

LE RÉCEPTEUR MINÉRALOCORTICOÏDE, UN ACTEUR MAJEUR DE L'HOMÉOSTASIE HYDROSODÉE DU NOUVEAU-NÉ

par

L. MARTINERIE, M. LOMBÈS, P. BOILEAU

INTRODUCTION

L'homéostasie hydro-électrolytique est extrêmement bien contrôlée par le rein chez les mammifères. Cependant, la période périnatale chez l'homme est marquée par une capacité réduite du rein à assurer ses fonctions normales de concentration des urines et de maintien de l'équilibre de la balance hydrosodée. Une des difficultés rencontrées en néonatalogie concerne la perte importante de sodium associée à une dilution élevée des urines chez les enfants prématurés. Cette immaturité fonctionnelle tubulaire rénale engendre chez les nouveau-nés à terme et les prématurés, des difficultés d'adaptation face à certaines pathologies intercurrentes (déshydratation, infection...), qui accentuent cette déperdition d'eau et de sel [1].

L'aldostérone, hormone stéroïdienne, est synthétisée par la zone glomérulée de la glande corticosurrénalienne, sous l'influence de la rénine, via l'angiotensine II. La rénine est elle-même sécrétée par l'appareil juxta-glomérulaire du rein, en réponse à des variations hydro-électrolytiques. L'action rénale de l'aldostérone s'effectue principalement au niveau du tube contourné distal, par l'intermédiaire de sa liaison à son récepteur, le récepteur aux minéralocorticoïdes (MR, Mineralocorticoid Receptor), et permet la réabsorption du sodium et l'excrétion urinaire du potassium, assurant ainsi un maintien de la natrémie et de la volémie.

Des taux élevés d'aldostérone et d'activité rénine plasmatiques ont été rapportés durant la première année de vie [2] et plusieurs cas de pseudohypoaldostéronisme transitoire ont été décrits chez des nourrissons nés à terme âgés de moins de trois mois. Ces derniers présentaient, lors d'un épisode d'infection urinaire haute, une déshydratation, une hyponatrémie, une hyperkaliémie et une hypernatriurèse, qui contrastaient avec des taux élevés d'aldostérone et d'activité rénine plasmatiques. Ces différentes observations évoquent un état de résistance rénale partielle et transitoire à l'aldostérone en période néonatale, phénomène qui n'a jamais été clairement documenté. En effet, la réalisation d'investigations cliniques en période néonatale se heurte à de nombreux problèmes éthiques et pratiques, notamment pour le recueil de prélèvements sanguins ou urinaires. Actuellement, on dispose de peu de données fiables concernant les taux plasmatiques d'aldostérone ou de rénine à la naissance. Nous avons donc mené une étude clinique prospective chez des nouveau-nés à terme, dans le but de documenter cette hypothétique résistance néonatale à l'aldostérone.

Par ailleurs, compte tenu de l'effet rénal de l'aldostérone, par l'intermédiaire de son récepteur, nous avons également émis l'hypothèse que cette insensibilité hormonale pourrait être liée soit à une apparition tardive du MR, soit à des variations de son expression au cours du développement rénal.

RÉCEPTEUR MINÉRALOCORTICOÏDE

Mécanisme d'action du MR dans le rein

Le MR, facteur de transcription hormono-dépendant, appartient à la superfamille des récepteurs nucléaires et à la sous-famille des récepteurs stéroïdiens. Au niveau de la cellule du tube contourné distal, cellule cible principale de l'aldostérone, le MR, en l'absence d'hormone, est intra-cytoplasmique, lié à des protéines chaperonnes (Hsp (heat shock protein) 70, Hsp 90 et immunophilines). Ces protéines sont libérées lors de la liaison du MR à son ligand : l'aldostérone. Le MR est alors transféré dans le noyau, où il se fixe aux éléments de réponse spécifiques de l'ADN, recrute des coactivateurs et induit la transcription de gènes cibles [3]. Parmi ceux-ci, la sous-unité α du canal épithélial à sodium (ENaC) et la pompe Na-K-ATPase de la membrane basolatérale, assurent la réabsorption de sodium du compartiment urinaire vers le milieu intérieur. Dans la mesure où l'affinité du cortisol pour le MR est la même que celle de l'aldostérone et que les concentrations circulantes de glucocorticoïdes sont au moins 100 fois plus importantes que celle de l'aldostérone, la 11 β hydroxystéroïde déshydrogénase de type 2 (11 β HSD2), enzyme catalysant la transformation du cortisol en cortisone (composé inactif, incapable de se lier au MR) confère à la cellule tubulaire rénale, une spécificité d'action de l'aldostérone sur son récepteur. Deux autres protéines ont un rôle majeur dans le maintien de la balance hydrominérale au niveau de cette cellule. Il s'agit du récepteur de l'arginine-vasopressine (V2R), localisé sur la membrane basolatérale, qui après fixation de la vasopressine, induit, par une cascade de signalisation, l'exocytose à la membrane apicale de granules contenant les canaux aquaporiques, composés de protéines AQP2 (aquaporine 2). Ces canaux permettent la réabsorption passive de l'eau. La synthèse de l'aquaporine 2 et sa régulation post-transcriptionnelle sont également sous la dépendance du MR [4]. Enfin, le récepteur aux glucocorticoïdes (GR) entretient des liens étroits avec la voie de signalisation minéralocorticoïde, en partageant ligands, partenaires moléculaires et éléments de réponse sur l'ADN avec le MR [3]. Le gène du MR chez l'homme, situé sur le chromosome 4, s'étend sur 450 kb et comporte 10 exons dont deux exons 1, 1 α et 1 β , qui sont transcrits alternativement mais non traduits [3].

Gène, ARNm et protéine

L'existence de ces deux isoformes, hMR α et hMR β [5], régulées par deux promoteurs alternatifs P1 et P2 [3], a été largement démontrée dans les tissus cibles de l'aldostérone chez l'homme. Ces isoformes sont traduites en une même protéine, le MR, de 984 acides aminés et 107 kDa, qui comporte les 3 domaines classiques des récepteurs nucléaires : le domaine N terminal (NTD) codé par l'exon 2, qui comporte 2 domaines d'activation transcriptionnelle ligand-indépendants AF1a et AF1b, le domaine central de liaison à l'ADN (DBD) formé de deux doigts de zinc, codés respectivement par les exons 3 et 4, extrêmement bien conservé au sein de la superfamille des récepteurs nucléaires et le domaine de liaison à l'hormone (LBD) en C-terminal, codé par les 5 derniers exons (exons 5 à 9), contenant le domaine de transactivation AF2 ligand-dépendant. Chez la souris, le gène du MR est proche de celui de l'homme, mais il existe au moins trois exons 1 non traduits, à l'origine de trois transcrits alternatifs, mMR α , mMR β et mMR γ (résultats non publiés).

MR et métabolisme hydro-sodé

Des publications récentes apportent des arguments déterminants sur l'importance du MR dans la régulation du métabolisme hydrosodé renforçant ainsi notre hypothèse initiale. Ainsi, des mutations hétérozygotes inactivatrices du gène MR responsables d'un tableau clinique de pseudohypoaldostéronisme avec perte sodée chez les nouveau-nés ont été identifiées [6]. La plupart des adultes deviennent asymptomatiques, suggérant un mécanisme physiopathologique d'haploinsuffisance particulièrement critique à la naissance. D'autre part, les souris invalidées pour le gène MR meurent rapidement de déshydratation par perte hydrosodée, vers le 10^{ème} jour postnatal [7]. Ces deux études confortent la notion qu'une absence de MR n'entraverait pas le développement fœtal, mais que celui-ci serait primordial dans les premiers jours d'adaptation à la vie extra-utérine.

OBJECTIFS ET MÉTHODES

Nous avons choisi dans un premier temps de documenter la résistance néonatale du tubule rénal à l'aldostérone, par une étude clinique prospective, menée chez des nouveau-nés à terme, et de comparer ces résultats avec les données obtenues simultanément chez leurs mères.

Parallèlement, nous avons exploré les mécanismes moléculaires sous-jacents pouvant rendre compte de cette résistance. Nous avons émis l'hypothèse que cette résistance pourrait être liée à des variations d'expression du récepteur minéralocorticoïde au cours du développement rénal avec, notamment, une absence ou une faible expression de celui-ci au moment de la naissance. L'ontogenèse rénale du MR au cours du développement du fœtus et du nouveau-né chez la souris et chez l'homme, a donc été étudiée par deux approches complémentaires : quantification des ARNm par qPCR (Polymerase Chain Reaction) quantitative en temps réel, et qualitativement par immunohistochimie et semi-quantitative par Western blot afin de détecter la protéine MR, et d'en préciser sa localisation au niveau du néphron.

RÉSULTATS OBTENUS

Étude clinique

Notre étude clinique, prospective, a été menée en collaboration avec les services de néonatalogie et de gynécologie obstétrique de l'hôpital Antoine Béchère. Quarante-huit couples de nouveau-nés sains, nés à terme, et leurs mères ont été inclus. Les mères étaient indemnes de toute pathologie antérieure ou durant la grossesse. La grossesse était monochoriale, monoamniotique, non compliquée, les échographies anténatales normales, et l'accouchement eutocique à terme. Les nouveau-nés, eutrophes, n'avaient pas présenté de signes de souffrance fœtale. Les taux plasmatiques d'aldostérone et de rénine et les ionogrammes sanguins ont été mesurés au sang du cordon juste après l'accouchement et dans le sang maternel, au moment du bilan pré-anesthésie péridurale, le jour de l'accouchement. La perte urinaire de sel et la concentration urinaire d'aldostérone ont également été évaluées chez 28 de ces nouveau-nés par recueil urinaire sur compresse placée dans la couche, durant les premières 24 heures de vie. Les analyses biochimiques et hormonales ont été réalisées aux laboratoires de biochimie et d'hormonologie de l'hôpital Bicêtre.

Nous avons trouvé des concentrations plasmatiques d'aldostérone et de rénine au sang de cordon, significativement plus élevées que les valeurs maternelles (respectivement

817 ± 73 vs 575 ± 55 pg/ml et 79 ± 10 vs 15 ± 2 pg/ml, $P < 0,001$) avec une corrélation positive significative entre les deux paramètres ($P < 0,001$) (Figure 1A et 1B). Paradoxalement, l'activation du système rénine-angiotensine-aldostérone chez les nouveau-nés était accompagnée d'une hyponatrémie ($132,6 \pm 0,7$ mmol/l) et d'une hyperkaliémie ($5,7 \pm 0,3$ mmol/l) (Figure 1C) avec perte urinaire relative de sodium (rapports $\text{Na}_u^+/\text{K}_u^+ = 2,0 \pm 0,4$; $\text{Na}_u/\text{creat}_u = 19,6 \pm 8,3$), confirmant la résistance partielle à l'aldostérone en période néonatale. Par ailleurs, la mise en évidence d'une corrélation inverse significative entre la perte urinaire de sodium (reflétée par le rapport Na_u/K_u) et la concentration des urines [creat_u] ($r = -0,61$, $P < 0,001$) est venue confirmer l'existence d'une immaturité rénale tubulaire à la naissance.

Nous avons également établi pour la première fois les valeurs d'aldostérone urinaire chez le nouveau-né à terme (moyenne 106 ± 10 pg/ μg de créatinine) et montré qu'elles étaient corrélées à la kaliémie (des concentrations plasmatiques faibles de potassium ne sont atteintes qu'en présence d'une forte aldostéronurie), contrairement à l'aldostéronémie, suggérant que la concentration d'aldostérone urinaire est le meilleur index d'évaluation de la sensibilité minéralocorticoïde. Cette étude a par ailleurs permis de démontrer la faisabilité du dosage d'aldostérone urinaire après recueil urinaire sur une compresse mise dans la couche du nouveau-né, technique de recueil non invasive.

Par contre, l'absence de corrélation, chez le nouveau-né, entre les taux d'aldostéronurie et le rapport Na_u/K_u (reflet indirect de l'action rénale de l'aldostérone), témoigne d'une insensibilité partielle du tubule rénal à l'aldostérone en période néonatale.

Nous avons ainsi pu démontrer l'existence d'une résistance rénale néonatale physiologique à l'aldostérone [8]. Ce travail se poursuit actuellement par un Programme Hospitalier de Recherche Clinique (PHRC national 2009), le protocole PREMALDO qui vise à caractériser la sensibilité à l'aldostérone en fonction de l'âge gestationnel à la naissance et au cours du développement post-natal, et à valider la mesure non invasive du dosage de l'aldostérone urinaire, comme témoin du degré de résistance à l'aldostérone.

Ontogenèse rénale du MR

Nous nous sommes ensuite intéressés aux mécanismes moléculaires pouvant rendre compte de cette résistance. Les principaux effets rénaux de l'aldostérone étant relayés par sa liaison au récepteur minéralocorticoïde, nous avons émis l'hypothèse que cette insensibilité hormonale pouvait être liée à une faible expression rénale du MR à la naissance. Nous avons donc choisi d'étudier l'ontogenèse rénale de ce récepteur au cours du développement rénal chez la souris, pour sa facilité d'obtention de prélèvements et de manipulations expérimentales, et chez l'homme pour son intérêt physiopathologique évident.

Nous avons également analysé l'expression des différentes isoformes du MR, ainsi que celle d'autres facteurs intervenant dans la voie minéralocorticoïde (11 β HSD2 et α ENaC), ou témoignant de la maturation tubulaire rénale (V2R, AQP2). Enfin nous avons comparé l'expression du MR à celle du récepteur glucocorticoïde, ces deux récepteurs étant étroitement liés. Cette étude, à la fois qualitative et quantitative, s'est attachée à préciser le niveau d'expression rénale des ARNm par la méthode de PCR quantitative en temps réel et la localisation le long du néphron des protéines correspondantes, par des techniques immunohisto-chimiques et de western blot à différents stades de développement rénal.

Chez la souris

Nous avons prélevé des reins de souris à différents stades fœtaux (15, 16, 18 et 20 jours de gestation) et néonataux (J0, J2, J4-6, J8 et J15) afin d'analyser l'expression de l'ARN mes-

sager du MR et d'étudier par immunohistochimie et western blot la protéine MR.

Par technique de PCR quantitative en temps réel, les transcrits du MR ont été quantifiés à chacun des différents stades développementaux. Les résultats montrent une apparition du MR à partir du 16^{ème} jour de gestation, un accroissement de son expression jusqu'au 18^{ème} jour de gestation, puis une diminution significative au moment de la naissance pour ensuite réaugmenter progressivement jusqu'à J15 (Figure 2).

C'est la première étude quantitative de l'expression rénale du MR. L'expression de l'isoforme MR α est strictement superposable à celle du MR dans le rein de souris alors que l'isoforme MR β n'est pas ou très peu exprimée. Il nous semblait intéressant d'étudier en parallèle l'expression des ARNm de α ENaC (gène cible du MR) et de la 11 β HSD2 (enzyme clé de la spécificité minéralocorticoïde). Les profils d'expression de ces deux gènes sont apparus en étroite corrélation avec le profil d'expression du MR, suggérant qu'au cours de la maturation rénale, le récepteur et certains effecteurs majeurs de la voie de signalisation minéralocorticoïde apparaissent de manière synchrone. Ces données suggèrent aussi que le récepteur serait transcriptionnellement actif durant cette période. L'étude de l'expression des ARN messagers du GR, de V2R et de l'aquaporine 2, a révélé qu'il existait des profils d'expressions géniques différents au cours du développement rénal avec une relative stabilité du niveau d'expression du GR à partir du 16^{ème} jour de gestation et une expression plus linéaire pour V2R et AQP2 sans diminution significative le jour de la naissance.

La quantification relative de l'expression des gènes, bien qu'extrêmement sensible ne donne pas d'information sur la localisation précise du MR au sein de la structure anatomique complexe du rein. Les études immunohistochimiques apparaissaient donc comme une étape complémentaire indispensable pour affiner nos résultats. Après une mise au point de conditions expérimentales optimales d'immunodétection (Anticorps monoclonal anti-MR, 6G1, généreusement fourni par le Dr Gomez-Sanchez [9] mais également avec un nouvel anticorps polyclonal 39N élaboré au laboratoire) nous avons pu obtenir des résultats sur l'expression rénale de la protéine MR corroborant les données de PCR quantitative, avec une mise en évidence d'un marquage nucléaire spécifique dans les tubules distaux du rein de souris à partir du 16^{ème} jour de gestation.

Nous avons également étudié l'expression des protéines AQP2 et GR dont les marquages spécifiques (au pôle apical des cellules tubulaires distales pour AQP2 et de localisation nucléocytoplasmique pour le GR) sont également retrouvés à partir du 16^{ème} jour de gestation dans le rein de souris.

Chez l'homme

Nous souhaitons aborder l'étude de l'expression du MR en période périnatale chez l'homme, qui se heurte à la rareté et la difficulté d'obtention des échantillons. La mise en place de plusieurs collaborations avec différents services de fœtopathologie et d'anatomopathologie de la région parisienne (Antoine Béclère, Clamart ; Robert Debré, Paris ; CHIC, Créteil ; Necker, Paris) nous a permis d'avoir accès à une collection précieuse de reins fœtaux congelés pour quantification des ARNm et de lames et blocs de reins inclus en paraffine, de fœtus, de nouveau-nés et d'enfants à différents stades du développement pour analyse immunohistochimique.

Dix-neuf échantillons de reins fœtaux congelés, de 14 à 40 semaines d'aménorrhée (SA), ont été ainsi collectés. L'analyse par PCR quantitative de l'expression des ARNm du MR a montré un profil d'expression proche de celui observé chez la souris. En effet, l'évolution des ARNm du MR est également diphasique, avec un pic d'expression autour de la 19^{ème} semaine d'aménorrhée, puis une diminution avant la naissance. Les profils d'expression des différentes isoformes du MR (hMR α et hMR β) sont superposables à celui du MR. Comme chez la souris, une étroite corrél-

tion entre les différents acteurs de la voie minéralocorticoïde (11 β HSD2, MR et α ENaC) est retrouvée. La quantification de l'expression des ARNm du GR, de V2R et de AQP2, montrent des profils d'expression différents par rapport aux gènes précédents, avec une évolution plus stable des ARNm du GR au cours du développement rénal fœtal, et un pic d'expression plus tardif pour V2R et AQP2, suggérant un processus de maturation spécifique à la voie minéralocorticoïde, indépendant de la maturation rénale globale ou de la cellule tubulaire distale.

Les études qualitatives d'expression protéique ont pu être réalisées sur une collection de 39 échantillons de rein inclus en paraffine, comprenant 14 fœtus (10 à 40 SA), 14 nouveau-nés (de 1 à 11 mois) et 11 enfants (de 1 à 11 ans). L'intégrité des différents échantillons a tout d'abord été vérifiée par coloration à l'hématoxyline-éosine-safran (HES), qui colore les différentes structures cellulaire et tissulaire. Cela nous a également permis de décrire les différents stades de développement du rein. De manière attendue, la formation des glomérules et des néphrons, tout comme la mise en place architecturale du rein se déroule de la 5^{ème} à la 36^{ème} semaine d'aménorrhée. Nous avons cependant remarqué que les podocytes de nombreux glomeruli, au fort grossissement, conservaient un aspect immature, cubique à 40 SA, et n'atteignaient une forme plate mature qu'environ un an après la naissance. Ceci suggère une maturation fonctionnelle retardée de certains segments néphroniques, qui ne s'achève que durant la période post-natale.

Nous avons complété la vérification de l'intégrité des tissus par l'utilisation de deux anticorps reconnaissant des marqueurs spécifiques des cellules tubulaires (cytokeratine 19) et des cellules mésenchymateuses (vimentine). L'immunodétection de ces deux marqueurs signe l'absence d'altération tissulaire secondaire à des phénomènes d'autolyse ou de fixation prolongée dans le formol d'un échantillon.

Les résultats obtenus par immunohistochimie, réalisée à l'aide du même anticorps spécifique anti-MR utilisé chez la souris, montrent une expression transitoire de la protéine MR entre la 15^{ème} et la 24^{ème} semaine d'aménorrhée (Figure 3A), au niveau des noyaux des cellules tubulaires distales. Au delà de 24 SA, nous avons noté la disparition de cette expression à tous les autres stades fœtaux et néonataux (Figure 3B) pour réapparaître environ 11 mois après la naissance. L'intensité de l'immunomarquage et le nombre de cellules tubulaires distales immunomarquées augmente par la suite avec le développement rénal postnatal.

L'expression du GR est plus précoce que celle du MR, présente dès 10 SA, et plus ubiquitaire (cellules tubulaires, mésenchymateuses et endothéliales).

Comme le MR, la protéine AQP2 est détectée à partir de la 15^{ème} SA, localisée à la membrane des cellules épithéliales tubulaires distales, prédominant au pôle apical. Par contre, à la différence de la protéine MR, l'aquaporine 2 est retrouvée à tous les stades développementaux fœtaux, néonataux et postnataux (Figure 3C et 3D).

L'expression du MR chez l'homme est donc variable au cours du développement rénal, extrêmement faible à la naissance, le MR réapparaît progressivement au cours de la vie extra-utérine. Cette évolution cyclique et retardée du MR, démontrée à la fois chez la souris et chez l'homme, semble donc être préservée à travers les espèces. De plus, ce phénomène apparaît spécifique à la voie minéralocorticoïde avec des profils d'expression similaires pour la 11 β HSD2 et α ENaC, et pourrait rendre compte de la résistance partielle et transitoire à l'aldostérone en période néonatale [10].

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Nous avons démontré d'une part qu'il existait une insensibilité rénale néonatale à l'aldostérone et d'autre part, qu'elle s'accompagnait d'une faible expression du récepteur minéralocorticoïde à la naissance.

Ces résultats originaux ouvrent sur de nombreuses questions. Quel est le rôle de cette résistance physiologique ? La parfaite intégrité du système rénine-angiotensine-aldostérone avec une réponse adaptée de la glande surrénalienne, contraste avec l'inaptitude du rein à contrôler de manière appropriée la réabsorption de l'eau et du sel durant cette période critique entourant la naissance. L'hyperaldostéronisme est-il la conséquence de l'immaturité tubulaire rénale, dans laquelle la perte excessive de sodium provoque une hyperactivation du système rénine-angiotensine-aldostérone ? A l'inverse, l'absence de réponse rénale à l'aldostérone serait-elle un mécanisme de protection vis à vis des taux élevés d'aldostérone, qui seraient, par ailleurs, utiles ou nécessaires au fonctionnement d'autres organes ? Ces taux élevés d'aldostérone pourraient avoir un rôle fonctionnel dans d'autres tissus cibles, tel que le tissu endothélial [11] ou les cellules musculaires lisses des vaisseaux, dans lesquelles des réponses vasoconstrictrices rapides par effets non génomiques de l'aldostérone ont été décrites [12]. Comment ces mécanismes régulateurs sont mis en jeu chez le nouveau-né prématuré ? Est-ce que, comme on peut le supposer, l'insensibilité à l'aldostérone y est accrue, rendant la supplémentation sodée indispensable pour le maintien de la volémie et pour la survie de ces enfants ? L'intérêt d'une meilleure compréhension du contrôle de l'équilibre hydrominéral dans cette population apparaît donc essentiel.

Par ailleurs, la mise en évidence d'une répression significative de l'expression du MR le jour de la naissance est intrigante, d'autant qu'elle apparaît conservée chez différentes espèces animales. Quels en sont les facteurs déclenchants et les mécanismes impliqués ? Quels sont les déterminants qui concourent à une réamplification de son expression dans la période post-natale ? Les mécanismes moléculaires qui contrôlent l'expression du MR sont complexes et interviennent probablement à de multiples niveaux transcriptionnels et post-transcriptionnels. Ils font notamment intervenir les deux promoteurs alternatifs tissus spécifiques, P1 et P2, mais d'autres facteurs sont vraisemblablement aussi impliqués. Les modifications hormonales majeures associées à la fin de la grossesse, présentes au cours du travail ou de l'accouchement, pourraient aussi participer à la répression de l'expression du MR. L'expression post-natale du MR, dans l'espèce humaine au moins, semble suivre le processus de maturation rénale, qui s'achève environ un an après la naissance, période qui coïncide avec la réapparition à des niveaux détectables du MR. Les facteurs intervenants dans la maturation et le développement rénal pourraient donc également être responsables de ces variations d'expression du MR.

Les mécanismes régulant l'expression rénale du MR jouent donc un rôle fonctionnel prépondérant dans la maturation rénale et par conséquent dans le contrôle de l'homéostasie hydrosodée chez le nouveau-né. Ils sont aussi probablement opérationnels chez l'adulte, intervenant possiblement dans certaines pathologies rénales mais aussi au niveau d'autres organes (cœur, cerveau...). Des études récentes ont confirmé l'implication majeure du MR en physiopathologie rénale. Ainsi, il existe une corrélation étroite entre le niveau d'expression rénale du MR et la protéinurie chez l'homme [13]. De plus, l'inhibition du MR par interférence RNA chez l'animal, améliore la fonction rénale, diminue la protéinurie et l'hypertension [14]. L'action de l'aldostérone/MR intervient aussi dans la protection neuronale [15]. Enfin, l'utilisation d'antagonistes du MR comme la spironolactone [16] ou l'éplerénone [17] a prouvé son efficacité dans la préservation de la fonction cardiaque. Toutes ces données soulignent l'importance de mieux comprendre les mécanismes régulateurs de l'expression du MR et ouvrent d'intéressantes perspectives physiopathologiques et thérapeutiques.

REMERCIEMENTS

Service de fœtopathologie de l'hôpital Robert Debré, Pr Delezoïde
 Services d'anatomopathologie de l'hôpital Antoine Bécclère, Pr Prevot ; du CHIC, Dr Sinico
 et de l'hôpital Necker Enfants Malades, Pr Jaubert.
 Équipes médicales et paramédicales des services d'obstétrique et de pédiatrie et réanimation
 néonatale de l'hôpital Antoine Bécclère.

L. Martinerie¹, M. Lombès¹, P. Boileau²

1- Unité INSERM 693, Faculté de Médecine Paris-Sud, 94276 Le Kremlin Bicêtre.

2- Université Paris-Sud11, Service de Pédiatrie et Réanimation Néonatales, Hôpital
 Antoine Bécclère, 92140 Clamart.

RÉFÉRENCES

1. Holtback U, Aperia AC 2003 Molecular determinants of sodium and water balance during early human development. *Semin Neonatol* 8:291-299
2. Mehta KP, Karnik SR, Sathe A, Pant R, Khatwani R, Bhise A 1992 Renal parameters during infancy. *Indian Pediatr* 29:1385-1390
3. Viengchareun S, Le Menuet, D, Martinerie, L, Munier, M., Pascual-Le Tallec, L, Lombes, M 2007 The Mineralocorticoid Receptor: Insights in its molecular and (patho)physiological biology. *Nucl Recept Signal* 5:e012
4. Hasler U, Mordasini D, Bianchi M, Vandewalle A, Feraïlle E, Martin PY 2003 Dual influence of aldosterone on AQP2 expression in cultured renal collecting duct principal cells. *J Biol Chem* 278:21639-21648
5. Zennaro MC, Farman N, Bonvalet JP, Lombès M 1997 Tissue-specific expression of alpha and beta messenger ribonucleic acid isoforms of the human mineralocorticoid receptor in normal and pathological states. *J Clin Endocrinol Metab* 82:1345-1352
6. Zennaro MC, Lombès M 2004 Mineralocorticoid resistance. *Trends Endocrinol Metab* 15:264-270
7. Berger S, Bleich M, Schmid W, Cole TJ, Peters J, Watanabe H, Kriz W, Warth R, Greger R, Schutz G 1998 Mineralocorticoid receptor knockout mice: pathophysiology of Na⁺ metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:9424-9429
8. Martinerie L, Pussard E, Foix-L'Hélias L, Petit F, Cosson C, Boileau P, Lombès M 2009 Physiological Partial Aldosterone Resistance in Human Newborns. *Pediatric Research*, in Press
9. Gomez-Sanchez CE, de Rodriguez AF, Romero DG, Estess J, Warden MP, Gomez-Sanchez MT, Gomez-Sanchez EP 2006 Development of a panel of monoclonal antibodies against the mineralocorticoid receptor. *Endocrinology* 147:1343-1348
10. Martinerie L, Viengchareun S, Delezoïde AL, Jaubert F, Sinico M, Prevot S, Boileau P, Meduri G, Lombès M 2009 Low Renal Mineralocorticoid Receptor Expression at Birth Contributes to Partial Aldosterone Resistance in Neonates. *Endocrinology*, in Press
11. Schmidt BM, Georgens AC, Martin N, Tillmann HC, Feuring M, Christ M, Wehling M 2001 Interaction of rapid nongenomic cardiovascular aldosterone effects with the adrenergic system. *J Clin Endocrinol Metab* 86:761-767
12. Funder JW 2005 The nongenomic actions of aldosterone. *Endocr Rev* 26:313-321
13. Quinkler M, Zehnder D, Eardley KS, Lepenies J, Howie AJ, Hughes SV, Cockwell P, Hewison M, Stewart PM 2005 Increased expression of mineralocorticoid effector mechanisms in kidney biopsies of patients with heavy proteinuria. *Circulation* 112:1435-1443
14. Wang X, Skelley L, Cade R, Sun Z 2006 AAV delivery of mineralocorticoid receptor shRNA prevents progression of cold-induced hypertension and attenuates renal damage. *Gene Ther* 13:1097-1103
15. Gass P, Kretz O, Wolfer DP, Berger S, Tronche F, Reichardt HM, Kellendonk C, Lipp HP, Schmid W, Schutz G 2000 Genetic disruption of mineralocorticoid receptor leads to impaired neurogenesis and granule cell degeneration in the hippocampus of adult mice. *EMBO Rep* 1:447-451
16. Pitt B, Zannad F, Remme WJ, Cody R, Castaigne A, Perez A, Palensky J, Wittes J 1999 The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. *Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators. N Engl J Med* 341:709-717
17. Pitt B, Remme W, Zannad F, Neaton J, Martinez F, Roniker B, Bittman R, Hurley S, Kleiman J, Gatlin M 2003 Eplerenone, a selective aldosterone blocker, in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. *N Engl J Med* 348:1309-1321

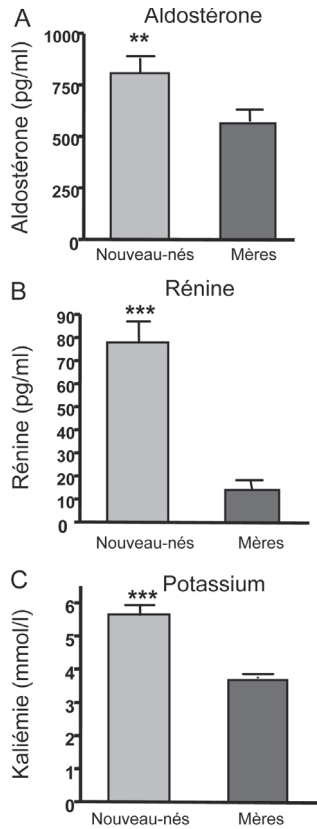


FIGURE 1 : Comparaison entre les concentrations plasmatiques au sang de cordon de 48 nouveau-nés à terme et chez les mères, d'aldostérone (A), de rénine (B) et de potassium (C).

* $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

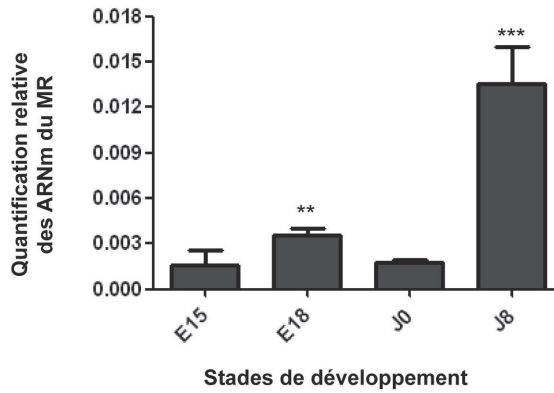


FIGURE 2 : Evolution des ARN messagers du MR au cours du développement rénal chez la souris.

E : jour de gestation, J0 : jour de la naissance, J : jour post natal. J0 représente notre référence pour les analyses statistiques: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$. Les résultats, obtenus par PCR quantitative en temps réel, sont exprimés en quantités relatives normalisées par l'ARN du 18S (attomoles/fentomoles de 18S).

FIGURE 3 : Immunodétection des protéines MR et AQP2 dans des reins de fœtus humains. Cf p 196

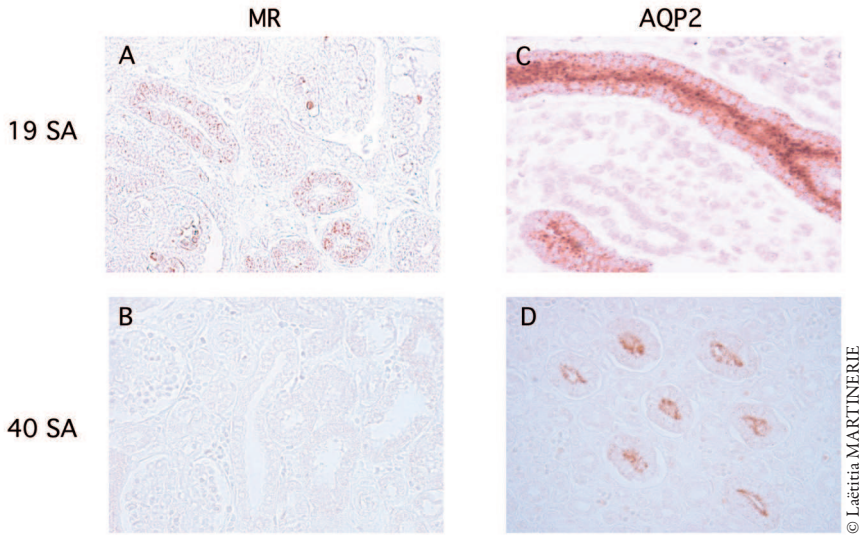
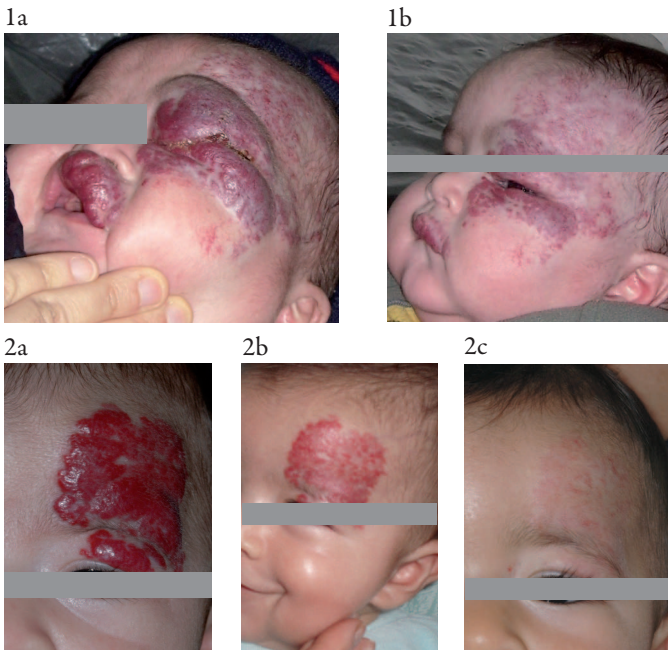


FIGURE 3 : Immunodétection des protéines MR et AQP2 dans des reins de fœtus humains.

A-B: Immunodétection de la protéine MR. La protéine est détectée au niveau des noyaux des cellules tubulaires distales du rein à 19 SA, mais plus à 40 SA. C-D: Immunodétection de la protéine AQP2 à tous les stades de développement, localisée à la membrance apicale des cellules tubulaires distales du rein. Objectif x 20. SA : semaines d'aménorrhées.

BÉTABLOQUANTS ET HÉMANGIOME INFANTILE... p247
 O. ENJOLRAS, V. SOUPRE, M.-P. VAZQUEZ, A. PICARD



1. hémangiome infantile non répondeur au traitement corticostéroïde (aspect cushingoïde lié à 3 mois de corticothérapie) (a) ; même enfant après seulement 11 jours de propranolol (b).
 2. hémangiome infantile en pleine phase de prolifération : début de traitement par propranolol (a) ; même enfant après 1 mois de traitement (b) ; même enfant à l'arrêt d'un traitement qui aura duré 5 mois (c).