion of corticotropin-releasing factor and arginine vasopressin into the hypophysial-portal circulation of the conscious sheep. I. Effect of an audiovisual stimulus and insulin-induced hypoglycemia. *Neuroendocrinology* 49: 367-381, 1989.
84. **Evain-Brion D.** [The 2 differentiation pathways of the human trophoblast]. *Gynecol Obstet Fertil* 29: 497-502, 2001.
85. **Fagard RH.** Impact of different sports and training on cardiac structure and function. *Cardiol Clin* 15: 397-412, 1997.
86. **Fan YS, Eddy RL, Byers MG, Haley LL, Henry WM, Nowak NJ and Shows TB.** The human mineralocorticoid receptor gene (MLR) is located on chromosome 4 at q31.2. *Cytogenet Cell Genet* 52: 83-84, 1989.
87. **Fjeld CC, Birdsong WT and Goodman RH.** Differential binding of NAD⁺ and NADH allows the transcriptional corepressor carboxyl-terminal binding protein to serve as a metabolic sensor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100: 9202-9207, 2003.
88. **French NP, Hagan R, Evans SF, Godfrey M and Newnham JP.** Repeated antenatal corticosteroids: size at birth and subsequent development. *Am J Obstet Gynecol* 180: 114-121, 1999.
89. **Frindt G, Ergonul Z and Palmer LG.** Na channel expression and activity in the medullary collecting duct of rat kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* 292: F1190-F1196, 2007.

90. **Fuchs-Hammoser R, Schweiger M and Oelkers W.** The effect of chronic low-dose infusion of ACTH (1-24) on renin, renin-substrate, aldosterone and other corticosteroids in sodium replete and deplete man. *Acta Endocrinol (Copenh)* 95: 198-206, 1980.
91. **Funder JW.** Mineralocorticoid receptors: distribution and activation. *Heart Fail Rev* 10: 15-22, 2005.
92. **Funder JW.** Reconsidering the roles of the mineralocorticoid receptor. *Hypertension* 53: 286-290, 2009.
93. **Funder JW, Pearce PT, Smith R and Smith AI.** Mineralocorticoid action: target tissue specificity is enzyme, not receptor, mediated. *Science* 242: 583-585, 1988.
94. **Gant NF, Worley RJ, Everett RB and MacDonald PC.** Control of vascular responsiveness during human pregnancy. *Kidney Int* 18: 253-258, 1980.
95. **Gao HB, Ge RS, Lakshmi V, Marandici A and Hardy MP.** Hormonal regulation of oxidative and reductive activities of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase in rat Leydig cells. *Endocrinology* 138: 156-161, 1997.
96. **Garland HO, Atherton JC, Baylis C, Morgan MR and Milne CM.** Hormone profiles for progesterone, oestradiol, prolactin, plasma renin activity, aldosterone and corticosterone during pregnancy and pseudopregnancy in two strains of rat: correlation with renal studies. *J Endocrinol* 113: 435-444, 1987.
97. **Goland RS, Jozak S and Conwell I.** Placental corticotropin-releasing hormone and the hypercortisolism of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 171: 1287-1291, 1994.
98. **Gomez-Sanchez EP, Fort CM and Gomez-Sanchez CE.** Intracerebroventricular infusion of RU28318 blocks aldosterone-salt hypertension. *Am J Physiol* 258: E482-E484, 1990.
99. **Gomez-Sanchez EP, Ganjam V, Chen YJ, Liu Y, Clark SA and Gomez-Sanchez CE.** The 11beta hydroxysteroid dehydrogenase 2 exists as an inactive dimer. *Steroids* 66: 845-848, 2001.
100. **Gomez-Sanchez EP, Ganjam V, Chen YJ, Liu Y, Zhou MY, Toroslu C, Romero DG, Hughson MD, de RA and Gomez-Sanchez CE.** Regulation of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase enzymes in the rat kidney by estradiol. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 285: E272-E279, 2003.
101. **Gong R, Morris DJ and Brem AS.** Human renal 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase 1 functions and co-localizes with COX-2. *Life Sci* 82: 631-637, 2008.
102. **Goodfriend TL, Ball DL, Raff H, Bruder ED, Gardner HW and Spitteller G.** Oxidized products of linoleic acid stimulate adrenal steroidogenesis. *Endocr Res* 28: 325-330, 2002.
103. **Gordon MC.** Maternal Physiology in Pregnancy. In: *Obstetrics : Normal and problem pregnancies*, edited by Churchill Livingstone. Philadelphia: 2002, p. 63-91.
104. **Gougoux A.** Circulation rénale. In: *La physiologie du rein et des liquides corporels*, edited by Gaëtan Morin éditeur. Montréal: 1999, p. 63-80.
105. **Gougoux A.** Filtration glomérulaire. In: *La physiologie du rein et des liquides corporels*, edited by Gaëtan Morin éditeur. Montréal: 1999, p. 81-95.

106. **Gougoux A.** Réabsorption et sécrétion tubulaires. In: *La physiologie du rein et des liquides corporels*, edited by Gaëtan Morin éditeur. Montréal: 1999, p. 97-108.
107. **Gougoux A.** Régulation de la balance sodique et du volume du liquide extracellulaire. In: *La physiologie du rein et des liquides corporels*, edited by Gaëtan Morin éditeur. Montréal: 1999, p. 133-157.
108. **Gougoux A.** Structure et fonctions des reins. In: *La physiologie du rein et des liquides corporels*, edited by Gaëtan Morin éditeur. Montréal: 1999, p. 55-61.
109. **Gradman AH and Alfayoumi F.** From left ventricular hypertrophy to congestive heart failure: management of hypertensive heart disease. *Prog Cardiovasc Dis* 48: 326-341, 2006.
110. **Grammatopoulos DK.** Placental corticotrophin-releasing hormone and its receptors in human pregnancy and labour: still a scientific enigma. *J Neuroendocrinol* 20: 432-438, 2008.
111. **Green R and Hatton TM.** Renal tubular function in gestation. *Am J Kidney Dis* 9: 265-269, 1987.
112. **Gross KL and Cidlowski JA.** Tissue-specific glucocorticoid action: a family affair. *Trends Endocrinol Metab* 19: 331-339, 2008.
113. **Grossman W, Jones D and McLaurin LP.** Wall stress and patterns of hypertrophy in the human left ventricle. *J Clin Invest* 56: 56-64, 1975.
114. **Hadoke PW, Iqbal J and Walker BR.** Therapeutic manipulation of glucocorticoid metabolism in cardiovascular disease. *Br J Pharmacol* 156: 689-712, 2009.
115. **Hammami MM and Siiteri PK.** Regulation of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase activity in human skin fibroblasts: enzymatic modulation of glucocorticoid action. *J Clin Endocrinol Metab* 73: 326-334, 1991.
116. **Hardy DB and Yang K.** The expression of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 is induced during trophoblast differentiation: effects of hypoxia. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 3696-3701, 2002.
117. **Harris HJ, Kotelevtsev Y, Mullins JJ, Seckl JR and Holmes MC.** Intracellular regeneration of glucocorticoids by 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase (11beta-HSD)-1 plays a key role in regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: analysis of 11beta-HSD-1-deficient mice. *Endocrinology* 142: 114-120, 2001.
118. **Hauner H, Schmid P and Pfeiffer EF.** Glucocorticoids and insulin promote the differentiation of human adipocyte precursor cells into fat cells. *J Clin Endocrinol Metab* 64: 832-835, 1987.
119. **Heck S, Bender K, Kullmann M, Gottlicher M, Herrlich P and Cato AC.** I kappaB alpha-independent downregulation of NF-kappaB activity by glucocorticoid receptor. *EMBO J* 16: 4698-4707, 1997.
120. **Hellal-Levy C, Fagart J, Souque A and Rafestin-Oblin ME.** Mechanistic aspects of mineralocorticoid receptor activation. *Kidney Int* 57: 1250-1255, 2000.
121. **Higuchi S, Ohtsu H, Suzuki H, Shirai H, Frank GD and Eguchi S.** Angiotensin II signal transduction through the AT1 receptor: novel insights into mechanisms and pathophysiology. *Clin Sci (Lond)* 112: 417-428, 2007.

122. **Hillhouse EW and Grammatopoulos DK.** Role of stress peptides during human pregnancy and labour. *Reproduction* 124: 323-329, 2002.
123. **Hinson JP.** Paracrine control of adrenocortical function: a new role for the medulla? *J Endocrinol* 124: 7-9, 1990.
124. **Hirasawa G, Sasano H, Takahashi K, Fukushima K, Suzuki T, Hiwatashi N, Toyota T, Krozowski ZS and Nagura H.** Colocalization of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type II and mineralocorticoid receptor in human epithelia. *J Clin Endocrinol Metab* 82: 3859-3863, 1997.
125. **Holland OB and Carr B.** Modulation of aldosterone synthase messenger ribonucleic acid levels by dietary sodium and potassium and by adrenocorticotropin. *Endocrinology* 132: 2666-2673, 1993.
126. **Holmes MC, Yau JL, Kotelevtsev Y, Mullins JJ and Seckl JR.** 11 Beta-hydroxysteroid dehydrogenases in the brain: two enzymes two roles. *Ann N Y Acad Sci* 1007: 357-366, 2003.
127. **Horrocks PM, Jones AF, Ratcliffe WA, Holder G, White A, Holder R, Ratcliffe JG and London DR.** Patterns of ACTH and cortisol pulsatility over twenty-four hours in normal males and females. *Clin Endocrinol (Oxf)* 32: 127-134, 1990.
128. **Hosfield DJ, Wu Y, Skene RJ, Hilgers M, Jennings A, Snell GP and Aertgeerts K.** Conformational flexibility in crystal structures of human 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type I provide insights into glucocorticoid interconversion and enzyme regulation. *J Biol Chem* 280: 4639-4648, 2005.
129. **Hsueh AJ and Erickson GF.** Glucocorticoid inhibition of FSH-induced estrogen production in cultured rat granulosa cells. *Steroids* 32: 639-648, 1978.
130. **Hundertmark S, Buhler H, Fromm M, Krüner-Garais B, Krüner M, Ragošch V, Kuhlmann K and Seckl JR.** Ontogeny of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase: activity in the placenta, kidney, colon of fetal rats and rabbits. *Horm Metab Res* 33: 78-83, 2001.
131. **Huppertz B, Frank HG, Reister F, Kingdom J, Korr H and Kaufmann P.** Apoptosis cascade progresses during turnover of human trophoblast: analysis of villous cytotrophoblast and syncytial fragments in vitro. *Lab Invest* 79: 1687-1702, 1999.
132. **Iglarz M, Touyz RM, Viel EC, Amiri F and Schiffrin EL.** Involvement of oxidative stress in the profibrotic action of aldosterone. Interaction with the renin-angiotension system. *Am J Hypertens* 17: 597-603, 2004.
133. **Ikegami M, Jobe AH, Newnham J, Polk DH, Willet KE and Sly P.** Repetitive prenatal glucocorticoids improve lung function and decrease growth in preterm lambs. *Am J Respir Crit Care Med* 156: 178-184, 1997.
134. **Jamieson PM, Chapman KE, Edwards CR and Seckl JR.** 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase is an exclusive 11 beta- reductase in primary cultures of rat hepatocytes: effect of physicochemical and hormonal manipulations. *Endocrinology* 136: 4754-4761, 1995.
135. **Janiak PC, Lewis SJ and Brody MJ.** Role of central mineralocorticoid binding sites in development of hypertension. *Am J Physiol* 259: R1025-R1034, 1990.
136. **Jazayeri A and Meyer WJ, III.** Mineralocorticoid-induced increase in beta-adrenergic receptors of cultured rat arterial smooth muscle cells. *J Steroid Biochem* 33: 987-991, 1989.

137. **Jenkin G and Young IR.** Mechanisms responsible for parturition; the use of experimental models. *Anim Reprod Sci* 82-83: 567-581, 2004.
138. **Johnson MH and Everitt BJ.** L'implantation et la formation du placenta. In: *Reproduction*, edited by De Boeck Université. Paris: Blackwell Science Limited, 2002, p. 171-190.
139. **Johnson MH and Everitt BJ.** Le fœtus et ses préparatifs en vue de la naissance. In: *Reproduction*, edited by De Boeck Université. Paris: Blackwell Science Limited, 2002, p. 201-220.
140. **Johnson MH and Everitt BJ.** Reconnaissance maternelle et soutien de la gestation. In: *Reproduction*, edited by De Boeck Université. Paris: Blackwell Science Limited, 2002, p. 191-199.
141. **Johnson RF, Rennie N, Murphy V, Zakar T, Clifton V and Smith R.** Expression of glucocorticoid receptor messenger ribonucleic acid transcripts in the human placenta at term. *J Clin Endocrinol Metab* 93: 4887-4893, 2008.
142. **Kageyama Y, Suzuki H and Saruta T.** Glycyrrhizin induces mineralocorticoid activity through alterations in cortisol metabolism in the human kidney. *J Endocrinol* 135: 147-152, 1992.
143. **Kari MA, Hallman M, Eronen M, Teramo K, Virtanen M, Koivisto M and Ikonen RS.** Prenatal dexamethasone treatment in conjunction with rescue therapy of human surfactant: a randomized placebo-controlled multicenter study. *Pediatrics* 93: 730-736, 1994.
144. **Kavanagh KL, Jornvall H, Persson B and Oppermann U.** Medium- and short-chain dehydrogenase/reductase gene and protein families : the SDR superfamily: functional and structural diversity within a family of metabolic and regulatory enzymes. *Cell Mol Life Sci* 65: 3895-3906, 2008.
145. **Klemcke HG, Sampath KR, Yang K, Vallet JL and Christenson RK.** 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase and glucocorticoid receptor messenger RNA expression in porcine placentae: effects of stage of gestation, breed, and uterine environment. *Biol Reprod* 69: 1945-1950, 2003.
146. **Klusonova P, Rehakova L, Borchert G, Vagnerova K, Neckar J, Ergang P, Miksik I, Kolar F and Pacha J.** Chronic intermittent hypoxia induces 11{beta}-hydroxysteroid dehydrogenase in rat heart. *Endocrinology* 2009.
147. **Koenig JI, Kirkpatrick B and Lee P.** Glucocorticoid hormones and early brain development in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 27: 309-318, 2002.
148. **Konishi A, Tazawa C, Miki Y, Darnel AD, Suzuki T, Ohta Y, Suzuki T, Tabayashi K and Sasano H.** The possible roles of mineralocorticoid receptor and 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in cardiac fibrosis in the spontaneously hypertensive rat. *J Steroid Biochem Mol Biol* 85: 439-442, 2003.
149. **Krozowski Z, Li KX, Koyama K, Smith RE, Obeyesekere VR, Stein-Oakley A, Sasano H, Coulter C, Cole T and Sheppard KE.** The type I and type II 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase enzymes. *J Steroid Biochem Mol Biol* 69: 391-401, 1999.
150. **Lakshmi V and Monder C.** Evidence for independent 11-oxidase and 11-reductase activities of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase: enzyme latency, phase transitions, and lipid requirements. *Endocrinology* 116: 552-560, 1985.

151. **Lakshmi V and Monder C.** Purification and characterization of the corticosteroid 11 beta-dehydrogenase component of the rat liver 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase complex. *Endocrinology* 123: 2390-2398, 1988.
152. **Lamberts SW, Verleun T, Oosterom R, de JF and Hackeng WH.** Corticotropin-releasing factor (ovine) and vasopressin exert a synergistic effect on adrenocorticotropin release in man. *J Clin Endocrinol Metab* 58: 298-303, 1984.
153. **Le Goascogne C., Sananes N, Gouezou M, Takemori S, Kominami S, Baulieu EE and Robel P.** Immunoreactive cytochrome P-450(17 alpha) in rat and guinea-pig gonads, adrenal glands and brain. *J Reprod Fertil* 93: 609-622, 1991.
154. **Le MD, Isnard R, Bichara M, Viengchareun S, Muffat-Joly M, Walker F, Zennaro MC and Lombes M.** Alteration of cardiac and renal functions in transgenic mice overexpressing human mineralocorticoid receptor. *J Biol Chem* 276: 38911-38920, 2001.
155. **Leal-Cerro A, Soto A, Martinez MA, Dieguez C and Casanueva FF.** Influence of cortisol status on leptin secretion. *Pituitary* 4: 111-116, 2001.
156. **Levy D, Anderson KM, Savage DD, Kannel WB, Christiansen JC and Castelli WP.** Echocardiographically detected left ventricular hypertrophy: prevalence and risk factors. The Framingham Heart Study. *Ann Intern Med* 108: 7-13, 1988.
157. **Lewis-Tuffin LJ and Cidlowski JA.** The physiology of human glucocorticoid receptor beta (hGRbeta) and glucocorticoid resistance. *Ann N Y Acad Sci* 1069: 1-9, 2006.
158. **Lieberman S and Lin YY.** Reflections on sterol sidechain cleavage process catalyzed by cytochrome P450(scc). *J Steroid Biochem Mol Biol* 78: 1-14, 2001.
159. **Lieberman S and Warne PA.** 17-Hydroxylase: an evaluation of the present view of its catalytic role in steroidogenesis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 78: 299-312, 2001.
160. **Lindsay RS, Lindsay RM, Waddell BJ and Seckl JR.** Prenatal glucocorticoid exposure leads to offspring hyperglycaemia in the rat: studies with the 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase inhibitor carbenoxolone. *Diabetologia* 39: 1299-1305, 1996.
161. **Liu W, Wang J, Sauter NK and Pearce D.** Steroid receptor heterodimerization demonstrated in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92: 12480-12484, 1995.
162. **Lo YH, Sheff MF, Latif SA, Ribeiro C, Silver H, Brem AS and Morris DJ.** Kidney 11 beta-HSD2 is inhibited by glycyrrhetic acid-like factors in human urine. *Hypertension* 29: 500-505, 1997.
163. **Lohrenz FN, SEAL US and DOE RP.** Adrenal function and serum protein concentrations in a kindred with decreased corticosteroid-binding globulin (CBG) concentration. *J Clin Endocrinol Metab* 27: 966-972, 1967.
164. **Lombes M, Binart N, Oblin ME, Joulin V and Baulieu EE.** Characterization of the interaction of the human mineralocorticosteroid receptor with hormone response elements. *Biochem J* 292 (Pt 2): 577-583, 1993.
165. **Lombes M, Farman N, Oblin ME, Baulieu EE, Bonvalet JP, Erlanger BF and Gasc JM.** Immunohistochemical localization of renal mineralocorticoid receptor by using an anti-idiotypic antibody that is an internal image of aldosterone. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87: 1086-1088, 1990.

166. **London E and Castonguay TW.** Diet and the role of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase-1 on obesity. *J Nutr Biochem* 20: 485-493, 2009.
167. **Longo LD.** Maternal blood volume and cardiac output during pregnancy: a hypothesis of endocrinologic control. *Am J Physiol* 245: R720-R729, 1983.
168. **Low SC, Chapman KE, Edwards CR and Seckl JR.** 'Liver-type' 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase cDNA encodes reductase but not dehydrogenase activity in intact mammalian COS-7 cells. *J Mol Endocrinol* 13: 167-174, 1994.
169. **MacGillivray I, Rose GA and Rowe B.** Blood pressure survey in pregnancy. *Clin Sci* 37: 395-407, 1969.
170. **MacKenzie SM, Fraser R, Connell JM and Davies E.** Local renin-angiotensin systems and their interactions with extra-adrenal corticosteroid production. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 3: 214-221, 2002.
171. **Marieb EN.** Grossesse et développement prénatal. In: *Anatomie et physiologie humaines*, edited by Adisson Wesley Longman. Saint-Laurent: Les éditions du nouveau pédagogique Inc., 1999, p. 1086-1115.
172. **Marieb EN.** Le système endocrinien. In: *Anatomie et physiologie humaines*, edited by Adisson Wesley Longman. Saint-Laurent: Les éditions du nouveau pédagogique Inc., 1999, p. 588-627.
173. **Marieb EN.** Le système urinaire. In: *Anatomie et physiologie humaines*, edited by Adisson Wesley Longman. Saint-Laurent: Les éditions du nouveau pédagogique Inc., 1999, p. 972-1007.
174. **Marieb EN.** Système cardiovasculaire: le coeur. In: *Anatomie et physiologie humaines*, edited by Adisson Wesley Longman. Saint-Laurent: Les éditions du nouveau pédagogique Inc, 1999, p. 658-691.
175. **Marney AM and Brown NJ.** Aldosterone and end-organ damage. *Clin Sci (Lond)* 113: 267-278, 2007.
176. **Matthews SG.** Antenatal glucocorticoids and programming of the developing CNS. *Pediatr Res* 47: 291-300, 2000.
177. **Mazancova K, Kopecky M, Miksik I and Pacha J.** 11beta-Hydroxysteroid dehydrogenase in the heart of normotensive and hypertensive rats. *J Steroid Biochem Mol Biol* 94: 273-277, 2005.
178. **McAllister JM and Hornsby PJ.** Dual regulation of 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase, 17 alpha-hydroxylase, and dehydroepiandrosterone sulfotransferase by adenosine 3',5'-monophosphate and activators of protein kinase C in cultured human adrenocortical cells. *Endocrinology* 122: 2012-2018, 1988.
179. **McKay LI and Cidlowski JA.** Cross-talk between nuclear factor-kappa B and the steroid hormone receptors: mechanisms of mutual antagonism. *Mol Endocrinol* 12: 45-56, 1998.
180. **McMullen JR SJIS.** Physiological versus pathological cardiac hypertrophy. In: *Molecular Mechanisms of Cardiac Hypertrophy and Failure*, edited by Taylor & Francis. London: 2009, p.117-136.

181. **Meyer JS.** Early adrenalectomy stimulates subsequent growth and development of the rat brain. *Exp Neurol* 82: 432-446, 1983.
182. **Michael AE, Evagelatou M, Norgate DP, Clarke RJ, Antoniw JW, Stedman BA, Brennan A, Welsby R, Bujalska I, Stewart PM and Cooke BA.** Isoforms of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase in human granulosa-lutein cells. *Mol Cell Endocrinol* 132: 43-52, 1997.
183. **Michea L, Villagran A, Urzua A, Kuntsmann S, Venegas P, Carrasco L, Gonzalez M and Marusic ET.** Mineralocorticoid receptor antagonism attenuates cardiac hypertrophy and prevents oxidative stress in uremic rats. *Hypertension* 52: 295-300, 2008.
184. **Moisan MP, Seckl JR and Edwards CR.** 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase bioactivity and messenger RNA expression in rat forebrain: localization in hypothalamus, hippocampus, and cortex. *Endocrinology* 127: 1450-1455, 1990.
185. **Monder C, Lakshmi V and Miroff Y.** Kinetic studies on rat liver 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase. *Biochim Biophys Acta* 1115: 23-29, 1991.
186. **Monder C, Stewart PM, Lakshmi V, Valentino R, Burt D and Edwards CR.** Licorice inhibits corticosteroid 11 beta-dehydrogenase of rat kidney and liver: in vivo and in vitro studies. *Endocrinology* 125: 1046-1053, 1989.
187. **Morris DJ, Latif SA, Hardy MP and Brem AS.** Endogenous inhibitors (GALFs) of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase isoforms 1 and 2: derivatives of adrenally produced corticosterone and cortisol. *J Steroid Biochem Mol Biol* 104: 161-168, 2007.
188. **Morris DJ, Semafuko WE, Latif SA, Vogel B, Grimes CA and Sheff MF.** Detection of glycyrrhetic acid-like factors (GALFs) in human urine. *Hypertension* 20: 356-360, 1992.
189. **Morrison N, Harrap SB, Arriza JL, Boyd E and Connor JM.** Regional chromosomal assignment of the human mineralocorticoid receptor gene to 4q31.1. *Hum Genet* 85: 130-132, 1990.
190. **Morton NM, Holmes MC, Fievet C, Staels B, Tailleux A, Mullins JJ and Seckl JR.** Improved lipid and lipoprotein profile, hepatic insulin sensitivity, and glucose tolerance in 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 null mice. *J Biol Chem* 276: 41293-41300, 2001.
191. **Murphy VE and Clifton VL.** Alterations in human placental 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and 2 with gestational age and labour. *Placenta* 24: 739-744, 2003.
192. **Murphy VE, Gibson PG, Giles WB, Zakar T, Smith R, Bisits AM, Kessell CG and Clifton VL.** Maternal asthma is associated with reduced female fetal growth. *Am J Respir Crit Care Med* 168: 1317-1323, 2003.
193. **Murphy VE, Zakar T, Smith R, Giles WB, Gibson PG and Clifton VL.** Reduced 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 activity is associated with decreased birth weight centile in pregnancies complicated by asthma. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 1660-1668, 2002.
194. **Myatt L and Cui X.** Oxidative stress in the placenta. *Histochem Cell Biol* 122: 369-382, 2004.

195. **Mziaut H, Korza G, Hand AR, Gerard C and Ozols J.** Targeting proteins to the lumen of endoplasmic reticulum using N-terminal domains of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase and the 50-kDa esterase. *J Biol Chem* 274: 14122-14129, 1999.
196. **Naray-Fejes-Toth A and Fejes-Toth G.** Subcellular localization of the type 2 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase. A green fluorescent protein study. *J Biol Chem* 271: 15436-15442, 1996.
197. **Naray-Fejes-Toth A, Helms MN, Stokes JB and Fejes-Toth G.** Regulation of sodium transport in mammalian collecting duct cells by aldosterone-induced kinase, SGK1: structure/function studies. *Mol Cell Endocrinol* 217: 197-202, 2004.
198. **Newnham JP, Evans SF, Godfrey M, Huang W, Ikegami M and Jobe A.** Maternal, but not fetal, administration of corticosteroids restricts fetal growth. *J Matern Fetal Med* 8: 81-87, 1999.
199. **Nicoletti A and Michel JB.** Cardiac fibrosis and inflammation: interaction with hemodynamic and hormonal factors. *Cardiovasc Res* 41: 532-543, 1999.
200. **Nyirenda MJ, Lindsay RS, Kenyon CJ, Burchell A and Seckl JR.** Glucocorticoid exposure in late gestation permanently programs rat hepatic phosphoenolpyruvate carboxykinase and glucocorticoid receptor expression and causes glucose intolerance in adult offspring. *J Clin Invest* 101: 2174-2181, 1998.
201. **Odermatt A, Arnold P, Stauffer A, Frey BM and Frey FJ.** The N-terminal anchor sequences of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenases determine their orientation in the endoplasmic reticulum membrane. *J Biol Chem* 274: 28762-28770, 1999.
202. **Odermatt A and Atanasov AG.** Mineralocorticoid receptors: emerging complexity and functional diversity. *Steroids* 74: 163-171, 2009.
203. **Oppermann U, Filling C, Hult M, Shafqat N, Wu X, Lindh M, Shafqat J, Nordling E, Kallberg Y, Persson B and Jornvall H.** Short-chain dehydrogenases/reductases (SDR): the 2002 update. *Chem Biol Interact* 143-144: 247-253, 2003.
204. **Paliogianni F, Raptis A, Ahuja SS, Najjar SM and Boumpas DT.** Negative transcriptional regulation of human interleukin 2 (IL-2) gene by glucocorticoids through interference with nuclear transcription factors AP-1 and NF-AT. *J Clin Invest* 91: 1481-1489, 1993.
205. **Pearson Murphy BE.** Glucocorticoids, overview. In: *Encyclopaedia of Stress*, edited by Kink G. San Diego: Academic Press, 2002, p. 244-260.
206. **Pepe GJ, Babischkin JS, Burch MG, Leavitt MG and Albrecht ED.** Developmental increase in expression of the messenger ribonucleic acid and protein levels of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase types 1 and 2 in the baboon placenta. *Endocrinology* 137: 5678-5684, 1996.
207. **Peppel K, Vinci JM and Baglioni C.** The AU-rich sequences in the 3' untranslated region mediate the increased turnover of interferon mRNA induced by glucocorticoids. *J Exp Med* 173: 349-355, 1991.
208. **Petraglia F, Florio P, Nappi C and Genazzani AR.** Peptide signaling in human placenta and membranes: autocrine, paracrine, and endocrine mechanisms. *Endocr Rev* 17: 156-186, 1996.

209. **Peysner K, Henry CA and Malvin RL.** Central infusion of aldosterone increases blood pressure by mechanisms independent of Na retention. *Clin Exp Hypertens A* 12: 399-414, 1990.
210. **Phillips MI.** Functions of angiotensin in the central nervous system. *Annu Rev Physiol* 49: 413-435, 1987.
211. **Pimenta E and Calhoun DA.** Primary aldosteronism: diagnosis and treatment. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 8: 887-893, 2006.
212. **Pippal JB and Fuller PJ.** Structure-function relationships in the mineralocorticoid receptor. *J Mol Endocrinol* 41: 405-413, 2008.
213. **Pitt B, Reichek N, Willenbrock R, Zannad F, Phillips RA, Roniker B, Kleiman J, Krause S, Burns D and Williams GH.** Effects of eplerenone, enalapril, and eplerenone/enalapril in patients with essential hypertension and left ventricular hypertrophy: the 4E-left ventricular hypertrophy study. *Circulation* 108: 1831-1838, 2003.
214. **Pivarnik JM, Mauer MB, Ayres NA, Kirshon B, Dildy GA and Cotton DB.** Effects of chronic exercise on blood volume expansion and hematologic indices during pregnancy. *Obstet Gynecol* 83: 265-269, 1994.
215. **Pluim BM, Zwinderman AH, van der Laarse A and van der Wall EE.** The athlete's heart. A meta-analysis of cardiac structure and function. *Circulation* 101: 336-344, 2000.
216. **Pratt WB and Dittmar KD.** Studies with Purified Chaperones Advance the Understanding of the Mechanism of Glucocorticoid Receptor-hsp90 Heterocomplex Assembly. *Trends Endocrinol Metab* 9: 244-252, 1998.
217. **Pritchard JA.** Changes in the blood volume during pregnancy and delivery. *Anesthesiology* 26: 393-399, 1965.
218. **Qanungo S and Mukherjea M.** Ontogenic profile of some antioxidants and lipid peroxidation in human placental and fetal tissues. *Mol Cell Biochem* 215: 11-19, 2000.
219. **Qin W, Rudolph AE, Bond BR, Rocha R, Blomme EA, Goellner JJ, Funder JW and McMahon EG.** Transgenic model of aldosterone-driven cardiac hypertrophy and heart failure. *Circ Res* 93: 69-76, 2003.
220. **Rafestin-Oblin ME, Souque A, Bocchi B, Pinon G, Fagart J and Vandewalle A.** The severe form of hypertension caused by the activating S810L mutation in the mineralocorticoid receptor is cortisone related. *Endocrinology* 144: 528-533, 2003.
221. **Ribeiro RC, Kushner PJ and Baxter JD.** The nuclear hormone receptor gene superfamily. *Annu Rev Med* 46: 443-453, 1995.
222. **Ricketts ML, Shoemith KJ, Hewison M, Strain A, Eggo MC and Stewart PM.** Regulation of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in primary cultures of rat and human hepatocytes. *J Endocrinol* 156: 159-168, 1998.
223. **Ricketts ML, Verhaeg JM, Bujalska I, Howie AJ, Rainey WE and Stewart PM.** Immunohistochemical localization of type 1 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase in human tissues. *J Clin Endocrinol Metab* 83: 1325-1335, 1998.

224. **Robert V, Van TN, Cheav SL, Mouas C, Swynghedauw B and Delcayre C.** Increased cardiac types I and III collagen mRNAs in aldosterone-salt hypertension. *Hypertension* 24: 30-36, 1994.
225. **Robson SC, Hunter S, Boys RJ and Dunlop W.** Serial changes in pulmonary haemodynamics during human pregnancy: a non-invasive study using Doppler echocardiography. *Clin Sci (Lond)* 80: 113-117, 1991.
226. **Rocha R, Rudolph AE, Friedrich GE, Nachowiak DA, Kekec BK, Blomme EA, McMahon EG and Delyani JA.** Aldosterone induces a vascular inflammatory phenotype in the rat heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 283: H1802-H1810, 2002.
227. **Rogerson FM, Dimopoulos N, Sluka P, Chu S, Curtis AJ and Fuller PJ.** Structural determinants of aldosterone binding selectivity in the mineralocorticoid receptor. *J Biol Chem* 274: 36305-36311, 1999.
228. **Roland BL and Funder JW.** Localization of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in rat tissues: in situ studies. *Endocrinology* 137: 1123-1128, 1996.
229. **Sadoshima J and Izumo S.** Molecular characterization of angiotensin II--induced hypertrophy of cardiac myocytes and hyperplasia of cardiac fibroblasts. Critical role of the AT1 receptor subtype. *Circ Res* 73: 413-423, 1993.
230. **Sahgal N, Canham LN, Canham B and Soares MJ.** Rcho-1 Trophoblast Stem Cells. In: *Placenta and trophoblast: methods and protocols, Volume 1*, edited by Soares MJ and Hunter JS. Totowa: Humana Press Inc., 2006, p. 159-178.
231. **Sam F, Xie Z, Ooi H, Kerstetter DL, Colucci WS, Singh M and Singh K.** Mice lacking osteopontin exhibit increased left ventricular dilation and reduced fibrosis after aldosterone infusion. *Am J Hypertens* 17: 188-193, 2004.
232. **Sampath-Kumar R, Matthews SG and Yang K.** 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 is the predominant isozyme in the guinea pig placenta: decreases in messenger ribonucleic acid and activity at term. *Biol Reprod* 59: 1378-1384, 1998.
233. **Schaaf MJ and Cidlowski JA.** Molecular mechanisms of glucocorticoid action and resistance. *J Steroid Biochem Mol Biol* 83: 37-48, 2002.
234. **Schannwell CM, Zimmermann T, Schneppenheim M, Plehn G, Marx R and Strauer BE.** Left ventricular hypertrophy and diastolic dysfunction in healthy pregnant women. *Cardiology* 97: 73-78, 2002.
235. **Scheinman RI, Gualberto A, Jewell CM, Cidlowski JA and Baldwin AS, Jr.** Characterization of mechanisms involved in transrepression of NF-kappa B by activated glucocorticoid receptors. *Mol Cell Biol* 15: 943-953, 1995.
236. **Schiffrin EL, Franks DJ and Gutkowska J.** Effect of aldosterone on vascular angiotensin II receptors in the rat. *Can J Physiol Pharmacol* 63: 1522-1527, 1985.
237. **Schoof E, Girstl M, Frobenius W, Kirschbaum M, Dorr HG, Rascher W and Dotsch J.** Decreased gene expression of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 and 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase in human placenta of patients with preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 1313-1317, 2001.

238. **Schoof E, Girstl M, Frobenius W, Kirschbaum M, Repp R, Knerr I, Rascher W and Dotsch J.** Course of placental 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 and 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase mRNA expression during human gestation. *Eur J Endocrinol* 145: 187-192, 2001.
239. **Schrier RW and Briner VA.** Peripheral arterial vasodilation hypothesis of sodium and water retention in pregnancy: implications for pathogenesis of preeclampsia-eclampsia. *Obstet Gynecol* 77: 632-639, 1991.
240. **Scott DE.** Anemia in pregnancy. *Obstet Gynecol Annu* 1: 219-244, 1972.
241. **Seckl JR.** Prenatal glucocorticoids and long-term programming. *Eur J Endocrinol* 151 Suppl 3: U49-U62, 2004.
242. **Seckl JR and Holmes MC.** Mechanisms of disease: glucocorticoids, their placental metabolism and fetal 'programming' of adult pathophysiology. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 3: 479-488, 2007.
243. **Seckl JR and Meaney MJ.** Glucocorticoid programming. *Ann N Y Acad Sci* 1032: 63-84, 2004.
244. **Seckl JR and Walker BR.** Minireview: 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1- a tissue-specific amplifier of glucocorticoid action. *Endocrinology* 142: 1371-1376, 2001.
245. **Shams M, Kilby MD, Somerset DA, Howie AJ, Gupta A, Wood PJ, Afnan M and Stewart PM.** 11Beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in human pregnancy and reduced expression in intrauterine growth restriction. *Hum Reprod* 13: 799-804, 1998.
246. **Sheppard KE and Autelitano DJ.** 11Beta-hydroxysteroid dehydrogenase 1 transforms 11-dehydrocorticosterone into transcriptionally active glucocorticoid in neonatal rat heart. *Endocrinology* 143: 198-204, 2002.
247. **Shinzawa K, Ishibashi S, Murakoshi M, Watanabe K, Kominami S, Kawahara A and Takemori S.** Relationship between zonal distribution of microsomal cytochrome P-450s (P-450(17)alpha,lyase and P-450C21) and steroidogenic activities in guinea-pig adrenal cortex. *J Endocrinol* 119: 191-200, 1988.
248. **Slangen BF, Out IC, Janssen BJ and Peeters LL.** Blood pressure and heart rate variability in early pregnancy in rats. *Am J Physiol* 273: H1794-H1799, 1997.
249. **Slavin BG, Ong JM and Kern PA.** Hormonal regulation of hormone-sensitive lipase activity and mRNA levels in isolated rat adipocytes. *J Lipid Res* 35: 1535-1541, 1994.
250. **Slight SH, Ganjam VK, Gomez-Sanchez CE, Zhou MY and Weber KT.** High affinity NAD(+)-dependent 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase in the human heart. *J Mol Cell Cardiol* 28: 781-787, 1996.
251. **Smith R.** Parturition. *N Engl J Med* 356: 271-283, 2007.
252. **Smoak KA and Cidlowski JA.** Mechanisms of glucocorticoid receptor signaling during inflammation. *Mech Ageing Dev* 125: 697-706, 2004.
253. **Snyder PM, Olson DR and Thomas BC.** Serum and glucocorticoid-regulated kinase modulates Nedd4-2-mediated inhibition of the epithelial Na⁺ channel. *J Biol Chem* 277: 5-8, 2002.

254. **Spat A and Hunyady L.** Control of aldosterone secretion: a model for convergence in cellular signaling pathways. *Physiol Rev* 84: 489-539, 2004.
255. **Speirs HJ, Seckl JR and Brown RW.** Ontogeny of glucocorticoid receptor and 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type-1 gene expression identifies potential critical periods of glucocorticoid susceptibility during development. *J Endocrinol* 181: 105-116, 2004.
256. **Stellato C.** Post-transcriptional and nongenomic effects of glucocorticoids. *Proc Am Thorac Soc* 1: 255-263, 2004.
257. **Stewart PM, Murry BA and Mason JI.** Human kidney 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase is a high affinity nicotinamide adenine dinucleotide-dependent enzyme and differs from the cloned type I isoform. *J Clin Endocrinol Metab* 79: 480-484, 1994.
258. **Stewart PM, Rogerson FM and Mason JI.** Type 2 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase messenger ribonucleic acid and activity in human placenta and fetal membranes: its relationship to birth weight and putative role in fetal adrenal steroidogenesis. *J Clin Endocrinol Metab* 80: 885-890, 1995.
259. **Stocco DM.** StAR protein and the regulation of steroid hormone biosynthesis. *Annu Rev Physiol* 63: 193-213, 2001.
260. **Struwe E, Berzl GM, Schild RL, Beckmann MW, Dorr HG, Rascher W and Dotsch J.** Simultaneously reduced gene expression of cortisol-activating and cortisol-inactivating enzymes in placentas of small-for-gestational-age neonates. *Am J Obstet Gynecol* 197: 43-46, 2007.
261. **Takahashi N, Calderone A, Izzo NJ, Jr., Maki TM, Marsh JD and Colucci WS.** Hypertrophic stimuli induce transforming growth factor-beta 1 expression in rat ventricular myocytes. *J Clin Invest* 94: 1470-1476, 1994.
262. **Takeda Y, Yoneda T, Demura M, Miyamori I and Mabuchi H.** Cardiac aldosterone production in genetically hypertensive rats. *Hypertension* 36: 495-500, 2000.
263. **Tanabe A, Naruse M, Naruse K, Hase M, Yoshimoto T, Tanaka M, Seki T, Demura R and Demura H.** Left ventricular hypertrophy is more prominent in patients with primary aldosteronism than in patients with other types of secondary hypertension. *Hypertens Res* 20: 85-90, 1997.
264. **Thijssen JH.** Progesterone receptors in the human uterus and their possible role in parturition. *J Steroid Biochem Mol Biol* 97: 397-400, 2005.
265. **Tobler A, Meier R, Seitz M, Dewald B, Baggiolini M and Fey MF.** Glucocorticoids downregulate gene expression of GM-CSF, NAP-1/IL-8, and IL-6, but not of M-CSF in human fibroblasts. *Blood* 79: 45-51, 1992.
266. **Tomlinson JW, Walker EA, Bujalska IJ, Draper N, Lavery GG, Cooper MS, Hewison M and Stewart PM.** 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1: a tissue-specific regulator of glucocorticoid response. *Endocr Rev* 25: 831-866, 2004.
267. **Torpy DJ and Ho JT.** Corticosteroid-binding globulin gene polymorphisms: clinical implications and links to idiopathic chronic fatigue disorders. *Clin Endocrinol (Oxf)* 67: 161-167, 2007.

268. **Tortora GJ and Grabowski SR.** Le développement prénatal, la naissance et l'hérédité. In: *Principes d'anatomie et de physiologie*, edited by John Wiley & Sons Inc. Saint-Laurent: Les éditions du nouveau pédagogique Inc., 2006, p. 1201-1246.
269. **Tortora GJ and Grabowski SR.** Le système endocrinien. In: *Principes d'anatomie et de physiologie*, edited by John Wiley & Sons Inc. Saint-Laurent: Les éditions du nouveau pédagogique Inc., 2006, p. 657-713.
270. **Tortora GJ and Grabowski SR.** Le système urinaire. In: *Principes d'anatomie et de physiologie*, edited by John Wiley & Sons Inc. Saint-Laurent: Les éditions du nouveau pédagogique, 2006, p.1075-1123.
271. **Tortora GJ and Grabowski SR.** Système cardiovasculaire: le coeur. In: *Principes d'anatomie et de physiologie*, edited by John Wiley & Sons Inc. Saint-Laurent: Les éditions du nouveau pédagogique Inc., 2006, p. 747-789.
272. **Towbin JA.** Scarring in the heart--a reversible phenomenon? *N Engl J Med* 357: 1767-1768, 2007.
273. **Tsai SY, Carlstedt-Duke J, Weigel NL, Dahlman K, Gustafsson JA, Tsai MJ and O'Malley BW.** Molecular interactions of steroid hormone receptor with its enhancer element: evidence for receptor dimer formation. *Cell* 55: 361-369, 1988.
274. **Tsigos C and Chrousos GP.** Physiology of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in health and dysregulation in psychiatric and autoimmune disorders. *Endocrinol Metab Clin North Am* 23: 451-466, 1994.
275. **Tsigos C and Chrousos GP.** Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *J Psychosom Res* 53: 865-871, 2002.
276. **Ueda K, Okamura N, Hirai M, Tanigawara Y, Saeki T, Kioka N, Komano T and Hori R.** Human P-glycoprotein transports cortisol, aldosterone, and dexamethasone, but not progesterone. *J Biol Chem* 267: 24248-24252, 1992.
277. **Ulick S, Levine LS, Gunczler P, Zanconato G, Ramirez LC, Rauh W, Rosler A, Bradlow HL and New MI.** A syndrome of apparent mineralocorticoid excess associated with defects in the peripheral metabolism of cortisol. *J Clin Endocrinol Metab* 49: 757-764, 1979.
278. **Vacca A, Felli MP, Farina AR, Martinotti S, Maroder M, Screpanti I, Meco D, Petrangeli E, Frati L and Gulino A.** Glucocorticoid receptor-mediated suppression of the interleukin 2 gene expression through impairment of the cooperativity between nuclear factor of activated T cells and AP-1 enhancer elements. *J Exp Med* 175: 637-646, 1992.
279. **Vackova Z, Vagnerova K, Libra A, Miksik I, Pacha J and Staud F.** Dexamethasone and betamethasone administration during pregnancy affects expression and function of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in the rat placenta. *Reprod Toxicol* 28: 46-51, 2009.
280. **Vagnerova K, Vackova Z, Klusonova P, Staud F, Kopecky M, Ergang P, Miksik I and Pacha J.** Reciprocal changes in maternal and fetal metabolism of corticosterone in rat during gestation. *Reprod Sci* 15: 921-931, 2008.
281. **Vaillancourt C, Lanoix D, Le BF, Daoud G and Lafond J.** Involvement of MAPK signalling in human villous trophoblast differentiation. *Mini Rev Med Chem* 9: 962-973, 2009.

282. **Verdecchia P, Carini G, Circo A, Dovellini E, Giovannini E, Lombardo M, Solinas P, Gorini M and Maggioni AP.** Left ventricular mass and cardiovascular morbidity in essential hypertension: the MAVI study. *J Am Coll Cardiol* 38: 1829-1835, 2001.
283. **Verdecchia P, Porcellati C, Reboldi G, Gattobigio R, Borgioni C, Pearson TA and Ambrosio G.** Left ventricular hypertrophy as an independent predictor of acute cerebrovascular events in essential hypertension. *Circulation* 104: 2039-2044, 2001.
284. **Viengchareun S, Le MD, Martinerie L, Munier M, Pascual-Le TL and Lombes M.** The mineralocorticoid receptor: insights into its molecular and (patho)physiological biology. *Nucl Recept Signal* 5: e012, 2007.
285. **Vinson GP.** Adrenocortical zonation and ACTH. *Microsc Res Tech* 61: 227-239, 2003.
286. **Waddell BJ, Benediktsson R, Brown RW and Seckl JR.** Tissue-specific messenger ribonucleic acid expression of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase types 1 and 2 and the glucocorticoid receptor within rat placenta suggests exquisite local control of glucocorticoid action. *Endocrinology* 139: 1517-1523, 1998.
287. **Waddell BJ, Hisheh S, Krozowski ZS and Burton PJ.** Localization of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase types 1 and 2 in the male reproductive tract. *Endocrinology* 144: 3101-3106, 2003.
288. **Wadhwa PD.** Psychoneuroendocrine processes in human pregnancy influence fetal development and health. *Psychoneuroendocrinology* 30: 724-743, 2005.
289. **Walker BR, Yau JL, Brett LP, Seckl JR, Monder C, Williams BC and Edwards CR.** 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase in vascular smooth muscle and heart: implications for cardiovascular responses to glucocorticoids. *Endocrinology* 129: 3305-3312, 1991.
290. **Wang Q, Clement S, Gabbiani G, Horisberger JD, Burnier M, Rossier BC and Hummler E.** Chronic hyperaldosteronism in a transgenic mouse model fails to induce cardiac remodeling and fibrosis under a normal-salt diet. *Am J Physiol Renal Physiol* 286: F1178-F1184, 2004.
291. **Ward RM.** Pharmacologic enhancement of fetal lung maturation. *Clin Perinatol* 21: 523-542, 1994.
292. **Watson AL, Palmer ME, Jauniaux E and Burton GJ.** Variations in expression of copper/zinc superoxide dismutase in villous trophoblast of the human placenta with gestational age. *Placenta* 18: 295-299, 1997.
293. **Wetzka B, Sehringer B, Schafer WR, Biller S, Hor C, Benedek E, Deppert WR and Zahradnik HP.** Expression patterns of CRH, CRH receptors, and CRH binding protein in human gestational tissue at term. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 111: 154-161, 2003.
294. **White PC.** 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase and its role in the syndrome of apparent mineralocorticoid excess. *Am J Med Sci* 322: 308-315, 2001.
295. **White PC, Mune T and Agarwal AK.** 11 beta-Hydroxysteroid dehydrogenase and the syndrome of apparent mineralocorticoid excess. *Endocr Rev* 18: 135-156, 1997.
296. **White PC, Rogoff D and McMillan DR.** Physiological roles of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and hexose-6-phosphate dehydrogenase. *Curr Opin Pediatr* 20: 453-457, 2008.

297. **Whorwood CB, Firth KM, Budge H and Symonds ME.** Maternal undernutrition during early to midgestation programs tissue-specific alterations in the expression of the glucocorticoid receptor, 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase isoforms, and type 1 angiotensin ii receptor in neonatal sheep. *Endocrinology* 142: 2854-2864, 2001.
298. **Yang S and Zhang L.** Glucocorticoids and vascular reactivity. *Curr Vasc Pharmacol* 2: 1-12, 2004.
299. **Yong PY, Thong KJ, Andrew R, Walker BR and Hillier SG.** Development-related increase in cortisol biosynthesis by human granulosa cells. *J Clin Endocrinol Metab* 85: 4728-4733, 2000.
300. **Yoshida A, Nishikawa T, Tamura Y and Yoshida S.** ACTH-induced inhibition of the action of angiotensin II in bovine zona glomerulosa cells. A modulatory effect of cyclic AMP on the angiotensin II receptor. *J Biol Chem* 266: 4288-4294, 1991.
301. **Young MJ, Moussa L, Dilley R and Funder JW.** Early inflammatory responses in experimental cardiac hypertrophy and fibrosis: effects of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase inactivation. *Endocrinology* 144: 1121-1125, 2003.
302. **Yudt MR, Jewell CM, Bienstock RJ and Cidlowski JA.** Molecular origins for the dominant negative function of human glucocorticoid receptor beta. *Mol Cell Biol* 23: 4319-4330, 2003.
303. **Zhang J, Tsai FT and Geller DS.** Differential interaction of RU486 with the progesterone and glucocorticoid receptors. *J Mol Endocrinol* 37: 163-173, 2006.
304. **Zhang MZ, Xu J, Yao B, Yin H, Cai Q, Shrubsole MJ, Chen X, Kon V, Zheng W, Pozzi A and Harris RC.** Inhibition of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type II selectively blocks the tumor COX-2 pathway and suppresses colon carcinogenesis in mice and humans. *J Clin Invest* 119: 876-885, 2009.

5. REMERCIEMENTS

J'aimerais remercier tout d'abord mes parents, ma famille et mes amis pour leur support et leurs encouragements tout au long de mes études.

Un merci tout particulier à Maria pour ses conseils et son aide précieuse. Elle a été toujours présente pour me soutenir dans les périodes les plus creuses et pour partager avec moi les bons moments. Merci beaucoup.

Merci à ma directrice Michèle pour ces années passées au laboratoire. C'est elle qui m'a donné la piqure de la recherche, et ce dès mon premier stage. Je lui souhaite bon succès.

Je tiens finalement à remercier tous les collègues et amis du laboratoire qui ont fait de cette maîtrise une expérience à la fois enrichissante et agréable. Merci à Véronique, Rébecca, Etienne, Sarah, Benoit, Mylène, Leslie, Pascale, Pierre-André et tous les autres oubliés!