

Table des matières

I.	Introduction	3
II.	Rappel de la situation	4
A.	Le développement rénal normal	4
1.	Développement du rein et néphrogénèse	4
2.	Organogenèse rénale : phénomènes d'inductions	9
3.	Apoptose au cours du développement rénal.....	10
B.	Les uropathies obstructives fœtales	11
1.	Définition	11
2.	Les uropathies obstructives congénitales chez l'homme	11
3.	Modèles expérimentaux d'obstruction urinaire fœtale.....	12
4.	Conséquences de l'obstruction urinaire sur le développement du rein.....	12
5.	Réversibilité des lésions rénales après dérivation anténatale.....	14
III.	Objectifs de l'étude et Résultats attendus	18
IV.	Matériels et méthodes.....	20
A.	Choix du modèle animal	20
B.	Groupes d'animaux	21
C.	Protocole opératoire	22
1.	Anesthésie, soins pré et post-opératoires	22
2.	Techniques chirurgicales.....	23
3.	Etude fonctionnelle des conséquences de l'obstruction des voies urinaires chez le fœtus et de l'impact de la dérivation <i>in utero</i>	25
4.	Prélèvement.....	25
D.	Etude morphologique	26
E.	Méthode statistique utilisée.....	27
V.	Résultats de l'étude	28
A.	Suivi du taux de mortalité des fœtus	28
B.	Difficultés chirurgicales	29
1.	Complications maternelles	29
2.	Complications fœtales liées à la sténose	29
3.	Problèmes liés à la pose du cathéter vésico-amniotique	30
C.	Effets sur la croissance fœtale	30

D.	Etude morphologique des reins	31
1.	Poids des reins	31
2.	Aspect macroscopique des reins	32
3.	Aspect microscopique des reins	33
E.	Etude fonctionnelle	34
1.	Conditions de l'étude : monitoring maternel et fœtal	34
2.	Résultats : paramètres de la fonction rénale.....	35
VI.	Discussion	42
A.	Pertinence du modèle	42
B.	Taux de mortalité	43
C.	Difficultés chirurgicales	44
D.	Effets sur la croissance fœtale.....	45
E.	Effets sur le poids des reins.....	45
F.	Etude morphologique	45
G.	Etude fonctionnelle	46
1.	Etude des paramètres de la fonction rénale.....	47
2.	Etude de l'excrétion sodée	48
VII.	Conclusion.....	50
	Bibliographie.....	51

I. Introduction

Les uropathies obstructives fœtales sont aujourd'hui chez l'homme une affection relativement fréquente et de diagnostic aisé, car il s'agit d'images liquidiennes facilement visualisées à l'échographie systématique. Le développement du diagnostic anténatal a modifié l'attitude médicale vis à vis des uropathies obstructives congénitales ; la prise en charge postnatale des patients a été améliorée et la mortalité néonatale considérablement réduite. Cependant, en dépit de ces progrès, environ un tiers de ces enfants naissent avec une insuffisance rénale sévère associée à des troubles mictionnels, séquelles irréversibles de lésions déjà constituées *in utero*. Ces observations ont conduit à proposer une levée d'obstacle précoce, dans le but de limiter la constitution anténatale de ces lésions. Plus de quinze ans après la première dérivation d'urines réalisée par Glick (24,25), la justification de ces interventions reste controversée, tant sur le plan clinique qu'expérimental.

Nous proposons dans cette étude réalisée sur des brebis d'étudier le degré de réversibilité des lésions rénales et vésicales induites par l'obstruction urinaire fœtale, après dérivation des urines par shunt vésico-amniotique.

Nous espérons pouvoir confirmer que la levée de l'obstacle a des effets bénéfiques pour le fœtus tant sur le plan morphologique que fonctionnel.

Après des rappels sur la néphrogénèse et le fonctionnement du rein, nous présenterons l'étude et ses résultats et enfin comparerons les résultats obtenus aux résultats déjà connus ainsi qu'aux résultats attendus.

II. Rappel de la situation

A. Le développement rénal normal

1. Développement du rein et néphrogénèse

Le rein est un organe indispensable au bon fonctionnement de l'organisme en raison de son rôle dans le maintien des équilibres hydro-électriques et homéostasiques, par l'élimination des déchets du métabolisme dans un volume d'eau réduit et par la régulation de l'équilibre acido-basique de l'organisme. Il est suppléé par le placenta au cours de la vie fœtale afin d'acquérir un nombre de néphrons suffisant et d'assurer efficacement dès la naissance l'homéostasie du nouveau-né.

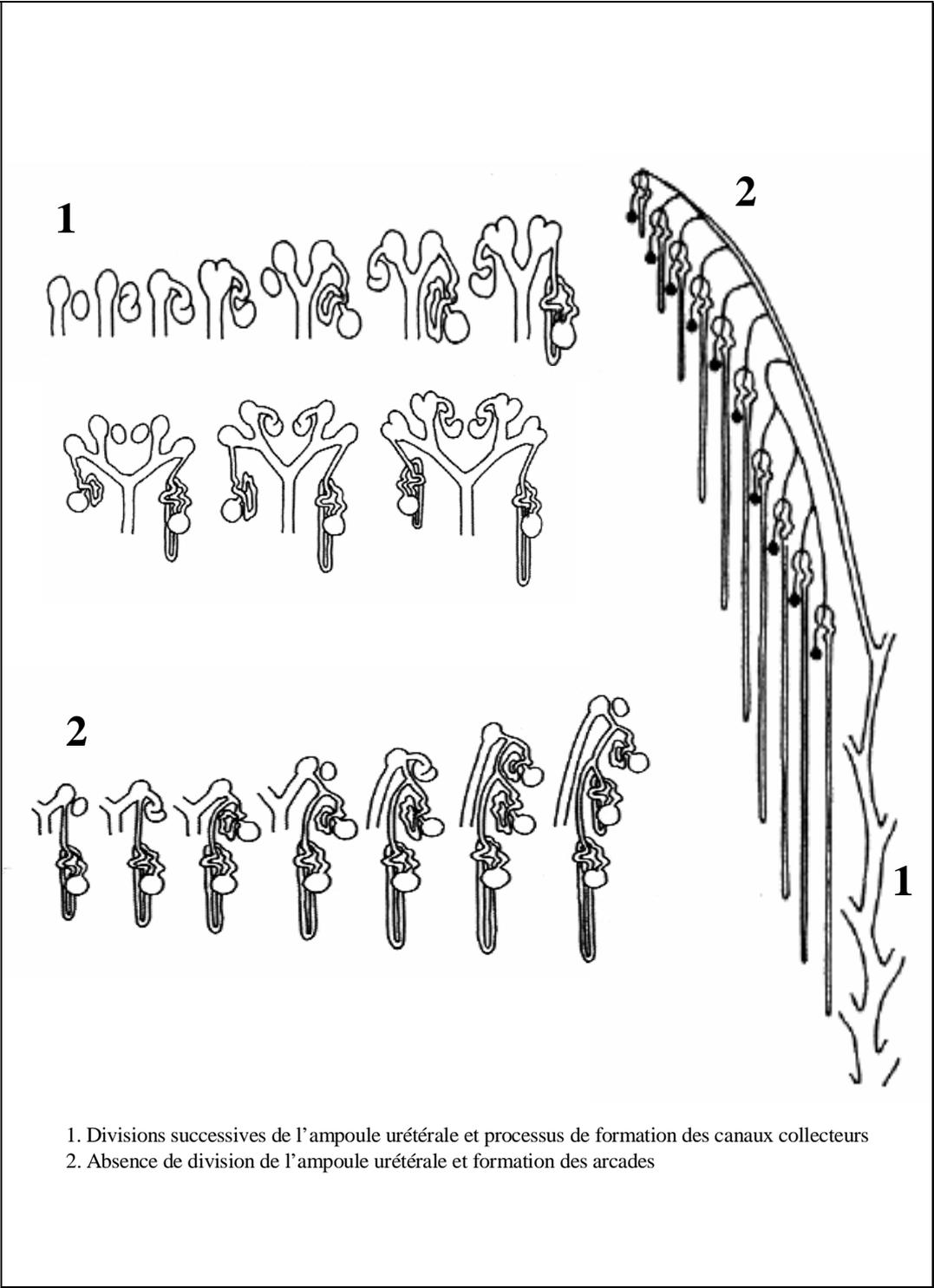
Chez les mammifères, trois types d'organes excréteurs apparaissent successivement au cours du développement rénal : le pronéphros, le mésonéphros, tous deux d'existence transitoire, et le métanéphros ou rein définitif. Ils ont tous les trois une origine embryonnaire commune : le mésoblaste intermédiaire, à partir duquel ils se développent successivement dans le sens crânio-caudal de l'embryon (27,47).

Le mésonéphros, ou corps de Wolff, apparaît dans la portion thoracique de l'embryon. Les néphrons primitifs ne comportent ni anse de Henlé ni tube collecteur, et l'appareil juxtaglomérulaire est absent. Le corps de Wolff dégénère mais son canal collecteur ou canal de Wolff formera avec les tubes mésonéphriques l'ensemble du tractus génital mâle. Ce canal induit aussi la formation du canal de Müller qui constituera le tractus génital femelle. Vers la quatrième semaine, chez l'embryon humain, le canal de Wolff présente un bourgeonnement, c'est le bourgeon urétéral. Il est coiffé d'un mésenchyme indifférencié appelé blastème métanéphrique. C'est de la rencontre de ces deux ébauches, que naît le rein, vers le onzième jour de la vie embryonnaire (E11) chez la souris, vers E12 chez le rat et entre la quatrième et la cinquième semaine chez l'homme (27,47,48).

Le bourgeon urétéral donne naissance aux voies excrétrices de l'urine : uretères, bassinet, grands et petits calices, tubes collecteurs du rein. Au fur et à mesure qu'ils pénètrent le blastème métanéphrogène, les tubes issus du bourgeon urétéral se divisent plusieurs fois par dichotomie formant les premières ramifications des canaux collecteurs et les extrémités dilatées des ampoules induisent, au sein des cellules du mésenchyme, la formation d'un néphron. Les cellules induites du mésenchyme forment des agrégats appelés « vésicules ». Au sein de ces structures, les cellules subissent un certain nombre de divisions mitotiques et se différencient en épithélia viscéral (podocytes), pariétal (capsule de Bowman) et tubulaire (1,35,49).

La figure 1 rappelle la néphrogénèse chez l'homme :

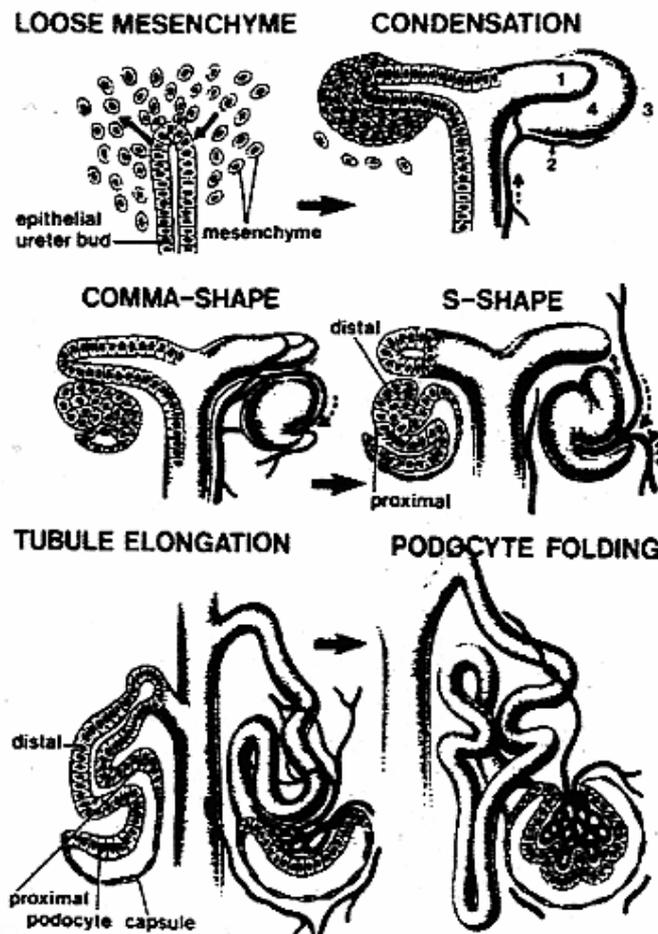
Figure 1 : Schématisation de la néphrogénèse chez l'homme, d'après Osathanondh et Potter.
Pathogenesis of polycystic kidneys. *Arch Pathol.* 1964 ; **77** : 459-512.



A l'exception des canaux collecteurs, les cellules épithéliales du rein se développent à partir du mésenchyme métanéphrique : c'est une population de cellules souches qui a la capacité de se différencier en épithélium et en interstitium (16). Les cellules de l'interstitium, une fois induites par l'ampoule du bourgeon urétéral, se convertissent graduellement en un épithélium primaire appelé « condensât ». Il concerne les cellules du mésenchyme les plus proches de l'ampoule. L'induction directe par le bourgeon urétéral modifie les mécanismes d'adhésion des cellules entre elles. Ces amas se creusent d'une cavité qui prend la forme d'un S, appelé « corps en S ». Après plusieurs étapes de modifications morphologiques, les différents épithéliums du néphron (glomérulaire et tubulaire) sont ainsi formés après croissance et diversification. L'épithélium du tube distal rejoint le tube collecteur (49,50).

La figure 2 montre le branchement du bourgeon urétéral :

Figure 2: Branchement du bourgeon urétéral d'après Eklom P et Weller A : ontogeny of tubulointerstitial cells. *Kidney Int.* 1991 ; **39** : 394-400.



Représentation schématique du développement du rein *in vivo* montrant le branchement du bourgeon urétéral, la condensation du mésenchyme autour de l'ampoule, les étapes de différenciation du néphron à partir des cellules condensées. En haut à gauche, l'interaction entre le bourgeon urétéral et le mésenchyme rénal induit le branchement de l'uretère et la formation d'un condensât (en haut à droite). On distingue les quatre types cellulaires qui contribuent à la formation du néphron: (1) l'épithélium du bourgeon urétéral, (2) l'endothélium en croissance, (3) les cellules mésenchymateuses qui ne participent pas à la formation de l'épithélium du néphron mais qui se différencient en interstitium et (4) les cellules mésenchymateuses du condensât qui se différencient en épithélium néphronique.

Les interactions entre l'ampoule et le mésenchyme environnant permettent à l'ampoule d'agir comme inducteur local de conversion du mésenchyme en épithélium. Réciproquement, la croissance du bourgeon urétéral est, quant à elle induite par un signal provenant du mésenchyme. Ainsi la génération de nombreuses unités néphroniques est réalisée grâce à l'arborisation extensive de l'épithélium du bourgeon urétéral, qui induit un nouvel épithélium partout où le mésenchyme entoure ses ampoules (7,14,29,33). Les cellules du mésenchyme qui ne sont pas induites par le bourgeon urétéral se différencient en interstitium.

Deux processus du développement rénal peuvent être distingués à ce stade. Le premier est la différenciation des cellules souches du mésenchyme en épithélium primaire, et le second est la formation des interstitium à partir des cellules souches non induites (16,55). La formation des cellules endothéliales et mésangiales fait l'objet d'hypothèses controversées et les mécanismes à l'origine de l'apparition de ces cellules dans le rein ne sont pas encore élucidés. Des études morphologiques et expérimentales (16) suggèrent que la croissance et la différenciation des vaisseaux sanguins sont dépendantes du développement de l'épithélium. A l'inverse, le développement des cellules épithéliales et le développement des cellules interstitielles, deux phénomènes dépendants l'un de l'autre, ne nécessitent pas la présence de vascularisation (16).

Ainsi l'organogenèse rénale fait apparaître deux principales caractéristiques : une double origine embryologique résultant de deux groupes cellulaires de potentialité différente, d'une part les cellules mésoblastiques qui donnent naissance aux néphrons et au tissu conjonctif, d'autre part les cellules du bourgeon urétéral ; et une maturation centrifuge quel que soit le stade du développement. Les néphrons les plus superficiels dont les glomérules sont situés à la périphérie du rein sous la capsule sont les néphrons les plus jeunes.

Le rein est donc un tissu hétérogène constitué de différents types cellulaires.

2. Organogenèse rénale : phénomènes d'inductions

Le développement rénal dépend d'une série d'inductions séquentielles et réciproques liées à l'interaction entre l'épithélium du bourgeon urétéral et le mésenchyme indifférencié (55). Si, expérimentalement, on a pu mettre en évidence l'existence de tissus embryonnaires capables de mimer la capacité du bourgeon urétéral à induire le mésenchyme métanéphrique,

ce dernier est le seul à répondre à l'induction en fabriquant des néphrons (49,50). Le mésenchyme, s'il n'est pas induit, subit l'apoptose. L'induction modifie donc le sort du mésenchyme programmé pour la mort cellulaire et l'oriente vers la survie, la prolifération et la différenciation (14).

La formation du bourgeon urétéral dépend d'un signal provenant du mésenchyme et les signaux libérés par le bourgeon urétéral induisent le développement des différents types cellulaires à partir du mésenchyme.

3. Apoptose au cours du développement rénal

L'organogenèse rénale implique pour la mise en place du rein définitif, une augmentation du nombre de cellules rénales, ainsi que la différenciation cellulaire et la morphogenèse, à partir du blastème métanéphrique.

Dans le développement du rein normal, l'augmentation du nombre de cellules est déterminée par la balance entre prolifération et mort cellulaire, qui dans ce contexte est appelé mort cellulaire programmée ou « apoptose » (56). L'apoptose est décrite dans un contexte normal quand elle est accompagnée par une condensation et une fragmentation nucléaire, avec une réduction de la taille cellulaire. Ces modifications sont frappantes en microscopie électronique.

L'apoptose a été mise en évidence au cours du développement rénal normal dans la zone néphrogénique, dans les « corps en S », dans la papille (4,34), ainsi que dans les cellules interstitielles de la médullaire. Al Awqari et Herzlinger (4,34) montrent que les cellules non induites du mésenchyme, qui entourent le nouvel épithélium formé, meurent par apoptose quand elles sont isolées du bourgeon urétral. Il semble exister deux étapes dans la conversion du mésenchyme en épithélium rénal : le sauvetage du mésenchyme et l'induction de la différenciation épithéliale (37).

Le phénomène d'apoptose n'est pas retrouvé dans le mésenchyme indifférencié ni dans les néphrons plus matures au centre du rein. Il semble cependant qu'elle continue à un faible niveau quelques temps après la naissance.

B. Les uropathies obstructives fœtales

1. Définition

L'uropathie obstructive est définie par l'obstruction des voies urinaires, soit au niveau de l'urètre, soit au niveau des deux uretères, empêchant l'urine de s'écouler. Lorsqu'elle survient chez le fœtus, l'uropathie obstructive a des conséquences gravissimes sur le développement du rein fœtal.

2. Les uropathies obstructives congénitales chez l'homme

Les uropathies obstructives congénitales sont des malformations relativement fréquentes. Leur fréquence varie de 1/5000 à 1/25000 naissances. La plus fréquente de ces lésions correspond aux valves de l'urètre postérieur chez le garçon. Le degré de gravité de cette affection est variable ; environ un tiers des enfants meurt avant la naissance, un tiers développe une insuffisance rénale dans l'enfance et un tiers conserve une fonction rénale normale.

Bien que le diagnostic prénatal par échographie soit performant, le pronostic postnatal reste difficile à établir en raison de l'absence de marqueurs de la fonction rénale. La gravité de la malformation est liée au degré de l'atteinte rénale associée. Dans les formes sévères, il existe une anomalie de la différenciation des structures, appelée dysplasie, et une réduction du nombre de néphrons, avec parfois disparition du blastème métanéphrique, témoignant d'un arrêt de la néphrogénèse (13). Les lésions dysplasiques sont caractérisées par la présence de structures tubulaires primitives telles que l'épithélium cubique, entouré de manchons de tissus conjonctif ou fibromusculaire, plus rarement d'éléments cartilagineux, au sein d'un parenchyme rénal à l'architecture désorganisée.

Chez l'homme, les seules données disponibles résultent de l'étude des tissus rénaux prélevés sur des fœtus décédés et ne concernent que les formes les plus graves de la pathologie. Les formes intermédiaires viables, moins sévères correspondant aux enfants qui développeront une insuffisance rénale postnatale, voire une fonction rénale normale, échappent à l'investigation. Il s'est donc avéré nécessaire de mener les investigations sur des modèles expérimentaux.

3. Modèles expérimentaux d'obstruction urinaire fœtale

Le rat, le lapin et la brebis sont parmi les mammifères les plus communément utilisés pour la création de modèle d'uropathie obstructive. Ces modèles diffèrent souvent par plusieurs critères :

1. Le type d'obstruction réalisée :
 - obstruction urinaire unilatérale (OUU) : un seul des deux uretères est obstrué
 - obstruction urinaire bilatérale (OUB) : en général l'urètre est obstrué
2. La période au cours de laquelle l'obstruction est réalisée : fœtale, néonatale, ou postnatale
3. la néphrogénèse spécifique à chaque espèce : la néphrogénèse s'achève avant la naissance chez la brebis et après la naissance chez le rat et le lapin

Les résultats obtenus à partir de ces modèles permettent d'éclaircir certains mécanismes morphologiques et moléculaires qui accompagnent l'obstruction urinaire. Ils ne permettent cependant pas de préciser la nature des événements responsables des uropathies obstructives congénitales. Chez l'animal, la création de l'obstruction peut entraîner des anomalies morphologiques similaires à celles décrites dans les uropathies obstructives congénitales. Il est envisageable aussi que l'obstruction urinaire chez le fœtus humain ne soit pas responsable de toutes les anomalies observées. Une anomalie génique à l'origine de l'obstruction et de l'anomalie de développement rénal n'est pas à exclure.

4. Conséquences de l'obstruction urinaire sur le développement du rein

Chez le lapin, Thomasson et al. (54) mettent en évidence une différence dans la réponse du rein à l'obstruction selon le stade de développement. Lorsque l'obstruction est congénitale, le rein y répond par une altération de croissance, une modification de la différenciation tissulaire et une altération des mécanismes de l'autorégulation rénale. En effet, l'obstruction fœtale se déroule dans un rein dynamique subissant des mécanismes actifs tels que la croissance et la différenciation. C'est également vrai pour les obstructions réalisées chez le rat nouveau-né, car le rein à ce stade, chez cette espèce, est immature (9). L'obstruction urinaire en altérant le déroulement du développement normal du rein altère sa

fonction (43). Mais si l'obstruction est réalisée chez un animal adulte, elle concerne un rein mature et affecte seulement ses fonctions de filtration et d'homéostasie.

Chez les fœtus obstrués, la multiplicité des modèles expérimentaux a permis la mise en évidence d'une réponse du rein à l'obstruction qui se traduit par une altération de la régulation de la croissance rénale et par une altération du processus de différenciation, qui auront pour conséquence une altération de la fonction rénale (44).

a) Conséquences de l'obstruction urinaire sur la croissance rénale

Beck (5) le premier, en 1971, suggère que la régulation de la croissance du rein (poids du rein) est nettement perturbée à la suite d'une obstruction unilatérale fœtale chez la brebis. Les travaux de Glick et al. (24,25) en 1983 et 1985, montrent qu'après obstruction unilatérale (OUU) chez le fœtus de brebis, le rein obstrué à une date précoce (avant le 75^{ème} jour), a un poids réduit par rapport à un rein normal, alors que le rein controlatéral est plus volumineux.

Paradoxalement, alors que Glick montre une diminution du poids des reins obstrués, Hawtrey (33) en 1985, montre une augmentation du poids du rein obstrué après OUU tardive (après le 75^{ème} jour). Ces observations discordantes sont liées à l'âge du fœtus au moment de l'obstruction. En effet une OUU précoce chez le fœtus de brebis, entraîne un retard de croissance du rein obstrué, et par conséquent un poids plus petit qu'un rein normal. Le rein controlatéral subit un phénomène de croissance compensatoire qui ne semble intervenir qu'au cours d'une obstruction précoce. A l'inverse, une OUU tardive, induit une accélération de la croissance du rein obstrué, lequel sera par conséquent plus volumineux qu'un rein normal (43,45,46).

Les mécanismes impliqués diffèrent du modèle postnatal où l'obstruction s'accompagne d'une perte de masse rénale, résultat des phénomènes de nécrose cellulaire et d'apoptose (46).

b) Conséquences de l'obstruction urinaire sur la différenciation rénale

Dès 1971, Beck (5) observe une désorganisation de la structure néphronique et une déformation de l'architecture rénale. Fetterman et al. en 1974 (19), observent une dilatation kystique des tubes collecteurs et des tubules dans un modèle chez le lapin. La dysplasie semble être la conséquence directe de l'obstruction. Pour Beck (5), Glick (25), Steinhart (52),

Gonzales (28) et Peters, l'obstruction rénale altère le développement rénal et a le potentiel de produire une dysplasie. Elle est la conséquence d'une aberration de la régulation normale de la différenciation tissulaire. Deux phénotypes sont observés : un phénotype sévère avec une architecture rénale déformée, un tissu interstitiel excessif, la persistance de cellules mésenchymateuses primitives, des glomérules anormaux et des kystes, et un phénotype moins sévère avec une simple fibrose interstitielle et une dilatation kystique.

c) Conséquences de l'obstruction urinaire sur la fonction rénale

L'uropathie obstructive, par l'hyperpression qu'elle engendre, entraîne des modifications du flux sanguin rénal, de la filtration glomérulaire et de la fonction tubulaire (41). La filtration glomérulaire diminue progressivement après le début de l'obstruction. La pression intra-tubulaire élevée contribue en grande partie à son déclin. Dans les OUU et dans les OUB, la diminution de la filtration glomérulaire est due à une réduction de la capacité individuelle de chaque néphron à filtrer, et aussi à une diminution du nombre de néphrons filtrants. La fonction tubulaire est aussi affectée après l'obstruction. La fraction excrétée de sodium (Fe Na) augmente dans l'urine des fœtus obstrués, signe d'une diminution de la capacité de réabsorption tubulaire (41).

5. Réversibilité des lésions rénales après dérivation anténatale

a) Bilan des études réalisées chez le fœtus humain

Les résultats des séries publiées au cours des dernières années (17,40) n'engagent pas à poursuivre les techniques de dérivations comme la chirurgie fœtale à utérus ouvert : la mortalité reste très élevée (55%), et parmi les survivants, environ la moitié (40%) présentent une insuffisance rénale sévère. L'interprétation de ces données doit cependant rester nuancée (11) ; en effet :

- dans la majorité des séries, seuls les fœtus présentant les uropathies les plus sévères sont opérés, ce qui introduit un biais majeur dans l'analyse ; il est possible que les lésions constituées chez ces fœtus aient atteint un stade déjà irréversible au moment de la dérivation.

- l'âge gestationnel auquel l'intervention a été réalisée est indiqué de façon inconstante; l'efficacité des dérivations réalisées après la fin de la néphrogénèse est incertaine et leurs résultats ne peuvent être pris en considération au même titre que ceux des interventions plus précoces.
- en l'absence de marqueur de la fonction rénale fœtale et de suivi précis de la fonction rénale postnatale, il est impossible de mesurer le bénéfice éventuel de l'intervention sur la fonction rénale.

Deux études plus récentes (12,18) utilisent une approche un peu différente et comparent leurs résultats au pronostic initial, établi à partir de l'analyse de différents paramètres biochimiques de l'urine fœtale. Les résultats de ces études confirment l'inefficacité de la dérivation des formes initialement sévères (12,20), mais suggèrent que certaines formes, considérées comme moins sévères sur la base des résultats de l'urine fœtale, pourraient bénéficier de la dérivation (11) : dans ce groupe, tous les patients opérés ont une fonction rénale postnatale normale alors que deux des cinq fœtus non opérés développent une insuffisance rénale, bien que le liquide amniotique était normal lors de l'évaluation initiale (12). Malheureusement ces résultats n'intéressent qu'un très petit nombre de cas et sont insuffisants pour permettre de proposer de nouvelles indications de ces interventions. La réponse définitive ne pourrait être apportée que par une étude randomisée prospective, où l'intervention serait proposée précocement dans les formes à bon pronostic initial. Sur le plan éthique, la réalisation d'une telle étude est totalement impossible à envisager dans le contexte actuel, étant donné l'insuffisance des arguments disponibles favorables à l'intervention par rapport au risque des complications qu'elle est susceptible d'entraîner. Seule la démonstration expérimentale formelle de la réversibilité des lésions permettrait d'envisager ce type d'étude.

b) Données expérimentales

Bien que le déterminisme des lésions dysplasiques des uropathies congénitales reste discuté, de très nombreuses données expérimentales (44) indiquent que l'hyperpression urinaire, secondaire à l'obstruction, est un élément fondamental qui participe à la constitution des lésions rénales ; de même les troubles vésicaux observés semblent liés aux séquelles vésicales de l'obstacle urétral pendant la vie fœtale (46). La réversibilité des lésions observées est peu documentée, mais certains résultats permettent de l'envisager. Dans une étude

pionnière, Glick met en évidence chez le fœtus de brebis une diminution des lésions morphologiques rénales secondaires à l'obstruction après levée de l'obstacle, à condition qu'elle soit réalisée avant la fin de la néphrogénèse (24) ; malheureusement il s'agit d'une étude essentiellement morphologique, qui ne permet pas préjuger de la préservation ou de l'amélioration du capital néphronique. Chez les fœtus de lapin (39), la réduction néphronique induite dans le rein homolatéral par la ligature de l'uretère est corrigée par la levée de l'obstacle, mais le nombre très restreint de fœtus traités limite la portée de cette étude qui suggère mais ne permet pas d'affirmer la réversibilité de ces lésions. Plus récemment, les effets de la levée de l'obstacle ont été étudiés chez le rat soumis à une ligature unilatérale de l'uretère pendant la période néonatale (9). Alors que les lésions rénales tubulaires et interstitielles apparaissent partiellement réversibles, le nombre de glomérules, réduit de 60% après cinq jours de ligature n'est pas normalisé et reste diminué de 40% un mois après la levée de l'obstacle. Les contradictions apparentes de ces deux dernières études pourraient être liées à la différence de la date de la levée de l'obstacle dans chacun des modèles utilisés. Chez le lapin, la levée d'obstacle est réalisée bien avant l'achèvement de la néphrogénèse, à une période où le potentiel inductif n'est pas épuisé ; chez le rat elle est tardive, quelques jours seulement avant la fin de la néphrogénèse dans cette espèce. Le tableau 1 résume les différents travaux expérimentaux d'obstructions urinaires fœtales réalisés chez l'animal.

Tableau 1 : Modèles expérimentaux d'obstructions urinaires fœtales. D'après Peters CA, Obstruction of the fetal urinary tract. *J Am Soc Nephrol.* 1997 ; **8** :653-63.

OUU : obstruction urinaire unilatérale ; OUB : obstruction urinaire bilatérale ; OBV : obstruction basse de la vessie

POULET	Berman et Maizels. 1982	Création d'une OUU chez l'embryon de poulet
RAT	Wells. 1946	Modèle d'OUU et OBV
	Friedman et al., 1979	Modèle d'OUU congénitale à génétiquement spontané
	Boineau et al., 1987	Modèle présentant une OUU congénitale
LAPIN	Thomasson et al., 1970	Modèle d'OUU à 23 jours de gestation
	Fetterman et al., 1974	Modèle d'OUU de 19 à 29 jours de gestation
	Mc Vary et al., 1989	Modèle d'OUU à 25 jours de gestation
OPOSSUM	Steinhardt et al., 1988,1990,1995	Modèle d'OUU "fœtale" dans la poche marsupiale
BREBIS	Beck. 1971	Modèle d'OUU et OUB à 56 et 75 jours de gestation
	Tanagho. 1972	Modèle d'OUU de 70 à 75 jours de gestation
	Glick et al., 1983	Modèle d'OUU de 55 à 60 jours de gestation
	Hawtrey et al., 1985	Modèle d'OUU partielle
	Bellinger et al., 1986	Modèle d'OUU avec déligature et évaluation fonctionnelle
	Ward et al., 1989	Modèle d'OUU et OUB
	Pringle et Bonsib. 1988	Modèle d'OUU et OBV
	Gonzales et al.,1990	Modèle d'OBV
	Kim et al., 1992	Modèle d'OBV partielle
	Bogaert et al., 1994 et 1995	Modèle d'OBV partielle
Peters et al., 1992	Modèle d'OUU, OUB et OBV à 56 jours de gestation et obstruction partielle à 75 et 90 jours	
CHIEN	Javadpour et al., 1974	Modèle d'OBV

III. Objectifs de l'étude et Résultats attendus

Le but de l'étude est d'établir le degré de réversibilité fonctionnelle et morphologique des lésions rénales et vésicales induites par l'hyperpression urinaire sur le développement de ces structures, en fonction de la durée de l'obstruction et de la date de la levée de l'obstacle par rapport à la néphrogénèse.

Les études préliminaires montrent que la mise en place d'un obstacle urétral à 60 jours de gestation (8,38) avant la fin de la néphrogénèse chez les fœtus de brebis reproduit de nombreuses caractéristiques des uropathies congénitales : au plan morphologique, une dilatation urétéro-pyélocalicielle bilatérale et une dilatation vésicale (100% des cas) avec une hydronéphrose (50%) ou une dysplasie (50%) associée à une fibrose interstitielle (100%); au plan fonctionnel, une diminution du débit de filtration glomérulaire et de la réabsorption sodée.

Dans ce modèle d'obstruction urétrale chez la brebis, les lésions de dysplasies sont moins sévères que celles observées au cours des uropathies congénitales ; en particulier certaines lésions caractéristiques des dysplasies de type II, comme les îlots de cartilage , ne sont pratiquement jamais retrouvées. Cependant il a été montré que les anomalies observées présentent les caractères fondamentaux des dysplasies congénitales, et associent des anomalies de la différenciation à un arrêt de la néphrogénèse, entraînant une réduction néphronique (21). Elles s'accompagnent d'une diminution de la prolifération cellulaire et d'une augmentation de l'apoptose dans la zone néphrogénique suggérant un arrêt prématuré de l'induction néphronique.

L'indication de la levée d'obstacle repose sur la réversibilité de ces phénomènes. Dans une étude préliminaire, une dérivation vésico-amniotique à 90 jours est réalisée chez 4 fœtus obstrués à 60 jours et les lésions observées à 120 jours de gestation sont comparées à celles d'un groupe de fœtus non dérivés du même âge (38). Les résultats montrent un nombre significativement plus important de glomérules dans le groupe dérivé, suggérant la réversibilité de l'arrêt de la néphrogénèse.

Au terme de cette étude, nous espérons :

- Confirmer les résultats de l'étude préliminaire précédente, et montrer que la levée de l'obstacle avant la fin de la néphrogénèse permet non seulement de diminuer les anomalies morphologiques mais surtout d'inverser le processus de réduction néphronique et donc de préserver le potentiel rénal postnatal.
- Préciser les indications de dérivation par rapport au terme, en comparant le degré de réversibilité par rapport à l'âge gestationnel. C'est dans l'optique de la faisabilité chez l'homme que les dates de levée de l'obstruction sont choisies relativement tardives, étant donné le délai habituel de découverte des uropathies congénitales. Il est capital de déterminer le degré de réversibilité à l'arrêt de la néphrogénèse : l'irréversibilité des lésions constituées à cette date supprimerait l'indication des dérivations après 30-32 semaines.
- Déterminer la valeur prédictive des analyses biochimiques de l'urine fœtale en comparant leur évolution avant et après dérivation avec les autres éléments d'appréciation de la fonction rénale fœtale, en particulier le capital néphronique.

IV. Matériels et méthodes

A. Choix du modèle animal

Nous avons choisi de réaliser cette étude chez la brebis (PréAlpes) en raison de la bonne compliance utérine de cet animal, de son poids (60 à 65 Kg), et de la taille des fœtus (2 à 3 Kg à la naissance), compatible avec l'utilisation de matériel chirurgical semblable à celui utilisé chez le fœtus humain. L'utérus, bicornue, présente une bonne compliance qui permet de l'extérioriser hors de l'abdomen, il est de type cotylédonaire, facile à inciser et permet une extraction partielle de la partie postérieure du fœtus. Le choix de l'espèce était d'autant plus justifié, que l'espèce ovine a en commun avec l'homme une néphrogénèse achevée avant la naissance. La durée de la gestation chez le mouton est de 145-147 jours et la disparition du blastème métanéphrique, indicateur de la fin de la néphrogénèse se situe vers le 105^o jour.

Dans le modèle expérimental mis au point par les équipes précédentes en 1993 (8) chez le fœtus de brebis, les effets de l'obstruction bilatérale précoce à 60 jours de gestation, c'est à dire au début de la néphrogénèse, sont comparés à ceux observés après levée de l'obstacle par dérivation vésico-amniotique réalisée au cours de la néphrogénèse, au 75^o et 90^o jour de gestation ou à la fin de la néphrogénèse, à 100 jours de gestation.

Ces effets sont analysés à deux niveaux :

1. Morphologique : analyse macroscopique et microscopique, qualitative et quantitative des différentes structures rénales et vésicales.
2. Fonctionnel : Mesure du débit de filtration glomérulaire, analyse biochimique de l'urine.

Les résultats sont comparés aux données déjà obtenues établissant le développement normal de ces paramètres dans l'espèce animale étudiée.

B. Groupes d'animaux

Des brebis de type PréAlpes (n=29), provenant de l'Institut National de Recherche Agronomique de Brouessy (INRA) ont été utilisées. Leur poids moyen était de 61 +/- 0,6 kg, leur âge moyen de 2,5 +/- 1,4 ans. Leur âge gestationnel était connu puisque l'ovulation avait été induite et les brebis fécondées par insémination artificielle. Elles ont été maintenues à la ferme expérimentale du CERA (Centre d'Etude et de Recherche Appliquée, Institut Mutualiste Montsouris Paris 14^{ème}) à Bligny jusqu'à la date de l'intervention prévue.

Tous les fœtus ont été obstrués dans un premier temps à 60 jours de gestation. Puis nous avons distingué les animaux qui ont été sténosés et étudiés à différents temps, de ceux qui ont été dérivés par la pose d'un shunt vésicoamniotique (pose de la sonde de Rodeck). Le protocole envisagé comportait donc cinq groupes d'animaux :

Groupe 1 : Fœtus **obstrués à 60 jours** de gestation **étudiés à 75** (n=2), **90** (n=8), **100** (n=2) ou **120** jours de gestation, au moment de la levée de l'obstacle. Ce groupe porte l'abréviation **ST 75** pour les fœtus sténosés à 60 jours et étudiés à 75 jours, **ST 90** pour ceux qui sont étudiés à 90 jours, **ST 100** pour les étudiés à 100 jours et **ST 120** pour les étudiés à 120 jours.

Groupe 2 : Fœtus **obstrués à 60 jours** de gestation, **dérivés à 75 jours** (n= 13) de gestation, **étudiés à 120 jours** de gestation. Ce groupe porte l'abréviation **SH 75**.

Groupe 3 : Fœtus **obstrués à 60 jours** de gestation, **dérivés à 90 jours** (n=12) de gestation, **étudiés à 120 jours** de gestation. Ce groupe porte l'abréviation **SH 90** .

Groupe 4 : Fœtus **obstrués à 60 jours** de gestation, **dérivés à 100 jours** (n=7) de gestation, **étudiés à 120 jours** de gestation. Ce groupe porte l'abréviation **SH 100**.

Groupe 5 : Fœtus **témoins non obstrués** étudiés à 120 jours de gestation. Ce groupe porte l'abréviation **T 120**. Les témoins T120 sont issus des protocoles précédents (n= 11)

Dans la mesure du possible les fœtus témoins étaient les fœtus jumeaux non opérés du groupe 1 et les fœtus témoins des protocoles précédents (T120 n=11), afin de réduire le nombre de brebis utilisées. Les fœtus obstrués à 60 jours, étudiés à 120 jours étaient ceux étudiés dans la série précédente (ST120 n=11) (38).

C. Protocole opératoire

1. Anesthésie, soins pré et post-opératoires

Les brebis, de race « Pré-Alpes », ont été placées au sein de la ferme expérimentale afin de s'acclimater au nouvel environnement. La veille de l'intervention l'animal était transporté au CERA et laissé à jeun. Dans le laboratoire de recherche, les règles du Guide for the Care and Use of Laboratory animals (National Institutes of Health) ont été suivies.

Nous avons prémédiqué les brebis à l'aide de midazolam (HypnovelND) à la dose de 0,5 mg/kg en bolus intraveineux. Un cathéter veineux central (Seldiflex 5 F Plastimed) était placé sur l'animal en position assise. Puis l'induction était obtenue à l'aide de Thiopental sodique (NesdonalND) jusqu'à une myorelaxation complète. La dose moyenne nécessaire a été de 7 mg/kg. Après intubation par une sonde à ballonnet de 10 mm (Portex), nous avons placé une sonde gastrique afin d'éviter tout risque de météorisation.

L'animal, positionné en décubitus dorsal, était ventilé (Siemens Servo 900) à 15 ml/kg pour une fréquence moyenne de 15 ventilations par minute à cent pour cent en oxygène. L'anesthésie était entretenue grâce à de l'isoflurane. Il était perfusé, 10 ml/kg/heure de Ringer Lactate, et monitoré (moniteur Siemens Sirecust 1281) : électrocardiogramme, pose d'une pression artérielle invasive à l'oreille, température oesophagienne. Une antibioprophylaxie a été administrée sous forme de Spécilline à la dose de 1 million d'unité dans 500 ml de perfusion.

Une échographie pré-opératoire a été réalisée systématiquement.

La préparation du champ opératoire s'est faite de façon classique : tonte et désinfection à l'aide de polyvidone iodée (BétadineND).

Une analgésie post-opératoire à base de bruprénorphine (TemgésicND) 0,3 mg en intramusculaire était instaurée. L'animal était ramené à la ferme le lendemain. L'antibiothérapie était poursuivie à l'aide d'amoxicilline (ClamoxylND) 1g toutes les douze heures pour la sténose pendant 5 jours. Nous complétions cette antibiothérapie après la dérivation des voies urinaires par de l'enrofloxacin (BaytrilND) 5 mg/kg. Nous associions

également un traitement tocolytique de salbutamol (SalbumolND, 10 mg toutes les huit heures) pendant huit jours.

2. Techniques chirurgicales

a) Chez la mère

Nous avons réalisé une laparotomie médiane entre l'ombilic et la mamelle afin d'accéder à l'utérus.

Nous repérons au préalable les cotylédons et le fœtus. Des points de traction étaient placés sur l'utérus au polyglactine 910 2/0 (VicrylND). Ces derniers étaient soulevés et les membranes vitellines ouvertes et maintenues par des points de traction supplémentaires. A l'aide d'une poche à urine stérile nous avons recueilli de façon déclive le liquide amniotique, en prenant soin de ne pas en perdre. La poche était placée ensuite dans la cavité abdominale de la brebis afin de maintenir le liquide amniotique à la température adéquate. La partie postérieure du fœtus était alors exposée et maintenue par des bandelettes de compresses humides.

Le fœtus et le liquide amniotique étaient replacés. L'étanchéité de l'utérus était rétablie à l'aide de Vicryl 2/0 par deux surjets, le premier perforant et le second enfouissant.

Nous refermions la paroi abdominale de la mère par des points simples au Vicryl décimale 5, un surjet sous cutanée au Vicryl décimale 3 et un surjet cutané au FilapeauND 2/0 terminaient la fermeture de l'incision.

b) Chez le foetus

(1) Obstruction à 60 jours

Nous avons pratiqué l'obstruction des voies urinaires à l'aide de clips pour ligatures (Hemoclip Plus medium WeckND). Chez le mâle, le clip était placé directement sur le pénis. Chez la femelle une laparotomie médiane devait être réalisée et le clip placé sur le col vésical. Nous suturions alors l'abdomen du fœtus à l'aide de ProlèneND 5/0 par un surjet. Dans les deux cas l'ouraque était occlus au sein du cordon ombilical.

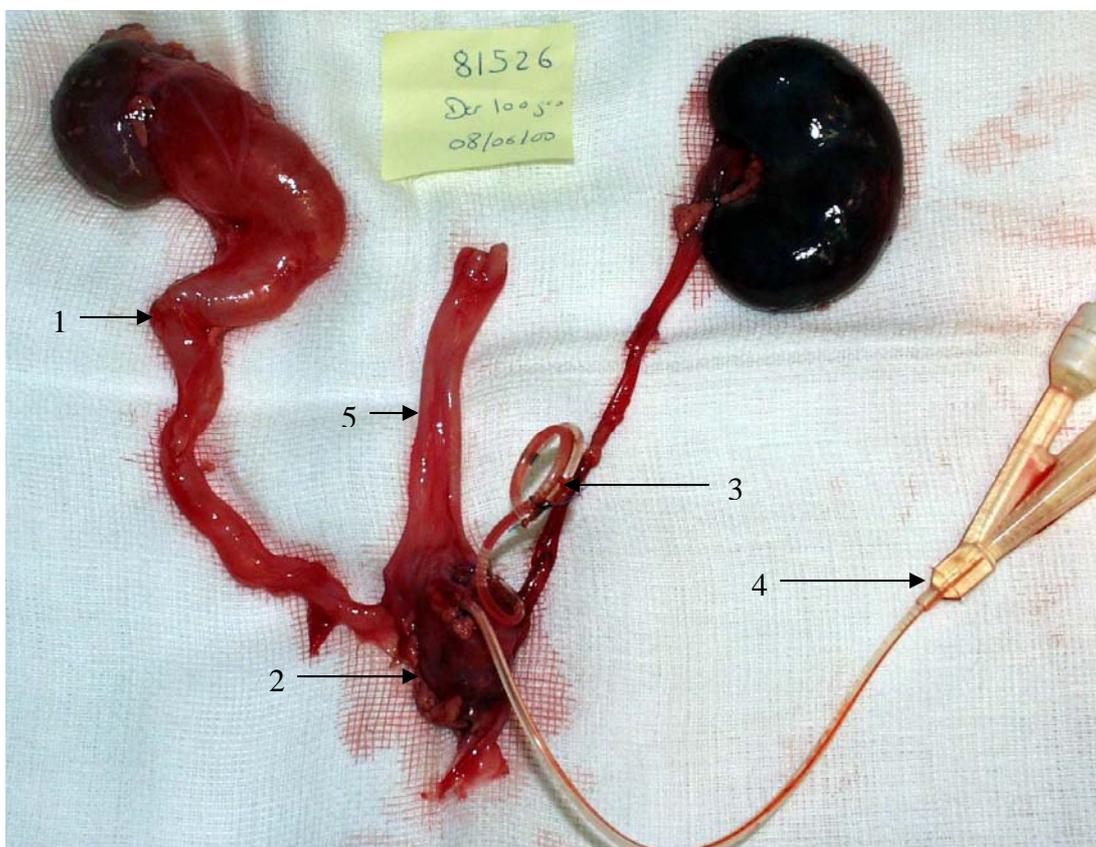
(2) Dérivation des voies urinaires par pose d'une sonde vésico-amniotique

Nous pratiquons les dérivations 15, 30 ou 40 jours après l'obstruction. Le fœtus présentait généralement un abdomen distendu par la stase urinaire. Nous placions une suture en bourse sur la vessie du fœtus. Une extrémité du shunt de Rodeck (Rocket of London, Watford, UK) était alors introduite dans la vessie et la bourse refermée autour de la sonde. Un laçage chinois entre la paroi du fœtus et la sonde permettait de la maintenir en place. Nous vérifiions que l'urine s'écoulait librement dans la cavité amniotique, nous en prélevions un échantillon et nous vidions la vessie complètement.

La figure 3 montre un appareil urinaire de fœtus avec la sonde de Rodeck en place.

Figure 3 : Appareil urinaire de fœtus avec sonde de Rodeck en place.

(1) : mégadolichouretere ; (2) : vessie ; (3) : sonde de Rodeck ; (4) : sonde de Foley pour le recueil des urines au cours de l'étude fonctionnelle ; (5) : canal de l'ouraue.



3. Etude fonctionnelle des conséquences de l'obstruction des voies urinaires chez le fœtus et de l'impact de la dérivation *in utero*

A la fin de la période d'étude, au moment de la levée d'obstacle pour le groupe 1, ou à 120 jours de gestation pour les groupes 2, 3 et 4, nous avons étudié la fonction rénale. La partie inférieure du fœtus était extériorisée, un cathéter introduit dans l'artère fémorale (SeldiflexND 3 F) et relié au moniteur de pression. Nous obtenions ainsi en parallèle les pressions artérielles de la mère et du fœtus. Puis nous introduisions dans la vessie une sonde de Foley pédiatrique 6F (Porges) à laquelle était relié un prolongateur de 1m. Nous remettions alors le fœtus en place et refermions succinctement la paroi abdominale maternelle en laissant sortir la voie artérielle et la sonde urinaire du fœtus. Toutes les demi-heures nous réalisions un enregistrement des pressions artérielles, nous prélevions des échantillons de sang et d'urines du fœtus et du sang de la mère. Les prélèvements étaient envoyés au laboratoire de l'I.M.M (Institut Mutualiste Montsouris, Paris XIV^{ème}) pour le dosage des différents paramètres biochimiques et des gaz du sang.

Le débit de filtration glomérulaire fœtale, estimé par la clairance de la créatinine fœtale (Cl créat) et l'excrétion fractionnelle de sodium (FE Na) ont été mesurés *in utero* à partir des concentrations de créatinine et de sodium mesurées dans le plasma (P créat, P Na) et les urines du fœtus (U créat, U Na), selon les formules classiques :

- $Cl\text{ créat} = (U\text{ créat} \times \text{débit urinaire}) / (P\text{ créat})$
- $FE\text{ Na} = (U\text{ Na} \times \text{débit urinaire}) / (P\text{ Na} \times Cl\text{ créat})$

Les premières urines ont été prélevées pour la mesure de la concentration initiale de sodium (U Na à T0), puis les urines ont été recueillies toutes les 30 minutes. Pour chaque fœtus, la valeur représente la moyenne de 7 valeurs mesurées toutes les 30 minutes.

Les concentrations de créatinine et d'électrolytes dans le plasma et l'urine ont été déterminées par les méthodes de routine du laboratoire de l'IMM.

4. Prélèvement

A la fin de l'étude fonctionnelle, nous avons euthanasié le foetus par injection de thiopental et nous l'avons extrait de l'utérus. Il a ensuite été pesé. Nous avons prélevé

l'appareil urinaire, pesé et mesuré les reins qui ont ensuite été coupés en deux. La première moitié a été fixée dans du formol et envoyée au Docteur Gasser à Strasbourg pour l'étude morphométrique. La seconde moitié a été coupée dans le sens sagittal en plusieurs morceaux. Une partie était fixée dans du liquide de Bouin pH=7.4 , une partie était fixée dans du paraformaldéhyde à 4% préparé extemporanément(4g de PFA pur (Prolabo) pour 100 ml de PBS chauffé à 70° Celsius) . Enfin les derniers morceaux étaient congelés à -80°C dans des cassettes en plastique dur contenant du tissu TEK ou dans des cryotubes. La congélation des tissus était obtenue par immersion dans de l'isopentane maintenu à -30°C par un mélange de carboglace et d'alcool absolu. Les tissus fixés dans le Bouin et le PFA étaient rincés au bout de 24 heures par du PBS et de l'alcool absolu respectivement. Puis 24 heures plus tard ils étaient inclus en paraffine puis coupés à 5µm et déposés sur des lames syalinisées Superfrost II (CML).

D. Etude morphologique

A 120 jours de gestation, à la fin de l'étude de la fonction rénale fœtale, les fœtus étaient extraits par césarienne, mesurés et pesés, la vessie et les reins prélevés selon la technique précédemment décrite. L'analyse histo-morphométrique rénale a été effectuée en utilisant la classification d'Osathanondh et Potter (42).

- **Dysplasie de type II** : désorganisation complète de l'architecture rénale, avec présence de kystes de taille variable, séparés par des zones de tissu conjonctif. Présence de rares néphrons.
- **Dysplasie de type IV** : structure rénale conservée dans l'ensemble, distension pelvienne et de la loge rénale. Présence de kystes corticaux glomérulaires ou tubulaires.
- **Hydronéphrose** : distension rénale sans dysplasie.

Le compte du nombre de glomérules par coupe frontale a été effectué par Bernard Gasser à l'Institut de Pathologie de Strasbourg selon la technique morphométrique.

Pour chaque rein on déterminait le nombre de glomérules immatures et le stade de la néphrogénèse sur l'ensemble de la coupe.

Les stades initiaux du développement glomérulaire étaient exclus du comptage. Seuls étaient comptabilisés les glomérules primaires ou matures contenant à la fois des espaces de Bowman distincts et des floclis vascularisés.

La moyenne du nombre de glomérules relevés sur 7 champs de microscopes successifs a été déterminée en utilisant un microscope de type « Reichert-Jung microstar 10 » avec des optiques de 10 et une lentille plane de 10/0.25 (correspondant à une surface de champs microscopique de 3,14116mm²) : c'est le nombre de glomérules par section (n/section). Après détermination de la surface corticale, la densité glomérulaire est donnée par la formule : Nombre moyen de glomérules par mm² X Surface corticale.

E. Méthode statistique utilisée

Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne (m) et déviation standard (SD) ; l'utilisation de l'écart standard à la moyenne ($SEM = \text{Déviation standard} / \sqrt{n-1}$) au lieu de la déviation standard, en particulier sur les schémas, est précisée dans la légende.

La comparaison globale des données entre les différents groupes a été faite par analyse de variance multifactorielle (ANOVA) suivie, lorsqu'elle est apparue significative, d'un test de Fisher et d'un test de t de Dunnett, en raison des faibles effectifs des groupes étudiés. Les coefficients de corrélation entre 2 groupes de données ont été calculés par analyse de régression linéaire et leur signification établie par le test de Fisher. Un seuil de probabilité d'erreur inférieur à 5% a été retenu comme significatif. Ces analyses ont été réalisées en utilisant le logiciel de statistiques « Statview 4.5 » pour PC.

V. Résultats de l'étude

A. Suivi du taux de mortalité des fœtus

Le taux de mortalité globale des 44 fœtus dans cette série a été de 49,3%. Le détail de la répartition du taux de mortalité des fœtus en fonction des différents groupes et du type d'intervention pratiqué ainsi que du moment du décès (*in utero* ou avortement) sont rapportés dans le tableau 2. Globalement, pour les fœtus sténosés non dérivés le taux de mortalité était d'environ 46,8% ; la mise en place du shunt aggrave la mortalité d'environ 22%.

Tableau 2 : Taux de mortalité (%) dans les différents groupes.

	Nombre de vivants	Taux de mortalité	Taux de mortalité Fœtus mâles	Taux de mortalité Fœtus femelles	Décès poststénose	Mort post shunt	Mort in utero	Avortement
	(n)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
T120 (n=11)	11	0						
ST 120 (n=20)	11	45			100			
ST75 (n=2)	1	50	100		100		100	0
ST90 (n=8)	4	50	60	33,3	100		50	
ST100 (n=2)	1	50		100	100		0	100
SH75 (n=13)	3	77	71,4	83	50	50	50	50
SH90 (n=12)	5	58,3	55	66	29	71	43	57
SH100 (n=7)	2	71	100	60	80	20	20	80

B. Difficultés chirurgicales

1. Complications maternelles

Au début de notre expérience nous avons rencontré des difficultés au cours des premières interventions sur les brebis gestantes (3/29):

- Volvulus de l'utérus au cours de la réintégration de la matrice ayant entraîné la mort de la brebis par iléus réflexe (1 brebis)
- Eventration de paroi sur la laparotomie médiane chez la brebis (2 brebis)

2. Complications fœtales liées à la sténose

Les complications fœtales ont été :

- Laparoschisis survenus chez les femelles dus à la technique d'obstruction vésicale qui nécessite une courte laparotomie médiane en regard du col vésical pour la mise en place du clip (4 fœtus)
- Hémorragie de paroi au cours de la pose du clip vésical chez 2 fœtus femelles
- Fuite partielle d'urine par la vulve pour 1 femelle
- Fistule pénienne en amont du clip chez un fœtus mâle
- Infection à type de chorioamniotite ayant entraîné la mort du fœtus et l'avortement de la brebis
- Syndrome de Prune Belly (mégavessie, aplasie des muscles pariétaux de l'abdomen, hypoplasie pulmonaire, dysplasie rénale, cryptorchidie et déformations des membres postérieurs) chez 2 fœtus du groupe 1 (1 mâle et 1 femelle), conséquence d'une insuffisance rénale majeure, responsable de la mort des 2 fœtus et de l'avortement des brebis.

3. Problèmes liés à la pose du cathéter vésico-amniotique

Les problèmes liés au shunt ont été :

- Difficulté de mise en place du cathéter vésico-amniotique à 75 jours de gestation. Cette difficulté était liée à l'incongruence de taille entre la vessie du fœtus de 75 jours et la taille de la spire. Dans ce groupe un seul échec de pose de cathéter a été observé.
- Perte du shunt vésico-amniotique chez les fœtus survivants. Sur les 11 cathéters vésico-amniotiques posés, 6 ont été perdus, retrouvés dans le liquide amniotique au moment de la césarienne.
- SH75 : 3 cathéters posés, 3 cathéters perdus, 1 fistule urétrale
- SH90 : 6 cathéters posés, 2 perdus, 4 en place perméables lors de la césarienne
- SH100 : 2 cathéters posés, 1 perdu, 1 cathéter en place perméable lors de la césarienne

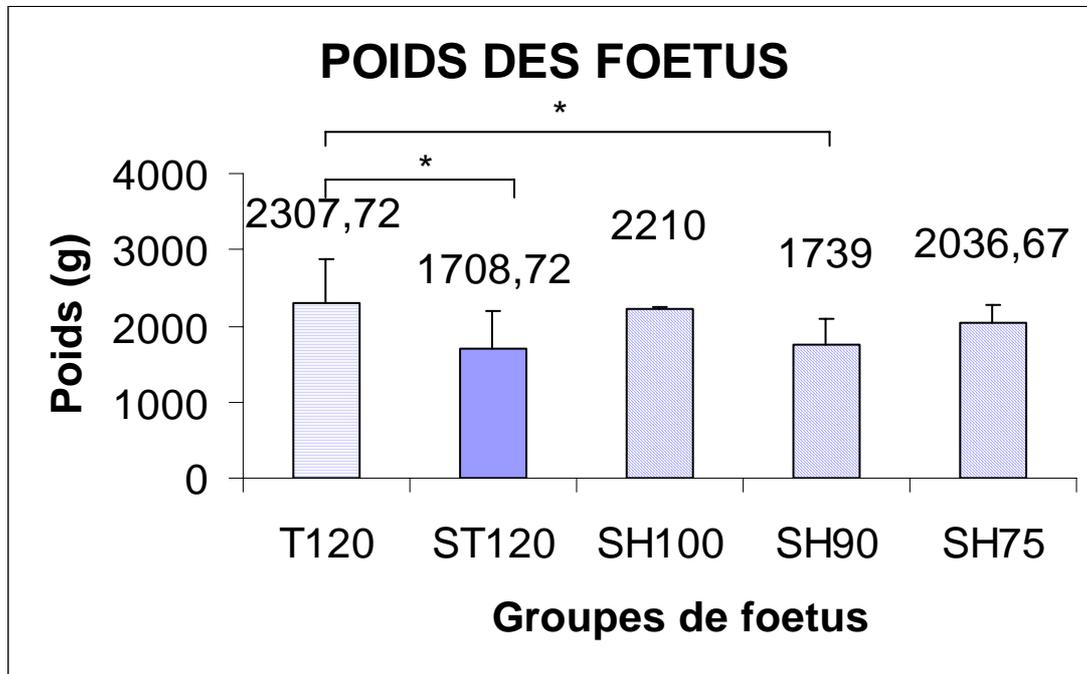
C. Effets sur la croissance fœtale

L'étude du poids des fœtus de même terme (120 jours), a montré que le poids des fœtus sténosés à 60 jours étudiés à 120 jours (ST120) était significativement inférieur à celui des fœtus témoins (T120) de même terme ($p < 0,0007$). Il n'existait pas de différence significative entre les groupes de fœtus sténosés à 60 jours dérivés à 75 (SH75) ou 100 (SH100) jours et les fœtus témoins (T120). Par contre, il existait une différence significative ($p < 0,03$) entre les fœtus sténosés à 60 jours dérivés à 90 jours et les fœtus témoins (T120).

Les valeurs des différents poids des fœtus sont regroupées dans le graphique suivant :

Figure 4 : Poids (g) des fœtus à 120 jours de gestation dans les différents groupes.

* : différences significatives ($p < 0,05$)



D. Etude morphologique des reins

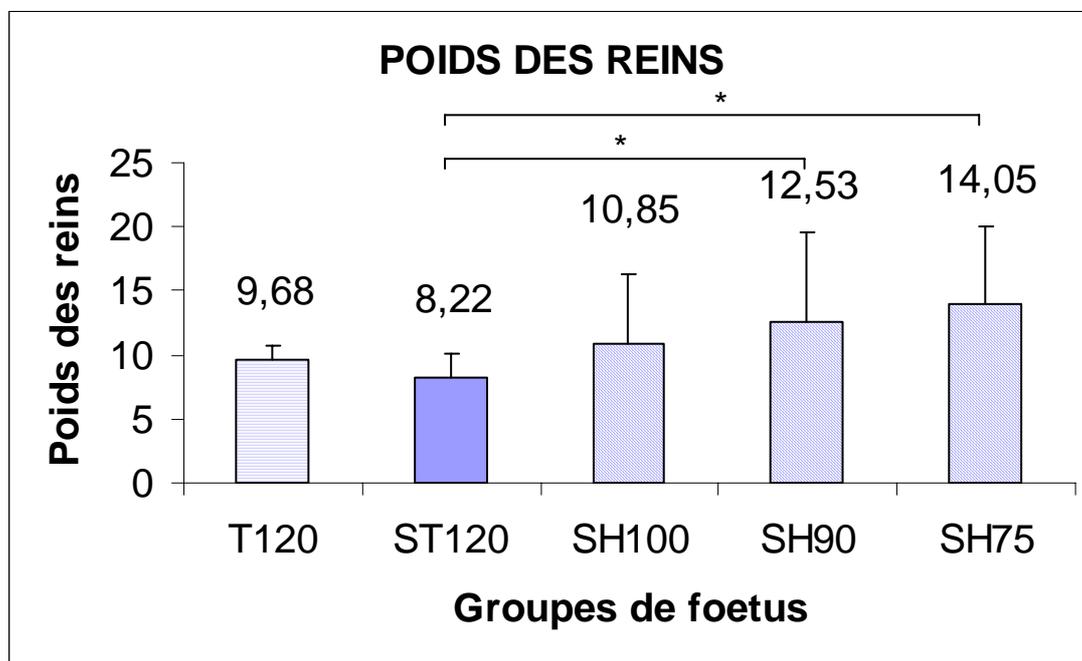
1. Poids des reins

Nous n'avons pas constaté de différence significative entre les poids des reins des fœtus des différents groupes. Globalement, il semble que les reins des fœtus dérivés à 75 et 90 jours (SH75 ET SH90) soient plus gros que ceux des fœtus non dérivés ($p < 0,014$ et $p < 0,027$).

Les valeurs des différents poids des reins des fœtus sont regroupées dans le graphique suivant :

Figure 5 : Poids des reins (g) à 120 jours de gestation dans les différents groupes.

* : différences significatives ($p < 0,05$)



2. Aspect macroscopique des reins

Chez les fœtus survivants, l'aspect macroscopique des reins prélevés est regroupé dans le tableau suivant :

Tableau 3 : Aspect macroscopique des reins obstrués au cours du prélèvement.

* hypoplasie et megadolichouretère (dilatation et allongement de l'uretère) d'un côté associé à un uretère normal et une hydronéphrose de l'autre côté.

	N	Hydronéphrose	Hypoplasie	Rein normal	Ascite	Prune Belly
SH100	2	1*	1*	1		
SH90	5	1		4		
SH75	3	2		1	1	1 partiel
ST120	11	7	1	3		
ST100	1			1	1	
ST90	4	3		1		
ST75	1			1		

3. Aspect microscopique des reins

a) Analyse morphologique

Les effets observés à 120 jours, de l'obstruction des voies urinaires à 60 jours de gestation sur le rein fœtal ont été variables, allant de la simple hydronéphrose à la dysplasie sévère. Nous avons observé une hydronéphrose dans 10 cas (47,6%), des perturbations morphologiques plus sévères à type de dysplasie de type IV dans 5 cas (23,8%), et dans un seul cas une dysplasie de type II (4,8%). Pour les fœtus dérivés, la morphologie rénale était normale dans 5 cas (50%), à type d'hydronéphrose dans 3 cas (30%), ou de dysplasie de type IV dans 2 cas (20%) pour les fœtus dérivés à 90 ou 100 jours.

Si l'on prend en compte l'analyse des résultats en fonction du nombre et de la densité glomérulaire, nous remarquons que chez les fœtus obstrués non dérivés (ST120), le nombre moyen de glomérules et la densité glomérulaire étaient significativement inférieurs ($p=0,0035$) à celui des témoins (T120). Pour les fœtus dérivés, le nombre de glomérules et la densité glomérulaire étaient plus élevées que pour les fœtus obstrués non dérivés de même terme (ST120). De plus, les fœtus shuntés (SH75, SH90, SH100) avaient un nombre de glomérules qui n'était pas différent de celui des fœtus témoins (T120).

Tableau 4 : Poids des reins (g), nombre de glomérules/section (n/section), densité glomérulaire (n/mm^2) et morphologie des reins dans les différents groupes.

Groupe	N	poids des reins (g)	nombre de glomérules (n/section)	densité glomérulaire (n/mm^2)	morphologie			
					II	IV	H	N
T120	11	9,7+/-1,1	1852+/-249	13,3+/-1,5	0	0	0	11
ST120	11	8,2+/-1,8	1379+/-503	9,6+/-2,9	1	3	7	0
ST100	1	3,0	1003	9,1	0	0	1	0
ST90	4	3,5+/-1,6	776+/-308	8,9+/-1,5	0	0	3	1
ST75	1	6,0	1169	13,2	0	0	1	0
SH100	2	10,8+/-5,4	1701+/-365	10,4+/-0,8	0	1	1	0
SH90	5	12,5+/-7	1754+/-193	10,7+/-2,9	0	1	0	4
SH75	3	14,0+/-6	1534+/-246	9,7+/-2,1	0	0	2	1

b) Compte de glomérules en fonction du type morphologique à 120 jours

Une seconde analyse a pu être réalisée, fondée sur les lésions morphologiques observées à 120 jours. Les résultats sont rapportés dans le tableau suivant :

Tableau 5 : Poids des reins (g), nombre de glomérules (n/section) et densité glomérulaire (n/mm^2) en fonction de la morphologie rénale.

Groupe glomérulaire	N	Poids du rein (g)	Nombre de glomérules (n/section)	Densité glomérulaire (n/mm^2)
H	10	10,1+/-4	1688+/-230	10,8+/-2,8
II	1	3,9	382	6
IV	5	13+/-6,4	1190+/-345	7+/-1,7
N (sans les témoins)	5	9,4+/-3,6	1747+/-798	11,5+/-1,5
N (avec les témoins)	16	9,6+/-2	1832+/-253	12,8+/-1,7

L'analyse de ce tableau montre que les reins atteints de dysplasie de type II, avaient un poids inférieur à celui des reins témoins, ainsi qu'un nombre et une densité glomérulaire nettement diminuée ($p=0,004$ et $p=0,00015$). Le nombre de glomérules et la densité des reins atteints de dysplasie de type IV étaient plus diminués que ceux des reins avec une simple hydronéphrose ($p=0,003$).

E. Etude fonctionnelle

1. Conditions de l'étude : monitoring maternel et fœtal

a) Monitoring maternel

Le taux de créatinine plasmatique des brebis gestantes était de $89 \pm 11 \mu\text{mol/l/L}$, la natrémie de $140 \pm 1\text{mmol/L}$, la glycémie moyenne de $13 \pm 9,5 \text{mmol/l}$, Le pH plasmatique

de $7,57 \pm 0,10$. L'hémodynamique était stable durant la période d'étude, la pression artérielle moyenne des brebis au cours des interventions étant de $70 \pm 14,14$ mmHg pour une fréquence cardiaque moyenne de 160 bats/min.

b) Monitoring fœtal

L'analyse des gaz du sang des fœtus au cours des tests fonctionnels donne les résultats suivants : une pression partielle en oxygène de 23 ± 9 mmHg, une pression partielle en CO₂ de mmHg 43 ± 1 mmH. Le pH moyen était de $7,19 \pm 0,09$. L'hémodynamique fœtale restait stable et satisfaisante : les fœtus avaient une pression artérielle moyenne de $46,30 \pm 9,51$ mm Hg, leur rythme cardiaque moyen était de 118 ± 12 bats/min. Le débit urinaire moyen était de $0,166$ ml/min +/- $0,139$.

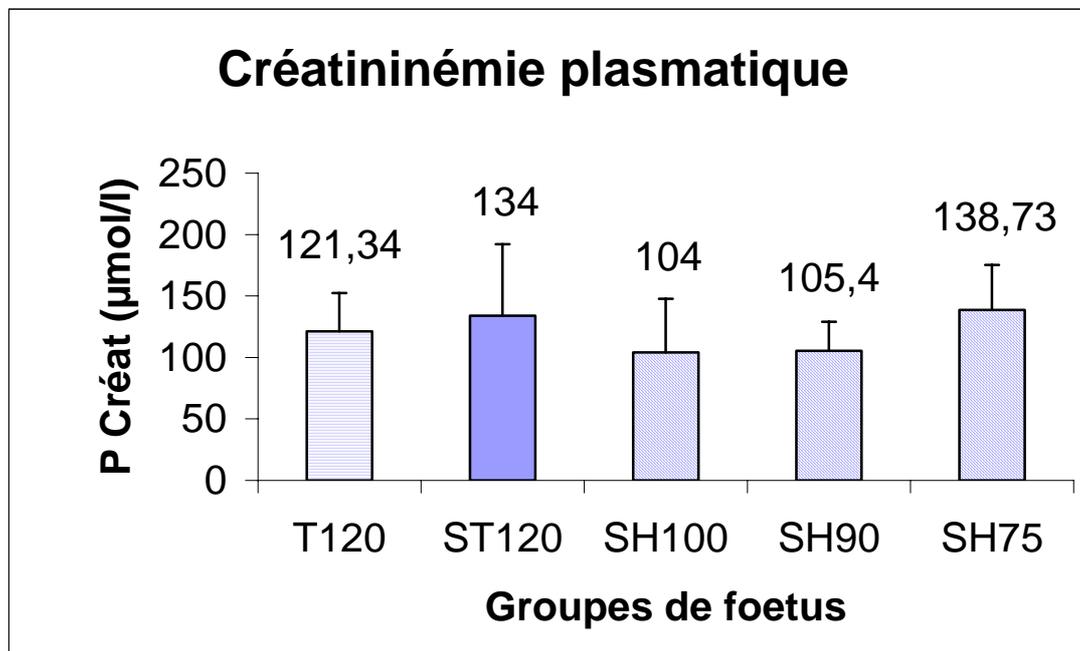
2. Résultats : paramètres de la fonction rénale fœtale

a) Effets sur la créatinine plasmatique

Nous n'avons pas mis en évidence de différence statistiquement significative ($p=0,06$) entre les différents groupes de fœtus.

Les fœtus dont les reins étaient atteints de dysplasie de type II présentaient une valeur de créatinine plasmatique augmentée par rapport aux témoins. Cette valeur était corrélée au nombre de glomérules ($r=0,56$; $p=0,0009$). Les valeurs de la créatinine plasmatique sont regroupées dans le graphique suivant :

Figure 6 : Créatinine plasmatique ($\mu\text{mol/l}$) à 120 jours de gestation dans les différents groupes.

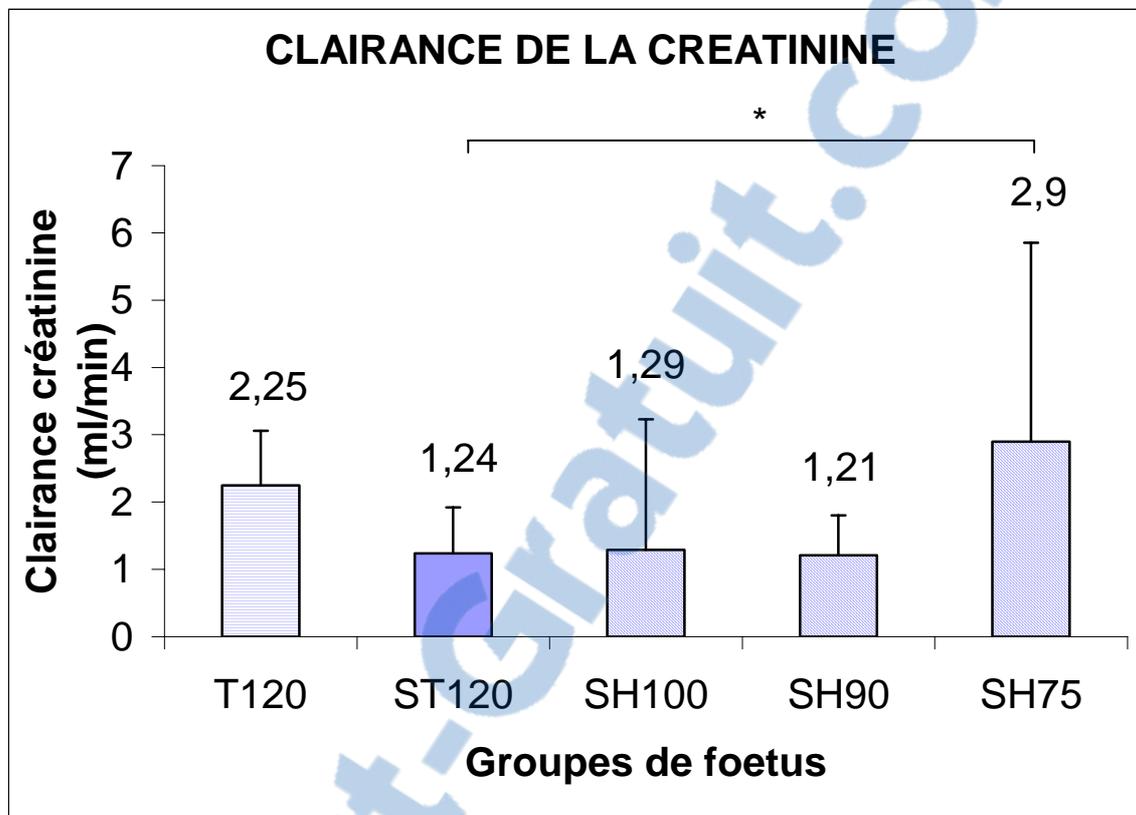


b) Clairance de la créatinine

Il existait une différence significative entre les valeurs de la clairance de la créatinine pour les différents groupes de foetus ($p=0,02$). Les valeurs des clairances sont données dans le graphique suivant :

Figure 7 : Clairance de créatinine (ml/min) à 120 jours de gestation dans les groupes.

* : différences significatives ($p < 0,05$)



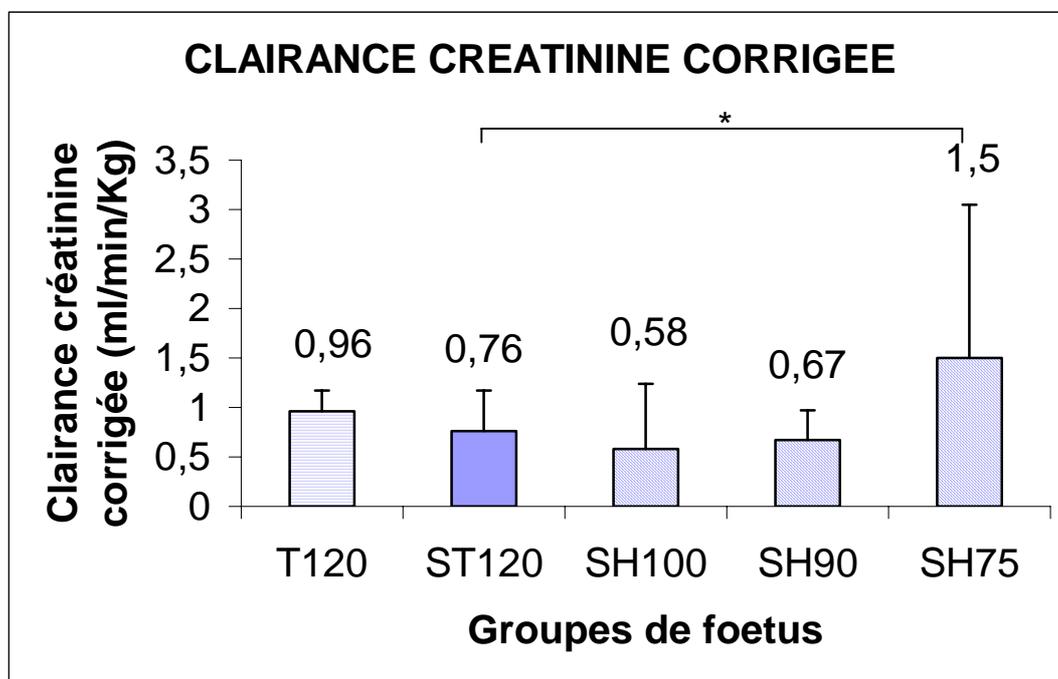
La clairance de la créatinine pour les groupes de fœtus dérivés à 90 (SH90) ou 100 jours (SH100) n'a pas été significativement différente de celle des fœtus sténosés non dérivés et étudiés à 120 jours (ST120). Par contre, le groupe des fœtus shuntés à 75 jours (SH75) a présenté une clairance significativement plus élevée ($p=0,02$) que celle des fœtus sténosés non dérivés (ST120). De plus elle n'était pas différente de celle des fœtus témoins (T120).

La clairance de la créatinine était nettement diminuée pour les fœtus dont les reins avaient une dysplasie de type II ou IV, elle semblait corrélée au nombre de glomérules bien que de façon non significative ($r=0,32$; $p=0,08$).

L'analyse des valeurs de la clairance de la créatinine rapportée au poids des fœtus n'a pas mis en évidence de différence significative entre tous les différents groupes ($p=0,27$). Cependant, les fœtus shuntés à 75 jours (SH75), avaient une clairance corrigée de la créatinine significativement plus élevée que les fœtus sténosés non dérivés de même terme (ST120). Le graphique suivant regroupe les différentes valeurs :

Figure 8 : Clairance de créatinine rapportée au poids (ml/min/kg) dans les différents groupes.

* : différences significatives ($p < 0,05$)

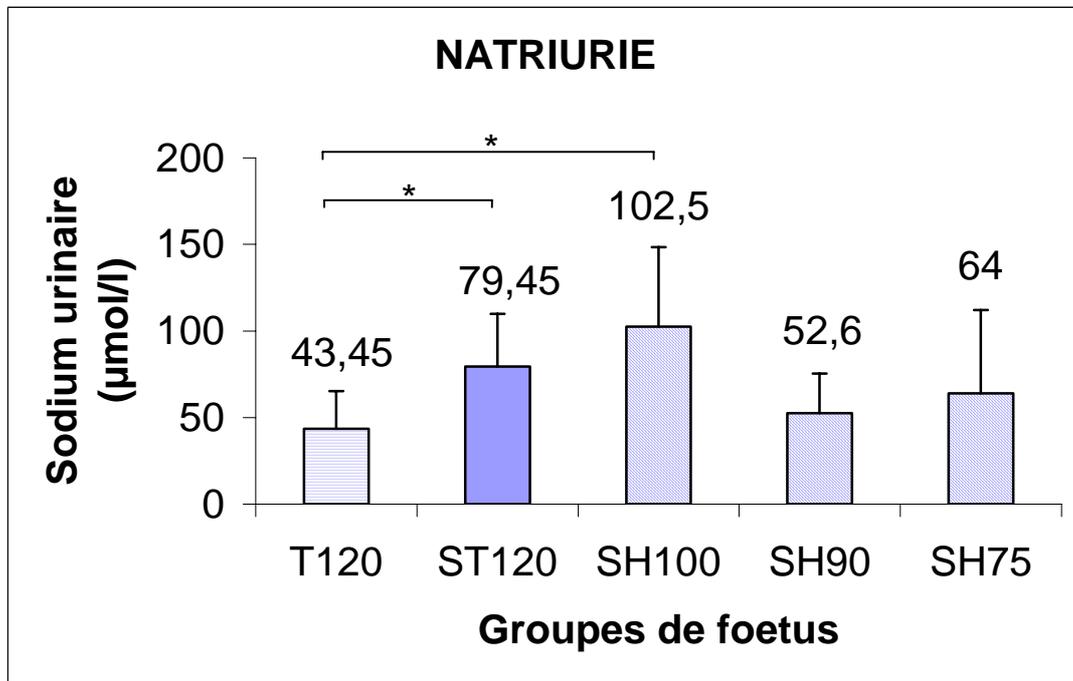


c) Effets des interventions sur la natriurie

Nous avons constaté une différence significative entre les différents groupes de fœtus étudiés ($p < 0,035$). Les fœtus obstrués à 60 jours, étudiés à 120 jours (ST120) avaient une natriurie significativement supérieure à celle des fœtus témoins de même terme ($p = 0,007$). Il n'existait pas de différence significative entre la natriurie des fœtus shuntés à 75 (SH75) ou 90 (SH90) jours de gestation et celle des fœtus témoins (T120). Seuls les fœtus dérivés à 100 jours (SH100) ont conservé une natriurie significativement plus élevée que les fœtus témoins ($p = 0,01$). La concentration urinaire en sodium était augmentée dans les groupes de fœtus atteints d'une anomalie morphologique des reins, notamment dans les dysplasies de type II et IV ; elle était corrélée au nombre de glomérules ($r = 0,49$; $p = 0,048$). Les valeurs de la natriurie sont données dans le graphique suivant :

Figure 9 : Natriurie ($\mu\text{mol/l}$) à 120 jours de gestation dans les différents groupes.

* : différences significatives ($p < 0,05$)

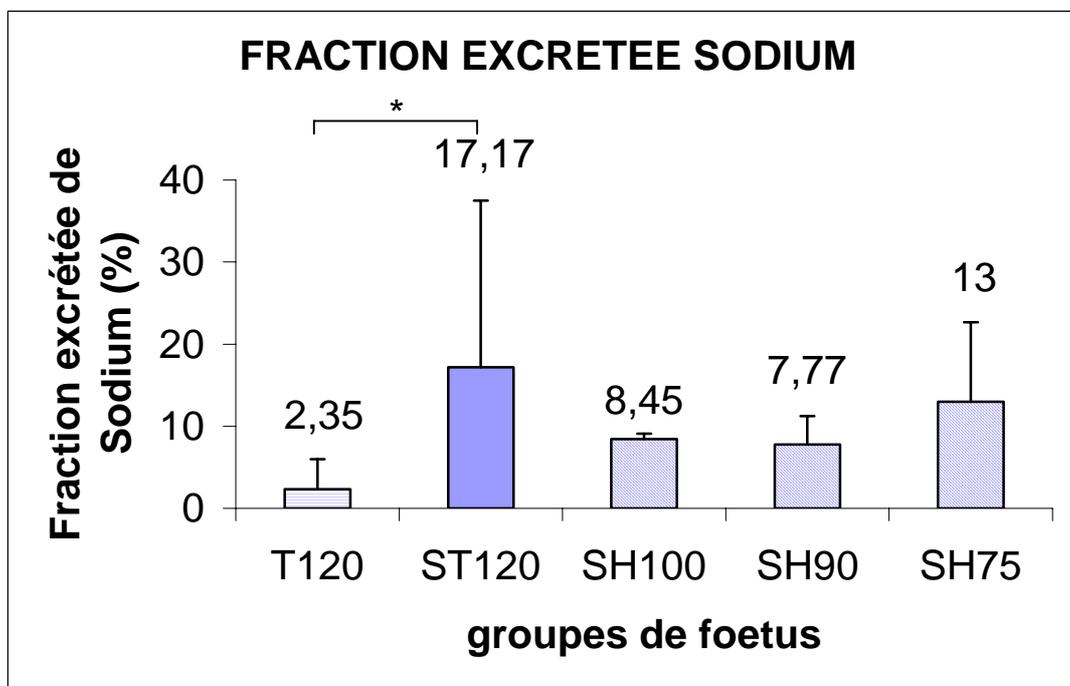


d) Effets des interventions sur la Fraction Excrétée de sodium urinaire

L'analyse des résultats n'a pas mis en évidence de différence statistiquement significative entre les différents groupes. Les résultats figurent dans le graphique suivant :

Figure 10 : Fraction excrétée de sodium (%) à 120 jours de gestation dans les différents groupes.

* : différences significatives ($p < 0,05$)



Les fœtus shuntés n'avaient pas de fraction excrétée du sodium urinaire différente de celle des témoins. Par contre, Les fœtus sténosés non dérivés (ST120) avaient une FE Na significativement plus élevée ($p=0,01$) que les témoins (T120). La fraction excrétée de sodium était significativement augmentée pour les fœtus ayant une dysplasie de type II ou IV, ou une hydronéphrose. La FE Na était significativement corrélée au nombre de glomérules ($r=0,63$; $p=0,0001$).

e) Autres valeurs plasmatiques et urinaires fœtales

Le tableau suivant donne les valeurs des autres paramètres plasmatiques et urinaires des fœtus recueillis au moment de l'étude :

Tableau 6 : Paramètres plasmatiques et urinaires des fœtus recueillis au moment de l'étude.

	n	P Creat	P Na	P K	P Gly	P Urée	U Vol	U Creat	U Urée	U Gly	U K
		μmol/l	mmol/l	mmol/l	mmol/l	mmol/l	ml	mmol/l	mmol/	Mmol/l	mmol/l
T 120	11	121,6 ±31,2	132,8 ±2,5	3,8 ±0,5	1,97 ±0,8	7,7 ±1,88	4,1 ±2,7	2952 ±1237	62,9 ±23,9	0,0	17,55 ±10,3
ST 120	11	134 ±58,2	133 ±2,2	4,3 ±0,98	1,96 ±0,75	8,45 ±2,9	13,4 ±14,3	1054 ±1087	29,3 ±17	0,1 ±0,17	14,55 ±7,7
ST 90	4	61 ±10,4	135 ±8,5	3,7 ±0,7	3,93 ±2,17	6,74 ±0,62	2,3 ±0,8	490 ±233	23,9 ±5,65	0,5	7,5 ±2,25
ST 100	1	50	135	4,3	1,9	5,6	1,7	243	11,6		7,3
SH 75	3	138,7 ±36,4	140,7 ±4	3,2 ±0,6	2,9 ±2	6,0 ±0,8	8,4 ±5,3	1817 ±1168	29,3 ±17	0,9 ±0,55	11 ±4
SH 90	5	105 ±23,6	130 ±2,5	4 ±0,45	3,55 ±2,1	6,2 ±1,4	3,8 ±2	1383 ±798	26,5 ±9,3	0,9 ±0,8	16,9 ±6,3
SH 100	2	104 ±43,8	142 ±3,5	3,4 ±0,9	0,82 ±0,25	4,4 ±0,2	5,1 ±1,6	904 ±1004	21,1 ±1,98	0,9 ±0,27	16,5 ±10,3

VI. Discussion

A. Pertinence du modèle

Deux types de modèles ont été utilisés pour étudier les effets de l'obstruction des voies urinaires sur le développement du rein: l'obstruction des voies urinaires chez les nouveaux-nés dont les reins sont immatures ou l'obstruction anténatale des voies urinaires chez le fœtus. Les modèles néonataux sont plus faciles à créer et permettent d'obtenir un grand nombre d'information. Cependant les deux modèles diffèrent en raison de la dialyse placentaire et de leurs environnements respectifs.

Plusieurs modèles expérimentaux d'obstruction des voies urinaires ont été réalisées chez le fœtus, le plus souvent chez la brebis, par ligature des uretères (5,6,24,25) ou, plus rarement de l'urètre (27,28,30,31,32,53), à des stades précoces ou tardifs du développement. Nous avons choisi de créer une obstruction complète sous vésicale, avant la fin de la néphrogénèse, afin de reproduire les conditions réalisées au cours des valves de l'urètre postérieur, affection la plus fréquente et la plus grave parmi les uropathies bilatérales congénitales chez l'homme.

Deux types d'obstruction sont en effet réalisables : une obstruction unilatérale (OUU) ou bilatérale (OUB). L'obstruction unilatérale ne permet pas une mesure des pressions et surtout les données fonctionnelles sont perturbées en raison de la fonction controlatérale normale.

Le modèle, bien qu'onéreux, nous a paru satisfaisant : il a reproduit tous les aspects macroscopiques observés au cours des obstructions basses congénitales (oligoamnios, dilatation urétéro-pyélocaliciel, distension vésicale) et performant ; la technique était applicable chez le mâle comme chez la femelle (30,31,32,53).

Le fœtus de brebis est un animal qui présente des similitudes avec le fœtus humain puisque dans ces deux espèces la néphrogénèse est terminée avant la naissance. La disparition de la zone néphrogénique et la stabilité du nombre de glomérules après 120 jours de gestation confirment qu'il n'y a plus de néphrogénèse après cette date (8).

L'analyse du compte de glomérules pendant la gestation montre que chez le mouton comme chez l'humain, la néphrogénèse n'est pas un processus continu mais caractérisé par une période de prolifération intense entre 70 et 80 jours. Les données acquises par l'équipe ont confirmé les résultats antérieurs (8), ont montré que, après 100 jours (vers la fin de la néphrogénèse) le débit de filtration glomérulaire augmente en parallèle avec le poids et ont suggéré que l'élévation de poids du rein à ce stade était liée uniquement au développement de structures non glomérulaires.

De plus, la majorité des premières études expérimentales d'obstruction des voies urinaires fœtales (2,3,2223,53) plus tardive n'avaient pas reproduit les lésions caractéristiques de dysplasie ; les lésions observées étant limitées à une simple hydronéphrose. Il semble que la date de l'obstruction joue un rôle fondamental, et que les lésions dysplasiques n'apparaissent que si l'hyperpression de l'urine s'exerce sur le rein fœtal avant la fin de la néphrogénèse.

C'est la raison pour laquelle nous avons choisi de réaliser l'obstruction à 60 jours de gestation et d'évaluer ses effets sur la fonction rénale après la fin de la néphrogénèse à 120 jours. C'est aussi pourquoi nous avons choisi de mettre en place une dérivation par shunt vésico-amniotique avant 120 jours.

B. Taux de mortalité

Le taux de mortalité globale a été de 49,3% ; pour les fœtus obstrués, il a été de 63,3% ce qui est comparable aux données de la littérature : 60% pour Gonzales (28) et 60,5% pour Harrison (32) en 1982. La réalisation de l'obstruction à 60 jours de gestation a entraîné une mortalité élevée en raison d'une moins bonne tolérance des fœtus aux manœuvres opératoires et un retentissement plus sévère de l'obstruction sur le rein.

La deuxième intervention a aggravé globalement la mortalité de 22%, d'autant que la pose du shunt est intervenue sur des fœtus malades, en insuffisance rénale.

Le taux de mortalité dans le groupe des animaux sténosés a été de 68,7%.

Pour les animaux dérivés qui ont survécu à la première intervention, le taux de mortalité était alors de 52,3%.

C. Difficultés chirurgicales

Pendant la réalisation de ce travail, nous avons rencontré un certain nombre de difficultés ; certaines se sont avérées corrigibles ; d'autres, liées au modèle lui-même, nécessitent des modifications du protocole pour les prochaines études :

- Corrigibles :

Les problèmes techniques (volvulus, éventration) rencontrés au début du protocole sont à mettre en relation avec notre méconnaissance de ce modèle animal.

- Persistants :

Chaque intervention a nécessité une hystérotomie qui, malgré toutes les précautions prises, peut entraîner des décollements de membranes et favoriser l'avortement.

Les difficultés chirurgicales à 60 jours de gestation ont été accrues par la petite taille des fœtus (10 cm) et par leur consistance gélatineuse, rendant les sutures difficiles. C'est pourquoi nous avons préféré réaliser un surjet cutané plutôt que des points séparés. La ligature a été remplacée par un clip.

Le geste opératoire était plus lourd pour les femelles qui subissaient systématiquement une laparotomie médiane afin de poser le clip sur le col de la vessie ou la sonde de Rodeck. Cependant le taux de mortalité chez les femelles shuntées n'a pas été plus élevé que chez les mâles. Par contre les complications étaient plus nombreuses chez les femelles : des laparoschisis sont survenus rapidement si la suture abdominale n'était pas parfaite.

La création précoce de l'obstruction a fragilisé les fœtus (Prune-Belly, laparoschisis, œdème de paroi) ce qui n'a pas facilité la deuxième intervention.

La dérivation par cathéter de Rodeck chez les fœtus âgés de 75 jours fut difficile en raison de l'incongruance de taille entre la sonde et la vessie et de la rigidité du matériau. De plus nous avons constaté un nombre élevé de shunts perdus (6/11) lors de l'étude à 120 jours et ce malgré les précautions (fixations multiples à la paroi) prises au cours de la pose de la sonde. Plusieurs fœtus les ont arrachées avec leur patte arrière passée dans les spires externes. Il serait peut-être envisageable de modifier la forme de la partie externe du cathéter.

D. Effets sur la croissance fœtale

Les fœtus obstrués ont présenté un retard de croissance intra-utérin par rapport aux fœtus témoins de même âge gestationnel. Cette réduction du poids des animaux a déjà été observée dans le modèle d'obstruction fœtale chez la brebis (Harrison et al, 31). Cependant d'autres modèles d'obstruction chez le nouveau né et chez l'adulte ne montrent pas de modification de poids (10). Ces différences selon les modèles, peuvent être attribuées à l'âge de l'animal au moment de la création de l'obstacle urinaire ; ainsi les animaux obstrués pendant la vie fœtale y seraient plus sensibles.

L'absence de différence significative de poids entre les fœtus témoins (T120) et les fœtus dérivés à 75 ou 100 jours (SH75, SH100) a indiqué une reprise de la croissance pondérale à partir de la levée d'obstacle. Cependant la taille des groupes reste insuffisante pour conclure définitivement d'autant que cette reprise pondérale n'est pas apparue dans le groupe des animaux dérivés à 90 jours (SH90).

E. Effets sur le poids des reins

L'analyse des poids des reins des fœtus dans notre étude, a montré une augmentation significative du poids des reins pour les fœtus dérivés à 75 et 90 jours, par rapport au poids des fœtus sténosés non dérivés. Cette constatation est en faveur d'une reprise de la croissance des reins après la dérivation. L'effectif du groupe des fœtus dérivés à 100 jours est trop faible pour être interprétable.

Lorsque nous avons relié le poids des reins et le type morphologique, nous avons constaté qu'il existait une diminution du poids dans les dysplasies de type II (1 cas). Cette diminution de poids n'a pas été retrouvée dans les hydronéphroses et les dysplasies de type IV. A l'inverse nous avons noté une élévation du poids des reins dans le type IV. Les études réalisées par Bussièrès (8), Peters (45), et Harrison (30,31,32) confirment ces données.

F. Etude morphologique

Dans notre étude, l'analyse morphologique des reins des fœtus opérés a clairement indiqué que l'obstruction des voies urinaires avant la fin de la néphrogénèse entraînait soit une

hydronéphrose, soit des modifications plus importantes de l'architecture rénale, avec de nombreux kystes subcapsulaires glomérulaires et tubulaires, correspondant à des lésions de dysplasie de type IV selon la classification d'Osathanondh et Potter (42). Ces résultats sont en accord avec les travaux de Beck (5), Glick (25), et Gonzales (27) qui ont observé des lésions dysplasiques au cours d'obstructions réalisées avant le 100^{ème} jour de gestation. Contrairement aux résultats obtenus par les équipes précédentes (8) nous avons obtenu un cas de dysplasie de type II chez un fœtus sténosé à 60 jours non dérivé et étudié à 120 jours (ST120), cependant sans tissu hétérotypique, ce qui ne correspond pas *stricto sensu* à la définition et peut-être appelé dysplasie obstructive comme l'a proposé Peters (44). De plus, dans notre étude comme dans les uropathies obstructives congénitales, la dysplasie rénale a toujours été associée à une diminution du nombre de glomérules, correspondant à un arrêt du développement rénal.

Si les lésions rénales sont réversibles après levée de l'obstacle, il nous a paru justifiable d'effectuer des dérivations *in utero*. La réversibilité des lésions rénales a été suggérée par les travaux pionniers de Glick (24), qui ont mis en évidence l'absence de dysplasie rénale chez les fœtus dérivés avant la fin de la néphrogénèse. Ainsi nous n'avons pas retrouvé de dysplasie de type II chez les fœtus dérivés. Nous avons mis en évidence 2 dysplasies de type IV chez les fœtus dérivés, cependant il ne faut pas omettre que plusieurs de nos fœtus avaient perdu leur cathéter de dérivation *in utero*, ce qui a pu être un facteur limitant de l'efficacité du shunt. Le fait le plus important est que chez tous les fœtus dérivés, il existait une augmentation du nombre de glomérules comparé aux fœtus non dérivés (ST120). Ce gain de glomérules était de 365 pour les fœtus dérivés à 75 jours, entre la levée de la sténose et l'étude à 120 jours, de 698 pour les fœtus shuntés à 90 jours et de 925 pour les fœtus shuntés à 100 jours. Cette observation suggère que l'obstruction réduit la formation glomérulaire et que son arrêt est réversible avec la levée de l'obstacle.

G. Etude fonctionnelle

Les études fonctionnelles se sont déroulées dans des conditions hémodynamiques correctes tant sur le plan maternel que fœtal. Nos résultats concernant la fonction rénale montrent que l'obstruction urinaire chez le fœtus de mouton, affecte la fonction tubulaire et glomérulaire du rein.

L'analyse des données plasmatiques pour les différents groupes de fœtus étudiés à 120 jours est la suivante :

1. Etude des paramètres de la fonction rénale

La clairance de créatinine n'est pas la technique de référence pour étudier le débit de filtration glomérulaire. Cependant l'inuline, en raison de la synthèse placentaire de fructose, et les produits marqués (difficulté de dosage) étaient en pratique difficilement utilisables pour ce modèle. Tanagho, en 1992 (53), a validé le iothalamate en le comparant à la créatinine. Malgré tout la clairance de la créatinine reste un bon marqueur quantitatif de la fonction rénale fœtale.

a) Etude de la clairance de créatinine et du débit de filtration glomérulaire

Les fœtus obstrués à 60 jours de gestation avaient une clairance de la créatinine significativement inférieure à celle des fœtus témoins. Comme dans d'autres modèles d'uropathies obstructives (5,3,38), l'obstruction a entraîné une diminution du débit de filtration glomérulaire. Les fœtus dérivés à 75 jours avaient une clairance de la créatinine plus élevée que les fœtus de même terme sténosés non dérivés, qui n'était pas différente de celle des fœtus témoins. Ces données ont confirmé les résultats préliminaires obtenus par l'équipe (Laborde et al 38).

La clairance corrigée (rapportée au poids du fœtus) a donné les mêmes résultats. Il semble que la levée de l'obstacle au terme de 75 jours de gestation dans le modèle utilisé ait permis de rétablir un débit de filtration glomérulaire proche de celui des fœtus témoins.

b) Etude de la créatininémie plasmatique

Comme l'ont montré les résultats précédemment acquis par l'équipe (38), il n'existait pas de différence significative entre les groupes de fœtus pour la valeur de la créatininémie. De la corrélation de ces valeurs à la morphologie des reins, il est apparu que la valeur de la créatininémie plasmatique était identique pour les reins hydronéphrotiques ou atteints de dysplasie de type IV à celle des reins normaux. Par contre, comme l'ont montré Laborde et al

(38), la créatininémie plasmatique des reins atteints de dysplasie de type II était plus élevée que celle des témoins et des fœtus shuntés. Ces valeurs soulignent l'importance du nombre d'unités néphroniques fonctionnelles pour le maintien de l'homéostasie, puisque les reins atteints de dysplasie de type II ont une désorganisation complète de l'architecture rénale et une diminution nette du nombre de glomérules.

2. Etude de l'excrétion sodée

a) Etude du sodium excrété

La valeur du Sodium urinaire prélevée au temps T0 (U Na) de l'étude fonctionnelle est actuellement utilisée comme facteur prédictif de la fonction rénale postnatale par un certain nombre d'équipes obstétricales, sur la base d'études qui montrent l'existence d'une relation entre ce paramètre et la fonction rénale néo-natale ou post-natale (13,15). Son élévation est péjorative. Les fœtus obstrués non dérivés ont présenté une élévation de ce paramètre. Les fœtus dérivés à 75 ou 90 jours avaient une valeur de U Na qui n'était pas différente de celle des fœtus témoins et qui était inférieure à celle des fœtus obstrués non dérivés. Cela a confirmé les résultats déjà obtenus (38). Les fœtus dérivés à 100 jours avaient une valeur de U Na qui était significativement plus élevée que les témoins. Il semble que sur le plan fonctionnel, la dérivation tardive (vers 100 jours) de l'uropathie obstructive ne permette pas une récupération correcte de l'excrétion sodée fœtale.

b) Etude de la fraction excrétée de sodium

La fraction excrétée de sodium était significativement plus élevée chez les fœtus obstrués non dérivés, que chez les fœtus témoins, signe d'une fuite urinaire de sodium. La corrélation négative entre la FE Na et le nombre de glomérules a suggéré que la diminution de la fonction de réabsorption du sodium était due à une diminution du nombre de glomérules. Ces données correspondent à celles des autres modèles d'uropathie obstructive (5,38). Bien qu'il n'existait pas de différence significative entre les valeurs des fœtus dérivés et les obstrués, il est apparu que la fraction excrétée de Sodium des fœtus dérivés tendait à se normaliser après dérivation urinaire. Cela correspondait à une diminution de la pression urinaire sur les structures rénales (signe de l'efficacité de la dérivation) et donc de ses effets sur la réabsorption tubulaire de sodium. Cependant l'étude n'a pas permis de préciser le siège

exact de la récupération (tube proximal ou distal) mais permet d'affirmer la nature tubulaire de cette récupération, indépendamment de la fonction glomérulaire.

De l'ensemble de l'analyse des données fonctionnelles, il ressort que la dérivation anténatale des urines dans le modèle d'obstruction chez le fœtus de brebis pratiquée à 75 jours permette une récupération partielle de la fonction rénale fœtale.

VII. Conclusion

Au terme de cette étude nous avons pu remarquer que le modèle d'uropathie obstructive, chez la brebis, reproduit les aspects macroscopiques des lésions rénales observées chez l'homme. Les fœtus sténosés à 60 jours de gestation présentent des formes graves de dysplasie, une diminution du nombre de glomérules matures et une fonction rénale très altérée. La levée de l'obstacle in utero permet la réversibilité des lésions. En effet le débit de filtration glomérulaire des fœtus sténosés puis dérivés se normalise. La clairance de la créatinine s'améliore ainsi que l'excrétion sodée. Il semble que les fœtus dérivés précocement, à 75 jours de gestation, récupèrent mieux que les animaux dérivés tardivement. Cependant les effectifs des groupes restent limités et ne permettent pas de conclure définitivement.

Aussi il serait souhaitable de poursuivre cette étude afin de multiplier les données expérimentales. L'utilisation d'une sonde vésico-amniotique plus souple et plus petite faciliterait la mise en place de la chirurgie. De même, l'utilisation de l'échographie ou de la fœtoscopie réduirait les complications post chirurgicales en évitant de pratiquer une hystérotomie systématiquement

Bibliographie

1. Abrahamson DR. Glomerulogenesis in the developing kidney. *Semin Nephrol.* 1991; **11**: 375-389.
2. Adams JC et Watt FM. Regulation of development and differentiation by extracellular matrix. *Development.* 1993; **117**: 1183-1198.
3. Adzick NS, Harrison MR, Glick PL, Flake AW. Fetal urinary tract obstruction: Experimental pathophysiology. *Semin Perinatol.* 1985; **9**: 79-90.
4. Al-Awqati Q. Cellular and molecular mechanisms of renal development and tubulogenesis. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 1992; **1**: 53-58.
5. Beck AD. The effect of intra-uterin urinary obstruction upon the development of the fetal kidney. *J Urol.* 1971; **105**: 784-789.
6. Bellingier MF, Ward RM, Boal DK, Zaino RJ, Sipio JC, Wood MA. Renal function in the fetal lamb: a chronic model to study physiological effects of ureteral ligation and deligation. *J Urol.* 1986; **136**: 225-228.
7. Brenner BM. Determinants of epithelial differentiation during early nephrogenesis. *J Am Soc Nephrol.* 1990; **1**: 127-139.
8. Bussi eres L, Wiesckowsky J, Chourroute Y, Sachs C and Laborde K. Model of surgical obstructive uropathy created in lamb fetus : evaluation of renal function in utero. *Europ J Pediatr Surg.* 1993; **3**: 161-165.
9. Chevalier RL. Renal response to ureteral obstruction in early development. *Nephron.* 1990; **56**: 113-117.
10. Chevalier RL. Growth factors and apoptosis in neonatal ureteral obstruction. *J Am Soc Nephrol.* 1996; **7**: 1098-1105.
11. Coplen DE . Prenatal intervention for hydronephrosis. *J Urol.* 1997; **157**: 2270-2277.
12. Crombelhome TM, Harrison MR , Longaker MT, Langer JC, Callen PW, Anderson RL, Goldstein RB, Filly RA. Fetal intervention in obstructive uropathy : pronostic indicators and efficacy of intervention. *Am J Obstet Gynecol.* 1990; **162**: 1239-1244.
13. Daikha-Dahmane F, Dommergues M, Muller F, Narcy F, Lacoste M, Beziau A, Dumez Y, Gubler MC. Development of human kidney in obstructive uropathy : correlations with ultrasonography and urine biochemistry. *Kidney Int.* 1997; **52**: 21-32.
14. Davies JA, Bard JBL. Inductive interactions between the mesenchyme and the ureteric bud. *Exp Nephrol.* 1996; **4**: 77-85.
15. Dumez Y, Muller F, Dommergues M, Nihoul-F ek et  C. Diagnostic ant enatal des uropathies obstructives. *Chirurgie.* 1990 ; **116** : 517-522.
16. Ekblom P , Weller A: Ontogeny of tubulointerstitial cells. *Kidney Int.* 1991; **39**:394-400.
17. Elder JS, Duckett JW and Snyder HM: Intervention for fetal obstructive uropathy : has it been effective ? *Lancet.* 1987; **2**: 1007-1010.
18. Estes JM, Mac Gillivray TE, Hedrick MH, Adzick NS and Harrison MR : fetoscopic surgery for the treatment of congenital anomalies. *J Pediatr Surg.* 1992; **27**: 950-954.

19. Fetterman GH, Ravitch MM, Sherman FE. Cystic changes in fetal kidneys following ureteral ligation: studies by microdissection. *Kidney Int.* 1974; **5**: 111-121.
20. Freedman AL, Johnson MP, Gonzalez R. Fetal therapy for obstructive uropathy: past, present...future? *Pediatr Nephrol.* 2000; **14**: 167-176.
21. Gasser B, Bussi eres L, Hugueny B, Edouga D, Laborde K. Recovery after relief of fetal urinary obstruction:morphological, fonctionnal and molecular aspects. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2001; **281**: 26-37.
22. Gasser B, Lindner V. Aspect physiopathologique des l esions r enales et pari etales dans les obstructions basses. *M edecine f etale et Echographie en Gyn ecologie.* 1993 ; **15** :12-16.
23. Gasser B, Mauss Y, Ghnassia JP, Favre R, Kohler M, Yu O, Vonesch JL. A quantitative study of normal nephrogenesis in the human fetus: Its implication in the natural history of kidneys changes due to low obstructives uropathies. *Fetal Diagn Ther.* 1993; **8**: 371-384.
24. Glick PL, Harrison MR, Noall RA, Villa RL. Correction of congenital hydronephrosis in utero. III: early midtrimester ureteral obstruction produces renal dysplasia. *J Pediatr Surg.* 1983; **18**: 681-689.
25. Glick PL, Harrison MR, Adzick NS, Noall RA, Villa RL. Correction of congenital hydronephrosis in utero. IV: In utero decompression prevents renal dysplasia. *J Pediatr Surg.* 1984; **19**: 649-657.
26. Golbus MS, Harrison MR, Filly RA, Callen PW, Katz M. In utero treatment of urinary tract obstruction. *Am J Obstet Gynecol.* 1982 ; **142**: 383-388.
27. Gonzales J. Relation, structure et fonction dans le d veloppement de l'appareil urinaire du f etus. S minaire de N phrologie P diatrique. *Journal d'Urologie.* 1985 ; **91** :108-17
28. Gonzales R, Reinberg Y, Burke B, Wells T, Vernier RL. Early bladder outlet obstruction in fetal lambs induces renal dysplasia and the Prune-Belly Syndrome. *J Pediatr Surg.* 1990; **25**: 342-345.
29. Hardman P, Kolasti M, Winyard PJD, Towers PR, Woolf AS. Branching out with ureteric bud. *Exp Nephrol.* 1994; **2**: 211-219.
30. Harrison MR, Golbus MS, Filly RA, Callen PW, Katz M, de Lorimier AA, Rosen M and Jonsen AR. Fetal surgery for congenital hydronephrosis. *New Engl. J. Med.*, 1982; **306**: 591-593.
31. Harrison MR, Ross N, Noall R, de Lorimier A. Correction of congenital hydronephrosis in utero. I. The model: Fetal urethral obstruction produces hydronephrosis and pulmonary hypoplasia in fetal lambs. *J Pediatr Surg.* 1983; **18**: 247-256.
32. Harrison MR, Nakayama DK, Noall R, de Lorimier A. Correction of congenital hydronephrosis in utero. II. Decompression reverses the effects of obstruction on the fetal lung and urinary tract. *J Pediatr Surg.* 1982; **17**: 965-974.
33. Hawtrey C, Van Voohis B, Robillard J. Experimental congenital unilateral hydronephrosis in fetal lambs, an anatomic and physiologic assessment. *J Urol.* 1985; **133**: 130-137.
34. Herzlinger D, Koseki C, Mikawa T, AL-Awqati Q. Metanephric mesenchyme contains multipotent cells whose fate is restricted after induction. *Development.* 1992; **114**: 565-72.
35. Jokelainen R. An electron microscopic study of the early development of the rat metanephric nephron. *Acta Anat.* 1963; **52**: 1-71

36. Khlar S, Harris KPG, Pukerson ML. Effects of obstruction on renal function. *Pediatr Nephrol.* 1988; **2**: 34-42.
37. Koseki C, Herzlinger D, AL-Awqati Q. Apoptosis in metanephric development. *J Cell Biol.* 1992; **119**: 1327-1333.
38. Laborde K, Bussi eres L, Gasser B, Gimonet V, Medjebeur AA : Physiopathologie des uropathies obstructives bilat erales cong enitales : Mod ele exp erimental. *Ann P ediatr.* 1997 ; **44**: 157-170.
39. Mac Vary KT, Maizels M. Urinary obstruction reduces glomerulogenesis in the developing kidney: a model in the rabbit. *J Urol.* 1989; **142**: 646-651.
40. Makino Y, Kobayashi H, Kyono K, Oshima K, Kawarabayashi T :Clinical results of fetal obstructive uropathy treated by vesicoamniotic shunting. *Urology.* 2000; **55**: 118-122.
41. Modi KS, Harris KPG, Khlar S. Effects of unilateral or bilateral ureteral obstruction on renal function in rat. *Nephron.* 1993; **64**: 235-241.
42. Osathanondh V, Potter EL. Pathogenesis of polycystic kidneys. *Arch Pathol.* 1964; **77**: 459-512.
43. Pelletier J, Schalling M, Buckler AJ, Rogers A, Haber DA, Housman D. Expression of the Wiml's tumor gene WT-1 in the murine urogenital system. *Genes Dev.* 1991; **5**: 1345-1356.
44. Peters CA, Carr MA, Lais A, Retik AB, Mandell J. The response of the fetal kidney to obstruction. *J Urol.* 1992; **148**: 503-509.
45. Peters CA. Obstruction of the fetal urinary tract. *J Am Soc Nephrol.* 1997; **8**: 653-663.
46. Peters CA, Vasavada S, Dator D, Carr M, Shapiro E, Lepor H, McConnell J, Retik AB, Mandell J. The effects of obstruction on the developing bladder. *J Urol.* 1992; **148**: 491-496.
47. Potter EL. Development of the human glomerulus. *Arch Pathol.* 1965; **80**: 3-79.
48. Qureshi F, Jacques SM, Seifman B, Quintero R, Evans MI, Smith C, Johnson MP. In utero fetal urine analysis and renal histology correlate with the outcome in fetal obstructive uropathies. *Fetal Diagn Ther.* 1996; **11**: 306-312.
49. Sax en L. Organogenesis of the kidney. In Barlow PW, Green PB, White CC (eds). Developmental and cell biology Series 19. *Cambridge, Cambridge University Press.* 1987.
50. Sax en L, Sariola H. Early Organogenesis of the kidney. *Pediatr Nephrol.* 1987; **1**: 385-392.
51. Sommer M, Schaller R, and al.: Abnormal growth and clonal proliferation of fibroblasts in an animal model of unilateral ureteral obstruction. *Nephron.* 1998; **82**:39-50.
52. Steinhardt GF, Vogler G, Salinas-Madriral L, La Regina M. Induced renal dysplasia in the young pouch opossum. *J Pediatr Surg.* 1988; **23**: 1127-1130.
53. Tanagho EA. Intrauterine fetal ureteral obstruction. *J Urol.* 1973; **109**: 196-205.
54. Thomasson BH, Esterly JR, Ravitch MM. Morphologic changes in the fetal rabbit kidneys after intrauterine ureteral ligation. *Invest Urol .* 1970; **8**: 264-271.
55. Vainio S, M uller U. Inductive tissue interactions cell signalling, and the control of the kidney organogenesis. *Cell.* 1997; **90**: 975-978.
56. Winyard PJD, Nauta J, Lirenman DS, Hardman P, Sams VR, Risdon RA, Woolf AS. Deregulation of cell survival in cystic and dysplastic renal development. *Kidney Int.* 1996; **49**: 135-146.