

## Les récepteurs de l'angiotensine II dans le placenta humain sont de type AT<sub>1</sub>

MK Kalenga<sup>1, \*</sup>, M de Gasparo<sup>2</sup>, R de Hertogh<sup>1</sup>,  
S Whitebread<sup>2</sup>, L Vankrieken<sup>1</sup>, K Thomas<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Université catholique de Louvain, département de gynécologie-obstétrique,  
unité de recherche en physiologie de la reproduction humaine,  
5330, Avenue E Mounier, 1200 Bruxelles, Belgique;

<sup>2</sup> Laboratoire CIBA-GEIGY, Bâle, Suisse

(Reçu le 9 septembre 1990; accepté le 4 février 1991)

**Résumé** — Les récepteurs membranaires d'angiotensine II ont été mesurés au niveau du placenta et des vaisseaux ombilicaux humains à l'aide de la <sup>125</sup>I [Sar<sup>1</sup> Ile<sup>8</sup>] All (antagoniste de l'angiotensine II) et ont été classés selon leur degré d'affinité vis-à-vis de 2 autres antagonistes de l'angiotensine II : DuP 753 et CGP 42112A. Le premier permet de déceler la présence du sous-type AT<sub>1</sub> et le second met en évidence le sous-type AT<sub>2</sub>. La [Sar<sup>1</sup> Ile<sup>8</sup>] All a une affinité comparable ( $K_d \approx 1 \text{ nmol.l}^{-1}$ ) dans les différentes structures placentaires examinées. Le  $B_{\text{max}}$  du tissu villositaire est semblable à celui de la plaque basale mais il est environ 9 fois plus élevé que celui de la plaque chorale. Dans la partie centrale du placenta, le nombre de sites récepteurs mesurés à une concentration de 0,15 nmol.l<sup>-1</sup> de <sup>125</sup>I [Sar<sup>1</sup> Ile<sup>8</sup>] All est en moyenne de  $242 \pm 31 \text{ fmol/mg}$  de protéines dans la plaque basale,  $300 \pm 35$  dans les villosités chorales et  $36 \pm 8$  dans la plaque chorale. La paroi de la veine et celle des artères du cordon ombilical contiennent respectivement  $8,8 \pm 4,8$  et  $4,0 \pm 1,7 \text{ fmol/mg}$  de protéines. Dans les tissus placentaires, seul le sous-type AT<sub>1</sub> a été observé. Tenant compte des valeurs du  $B_{\text{max}}$  et du nombre de sites mesurés à une concentration unique de 0,15 nmol.l<sup>-1</sup> de <sup>125</sup>I [Sar<sup>1</sup> Ile<sup>8</sup>] All, cette étude indique que les plus fortes concentrations des récepteurs de l'angiotensine II se situent dans les villosités chorales.

**récepteur / angiotensine II / placenta humain / cordon ombilical**

**Summary** — Human placenta contains only AT<sub>1</sub> angiotensin II receptor subtype. Membrane angiotensin II receptors were measured in human placenta by means of <sup>125</sup>I [Sar<sup>1</sup> Ile<sup>8</sup>] All (angiotensin II antagonist) and characterized by using 2 other antagonists of angiotensin II: Dup 753 and CGP 42112A. These are specific and selective ligands which enable identification of AT<sub>1</sub> and AT<sub>2</sub> receptor subtypes respectively. The [Sar<sup>1</sup> Ile<sup>8</sup>] All affinity is similar ( $K_d \approx 1 \text{ nmol.l}^{-1}$ ) in the 3 different placental structures examined. However, the  $B_{\text{max}}$  of villous tissues is  $\approx 9$  times higher than that observed in chorionic plate but remains near that found in basal plate. In the central area of the placenta, mean values of <sup>125</sup>I [Sar<sup>1</sup> Ile<sup>8</sup>] All binding observed at a single concentration of 0.15 nmol.l<sup>-1</sup> are  $242 \pm 31 \text{ fmol/mg}$  proteins in basal plate,  $300 \pm 35$  in villous tissues and  $36 \pm 8$  in chori-

\* Correspondance et tirés à part

onic plate. The umbilical vein and arteries respectively have  $8.8 \pm 4.8$  and  $4.0 \pm 1.7$  fmol/mg protein. The subtype analysis shows that only  $AT_1$  receptor is present in placental tissues. The  $B_{max}$  values as well as those obtained by the relative measurement performed at a fixed  $^{125}I$  [Sar<sup>1</sup> Ile<sup>8</sup>] All concentration of  $0.15$  nmol.l<sup>-1</sup> indicate that the highest concentrations of angiotensin II receptors are found in placental villous tissues.

### receptor / antiotensin II / human placenta / umbilical cord

## INTRODUCTION

Un certain nombre de travaux ont été consacrés à l'analyse du système rénine-angiotensine au niveau des annexes fœtales. Le placenta, le cordon ombilical, le chorion et l'amnios contiennent, non seulement de la rénine, mais aussi de l'angiotensine I et de l'angiotensine II. Celle-ci est le composant le plus actif du système (Symonds *et al*, 1968; Poisner *et al*, 1981; Acker *et al*, 1982; Egan *et al*, 1988; Pinet *et al*, 1988; Lenz *et al*, 1989).

En effet, l'angiotensine II exerce plusieurs actions. Elle joue un rôle important dans la régulation de la pression artérielle grâce à son action vasopressive très puissante et grâce à sa participation au maintien de l'équilibre hydrosodé en stimulant la sécrétion de l'aldostérone et de la vasopressine (Albertini *et al*, 1980; Meyer, 1983; Alhenc-Gelas *et al*, 1985).

En outre, il a été démontré que l'angiotensine II stimule la sécrétion de l'hormone placentaire lactogène (hPL) par des cellules trophoblastiques (Petit *et al*, 1989), la sécrétion de la prolactine par des cellules adénohypophysaires (Platia *et al*, 1986; Myers et Steele, 1989) et la biosynthèse des hormones stéroïdes par les cellules de la granulosa (Pucell *et al*, 1987; Guichard *et al*, 1988; Palumbo *et al*, 1989). Dans cet esprit, l'on pense qu'en exerçant des actions diverses au niveau des annexes fœtales, l'angiotensine II pourrait

contribuer efficacement au maintien de la grossesse et à la croissance fœtale (Albertini *et al*, 1980; Alhenc-Gelas *et al*, 1985; Brar *et al*, 1986).

Les récepteurs d'angiotensine II ont été récemment observés dans le placenta (villosités choriales), le chorion et l'amnios (Cooke *et al*, 1981; Wilkes *et al*, 1985; Tencé et Petit, 1989; Kurauchi *et al*, 1990). Mais l'on n'a pas d'informations précises concernant leur classification et leur distribution dans ces tissus.

Dans ce travail, nous voulons mesurer les récepteurs membranaires de l'angiotensine II dans les différentes structures du placenta et dans les vaisseaux ombilicaux et ensuite tenter de définir leurs sous-types.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'étude porte sur 8 placentas humains issus de grossesses suivies dans le service d'obstétrique des cliniques universitaires Saint-Luc (Bruxelles) et ayant évolué normalement jusqu'à terme. Aucune parturiente n'a présenté d'hypertension artérielle.

À l'accouchement, l'âge gestationnel moyen était de  $38,50 \pm 1,73$  semaines avec des extrêmes allant de 37 à 41 semaines. Sept grossesses se sont terminées par un accouchement spontané et une grossesse par une césarienne pratiquée à cause d'une souffrance fœtale aigüe.

Immédiatement après son expulsion et son examen macroscopique en salle d'accouche-

ment, le placenta est enveloppé dans un sachet en plastique et gardé momentanément au réfrigérateur à 4 °C avant d'être transféré quelques min plus tard à l'unité de recherche en physiologie de la reproduction humaine. Il est minutieusement lavé à l'aide de la solution physiologique (NaCl 0,9 % conservé à 4 °C) et ensuite déposé dans un bac à glace pour sa dissection.

Le cordon ombilical est disséqué aux ciseaux fins; la veine et les 2 artères ombilicales sont prélevées. Le placenta est libéré des membranes amniotique et chorionique. Quelques vaisseaux parcourant la face fœtale du placenta (ramifications de la veine et des artères ombilicales) sont également prélevés. Au centre et au bord de la masse placentaire, le prélèvement des tissus est fait sur la plaque choriale (face fœtale), sur la plaque basale (face maternelle) et sur les villosités choriales, masse se trouvant entre les 2 plaques.

Une fois prélevés, les échantillons des tissus sont rincés séparément avec la solution physiologique, placés chacun dans un tube en plastique et immédiatement congelés dans l'azote liquide. Ils sont aussitôt expédiés dans une boîte contenant de la neige carbonique, au laboratoire de CIBA-GEIGY (Bâle) pour la mesure des récepteurs membranaires d'angiotensine II. Celle-ci est réalisée selon une technique décrite en détail par Whitebread *et al* (1989).

Brièvement, le tissu est homogénéisé (Polytron, Kinematica, Lucerne, Suisse) dans 20 mmol.l<sup>-1</sup> NaHCO<sub>3</sub> et centrifugé à 600 g et à 4 °C pendant 20 min. Le surnageant est à son tour centrifugé à 80 000 g pendant 20 min, le culot est suspendu dans 1 ml de tampon Tris-HCl (50 mmol.l<sup>-1</sup> pH 7,4) contenant du NaCl (125 mmol.l<sup>-1</sup>, MgCl<sub>2</sub> (6,5 mmol.l<sup>-1</sup>), EDTA (1 mmol.l<sup>-1</sup>) et la concentration de protéines est mesurée selon la technique de Bradford (1976). La suspension de membranes est diluée à l'aide du même tampon pour avoir une concentration tissulaire en protéines comprise entre 62,5 et 250 µg/ml. Ensuite, un cocktail d'inhibiteurs des peptidases à la concentration finale de 1 µg/ml et l'albumine de bœuf (2 mg/ml) sont ajoutés à la suspension de membranes (Wilkes *et al*, 1985).

L'étude de la liaison de la [Sar<sup>1</sup> Ile<sup>8</sup>] All radio-iodée (Anawa, Wangen, Suisse) est réalisée dans un volume de 250 µl comprenant 200

µl de membranes, 25 µl de traceur et 25 µl de l'agent compétiteur non marqué. Le mélange est incubé à 25 °C pendant 60 min et la réaction est terminée par l'addition de tampon PBS glacé. La [Sar<sup>1</sup> Ile<sup>8</sup>] All radioactive liée aux membranes est séparée de la [Sar<sup>1</sup> Ile<sup>8</sup>] All libre sur un filtre Whatman GF/F (Filterprep 101, Ismatec, Zurich, Suisse). La radioactivité du filtre est comptée dans un spectromètre gamma (Pharmacia-LKB, Uppsala, Suède). La liaison maximale ( $B_{max}$ ) et la constante de dissociation à l'équilibre ( $K_d$ ) sont étudiées dans quelques cas (courbes de compétition et graphiques selon Scatchard). Une mesure relative du nombre des sites récepteurs est effectuée dans tous les échantillons tissulaires à une concentration unique de 0,15 mmol.l<sup>-1</sup> de [Sar<sup>1</sup> Ile<sup>8</sup>] All. La liaison non spécifique est déterminée en présence d'1 µmol.l<sup>-1</sup> d'angiotensine II non marquée et reste inférieure à 25%. La [Sar<sup>1</sup> Ile<sup>8</sup>] All et l'angiotensine II froides proviennent de la firme Bachem (Bubendorf, Suisse).

Le CGP 42112A [nicotinic acid-Tyr-(N<sup>α</sup>-benzyloxycarbonyl-Arg)Lys-His-Pro-Ile-OH] et le DuP 753 [2-butyl-4-chloro-1-[(2'-(1H-tétrazol-5-yl)biphenyl-4-yl)méthyl]5-(hydroxyméthyl) imidazol] synthétisés par Ciba-Geigy (Bâle, Suisse) sont utilisés pour différencier les sous-types du récepteur de l'angiotensine II. Selon le travail de Whitebread *et al* (1989) et celui de Rogg *et al* (1990), le CGP 42112A a une plus grande affinité pour le sous-type AT<sub>2</sub> ( $K_d = 0,5$  nmol.l<sup>-1</sup>) que pour le sous-type AT<sub>1</sub> ( $K_d = 3$  µmol.l<sup>-1</sup>). L'affinité du Dup 753 est plus de 1 000 fois plus élevée pour le sous-type AT<sub>1</sub> ( $K_d = 31$  nmol.l<sup>-1</sup>) que pour le sous-type AT<sub>2</sub> ( $K_d = 33$  µmol.l<sup>-1</sup>).

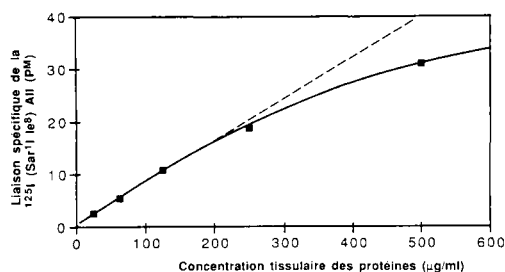
Le programme LIGAND est employé pour l'analyse des courbes de compétition (Munson et Rodbard, 1980; Whitebread *et al*, 1989) et le test de Student pour l'étude comparative du nombre des sites.

L'examen histologique de diverses structures placentaires obtenues après dissection ( $n = 5$  pour chacune d'elles) est pratiqué dans le but de vérifier l'homogénéité de celles-ci. Il résulte de cet examen que la contamination des échantillons de la plaque choriale par le tissu villositaire et *vice-versa* est de moins de 5% tandis que dans les échantillons de la plaque basale, l'on retrouve 50% du tissu villositaire. Celui-ci est contaminé par la plaque basale dans une proportion de moins de 5%.

## RÉSULTATS

Le nombre de sites récepteurs est exprimé en fmol/mg protéines. Notons qu'il existe une bonne corrélation entre la liaison spécifique de la  $^{125}\text{I}$  [Sar<sup>1</sup>Ile<sup>8</sup>]All et la concentration tissulaire des protéines. Au-delà de 250  $\mu\text{g}$  de protéines/ml la relation linéaire tend à disparaître (fig 1).

Les courbes de compétition réalisées sur le tissu placentaire (fig 2) nous montrent le degré d'inhibition des récepteurs d'angiotensine II par les antagonistes de l'angiotensine II. La [Sar<sup>1</sup>Ile<sup>8</sup>]All dont l' $\text{IC}_{50}$  varie entre 1,25 et 1,61 nmol.l<sup>-1</sup> (tableau I) inhibe la totalité des sites. Le Dup 753 qui exerce un effet inhibiteur sélectif sur le sous-type AT<sub>1</sub>, inhibe également la totalité des sites ( $\text{IC}_{50}$  entre 33,0 et 38,1 nmol.l<sup>-1</sup>). Aux faibles concentrations (nmol.l<sup>-1</sup>, le CGP 42112A n'a aucun effet. À des concentrations micromolaires, il inhibe tous les sites ( $\text{IC}_{50}$  entre 1,31 et 3,78  $\mu\text{mol.l}^{-1}$ ) comme démontré précédemment sur les cellules musculaires lisses de l'aorte du rat mises en culture (Whitebread *et al*, 1989). Ces résultats suggèrent que les tissus placentaires examinés ne contiennent que le sous-type AT<sub>1</sub>.



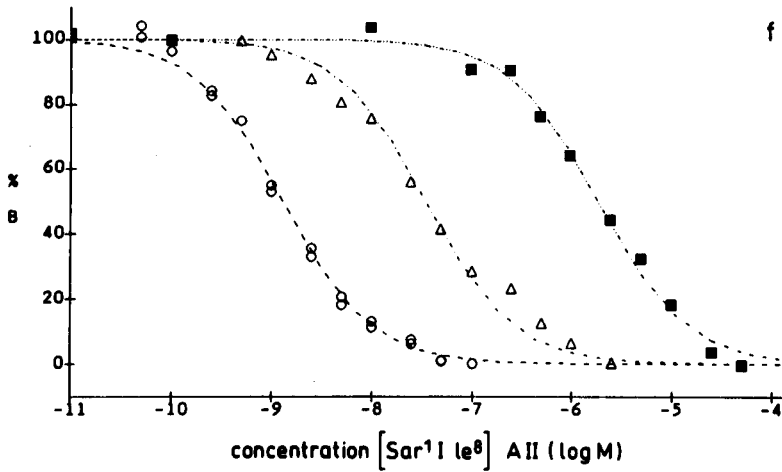
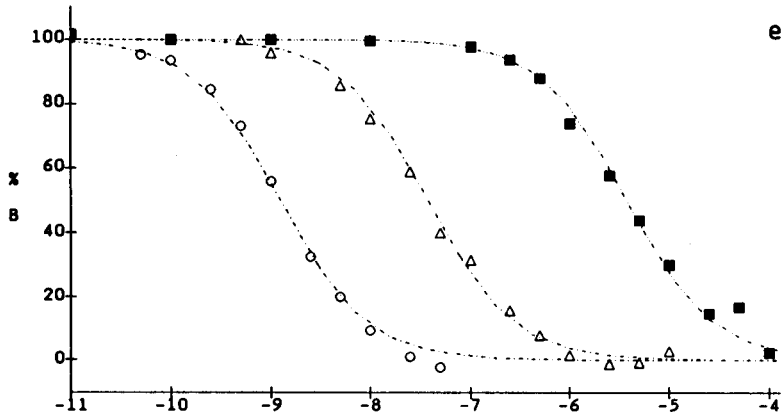
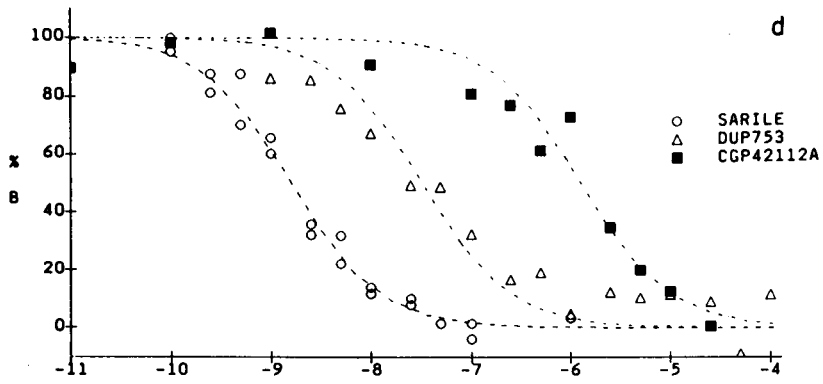
**Fig 1.** Corrélation entre la liaison spécifique de la  $^{125}\text{I}$ [Sar<sup>1</sup>Ile<sup>8</sup>]All et la concentration des protéines dans le tissu villositaire d'un placenta humain à terme.

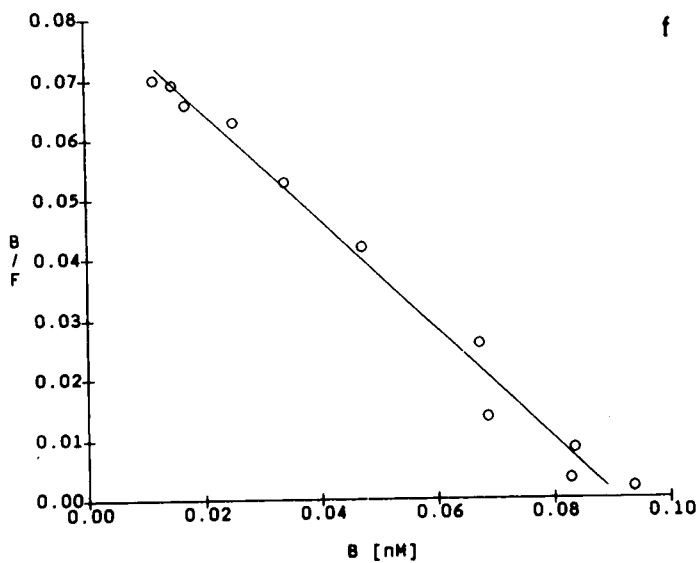
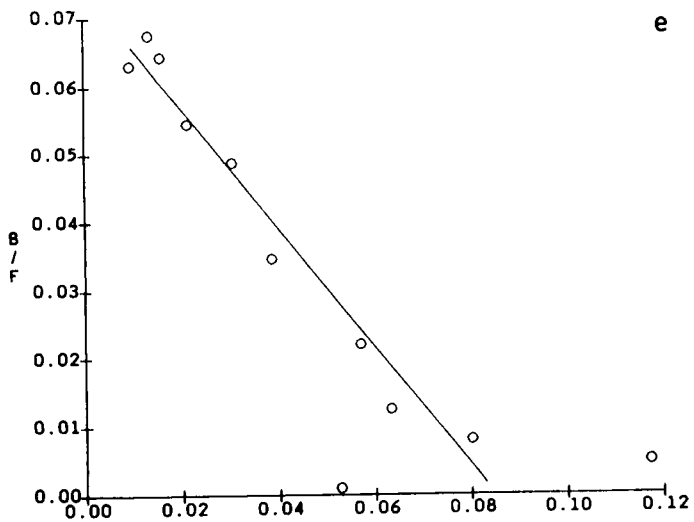
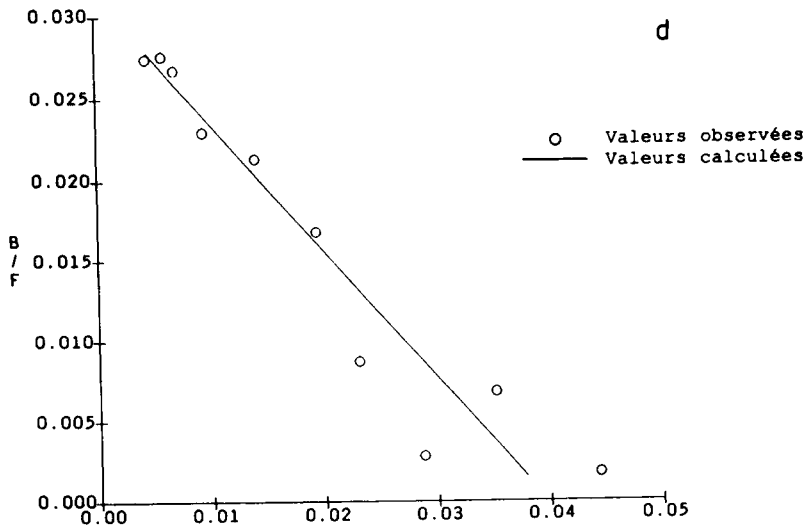
Sur la représentation graphique selon Scatchard (fig 3) et le tableau II, le  $B_{\text{max}}$  de la plaque chorale est de 215 fmol/mg protéines mais celui des villosités choriales est environ 8–12 fois plus élevé, variant entre 1 641 et 2 582 fmol/mg protéines. La plaque basale a un  $B_{\text{max}}$  de 1 680 fmol/mg protéines au centre et 2 196 au bord du placenta. Dans les 3 structures du placenta, les valeurs du  $K_d$  sont de l'ordre de 1 nmol.l<sup>-1</sup>. Sur les vaisseaux du cordon ombilical et ceux de la face fœtale du placenta, le  $B_{\text{max}}$  et le  $K_d$  n'ont pas été déterminés car la liaison spécifique y est extrêmement faible.

**Tableau I.** L' $\text{IC}_{50}$  (en nmol.l<sup>-1</sup>) pour la [Sar<sup>1</sup>Ile<sup>8</sup>]All, le CGP 42112A et le Dup 753 dans les différentes structures d'un placenta humain à terme.

Localisation	[Sar <sup>1</sup> Ile <sup>8</sup> ]All	Dup 753	CGP 42112A
Plaque chorale	1,61	33,0	1 310
Plaque basale	1,25	38,1	3 780
Villosités choriales	1,3	35,2	1 920

**Fig 2.** Inhibition de la liaison de la  $^{125}\text{I}$  [Sar<sup>1</sup>Ile<sup>8</sup>]All aux récepteurs du placenta humain par la [Sar<sup>1</sup>Ile<sup>8</sup>]All froide, le Dup 753 (inhibiteur du sous-type AT<sub>1</sub>) et le CGP 42112A. Celui-ci est un inhibiteur sélectif du sous-type AT<sub>2</sub> mais aux plus fortes concentrations, il inhibe les 2 sous-types. d = plaque chorale (250  $\mu\text{g}$  de protéines/ml), e = plaque basale (62,5  $\mu\text{g}$  de protéines/ml), f = villosités choriales (62,5  $\mu\text{g}$  de protéines/ml). Les tissus placentaires ont été prélevés à l'issue d'une grossesse à terme.



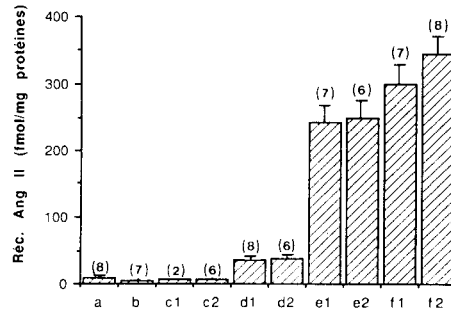


Considérant que l'affinité de la  $[Sar^1 Ile^8] All$  est similaire dans la plaque chorale, la plaque basale et les villosités chorales, nous avons mesuré la proportion relative des récepteurs en n'utilisant qu'une seule concentration de traceur radioactif. À une concentration de  $0,15 \text{ nmol.l}^{-1}$  de  $^{125}I[Sar^1 Ile^8] All$ , le nombre des sites occupés est en moyenne  $36 \pm 8 \text{ fmol/mg}$  de protéines dans la plaque chorale (fig 4) : il est 5–6 fois plus grand que celui qui est observé dans les vaisseaux du cordon ombilical et des vaisseaux de la face fœtale du placenta. La plaque basale et les villosités chorales ont des concentrations relativement plus élevées atteignant respectivement en moyenne  $242 \pm 31$  et  $300 \pm 35 \text{ fmol/mg}$  de protéines dans la partie centrale,  $250 \pm 32$  et  $343 \pm 32$  au bord de la masse placentaire.

La comparaison des valeurs moyennes ne montre pas de différence significative entre la plaque basale et les villosités chorales mais dans chacune de ces 2 structures, le nombre des sites occupés est significativement ( $P < 0,001$ ) plus élevé que celui observé dans la plaque chorale. Dans une même structure, la proportion relative des sites récepteurs est comparable au centre et au bord de la masse placentaire (fig 4).

## DISCUSSION

La mesure de récepteurs membranaires d'angiotensine II au niveau du placenta et des vaisseaux ombilicaux humains a été réalisée à l'aide d'une technique antérieurement décrite par Whitebread *et al* (1989). Cette méthode a été testée sur plusieurs tissus de diverses espèces ani-



**Fig 4.** Mesure relative des récepteurs de l'angiotensine II (valeurs moyennes + erreur standard) au niveau du placenta et des vaisseaux ombilicaux humains, à une concentration fixe de  $0,15 \text{ nmol.l}^{-1}$  de  $^{125}I[Sar^1 Ile^8] All$ . Les tissus proviennent des grossesses à terme. a = veine ombilicale, b = artères ombilicales, c<sub>1</sub> = veines/face fœtale du placenta, c<sub>2</sub> = artères/face fœtale du placenta, d = plaque chorale prélevée au centre (d<sub>1</sub>) et au bord (d<sub>2</sub>) du disque placentaire, e = plaque basale prélevée au centre (e<sub>1</sub>) et au bord (e<sub>2</sub>) du disque placentaire, f = villosités chorales prélevées au centre (f<sub>1</sub>) et au bord (f<sub>2</sub>) du disque placentaire. Les chiffres entre parenthèses représentent le nombre de cas.

males et a permis de découvrir et de caractériser 2 classes de récepteurs de l'angiotensine II provisoirement appelés A et B. Il a été démontré notamment chez la ratte que les 2 sous-types existent au niveau de la zone glomérulaire surrénalienne et au niveau du muscle utérin. Dans l'espèce humaine, la zone glomérulaire de la glande surrénale possède également les 2 sous-types, mais le myomètre ne contient que le récepteur A (Whitebread *et al*, 1989).

Une certaine confusion existe dans la littérature (Chiu *et al*, 1989; Chang et Lotti,

**Fig 3.** Représentation graphique selon Scatchard du rapport entre les concentrations de  $[Sar^1 Ile^8] All$  liée (B) et libre (F) exprimé en fonction des concentrations de  $[Sar^1 Ile^8] All$  liée aux récepteurs du placenta humain à terme. d = plaque chorale ( $250 \mu\text{g}$  de protéines/ml), e = plaque basale ( $62,5 \mu\text{g}$  de protéines/ml), f = villosités chorales ( $62,5 \mu\text{g}$  de protéines/ml).

**Tableau II.**  $B_{max}$  et  $K_d$  observés dans la plaque chorale, la plaque basale et les villosités chorales du placenta humain à terme. La [Sar<sup>1</sup>Ile<sup>8</sup>]All est utilisée comme radioligand.

Localisation	$B_{max}$ (fmol/mg protéines)	$K_d$ (nmol.l <sup>-1</sup> )
Plaque chorale ( $d_1$ )	215	1,3
Plaque basale		
$e_1$	1 680	1,1
$e_2$	2 196	1,4
Villosités chorales		
01 $f_1$	2 104	1,3
02 $f_1$	1 741	1,2
06 $f_1$	1 641	1,7
01 $f_2$	1 820	1,1
02 $f_2$	2 151	0,9
06 $f_2$	2 582	1,0

$d_1$  = Plaque chorale prélevée au centre du disque placentaire;  $e$  = plaque basale au centre ( $e_1$ ) et au bord ( $e_2$ ) du disque placentaire;  $f$  = villosités chorales au centre ( $f_1$ ) et au bord ( $f_2$ ) du disque placentaire.

1990; Speth et Kim, 1990) à cause d'une nomenclature différente des mêmes sous-types. Ainsi, Chiu *et al* (1989) ont confirmé l'existence de 2 sous-types de récepteurs en utilisant 2 antagonistes non peptidiques de l'angiotensine II dans une expérience menée sur des rats. Le sous-type 1 (correspondant au sous-type B) est révélé par le «Dup 753» et représente 80% des sites du cortex surrénalien. Le sous-type 2 (identique au sous-type A) est mis en évidence par le «EXP 655», un antagoniste non peptidique différent du CGP 42112A et se trouve en grandes concentrations dans la zone médullaire de la surrénale où il atteint 90% du total des sites.

Une commission internationale a proposé d'appeler le sous-type sensible au DUP 753 et celui sensible au CGP 42112A, respectivement AT<sub>1</sub> et AT<sub>2</sub> (Bumpus *et al*,

1991). Depuis lors, cette nomenclature est utilisée.

Sur le plan fonctionnel, Bottari *et al* (1990) ont constaté que les 2 sous-types se comportent différemment en présence de l'angiotensine II : le récepteur AT<sub>1</sub> se lie à une G-protéine (guanine nucleotide-binding-protein) et forme un complexe avec celle-ci alors que le récepteur AT<sub>2</sub> reste non couplé. D'autres études indiquent que le récepteur AT<sub>1</sub> est responsable de la contraction vasculaire produite par l'angiotensine II (Criscione *et al*, 1990; de Gasparo *et al*, 1990).

Dans le présent travail, nous notons qu'il existe, au niveau du placenta humain, un nombre important de récepteurs de l'angiotensine II. L'affinité de la [Sar<sup>1</sup>Ile<sup>8</sup>]All pour ces récepteurs est semblable dans les 3 structures placentaires qui ont été



examinées. L'analyse du  $B_{\max}$  et du nombre de sites mesurés à une concentration de  $0,15 \text{ nmol.l}^{-1}$  de  $^{125}\text{I}$  [ $\text{Sar}^1 \text{Ile}^8$ ] All montre que les villosités choriales contiennent des concentrations de récepteurs les plus élevées. Les vaisseaux du cordon ombilical et ceux de la face fœtale du placenta lient très faiblement la [ $\text{Sar}^1 \text{Ile}^8$ ] All.

Le Scatchard réalisé sur la fixation de la [ $\text{Sar}^1 \text{Ile}^8$ ] All découvre une seule classe de sites spécifiques dans la plaque chorale, la plaque basale et dans les villosités choriales (fig 2). Le Dup 753 nous a permis, grâce à son affinité sélective, de préciser que cette classe de récepteurs présents dans le tissu placentaire appartient au sous-type  $\text{AT}_1$ . Cette observation corrobore les résultats de Whitebread *et al* (1989), Chiu *et al* (1989); Chang et Lotti (1990) et ceux de Speth et Kim (1990), montrant bien que pour la classification des récepteurs, l'utilisation des antagonistes de l'angiotensine II est mieux indiquée que celle de l'angiotensine II elle-même.

Quelques études antérieures concernant les récepteurs d'angiotensine II dans les villosités choriales (Cooke *et al*, 1981; Wilkes *et al*, 1985; Tencé et Petit, 1989; Kurauchi *et al*, 1990) ont révélé, sur base de l'analyse du Scatchard, une seule classe de récepteurs mais le typage de ces derniers n'a pas été fait. Le  $B_{\max}$  et le  $K_d$  observés sur la liaison de l'angiotensine II varient d'une étude à l'autre et cela, probablement en fonction de la méthode appliquée : des valeurs extrêmes vont pour le  $B_{\max}$  de 38,40 à  $1\,500 \text{ fmol/mg}$  protéines et pour le  $K_d$  de 0,27 à  $8,97 \text{ nmol.l}^{-1}$ . Les valeurs du  $B_{\max}$  que nous avons obtenues à ce sujet sont à la limite supérieure des chiffres qui ont été publiés dans la littérature. Ceci pourrait être lié au fait que nous avons utilisé comme traceur radioactif, la [ $\text{Sar}^1 \text{Ile}^8$ ] All qui est un antagoniste de l'angiotensine II, plus stable que celle-ci.

En conclusion, les résultats de cette étude montrent de manière originale que les récepteurs de l'angiotensine II observés au niveau du placenta humain appartiennent au sous-type  $\text{AT}_1$  et que le plus grand nombre de ces récepteurs ( $B_{\max}$  et sites de liaison mesurés à une concentration de  $0,15 \text{ nmol.l}^{-1}$  de  $^{125}\text{I}$  [ $\text{Sar}^1 \text{Ile}^8$ ] All) se trouvent dans les villosités choriales. L'angiotensine II pourrait dès lors jouer un rôle important dans la régulation de la fonction placentaire.

## REMERCIEMENTS

Nous remercions sincèrement les infirmières de la salle d'accouchement des cliniques universitaires Saint-Luc (Bruxelles) et Y Bogdale (CIBA-GEIGY, Bâle) pour leur contribution à la réalisation de ce travail.

Nos remerciements s'adressent également à J Rahier et S Gosseye pour l'analyse des coupes histologiques et à A Kalenga pour sa participation à la préparation du manuscrit.

## RÉFÉRENCES

- Acker GM, Galen FX, Devaux C, Foote S, Papernik E, Pesty A, Menard J, Corvol P (1982) Human chorionic cells in primary culture: a model for renin biosynthesis. *J Clin Endocrinol & Metab* 55, 902-909
- Albertini R, Seiro M, Scicli AG, Carretero OA (1980) Uteroplacental renin in regulation of blood pressure in the pregnant rabbit. *Am J Physiol* 239, 266-271
- Alhenc-Gelas F, Tache A, Saint-André JP, Milliez J, Sureau C, Corvol P, Ménard J (1985) Le système rénine-angiotensine au cours de la grossesse et de l'accouchement. In : *Actualités néphrologiques de l'Hôpital Necker*. Flammarion Médecine Science, Paris, 27-34
- Bottari SP, Mele M, Taylor V, Whitebread S, de Gasparo M (1990) A subtype of angiotensin II receptors does not interact with guanine

- nucleotide regulatory proteins. *77th Annu Meet Endocr Soc*, Atlanta, June 20-23rd
- Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72, 248-254
- Brar HS, Do YS, Tam HB, Valenzuela GJ, Murray RD, Longo LD, Yonekura ML, Hsueh WA (1986) Uteroplacental unit as a source of elevated circulating prorenin levels in normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 155, 1223-1226
- Bumpus FM, Catt KJ, Chiu AT, de Gasparo M, Goodfriend A, Husain A, Peach MJ, Taylor V, Timmermans PBMWM (1991) Nomenclature for angiotensin receptors. *Hypertension* (in press)
- Chang RSL, Lotti VJ (1990) Two distinct angiotensin II receptor binding sites in rat adrenal revealed by new selective nonpeptide ligands. *J Molecular Pharmacol* 37, 347-351
- Chiu AT, Herbin WF, McCall DE, Ardecky RJ, Carini DJ, Duncia JV, Pease LJ, Wong PC, Wexler RR, Johnson AL, Timmermans PBMWM (1989) Identification of angiotensin II receptor subtypes. *Biochem Biophys Res Commun* 165, 196-203
- Cooke SF, Graven DJ, Symonds EM (1981) A study of angiotensin II binding sites in human placenta, chorion and amnion. *Am J Obstet Gynecol* 140, 689-692
- Criscione L, Thomann H, Whitebread S, de Gasparo M, Buehlmayer P, Herold P, Ostermayer F, Kamber B (1990) Binding characteristics and vascular effects of various angiotensin II antagonists. *J Cardiovasc Pharmacol* 16, 56-59
- de Gasparo M, Whitebread S, Mele M, Motani AS, Whitcombe PJ, Ramjouw HP, Kamber B (1990) Biochemical characterization of two angiotensin II receptor subtypes in the rat. *J Cardiovasc Pharmacol* 16, 31-35
- Egan DA, Grzegorzczak V, Tricarico KA, Rueter A, Holleman WH, Marcotte PA (1988) Human placental chorionic renin: production, purification and characterization. *Biochim Biophys Acta* 965, 68-75
- Guichard A, Mignot TM, Boyer P, Zorn JR, Cédard L (1988) Dosage immunoradiométrique de la rénine active et de la pro-rénine plasmatiques au cours des cycles stimulés pour Fivete ou Gift. *Reprod Nutr Dév* 28, 1731-1740
- Kurauchi O, Mizutani S, Nomura S, Kasugai M, Narita O, Tomoda Y (1990) A comparison of the binding of angiotensin II to human placenta between normal and severe pre-eclamptic pregnancy. *J Med* 21, 209-216
- Lenz T, Sealey JE, August P, James GD, Larragh JH (1989) Tissue levels of active and total renin, angiotensinogen, human chorionic gonadotropin, estradiol and progesterone in human placentas from different methods of delivery. *J Clin Endocrinol Metab* 69, 31-37
- Meyer P (1983) *Physiologie humaine*. Flammarion Médecine-Sciences, Paris, 794-801
- Munson PJ, Rodbard D (1980) Ligand: a versatile computerized approach for characterization of ligand-binding systems. *Anal Biochem* 107, 220-239
- Myers LS, Steele MK (1989) The brain renin-angiotensin system and the regulation of prolactin secretion in female rats: influence of ovarian hormones. *J Neuroendocrinology* 1, 299-303
- Palumbo A, Jones C, Lightman A, Carcangiu ML, Decherney AH, Naftolin F (1989) Immunohistochemical localization of renin and angiotensin II in human ovaries. *Am J Obstet Gynecol* 160, 8-14
- Petit A, Guillon G, Tencé M, Jard S, Gallo-Payet N, Bellabarba D, Lehoux JG, Belisle S (1989) Angiotensin II stimulates both inositol phosphate production and human placental lactogen release from human trophoblastic cells. *J Clin Endocrinol Metab* 69, 280-286
- Pinet F, Corvol MT, Bourguignon J, Corvol P (1988) Isolation and characterization of renin-producing human chorionic cells in culture. *J Clin Endocrinol Metab* 67, 1211-1220
- Platia MP, Catt KJ, Aguilera G (1986) Effects of 17 beta-estradiol on angiotensin II receptors and prolactin release in cultured pituitary cells. *Endocrinology* 119, 2768-2772
- Poisner AM, Wood GW, Poisner R, Inagami T (1981) Localization of renin in trophoblasts in human chorion laeve at term pregnancy. *Endocrinology* 109, 1150-1155
- Pucell AG, Bumpus FM, Husain A (1987) Rat ovarian angiotensin II receptors characterization and coupling to estrogen secretion. *J Biol Chem* 262, 7076-7080

- Rogg H, Schmid A, de Gasparo M (1990) Identification and characterization of angiotensin II receptor subtypes in rabbit ventricular myocardium. *Biochem Biophys Res Commun* (in press)
- Speth RC, Kim KH (1990) Discrimination of 2 angiotensin II receptor subtypes with a selective agonist analogue of angiotensin II para-aminophenylalanine 6 angiotensin II. *Biochem Biophys Res Commun* 169, 997-1006
- Symonds EM, Stanley MA, Skinner SZ (1968) Production of renin by *in vitro* cultures of human chorion and uterine muscle. *Nature (Lond)* 217, 1152-1153
- Symonds EM (1988) Renin and reproduction. *Am J Obstet Gynecol* 158, 754-761
- Tencé M, Petit A (1989) Characterization of angiotensin II binding sites in the human term placenta. *Mol Cell Endocrinol* 63, 111-119
- Wilkes BM, Krim E, Mento PF (1985) Evidence for a functional renin-angiotensin system in full-term fetoplacental unit. *Am J Physiol* 249, 366-373
- Whitebread S, Mele M, Kamber B, De Gasparo M (1989) Preliminary biochemical characterization of two angiotensin II receptor subtypes. *Biochem Biophys Res Commun* 163, 284-291