

MUTATIONS DES GÈNES DU SYSTÈME RÉNINE-ANGIOTENSINE ET DYSGÉNÉSIE TUBULAIRE RÉNALE AUTOSOMIQUE RÉCESSIVE

par

M. C. GUBLER*, O. GRIBOUVAL*, M. LACOSTE* et C. ANTIGNAC***

En 1983, J. Allonson rapporte l'observation de deux fœtus décédés en anamnios. Les reins sont macroscopiquement normaux, mais il n'existe pas ou peu de tubes proximaux identifiables à l'examen histologique [1]. Le terme de dysgénésie tubulaire rénale (DTR) est choisi pour désigner ce syndrome anatomo-clinique. La maladie ayant touché des enfants appartenant à la même fratrie, J. Allonson suggère qu'il pourrait s'agir d'une entité génétiquement transmise selon le mode récessif autosomique. Depuis, plus de 70 observations de DTR primitives, familiales ou sporadiques ont été rapportées, confirmant cette hypothèse [2-19]. C'est de cette entité dont nous allons discuter, à partir de la revue de la littérature et de l'analyse des 62 observations supplémentaires qui nous ont été communiquées et nous ont permis d'identifier les bases moléculaires de la maladie.

Les lésions histologiques ne sont pas spécifiques de la maladie récessive autosomique. Des DTR secondaires, se manifestant également par un oligoamnios, sont observées dans différentes circonstances :

- dans les reins fœtaux ischémiques, secondaires à une sténose de l'artère rénale par exemple, ou conséquence du syndrome transfuseur-transfusé des grossesses gémellaires, chez le fœtus transfuseur [20-21] ;
- chez les fœtus exposés in utero aux inhibiteurs de l'enzyme de conversion ou aux antagonistes du récepteur de type 1 (AT1) de l'angiotensine II [22-24]. Ces causes doivent être éliminées avant d'envisager l'hypothèse d'une maladie génétique.

MANIFESTATIONS CLINIQUES

La DTR est observée également chez les fœtus des deux sexes. Elle peut apparaître sporadique, mais affecte au moins deux enfants de la fratrie dans

* INSERM U574 ; **Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France.

la moitié des familles. Une consanguinité parentale est observée dans un tiers des cas.

La symptomatologie est très homogène. L'oligoamnios est le symptôme révélateur. Il est constant et peut être détecté, lors des grossesses régulièrement suivies, dès les 18-20^e semaines de gestation, mais il est parfois observé après une période initiale pendant laquelle l'abondance du liquide amniotique a été trouvée normale. Aucune cause extrarénale n'explique l'oligoamnios et les explorations échographiques anténatales ne mettent pas en évidence de malformations du système réno-urinaire : les reins sont habituellement de taille normale ; les voies urinaires ne sont pas dilatées. Parfois, une augmentation modérée de la taille des reins et/ou une hyperéchogénicité avec perte de la différenciation cortico-médullaire sont signalées.

L'évolution est toujours sévère, caractérisée par la persistance de l'oligo/anamnios (tableau I). Comme le montre l'analyse de 126 observations, 16 fœtus sont morts in utero et une interruption médicale de grossesse a été réalisée dans 25 cas (anamnios, récurrence de la maladie dans la fratrie). Quarante-vingt-six enfants sont nés vivants. Ils présentaient les anomalies secondaires à l'absence de liquide amniotique constituant la séquence de Potter : dysmorphie faciale, déformations des membres et surtout hypoplasie pulmonaire. La plupart sont décédés, en anurie et insuffisance respiratoire, dans les heures ou les jours suivant la naissance. Une enfant en dialyse depuis la naissance est vivante à 18 mois. Une diurèse est réapparue chez cinq enfants après plusieurs jours ou semaines de dialyse péritonéale : trois sont en insuffisance rénale chronique à respectivement 18 mois, 3 et 13 ans ; une enfant, en IRT à l'âge de 4 ans a été transplantée et un enfant de 8 ans a une fonction rénale normale. Les chiffres de la pression artérielle sont rarement indiqués. Cependant, une hypotension profonde, ne répondant pas aux drogues vasopressives a été rapportée chez cinq enfants ayant survécu quelques jours. Dix patients de notre série étaient sévèrement hypotendus à la naissance. La présence de larges fontanelles traduisant un retard d'ossification de la voûte crânienne est souvent signalée. Il n'existe habituellement pas d'autres anomalies extra-rénales.

PATHOLOGIE

L'examen histologique est absolument indispensable pour affirmer le diagnostic de DTR évoqué sur l'existence d'une anurie anténatale à reins échographiquement

TABLEAU I. — ÉVOLUTION DE 126 CAS DE DTR.

Persistance de l'oligoamnios	126
• Interruption médicale de grossesse	25
• Mort in utero	16
• Mort dans les 4 jours suivant la naissance (anurie + insuffisance respiratoire)	73
• Survie 15-90 jours (sous DP et assistance respiratoire)	7
• Survie en DP depuis la naissance	1
• Reprise de diurèse après quelques jours ou semaines en DP	4*

DP : dialyse péritonéale

* 3 des 4 patients ont secondairement développé une insuffisance rénale.

normaux ou peu modifiés, associée, lorsqu'il est recherché à un retard d'ossification des os du crâne.

Macroscopiquement les reins ont une forme et une structure normales ; ils sont parfois volumineux mais ont le plus souvent une taille normale. Les gros vaisseaux sont perméables. Les voies urinaires sont normales. Histologiquement l'organisation cortico-médullaire est normale. Mais il existe, dans le cortex, comme décrit par Allanson, une diminution globale du nombre de sections tubulaires, liée à une absence ou une réduction majeure du nombre de tubes proximaux identifiables sur des critères histologiques (présence d'une bordure en brosse bien mise en évidence par la coloration par le PAS) et immunohistologiques (expression de marqueurs spécifiques) (fig. 1, Planche couleurs p. 257). La plupart des tubes présents, bordés par des cellules cubiques, ont un calibre réduit et une lumière virtuelle, tandis que quelques sections tubulaires, au contact du pôle vasculaire des glomérules, sont au contraire de grande taille. Tous ces tubes expriment les marqueurs des tubes distaux-collecteurs. Les glomérules sont normalement différenciés, mais leurs axes mésangiaux sont épaissis. Surtout, ils sont trop proches les uns contre les autres du fait de la dédifférenciation tubulaire. Mais les lésions ne sont pas confinées aux tubes proximaux. Une fibrose interstitielle diffuse modérée est généralement associée. Dans la médulla, les anses de Henlé sont rares et atrophiques et les tubes collecteurs sont collabés. Surtout, nous avons été frappés par la présence constante de lésions vasculaires. Elles sont caractérisées par un épaississement marqué et une désorganisation de la paroi musculaire des artères préglomérulaires et interlobulaires, parfois observés focalement dans les artères arquées.

DYSGÉNÉSIE TUBULAIRE RÉNALE ET SYSTÈME RÉNINE-ANGIOTENSINE

L'étiologie de la DTR est longtemps restée mystérieuse. Cependant, l'observation de lésions rénales semblables induites par l'ischémie, chez l'animal d'expérience [25], chez l'homme [26-27], en particulier au cours de la vie fœtale [20-21], et le développement d'un phénotype clinique et pathologique similaire chez les fœtus exposés à des drogues bloquant la formation ou l'action de l'angiotensine II [22-24], ont orienté nos recherches vers le système rénine-angiotensine (SRA). Ce système est constitué d'un ensemble de protéines dont l'activation aboutit à la production du peptide actif, l'angiotensine II, qui joue un rôle majeur dans la régulation de la pression artérielle et du bilan sodé. L'angiotensinogène (AGT), synthétisé par les hépatocytes, est clivé dans la circulation par la rénine, une aspartyl-protéase, synthétisée et libérée par les cellules juxtaglomérulaires des artérioles afférentes du cortex rénal. L'angiotensine I, résultant de ce clivage, est convertie en angiotensine II (AII) par l'enzyme de conversion (ECA) produite par l'endothélium vasculaire et, dans le rein, par l'épithélium tubulaire proximal. L'angiotensine II se lie à deux types de récepteurs, l'AT1 médiateur de son effet vasopresseur, et l'AT2 ayant une activité antagoniste. La rénine constitue l'étape limitante de cette cascade catalytique et son taux de production dépend des conditions hémodynamiques rénales et du flux sodé dans le tube distal du rein. Elle est donc un marqueur de l'activité du SRA. En outre sa production est régulée négativement par l'AII.

Tous les éléments du SRA sont exprimés chez le fœtus humain dès la 5^e semaine de gestation [28] et des travaux expérimentaux ont établi qu'ils étaient fonctionnels chez le fœtus. Nous avons donc étudié l'expression rénale des composants du SRA, chez des patients atteints de DTR autosomique récessive, puis nous avons réalisé une étude moléculaire des différents gènes du système chez les enfants appartenant à 25 familles dont 15 étaient consanguines.

Expression rénale des composants du système rénine-angiotensine

Dans le rein fœtal humain normal, au cours du troisième trimestre de gestation, l'expression de rénine est détectée, par immunohistochimie ou hybridation *in situ* dans environ 5 à 10 p. 100, au maximum 20 p. 100 des appareils juxta-glomérulaires (AJG) où une à quatre cellules sont rénine-positives (fig. 2A, Planche couleurs p. 257). L'angiotensinogène et l'enzyme de conversion de l'angiotensine sont présents dans le tube proximal. Par hybridation *in situ*, le récepteur AT1 de l'angiotensine II est détecté dans les cellules mésangiales tandis que le récepteur AT2 est exprimé dans le mésenchyme indifférencié et les cellules intersitielles corticales et médullaires.

Chez tous les patients atteints de DTR, l'expression rénale de rénine était considérablement modifiée : elle était augmentée de façon massive dans les reins de 36 fœtus appartenant à 24 familles où la rénine était présente non seulement dans la majorité ou la totalité des AJG, mais également dans les cellules mésangiales et les cellules musculaires des artérioles afférentes, à distance des AJG ; elle était totalement absente chez 6 fœtus appartenant à 5 familles (fig. 2B et 2C, Planche couleurs p. 258), [29, 30]. Ces résultats mettant en évidence une dérégulation du SRA confirmaient notre hypothèse de départ et désignaient le gène *REN* codant la rénine comme le premier candidat pour la maladie.

L'étude de l'expression des autres composants du SRA n'a pas été contributive. En particulier, la disparition ou la diminution de l'expression de l'angiotensinogène et de l'enzyme de conversion observées chez tous les patients, étaient corrélées à la sévérité des lésions du tube proximal.

Découverte de mutations dans les quatre gènes *REN*, *AGT*, *ACE* et *AGTRI* du SRA

Une étude moléculaire a été réalisée dans 25 familles et des mutations de l'un ou l'autre des gènes du SRA ont été identifiées dans 23 familles (tableau II). Dans neuf familles, les mutations touchent le gène *REN*. Comme le suggérait l'absence de rénine, il s'agit dans cinq familles de mutations « perte de fonction » : mutation non-sens, délétions, ou mutations dans les sites d'épissage, décalant le cadre de lecture. En revanche, chez quatre patients présentant une hyperexpression de rénine, des mutations faux-sens ont été détectées permettant la production de rénine, mais d'une rénine inactive, production très augmentée, par perte de la régulation négative de sa synthèse par l'AII.

Des mutations du gène *AGT*, codant l'angiotensinogène, ont été détectées à l'état homozygote dans deux familles consanguines. Ces mutations affectant un site d'épissage, dans une famille, ou touchant des acides aminés très conservés du domaine serpine de la protéine dans la deuxième, s'accompagnent d'une produc-

GÈNES DU SYSTÈME RÉNINE-ANGIOTENSINE ET DYSGÉNÉSIE TUBULAIRE RÉNALE 79

TABLEAU II. — RÉSULTATS DES RECHERCHES DE MUTATIONS DANS LES GÈNES DU SYSTÈME RÉNINE-ANGIOTENSINE CHEZ 25 FAMILLES.

Mutations du gène <i>REN</i>	9 familles
Mutations perte de fonction	5
Mutations faux-sens	4
Mutations du gène <i>AGT</i>	2 familles
Mutations faux-sens	2
Mutations du gène <i>AGTRI</i>	2 familles
Mutations perte de fonction	1
Mutations faux-sens	1
Mutations du gène <i>ACE</i>	10 familles
Mutations perte de fonction	5
Mutations faux-sens	3
Une seule mutation	2
Pas de mutations détectées	2 familles

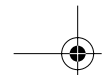
tion rénale massive de rénine, probablement par défaut de production d'angiotensine II, des études *in vitro*, ayant montré que l'intégrité du domaine serpine était nécessaire à l'interaction entre la rénine et l'angiotensinogène.

Dans dix familles, des mutations du gène *ACE* ont été identifiées. Il s'agit dans cinq familles de mutations stop, de délétions ou d'insertions modifiant le cadre de lecture et résultant soit en l'absence de protéine, soit à la synthèse de protéines tronquées, amputées du 2^e domaine catalytique, des séquences transmembranaires et intracytoplasmiques. Dans trois familles, des mutations faux-sens touchant des acides aminés très conservés ont été identifiées et dans deux familles une seule mutation, mutation « perte de fonction », a été détectée. Chez tous les patients, la rénine est intensément exprimée dans le rein (huit patients) ou dans le sang chez les deux enfants vivants.

Enfin, des mutations du gène *AGTRI* ont été observées chez des fœtus appartenant à deux familles : l'un d'eux est porteur à l'état homozygote d'une mutation non-sens, tandis que l'autre est hétérozygote composite pour une insertion d'un nucléotide et une mutation faux-sens affectant une thréonine très conservée. Ces mutations s'accompagnent également d'une hyperexpression de rénine.

Aucune mutation n'a été détectée dans deux familles, et dans l'une d'elles, consanguine, une liaison aux gènes étudiés a été éliminée, suggérant que d'autres gènes sont impliqués dans cette pathologie. Les gènes codant le récepteur AT2, ou le récepteur de la rénine récemment identifié, localisés sur le chromosome X, n'ont pas été étudiés car, dans ces deux familles, des fœtus de sexe féminin étaient atteints. Les autres candidats pourraient être les gènes codant les protéines de la cascade d'activation du récepteur AT1, les gènes codant les différentes sous-unités du canal Enac, le gène *MR* codant le récepteur minéralocorticoïde, dans la mesure où l'inactivation de ce gène est responsable d'un phénotype sévère chez la souris, ressemblant à celui résultant de l'inactivation des gènes du SRA [31].

Ainsi, la DTR autosomique récessive est liée, dans la majorité des cas, à des mutations touchant l'un ou l'autre des gènes du SRA. C'est la première identification de néphropathie mendélienne liée à ces gènes. La conséquence de ces mutations



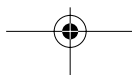
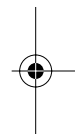
est l'absence de production ou l'inefficacité de l'angiotensine II. Le phénotype observé est très homogène, quel que soit le gène muté. Ceci indique qu'il n'y a pas de redondance dans le SRA et que les voies alternes de génération de l'angiotensine II décrites *in vitro* sont inefficaces, tout au moins chez le fœtus.

Mécanismes physiopathologiques

La sévérité du phénotype souligne l'importance du SRA dans le développement du rein fœtal humain. Son mécanisme d'action reste cependant à préciser en tenant compte des fonctions multiples de l'angiotensine II : peptide vasoactif, mais également facteur de croissance tubulaire. Les récepteurs de l'angiotensine II sont exprimés dans le rein fœtal et cette expression est strictement régulée, suggérant que le SRA, par l'intermédiaire de l'angiotensine II, facteur de croissance, joue un rôle important au cours du développement. Cependant les lésions rénales observées dans la DTR autosomique récessive ne semblent pas liées à la perte de l'action directe de l'angiotensine II sur la croissance rénale. En effet, elles sont identiques chez les fœtus ayant une DTR secondaire à l'ischémie rénale, situation qui s'accompagne d'une stimulation du SRA [20, 21]. Des lésions semblables ont également été décrites il y a plus de 50 ans chez le rat, sous le terme de « rein endocrine », dans un modèle d'hypoperfusion chronique [25]. Et chez l'homme adulte, comme l'a souligné Marcussen, l'ischémie rénale retentit plus sévèrement sur le tube proximal que sur le tube distal [27]. Un signe clinique majeur, observé dans la période post-natale chez les enfants ayant vécu assez longtemps pour qu'il soit recherché et regardé comme significatif, est l'hypotension sévère et résistante. Au cours de la vie intra-utérine, cette hypotension persistante conduisant à une diminution chronique de la pression de perfusion du rein fœtal, pourrait être à l'origine de l'anomalie de développement des tubes proximaux. Cette hypotension profonde peut être également la cause de l'incidence élevée des thromboses veineuses uni- ou bilatérales, et des perforations ischémiques du tube digestif observées chez ces patients. Elle pourrait aussi expliquer le retard d'ossification de la voûte crânienne, l'ossification membraneuse nécessitant une pression d'oxygène élevée.

Modèles animaux

En l'absence de rénine, d'angiotensinogène, d'enzyme de conversion ou de récepteur AT1, les souris dont le gène correspondant a été inactivé sont hypotensives à la naissance, mais non anuriques [32-40]. Elles présentent au contraire une limitation de leur capacité de dilution-concentration et sont polyuriques. La plupart meurent avant le sevrage, mais leur mort n'est pas liée à l'insuffisance rénale, mais à la déshydratation. Celles qui survivent spontanément ou sous traitement ne développent pas de DTR mais une atrophie papillaire progressive. Ce phénotype est donc moins sévère que celui observé chez les patients atteints de DTR autosomique récessif. Plusieurs hypothèses peuvent être proposées pour expliquer ces différentes réponses cliniques et morphologiques à un même déficit. Chez l'homme, la néphrogenèse est terminée à la naissance tandis que chez la souris, elle commence *in utero* et se poursuit pendant les deux semaines post-natales, période pendant laquelle le déficit en angiotensine II a pu être compensé par la mise en œuvre d'autres systèmes vasopresseurs. D'autre part, la médulla interne



longue et très mince de la souris est peut-être particulièrement sensible à l'ischémie. Une lésion, l'épaississement et la désorganisation de la média des artères intrarénales, est cependant présente chez la souris comme chez l'homme. Son développement rapide en l'absence d'hypertension artérielle reste à expliquer.

En conclusion, la DTR autosomique récessive, cause d'anurie et de mort fœtale ou post-natale, est une maladie dont l'incidence est encore sous-estimée. Ce diagnostic doit être discuté chez tout fœtus anurique à reins normaux ou subnormaux à l'examen échographique. La maladie est liée dans la majorité des cas à des mutations touchant l'un ou l'autre des gènes du SRA. Ceci suggère que le maintien d'une pression de perfusion rénale efficace par l'angiotensine II est nécessaire au développement du rein fœtal humain. Le diagnostic du défaut moléculaire permet de proposer aux familles un conseil génétique et un diagnostic prénatal précoce.

BIBLIOGRAPHIE

1. ALLANSON JE, PANTZAR JT, MACLEOD PM. Possible new autosomal recessive syndrome with unusual renal histological changes. *Am J Med Genet*, 1983, **16**, 57-60.
2. VOLAND JR, HAWKINS EP, WELLS TR et al. Congenital hypernephronic nephromegaly with tubular dysgenesis : A distinctive inherited renal anomaly. *Pediatr Pathol*, 1985, **4**, 231-245.
3. SCHWARTZ BR, LAGE JM, POBER BR et al. Isolated congenital renal tubular immaturity in sibilings. *Hum Pathol*, 1986, **17**, 1259-1263.
4. SWINFORD AE, BERNSTEIN J, TORIELLO HV et al. Renal tubular dysgenesis : Delayed onset of oligohydrannios. *Am J Med Genet*, 1989, **32**, 127-132.
5. MACMAHON P, BLACKIE RA, HOUSE MJ et al. A further family with congenital renal proximal tubular dysgenesis. *J Med Genet*, 1990, **27**, 395-398.
6. RUSSO R, D'ARMIENTO M, VECCHIONE R. Renal tubular dysgenesis and very large cranial fontanels in a family with acrocephalosyndactyly SC type. *Am J Med Genet*, 1991, **39**, 482-485.
7. ALLANSON JE, HUNTER AG, METTLER GS et al. Renal tubular dysgenesis : A not uncommon autosomal recessive syndrome : A review. *Am J Med Genet*, 1992, **43**, 811-814.
8. METZMAN RA, HUSSON MA, DELLERS EA. Renal tubular dysgenesis : A description of early renal maldevelopment in sibilings. *Pediatr Pathol*, 1993, **13**, 239-248.
9. MOLDAVSKY M, SHAHIN A, TURANI H. Renal tubular dysgenesis present in a newborn with meconium ileus. *Pediatr Pathol*, 1994, **14**, 245-251.
10. BERNSTEIN J, BARAJAS I. Renal tubular dysgenesis : Evidence of abnormality in the renin-angiotensin system. *J Am Soc Nephrol*, 1994, **5**, 224-227.
11. GUBLER MC, SARRUT S, IMBERT MC et al. Renal tubular dysgenesis, an autosomal recessive disorder and the renin-angiotensin system. *Am J Soc Nephrol*, 1993, **4**, A263.
12. ARIEL I, WELLS TR, LANDING BH et al. Familial renal tubular dysgenesis : a disorder not isolated to proximal tubules. *Pediatr Pathol Lab Med*, 1995, **15**, 915-922.
13. QUERFELD U, ORTMANN M, VIERZIG A et al. Renal tubular dysgenesis : a report of two cases. *J Perinatol*, 1996, **16**, 498-500.
14. MILUNSKY JM, GENEST DR, MILUNSKY A. Renal tubular dysgenesis with microcephaly. *Pediatr Nephrol*, 1997, **11**, 494-496.
15. MCFADDEN DE, PANTZAR JT, VAN ALLEN MI et al. Renal tubular dysgenesis with calvaria hypoplasia : report of two additional cases and review. *J Med Genet*, 1997, **34**, 846-848.
16. KRIEGSMANN J, COERDT W, KOMMOS SF et al. Renal tubular dysgenesis (RTD). An important cause of the oligo-hydrannion-sequence. Report of 3 cases and review of the literature. *Pathol Res Pract*, 2000, **196**, 861-865.
17. CHEN HC. Renal tubular dysgenesis in sibilings. *J Chin Med Assoc*, 2003, **66**, 261-262.

18. UEMATSU M, SAKAMOTO O, NISHIO T et al. A case surviving for over a year of renal tubular dysgenesis with compound heterozygous angiotensinogen gene mutations. *Am J Med Genet A*, 2006, **140**, 2355-2360.
19. RAMALHO C, MATIAS A, BRANDAO O et al. Renal tubular dysgenesis : report of two cases in a non-consanguineous couple and review of the literature. *Fetal Diagn Ther*, 2007, **22**, 10-13.
20. GENEST DR, LAGE JM. Absence of normal-appearing proximal tubules in the fetal and neonatal kidney : Prevalence and significance. *Hum Pathol*, 1991, **22**, 147-153.
21. MAHIEU-CAPUTO D, DOMMERMUES M, DELEZOIDE AL et al. Twin to twin transfusion syndrome. Role of the fetal renin-angiotensin system. *Am J Pathol*, 2000, **156**, 629-636.
22. BARR M, COHEN MM. ACE inhibitor fetopathy and hypocalvaria. The kidney-skull connection. *Teratology*, 1991, **44**, 485-495.
23. SAJI H, YAMANAKA M, HAGIWARA A et al. Losartan and fetal toxic effects. *Lancet*, 2001, **357**, 363.
24. MARTINOVIC J, BENACHI A, LAURENT N et al. Fetal toxic effects of angiotensin II receptor antagonists. *Lancet*, 2001, **358**, 241-242.
25. SEYLE H. Transformation of the kidney into an exclusively endocrine organ. *Nature*, 1946, **158**, 131.
26. LANDING BH, ANG SM, HERTA N et al. Labeled lectin studies of renal tubular dysgenesis and renal tubular atrophy of postnatal renal ischemia and end-stage kidney disease. *Pediatr Pathol*, 1994, **14**, 87-99.
27. MARCUSSEN N. Atubular glomeruli in renal artery stenosis. *Lab Invest*, 1991, **65**, 558-565.
28. SCHUTZ S, LE MOULLEC JM, CORVOL P et al. Early expression of all components of the renin-angiotensin-system in human development. *Am J Pathol*, 1996, **149**, 2067-2079.
29. LACOSTE M, CAI Y, GUICHARNAUD L et al. Renal tubular dysgenesis, a not uncommon autosomal recessive disorder leading to oligohydramnios. Role of the renin-angiotensin system. *J Am Soc Nephrol*, 2006, **17**, 2253-2263.
30. GRIBOUVAL O, GONZALES M, NEUHAUS T et al. Mutations in genes in the renin-angiotensin system are associated with autosomal recessive renal tubular dysgenesis. *Nat Genet*, 2005, **37**, 964-968.
31. HUBERT C, GASC JM, BERGER S et al. Effects of mineralocorticoid receptor gene disruption on the components of the renin-angiotensin system in 8-day-old mice. *Mol Endocrinol*, 1999, **13**, 297-306.
32. KIM HS, KREGE JH, KLUCKMAN KD et al. Genetic control of blood pressure and the angiotensinogen locus. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, **92**, 2735-2739.
33. NIMURA F, LABOSKY PA, KAKUCHI J et al. Gene targeting in mice reveals a requirement for angiotensin in the development and maintenance of kidney morphology and growth factor regulation. *J Clin Invest*, 1995, **96**, 2947-2954.
34. OKUBO S, NIMURA F, MATSUSAKA T et al. Angiotensinogen gene null-mutant mice lack homeostatic regulation of glomerular filtration and tubular reabsorption. *Kidney Int*, 1998, **53**, 617-625.
35. ESTHER CR, MARINO EM, HOWARD TE et al. The critical role of tissue angiotensin-converting enzyme as revealed by gene targeting in mice. *J Clin Invest*, 1997, **99**, 2375-2385.
36. HILGERS KF, REDDI V, KREGE JH et al. Aberrant renal vascular morphology and renin expression in mutant mice lacking angiotensin-converting enzyme. *Hypertension*, 1997, **29**, 216-221.
37. YANAI K, SAITO T, KAKINUMA Y et al. Renin-dependent cardiovascular functions and renin-independent blood-brain barrier functions revealed by renin-deficient mice. *J Biol Chem*, 2000, **275**, 5-8.
38. TAKAHASHI N, LOPEZ ML, COWHIG JE Jr et al. Ren1c homozygous null mice are hypotensive and polyuric, but heterozygotes are indistinguishable from wild-type. *J Am Soc Nephrol*, 2005, **16**, 125-132.
39. TSUCHIDA S, MATSUSAKA T, CHEN X et al. Murine double nullizygotes of the angiotensin type IA and IB receptor genes duplicate severe abnormal phenotypes of angiotensinogen nullizygotes. *J Clin Invest*, 1998, **101**, 755-760.
40. OLIVERIO MI, KIM HS, ITO M et al. Reduced growth, abnormal kidney structure, and type 2 (AT2) angiotensin receptor-mediated blood pressure regulation in mice lacking both AT1A and AT1B receptors for angiotensin II. *Proc Ntl Acad Sci*, 1998, **95**, 15496-15501.