

UNIVERSITE SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
FES



Année 2012

Thèse N° 083/12

L'APPORT DE LA GENETIQUE MEDICALE DANS L'APPROCHE DE L'ENFANT DYSMORPHIQUE

THESE

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 04/06/2012

PAR

Mlle. TAGHOUTI AMAL

Née le 04 Juillet 1985 à Sefrou

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE

MOTS-CLES :

Dysmorphologie - Génétique - Gènes de développement

JURY

M. HIDA MOUSTAPHA.....	PRESIDENT
Professeur de Pédiatrie	
M. OULDIM KARIM.....	RAPPORTEUR
Professeur agrégé de Génétique	
Mme. BONO WAFAA.....	JUGES
Professeur de Médecine interne	
M. ATMANI SAMIR.....	
Professeur de Pédiatrie	
Mme. BERRADY RHIZLANE.....	MEMBRE ASSOCIE
Professeur assistant de Médecine interne	

PLAN

1-Introduction	10
2- Embryologie et gènes du développement	11
2.1. Gamétogenèse, fécondation et première semaine.....	11
2.1.1. La segmentation : de l'œuf à la morula	13
2.1.2. Blastulation : formation du blastocyste et implantation utérine	14
2.1.3. Régulation génétique de la formation, de la prolifération, de la migration et du développement des cellules germinales.....	15
2.2. La deuxième semaine	19
2.2.1. Devenir du trophoblaste	19
2.2.2. Devenir de l'embryoblaste	20
2.2.3. La méthylation de l'ADN conduit à l'inactivation des gènes d'un chromosome X dans chaque cellule femelle.....	22
2.3. La troisième semaine	23
2.3.1. Gastrulation	23
2.3.2 La mise en place de la corde et le début de la neurulation	26
2.3.3. Le début de la métamérisation.....	27
2.3.4 Le développement de l'embryon humain est contrôlé par une cascade de gènes modifiés à partir de ceux utilisés par les organismes inférieurs	28
2.4. La quatrième semaine.....	32
2.4.1. La mise en place des ébauches primordiales	33
2.4.1.1. Les somites.....	33
2.4.1.2. La transformation de la plaque neurale.....	33
2.4.1.3. La vasculogénèse	34

2.4.1.4. Mais la plupart des autres organes apparaissent aussi sous forme d'ébauches	35
2.4.2. Délimitation du corps de l'embryon.....	36
2.4.3. La segmentation coordonnée et contrôlée du mésoderme para-axial produit des nombres spécifiques de paires de somites ..	38
2.4.4. Les territoires de l'expression des gènes Hox contrôlent la spécification régionale des vertèbres	39
2.4.5. Mécanismes inducteurs de la formation du tube neural et de la différenciation des somites	39
2.5. Développement du système nerveux.....	42
2.5.1. Le développement du système nerveux et des neurones	42
2.5.1.1. Différenciation des cellules de la crête neurale.....	43
a) Différenciation en neurones sensoriels	44
b) Différenciation en cellules de Schwann	45
c) Différenciation en neurones moteurs	46
d) Les autres molécules de guidage.....	46
2.5.1.2. Les marqueurs généraux de la différenciation neuronale	46
2.5.1.3. La croissance et le guidage des prolongements nerveux	47
a) Les molécules de la matrice extracellulaire	49
b) Les protéines membranaires	50
c) Les facteurs diffusibles	51
d) Les autres molécules de guidage	53
2.6. Développement des poumons.....	54
2.6.1. Aspects génétiques du développement pulmonaire.....	54
2.6.1.1 Initiation du développement pulmonaire	54
2.6.1.2. FGF10 / Sprouty2	55

2.6.1.3. SHH / HIP	57
2.6.1.4. Wnt/DKK	58
2.6.1.5. Autres gènes impliqués dans la morphogénèse du poumon	59
2.7. Développement du cœur	60
2.7.1. Formation et plicature du tube cardiaque	60
2.7.2. Cloisonnement des oreillettes	61
2.7.2.1. Cloisonnement du canal auriculo-ventriculaire	61
2.7.2.2. Cloisonnement de l'oreillette	62
2.7.3. Cloisonnement des ventricules	62
2.7.4. Aspects génétiques du développement cardiaque	62
2.8. Développement du tractus gastro-intestinal	63
2.9. Développement du système urogénital.....	64
2.9.1. Développement des voies génitales internes.....	64
2.9.1.1. Stade indifférencié.....	65
2.9.1.2. Différenciation masculine	65
2.9.1.3. Différenciation féminine	66
2.9.2. Développement du tractus urinaire.....	67
2.9.3. Aspects génétiques	68
2.9.3.1. Gènes impliqués dans la différenciation des voies génitales internes.....	68
a) L'hormone anti-müllérienne (AMH)	68
b) Pax 2	69
c) Gènes Wnt	69
d) Gènes Hox	70
e) Autres gènes	71

3- Les étiologies de dysmorphie :	73
3.1 Les malformations d'origine chromosomique.....	73
3.2 Les malformations d'origine monogénique.....	74
3.3 Autres déterminants et facteurs de risque de malformations Congénitales ...	75
3.3.1 Le sexe	75
3.3.2 L'âge maternel	95
3.3.3 Le niveau socio-économique	96
3.3.4 Antécédents obstétricaux	96
3.3.4.1 Antécédents de fausses couches.....	96
3.3.4.2 Parité	77
3.3.5 Pathologies maternelles.....	77
3.3.5.1 Diabète maternel.....	77
3.3.5.2 Epilepsie	77
3.3.5.3 Hypertension artérielle	78
3.3.5.4 Phénylcétonurie.....	79
3.3.6 Infections pendant la grossesse.....	79
3.3.6.1 Rubéole.....	79
3.3.6.2 Varicelle – Zona	79
3.3.6.3 Cytomégalovirus.....	80
3.3.6.4 Toxoplasmose.....	80
3.3.6.5 Autres	80
3.3.7 Facteurs nutritionnels.....	81
3.3.7.1 Obésité	81
3.3.7.2 Dénutrition.....	81
3.3.7.3 Carence vitaminique et supplémentation.....	81
3.3.7.4 Autres apports nutritionnels	82

3.3.8 Mode de vie.....	82
3.3.8.1 Consommation maternelle d'alcool	82
3.3.8.2 Consommation maternelle de tabac.....	83
3.3.9 Médicaments.....	84
3.3.9.1 Le thalidomide	84
3.3.9.2 Le diéthylstilbestrol	85
3.3.9.3 Les médicaments anticonvulsivants	85
3.3.9.4 L'acide rétinoïque.....	85
3.3.9.5 La warfarine	85
3.3.9.6 Les médicaments anti-hypertenseurs	86
3.3.9.7 Autres.....	86
3.3.10 Facteurs physiques.....	86
3.3.10.1 Hyperthermie	86
3.3.10.2 Radiations ionisantes	86
3.3.11 Expositions chimiques.....	87
3.3.11.1 Quelques exemples historiques.....	87
3.3.11.2 Autres produits chimiques.....	87
3.3.12 Autres facteurs retrouvés dans la littérature.....	88
3.3.12.1 Contraintes mécaniques	88
3.3.12.2 Retard de croissance intra-utérin et prématurité.....	88
4- Informations anamnestiques.....	89
5- Examen en dysmorphologie :	91
5.1.Examen de la région cranio- faciale	93
5.2.Examen de la face	94
5.3.Examen des extrémités	99
5.4.Examen de la peau	100

5.5. Mesures standards et développement général.....	101
5.6. Reste de l'examen somatique	102
5.7. Prise des photographies	102
6 - Examens complémentaires :	102
6.1. Examen de nature génétique :	103
a- Caryotype.....	103
b- Cytogénétique moléculaire	114
c- Génétique moléculaire	127
d- Conservation de matériel biologique.....	128
6.2. Imageries	128
6.3. Explorations métaboliques	129
7 - Vers un diagnostic précis	130
8 - Conseil génétique en dysmorphologie.....	132
9 - Conclusion	138
10 - Résumé.....	140
11 - Références	143

ABREVIATIONS

ADH1C	Alcohol déshydrogénase 1C
ADN	Acide désoxyribonucléique
AMH	L'hormone anti-müllérienne
AMR	L'hormone anti-müllérienne
BDNF	Brain-derived neurotrophic factor
BMP	Bone morphogenic proteins
Brn	Brain
CAV	Cloisonnement du canal auriculo-ventriculaire
CHU	Centre Hospitalier Universitaire
CIA	Communication inter auriculaire
CIV	Communication inter ventriculaire
CGH-array	Comparative Genomic Hybridization
CGRP	Calcitonin-gene related peptide
CNTF	ciliary neurotrophic factor
DCC	deleted in colorectal cancer
DRG	spinal cord dorsal root ganglia /ganglions des racines dorsales de la moelle épinière
EGF	Epidermal Growth Factor
Eph	ephrin (receptor)
Erb	estrogen receptor beta
EUROCAT	European Concerted Action on Congenital Anomalies and Twins
FGF	fibroblast growth factor
FGFR	Fibroblast growth factor receptor
FISH	Fluorescence In Situ Hybridization
Gcl	germ cell-less

GDB	genome data base
GGF	glial growth factor
GPI	glycosyl phosphate idylmositol
HCDB	Human Cytogenetic Data Base
HIP	Hedgehog interacting Protein
Hnf	Hepatocyte nuclear factors
InVS	Institut de veille sanitaire
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique
ISCN	International System for human Cytogenetic Nomenclature
L1-CAM	L1-cell adhésion molécule
LDDb	London dysmorphology data base
LNDB	London Neurogenetics Data Base
MAG	myelin-associated glycoprotein
MAP2	microtubule-associated protein 2
Mash	mammalian achaete-scute homolog
MEC	matrice extra cellulaire
MEF-2c	Myocyte-specific enhancer factor 2c
NCAM	neural-cell adhésion molécule
NeuN	neuronal nuclei / neuron-specific nuclear protein
NGF	nerve growth factor
Ngn	neurogenin
OCT4	octamer-binding transcription factor4
OMIM	online Mendelian inheritance in man
PNA	peanuts agglutinin
Ptc	Patched
POSSUM	Pictures Of Standard Syndromes and Undiagnosed malformations

RAR	related orphan receptor
Robd	roundabout
Runx	runt-related transcription factors
Shh	sonic hedgehpg
Smo	Smoothened
SNC	système nerveux central
SNP	système nerveux périphérique
Sox10	sex determining région Y-box 10
SP-C	Surfactant Protein C
TGF	transforming growth factor
TGFA	Transforming Growth Factor Alpha
TGFB3	Transforming Growth Factor Beta 3
Trk	tyrosine kinase (receptor)
TRP	transient receptor potential
UNC	uncoordinated
VEGF	vascular endothelial growth factor
WCP	whole chromosome painting
WHS	syndrome de Wolf-Hirschhorn

1 - INTRODUCTION

La pathologie malformative est un problème de santé publique qui concerne 3% des naissances, et un tiers des hospitalisations en pédiatrie [1;2]. Le terme de dysmorphologie a été utilisé pour la première fois en 1966 par D. Smith pour décrire les malformations congénitales [3;4]. La pathologie malformative peut intéresser n'importe quelle partie du corps humain et survient le plus souvent dans les trois premiers mois de la vie intra-utérine [4]. Le terme dysmorphologie ou en anglais "dysmorphology", est dérivé du terme grecque "dys" (désordre) et "morph" (forme) [5]. Actuellement Il y a au moins 3500 syndromes distincts, bien que beaucoup de nouveaux syndromes dysmorphiques sont décrits chaque année [6]. Les gènes impliqués dans le développement physique ont aussi souvent un rôle important dans le développement du système nerveux central, ce qui explique l'association d'un grand nombre des syndromes dysmorphiques à un retard mental [1]. Face à un enfant dysmorphique, le premier souci est de reconnaître une entité clinique connue permettant une prise en charge, une orientation adaptée, une évaluation pronostique et un conseil génétique adéquat. Le diagnostic précis nécessite une approche multidisciplinaire, faisant intervenir plusieurs disciplines médicales et des moyens d'explorations variés et spécialisés. Les progrès actuels, de la cytogénétique et de la génétique moléculaire, ont considérablement modifié la pratique diagnostique en dysmorphologie, et permettent une meilleure connaissance des gènes du développement et des mécanismes embryonnaires impliqués dans la morphogenèse normale et anormale chez l'homme [1] ainsi que les progrès de l'imagerie fœtale, en particulier le développement de l'échographie 3D, ont permis d'envisager l'application de l'examen dysmorphologique à la période fœtale. [7].

2 - EMBRYOLOGIE ET GENES DE DEVELOPPEMENT

L'étude du développement des mammifères (y compris la génétique et le développement de l'homme) a avancé de manière impressionnante. Le projet de carte de l'ensemble du génome humain est maintenant complet, la localisation de pratiquement tous les gènes humains est connue. La technologie de l'ADN recombinant, les agents antisens et les techniques transgéniques ont rapidement mené à la compréhension du contrôle génomique du développement et de la pathogénie de nombreuses anomalies congénitales humaines. [8]

2.1. Gamétogenèse, fécondation et première semaine [8], [9], [10]

La fécondation se produit dans la trompe utérine lorsqu'un spermatozoïde rencontre l'ovule.

Le spermatozoïde doit se lier à un récepteur sur la zone pellucide de l'ovocyte, une fois lié à son récepteur, le spermatozoïde peut enfin entrer dans l'ovocyte.

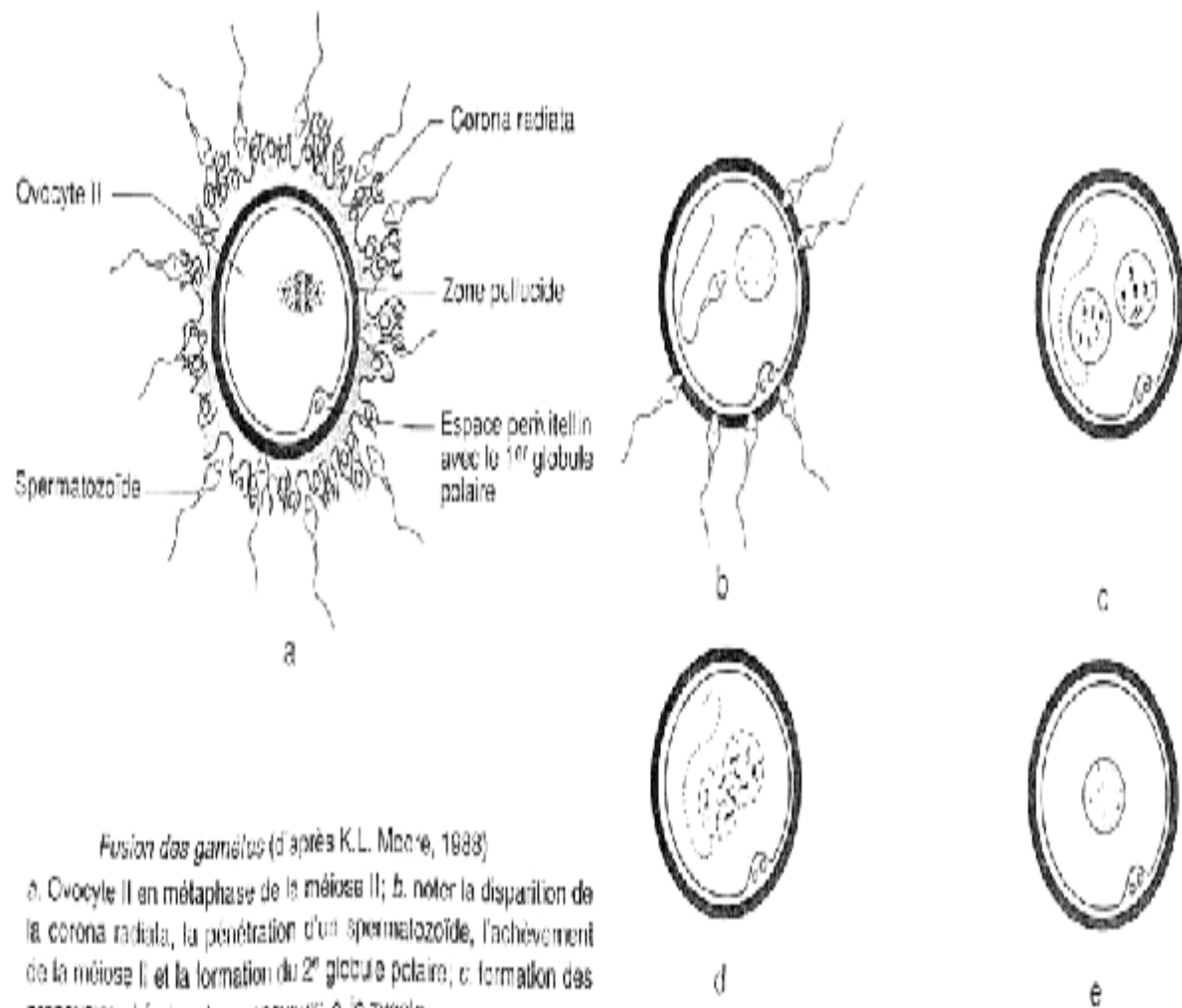


Fig. 1 : Fusion des gamètes (d'après K.L Moore, 1988)

La membrane du spermatozoïde se fusionne avec celle de l'ovocyte, ce qui fait libérer par ce dernier des enzymes rendant les récepteurs inefficaces.

Après la fécondation, les noyaux mâle (n) et femelle (n) fusionnent pour donner un zygote (2n). C'est à partir de ce moment que le développement embryonnaire débute.

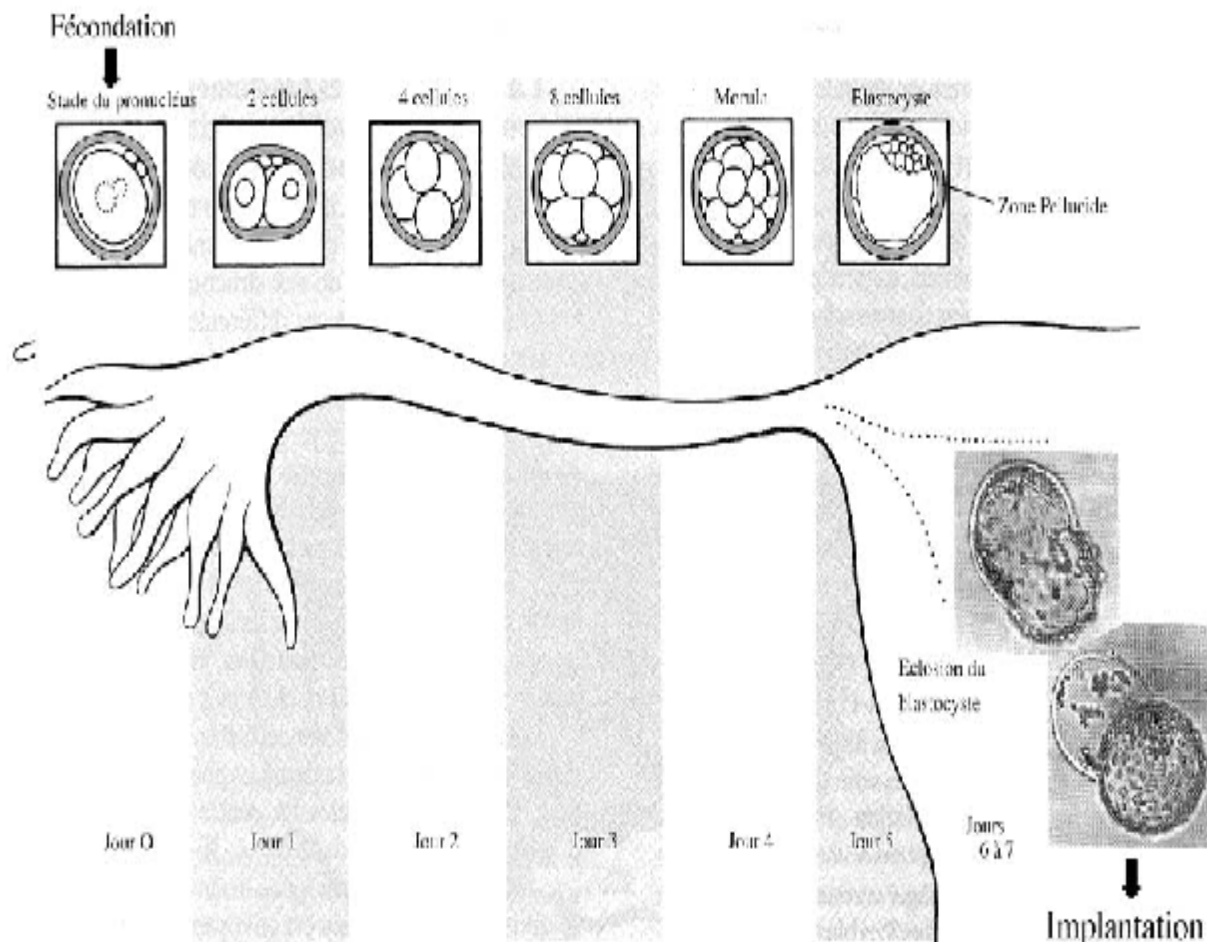


Fig. 2 : Segmentation et transport dans la trompe utérine (D'après Boatman De 1987. In vitro growth of non-human primate pre-and peri-implantation embryos. P: 273)

2.1.1. La segmentation : de l'œuf à la morula

L'œuf fécondé va subir une série de divisions cellulaires au cours de sa migration dans la trompe utérine. Ce processus porte le nom de segmentation. Il divise le zygote d'abord en 2 cellules filles, puis 4, puis 8 et ainsi de suite pour rapidement aboutir à une masse cellulaire portant le nom de morula (eu égard à l'aspect microscopique). Le processus de segmentation porte aussi le nom de clivage. Ce terme est parfaitement évocateur puisque l'œuf fécondé n'augmente pas, ou peu, de volume au cours de ces premières divisions successives.

Avec une vision finaliste, on pourrait admettre que la constance volumique au cours de la segmentation est liée à la contrainte exercée par la zone pellucide qui limite la morula en périphérie.

Les premières divisions cellulaires, jusqu'au stade 4 à 8 cellules, n'objectivent pas de différences morphologiques importantes entre les cellules filles.

A partir du stade 8 à 16 cellules, la compaction va initier les premiers évènements de la différenciation embryonnaire.

La compaction génère une nouvelle répartition des cellules de la future morula :

a) les cellules périphériques vont subir une polarisation et se répartissent en une couche qui entoure toute la surface de l'œuf fécondé. Ces cellules polarisées constituent le trophoblaste primitif.

b) les cellules plus internes et initialement non polarisées se regroupent pour constituer la masse de l'embryoblaste.

A la fin du quatrième jour après la fécondation, la morula commence à se creuser d'une cavité à contenu liquidien (futur blastocoele).

2.1.2. Blastulation : formation du blastocyste et implantation utérine

A partir du 5ème-6ème jour, la morula poursuivant ses divisions, va atteindre le stade d'une centaine de cellules et la cavité interne s'accroît pour former le blastocoele. L'embryon pénètre alors dans la cavité utérine où il va s'implanter vers le 6ème/7ème jour. Avant l'implantation, la zone pellucide se rompt et l'embryon est alors libéré. Des phénomènes de transferts ioniques et liquidien provoquent une augmentation de volume du blastocoele. L'embryon devient alors le Blastocyste.

Le Blastocyste est caractérisé par :

- une couche de cellules périphériques jointives et en couronne : c'est le trophoblaste.

- une cavité centrale volumineuse résultant de l'augmentation de volume au cours de la transformation de la morula en blastocyste : le blastocoele.
- une masse de cellules regroupées à un pôle du blastocoele : c'est l'embryoblaste ou bouton embryonnaire.

Le blastocyste va s'implanter et se différencier en embryon didermique au cours de la 2ème semaine.

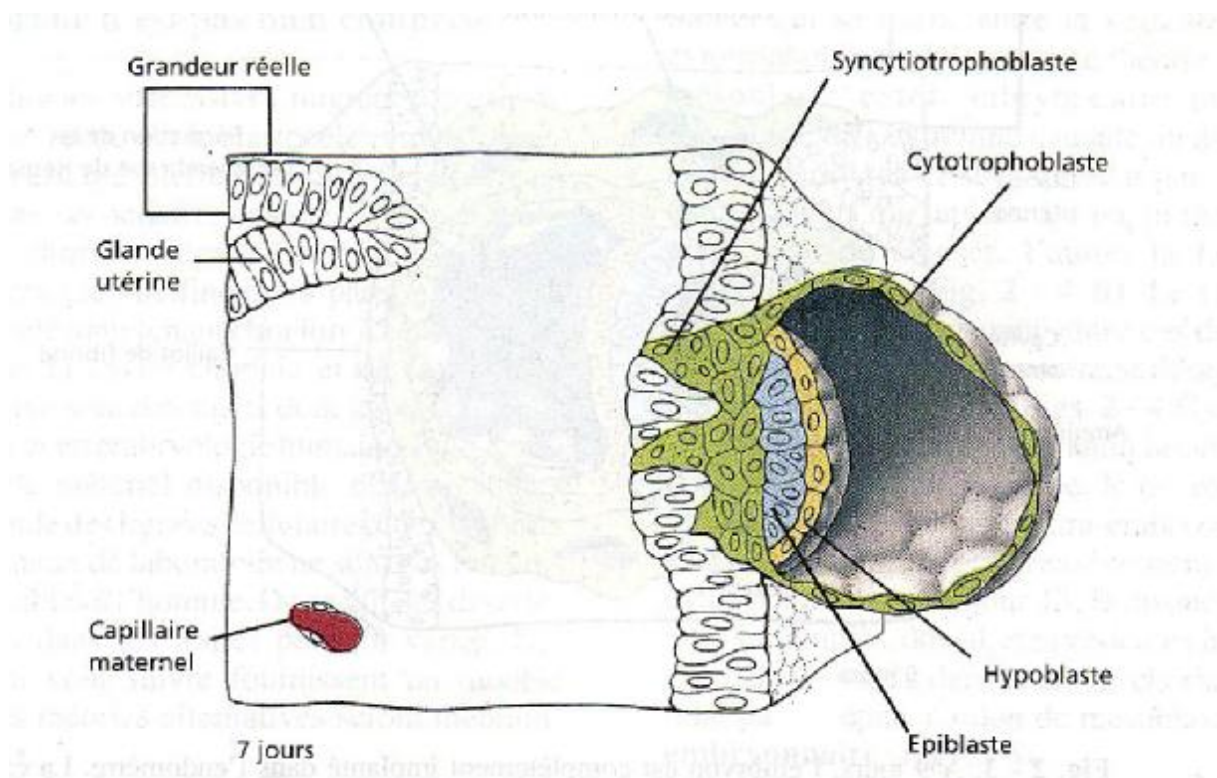


Fig. 3 : implantation. Environ 6,5 jours après la fécondation [8]

2.1.3. Régulation génétique de la formation, de la prolifération, de la migration et du développement des cellules germinales

La formation de la lignée germinale est contrôlée par une cascade de gènes régulateurs. Cette cascade comprend une séquence d'activation des gènes qui dirige l'induction initiale et le développement, la prolifération, la survie, la migration et la différenciation des cellules germinales primordiales. [8]

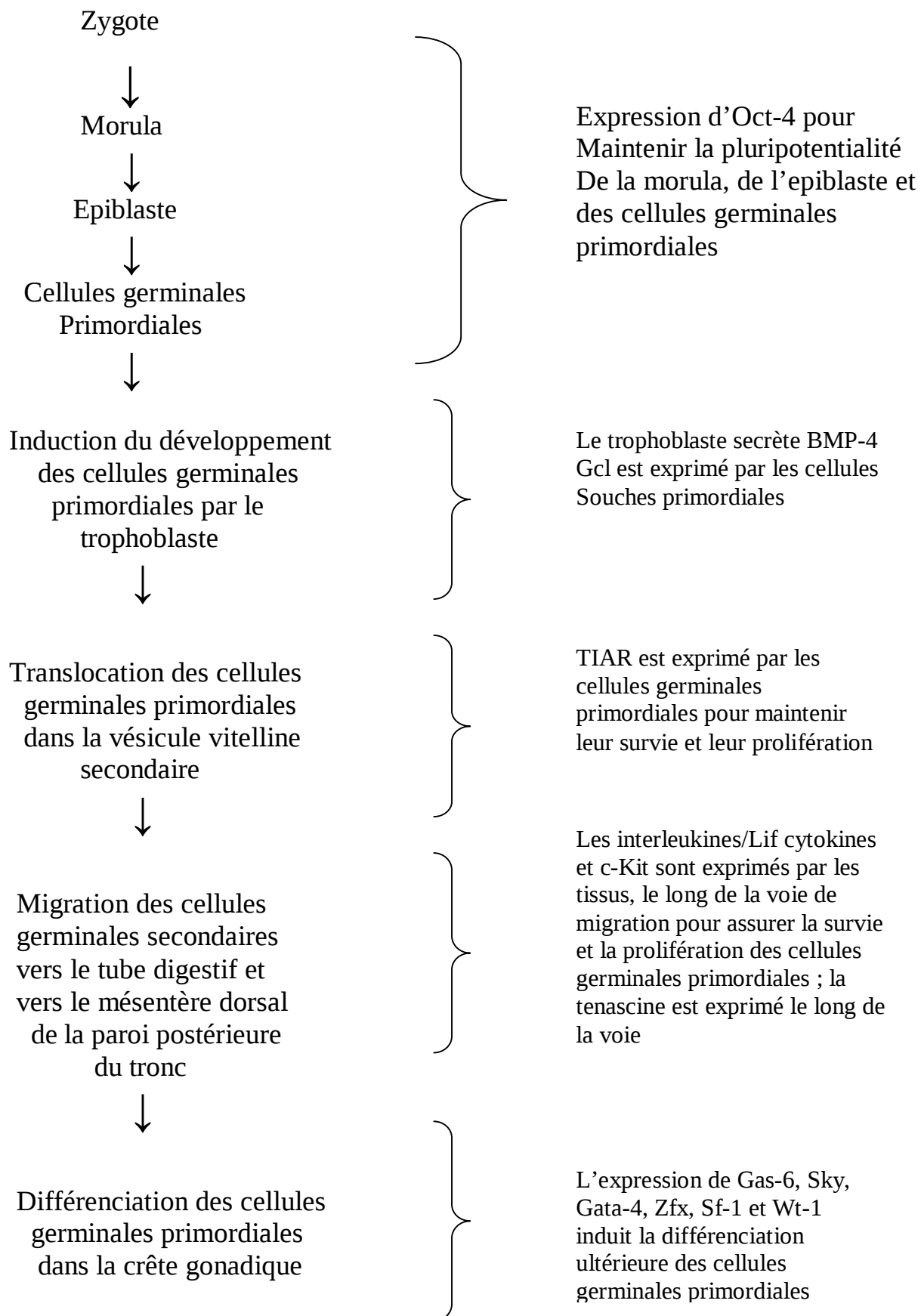


Fig. 4:Régulation de la cascade des gènes contrôlant le développement des cellules germinales primordiales. [8]

L'initiation du développement de la lignée germinale requiert l'activation de gènes qui maintiennent l'état pluripotent dans les précurseurs de cette lignée.

Un tel gène semble encoder un régulateur dans le domaine de la transcription (Oct-4). Son activité est présente dans toutes les cellules de la morula puis, uniquement dans la masse cellulaire interne. Elle est ensuite limitée à l'épiblaste et finalement aux cellules présumptives de la lignée germinale uniquement.

Le développement ultérieur de la lignée germinale requiert l'activation de gènes qui initient la différenciation des précurseurs de la lignée germinale dans l'épiblaste. Ce processus semble nécessiter un signal inducteur du trophoblaste. Un tel candidat à ce rôle est le Bmp-4. Apparemment cette molécule active les gènes comme le germ cell-less(Gcl) dans les cellules germinales présumptives de l'épiblaste. [8]

Lorsque ces cellules sont déplacées vers la vésicule vitelline, leur prolifération et leur survie sont assurées par l'expression de facteurs trophiques dans les cellules germinales primordiales ou dans les cellules qui leur sont associées. Un facteur trophique exprimé par les cellules germinales primordiales et requis pour leur survie précoce et leur prolifération est la protéine TIAR s'unissant à l'ARN. De nombreux autres facteurs trophique semblent requis pour la survie et la prolifération des cellules germinales primordiales, tout au long de leur migration, depuis la vésicule vitelline jusqu'à l'intestin et le mésentère dorsal et puis, jusqu'à la paroi dorsal du corps. Ces facteurs comprennent ceux qui ont été exprimés par les tissus, le long du trajet, notamment le C-Kit ligand et des membres de la famille interleukine/Lif cytokine. [8]

D'autres facteurs, comprenant des protéines de la matrice extracellulaire, doivent également être exprimées par les cellules le long du chemin parcouru pour diriger la migration des cellules germinales primordiales de la vésicule vitelline vers

l'intestin, le mésentère dorsal et puis vers la crête génitale, dans la paroi dorsale du corps. Un de ces facteurs peut être la tenascine c. [8]

Finalement une fois que les cellules germinales primordiales sont arrivées dans les gonades présumptives, de nombreux gènes doivent être exprimés pour diriger la différenciation finale des cellules de la lignée germinale. Ces gènes comprennent ceux qui encodent le facteur de signalisation Gas-6 et son récepteur tyrosine kinase (Sky), le facteur de transcription Gata-4 et les protéines avec doigt de zinc Zfx (chez les femelles) et Zfy (chez les mâles).

Les études des gènes régulateurs des cellules germinales primordiales peuvent révéler les mécanismes de la formation d'un tératome. Les tératomes humains à cellules extra gonadiques pluripotentes constituent une classe rare de tumeurs à phénotype variable et dont l'origine est controversée. Ils peuvent se former dans la région sacro-coccygienne (le plus souvent chez des enfants), dans le médiastin (le plus souvent chez l'homme adulte) ou dans des sites rétro-péritonéaux, cervicaux ou crâniens. Leur pluri-potentialité est établie par leur capacité à former une variété de structures anatomiques définies, notamment des cheveux, des dents, de la glande pituitaire et même un œil complètement formé. Il a été suggéré que certains tératomes pourraient provenir de cellules germinales primordiales qui ont migré de manière atypique vers leur localisation ectopique définitive à partir de différents endroits de leur parcours normal.

Dans d'autres cas, il est admis que le tératome peut provenir de cellules souches de la lignée germinale qui se sont transformées dans la gonade elle-même. Peut-être que lorsque des gènes supplémentaires contrôlant le développement normal des cellules germinales primordiales chez l'homme seront identifiés, il sera possible d'utiliser une stratégie génétique plus spécifique pour identifier les sites

d'origine et les disruptions génétiques qui conduisent au développement de quelques unes de ces tumeurs. [8]

2.2. La deuxième semaine [8], [9], [10]

2.2.1. Devenir du trophoblaste

Au cours de la première moitié de la 2ème semaine (7 à 10 jours), le blastocyste va pénétrer dans la paroi de la muqueuse utérine (ou endomètre).

En regard de la zone de contact avec la muqueuse utérine, le trophoblaste va proliférer. La couche des cellules internes (les plus proches du centre du blastocyste) reste compacte et les cellules sont bien individualisées : c'est le cytotrophoblaste.

Pénétrant de plus en plus profondément dans la muqueuse, des cellules émises à partir du cytotrophoblaste prolifèrent et sont à l'origine d'un tissu syncitial (noyaux bien distincts et regroupés sans limites membranaires individualisées) : le syncytiotrophoblaste.

Le syncytiotrophoblaste envahit progressivement la totalité de la paroi de l'endomètre et vient dissocier les cellules transformées de la muqueuse utérine

(Cellules déciduales) ainsi que les espaces vasculaires maternels (sinus sanguins).

Le cytotrophoblaste + le syncytiotrophoblaste + une composante du mésoblaste extra-embryonnaire vont former des expansions, les villosités chorales pénétrant les sinus sanguins maternels et à l'origine de formation du placenta.

Après avoir laissé une cicatrice transitoire (caillot de fibrine) au niveau de son implantation dans la muqueuse, l'embryon par l'intermédiaire du trophoblaste est entièrement nidé au sein de la paroi utérine.

2.2.2. Devenir de l'embryoblaste

Dès le début de la 2ème semaine, l'embryoblaste se différencie en 2 couches distinctes :

- l'épiblaste, le plus proche du cytotrophoblaste
- l'hypoblaste, en regard direct du blastocoele.

Un peu plus tard, l'épiblaste prolifère latéralement puis s'incurve pour former une couche de cellules (cellules amnioblastiques) en contact avec le cytotrophoblaste.

Une nouvelle cavité se creuse et s'agrandit progressivement. Elle éloigne l'embryoblaste (épiblaste + hypoblaste) du cytotrophoblaste. Cette nouvelle cavité va former la future cavité amniotique.

Dès la formation de la cavité amniotique, le disque embryonnaire didermique est parfaitement individualisé (épiblaste + hypoblaste), entre cavité amniotique et blastocoele.

D'autres remaniements se produisent dans la 2ème moitié de la 2ème semaine.

- Ø l'hypoblaste va proliférer pour fournir une couche de cellules (membrane de Heuser) qui vont tapisser le blastocoele. Le blastocoele se transforme alors en vésicule vitelline primitive.
- Ø à partir d'une prolifération de l'épiblaste dans la zone caudale présomptive de l'embryon un nouveau tissu vient tapisser la face externe de la vésicule vitelline primitive, ainsi que la face interne du trophoblaste. Il s'agit des feuillets mésoblastiques extra embryonnaires. Ultérieurement, le feuillet mésoblastique tapissant la face externe de la vésicule vitelline primitive constituera majoritairement la splanchnopleure extra-embryonnaire ; le feuillet

mésoblastique tapissant la face interne du trophoblaste représentera majoritairement la somatopleure extra-embryonnaire.

Entre les deux feuillets, une nouvelle cavité s'est alors creusée. Elle constitue la cavité chorale ou coelome extra embryonnaire.

L'apparition de la cavité chorale est précédée par un stade transitoire ou un matériel amorphe, le réticulum, sépare la paroi cellulaire de la vésicule vitelline du cytotrophoblaste. Le réticulum est donc un matériel qui occupe l'espace entre le cytotrophoblaste et la vésicule vitelline primitive, avant même que n'apparaissent les feuillets mésoblastiques extra embryonnaires. La nature et l'origine précise du réticulum sont mal connues.

- Ø Une nouvelle poussée de l'entoblaste primaire (=hypoblaste) et de la membrane de Heuser vient limiter une cavité vitelline plus petite : la vésicule vitelline secondaire. Les reliquats de la vésicule vitelline primitive formeront dans la cavité chorale des vestiges (kystes exocoelomiques).

Ø

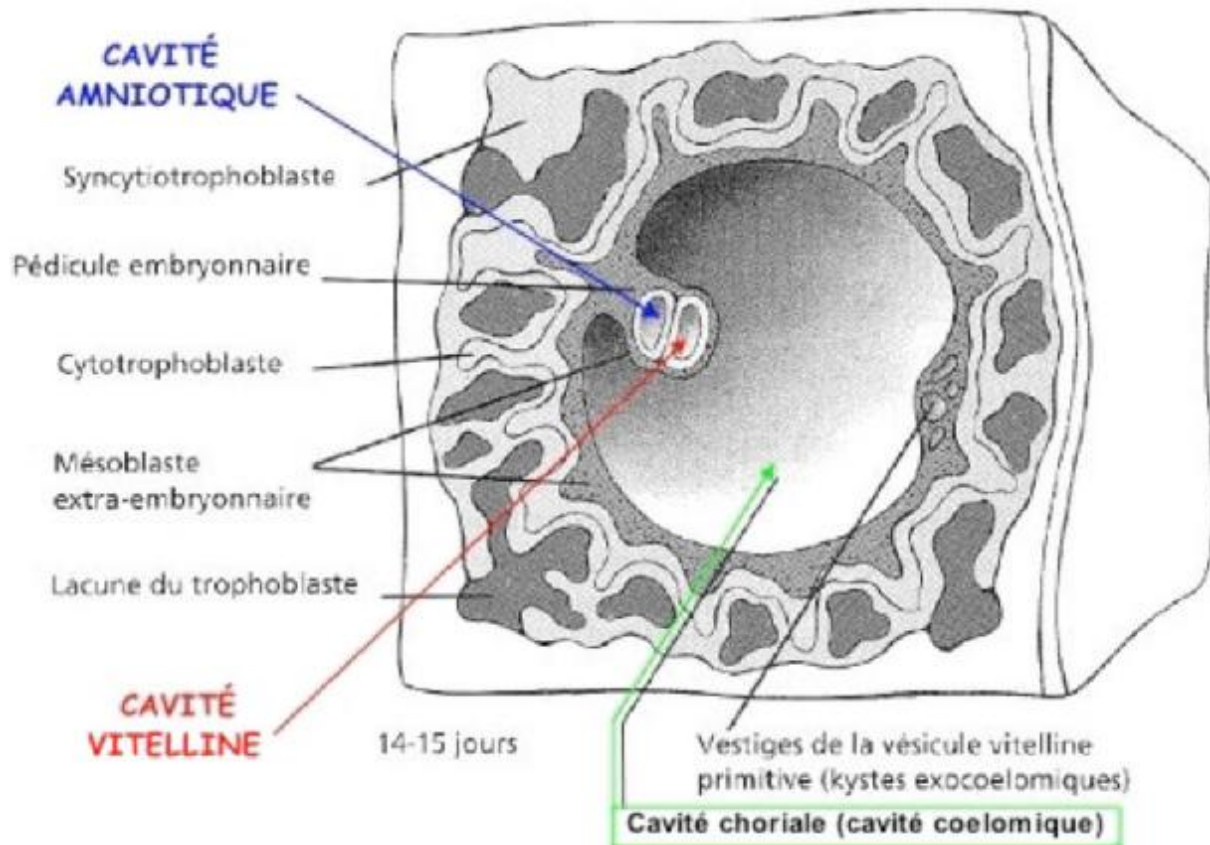


Fig. 5: A la fin de la deuxième semaine, la vésicule vitelline secondaire perd tout contact avec les vestiges de la vésicule vitelline primaire et le disque embryonnaire didermique, avec son amnios dorsal et sa vésicule vitelline ventrale, est suspendu dans la cavité choriale par un épais pédicule embryonnaire. [8]

2.2.3. La méthylation de l'ADN conduit à l'inactivation des gènes d'un chromosome X dans chaque cellule femelle

Pour compenser la présence d'un seul chromosome X, dans les cellules males (46, XY), un des deux chromosomes X, dans chaque cellule du blastocyste femelle (46, XX), est inactivé de manière stable. L'inactivation se fait au hasard, pour les chromosomes X de l'embryoblaste, mais seul celui qui vient du père est inhibé dans le trophoblaste. L'inactivation d'un chromosome X, dans les embryons femelles, nécessite l'expression d'un locus spécifique du chromosome X, le locus XIST, qui produit un ARN qui reste associé au chromosome. En outre, l'expression de XIST

mène à la méthylation des îlots CpG, aux extrémités 5' des gènes inactivés sur ce chromosome X. Celui-ci montre également une absence d'acétylation de l'histone H4 et, enfin, il se condense en une structure reconnaissable, appelée corpuscule de Barr. Bien que ce chromosome X reste inactif dans toutes les cellules somatiques femelles, celui des oogonies, dans la lignée germinale femelle, est réactivé au début de la vie fœtale. Par conséquent, un zygote mâle reçoit un seul chromosome X actif de la mère et le zygote femelle en reçoit deux, un du père et un de la mère. Les chromosomes X dans chaque cellule de l'embryon femelle restent donc actifs jusqu'à ce que l'un des deux soit à nouveau inactivé, au stade du blastocyste. [8]

2.3. La troisième semaine [8], [9], [10]

La gastrulation constitue l'évènement majeur de la troisième semaine. Il s'agit d'un mécanisme complexe, programmé dans le temps et dans l'espace, associant prolifération et migration cellulaires à partir de l'épiblaste. La gastrulation détermine l'orientation future de l'embryon et sa symétrisation ; elle met en place les 3 feuillets fondamentaux (ectoblaste, entoblaste et mésoblaste) de l'embryon qui devient alors tridermique. En outre la gastrulation se poursuit par la mise en place de la corde et par la neurulation. Simultanément, et dès la mise en place de la corde, le mésoblaste intra-embryonnaire va se segmenter dans le sens crânio-caudal par un processus de métamérisation.

2.3.1. Gastrulation

Dès le 15^{ème} jour, une structure linéaire, la future ligne primitive, apparaît sur le versant épiblastique du disque embryonnaire dans la zone qui constituera ultérieurement la partie caudale de l'embryon. Son orientation prédétermine déjà l'axe crânio-caudal de l'embryon.

La ligne primitive va rapidement se creuser pour former une dépression dont l'extrémité proche du centre du disque embryonnaire se renfle circulairement et se creuse en son centre pour former le nœud de Hensen (ou dépression primitive).

La ligne primitive est alors le siège d'importantes migrations cellulaires : les cellules épiblastiques avoisinantes vont migrer, glisser dans la dépression primitive pour venir s'enfouir sous l'épiblaste. Mais le déterminisme de ces migrations cellulaires obéit à une programmation génétiquement régulée.

- Une première poussée cellulaire au travers de la ligne primitive se déplace jusqu'à l'hypoblaste. Les cellules hypoblastiques situées dans la zone du disque embryonnaire sont alors repoussées par ce nouveau contingent d'origine épiblastique. Ainsi se crée le feuillet entoblastique définitif qui remplace l'hypoblaste (appelé par certains entoblaste primaire) dans la zone du disque embryonnaire.

- Une deuxième composante cellulaire proliférant à partir de la ligne primitive aboutit à la formation de cellules qui migrent et s'insinuent entre épiblaste et entoblaste, latéralement à la ligne primitive mais aussi crânialement et caudalement, pour former un 3ème feuillet : le mésoblaste intra embryonnaire.

Dans deux zones strictement limitées, à l'extrémité crâniale et à l'extrémité caudale du disque embryonnaire, l'épiblaste reste intimement accolé à l'entoblaste. Ces deux zones correspondent respectivement à la membrane pharyngienne et à la membrane cloacale.

Immédiatement en avant de la membrane cloacale, le mésoderme reste plus compact et forme l'éminence caudale. Il en est de même immédiatement en arrière de la membrane pharyngienne où on observe une masse mésoblastique compacte, la plaque préchordale.

La gastrulation est une étape essentielle de l'embryogénèse dont les conséquences sont multiples :

a) Les 3 feuillets définitifs de l'embryon, ectoblaste, mésoblaste, entoblaste dérivent tous d'un même feuillet primaire : l'épiblaste.

b) La ligne primitive détermine l'orientation axiale cranio-caudale, de l'embryon et sa symétrie bilatérale.

c) Le déterminisme de la gastrulation est antérieur à la mise en place de la ligne primitive. Avant même la gastrulation, il existe des territoires présomptifs sur l'épiblaste correspondant à des groupes de cellules qui vont spécifiquement fournir le mésoblaste, l'entoblaste, la corde après migration dans la ligne primitive ou le nœud de Hensen. Le territoire présomptif du neurectoderme est lui-même déjà prédéterminé.

Par inductions successives, les sous-groupes cellulaires prédéterminés dans les territoires présomptifs seront les précurseurs de l'ensemble des tissus et ébauches de l'organisme (lignage cellulaire).

C'est dire l'importance que revêt le mécanisme de la gastrulation et sa régulation.

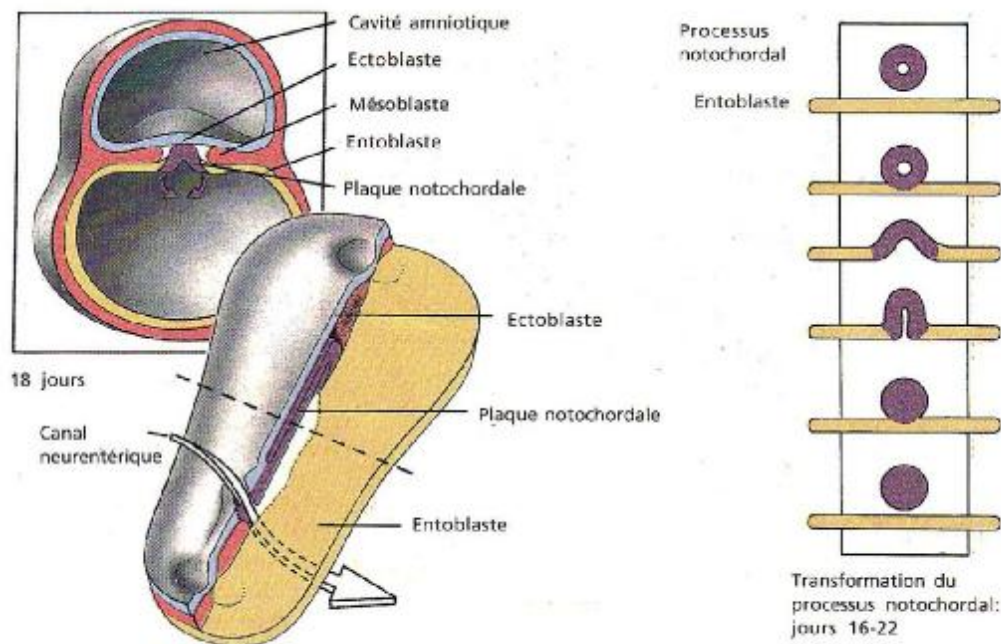


Fig.6 : Transformation, entre les jours 16 et 22, du processus notochordal creux en une notochorde solide. [8] p : 59

2.3.2. La mise en place de la chorde et le début de la neurulation

Le processus de gastrulation se poursuit et va directement induire la neurulation.

Dès le 16ème jour, à partir du nœud de Hensen, des cellules vont proliférer et former un tube creux, le processus notochordal (ou tube notochordal), qui se dirige vers la future zone céphalique de l'embryon.

Plus en avant de la zone de prolifération du tube notochordal, on observe une densification mésoblastique : la zone préchordale (au même titre qu'il existe une zone dense près de la région postérieure : l'éminence caudale).

Le tube notochordal va alors subir des remaniements qui le transforment, vers le 22ème jour, en un tube cellulaire plein : la chorde dorsale.

En effet, le tube notochordal vient d'abord s'accoler avec l'entoblaste, pour ensuite fusionner avec lui. Le processus notochordal est alors intégré dans l'entoblaste selon l'axe médian de l'embryon et forme la plaque notochordale. Ultérieurement, la plaque notochordale se creuse à nouveau en gouttière ; elle se désolidarise de l'entoblaste et forme la structure longitudinale définitive : la chorde dorsale, cylindre solide dans l'axe céphalique du futur embryon.

Simultanément à la croissance du processus notochordal et à la formation de la chorde, la ligne primitive régresse. In fine, elle ne représentera guère plus de

5 à 10 % de l'axe longitudinal du disque embryonnaire (contre plus de 50 % au 17/18ème jour).

L'individualisation complète de la chorde est un processus qui déborde la 3ème semaine et ne s'achève que vers les 22-24 ème jours. Entre-temps, l'intégration du processus notochordal à l'entoblaste avait ménagé localement un orifice au niveau du nœud de Hensen, orifice qui mettait transitoirement en

communication la cavité amniotique avec la cavité vitelline : il s'agit du canal neurentérique.

La mise en place de la chorde vient induire l'ectoblaste sus-jacent dans le territoire présomptif qui génèrera le futur système nerveux (par le processus de neurulation). Dans ce territoire, l'ectoblaste s'épaissit et forme la plaque neurale qui s'agrandit antérieurement pour acquérir un aspect lobaire qui couvre la majorité de la zone crâniale épiblastique, vers le 20ème jour.

La plaque neurale formera le cerveau et la moelle épinière. C'est sa partie large et crâniale qui produira le cerveau, alors que sa zone caudale (plus proche du nœud de Hensen) va assez rapidement se creuser en gouttière neurale qui sera à l'origine de la moelle épinière.

2.3.3. Le début de la métamérisation

Simultanément à l'apparition de la plaque neurale, le mésoblaste intra-embryonnaire se différencie.

D'abord dans la zone céphalique, à partir du 18/19^{ème} jour, le mésoblaste para-axial se condense en blocs segmentaires de cellules qui se disposent en spirales et constituent les somitomères. Les 7 premiers somitomères, à l'extrémité de la zone céphalique (proches de la membrane pharyngienne), vont dégénérer et tout au plus fourniront un contingent cellulaire pour la formation des muscles de la face, de la mâchoire et du pharynx.

Les somitomères sous jacents vont poursuivre leur développement en blocs "métamérisés" dans le sens crânio caudal.

La densification cellulaire s'accroît et aboutit à la formation de somites, structures cellulaires compactes de part et d'autre de la chorde dorsale.

A la fin de la 3ème semaine (21ème jour), une seule paire de somites s'est déjà constituée. Mais ultérieurement et au cours de la 4ème semaine, la somitisation

(ou métamérisation) se poursuit dans le sens crânio caudal. Elle aboutira ultérieurement à la mise en place de 44 paires de somites, étagées de la zone cervicale jusqu'à la zone sacro-coccygienne.

La métamérisation est d'abord incomplète et les somites, même individualisés, restent reliés au mésoblaste par une zone compacte et plane, la lame intermédiaire.

A la périphérie de la lame intermédiaire, le mésoblaste se clive en 2 feuillets distincts qui tapissent soit l'ectoblaste (ce feuillet porte alors le nom de somatopleure), soit l'entoblaste (ce feuillet porte alors le nom de splanchnopleure) du disque embryonnaire. La somatopleure et la splanchnopleure embryonnaires viennent fusionner avec les feuillets correspondants du mésoblaste extra-embryonnaire déjà formé antérieurement et au cours de la deuxième semaine.

2.3.4. Le développement de l'embryon humain est contrôlé par une cascade de gènes modifiés à partir de ceux utilisés par les organismes inférieurs

Il est évident que le développement épigénétique du corps humain est sous la dépendance d'une cascade de gènes de l'expression, c'est-à-dire que des gènes régulateurs, agissant très tôt, initient le processus de développement et induisent directement ou indirectement l'expression d'autres gènes situés « en aval ». Les activités de ces gènes en induisent d'autres à leur tour jusqu'à ceux qui encodent les caractéristiques structurelles et fonctionnelles des cellules spécifiques et des tissus de l'embryon. Bien que ces cascades aient été décrites en détail dans des organismes comme la mouche drosophile, nous en savant beaucoup moins à propos des embryons de vertébrés. Il y a cependant une évidence criante que de nombreux aspects de la hiérarchie génétique du développement ont été remarquablement conservés au cours de l'évolution.

Chez la drosophile, la cascade épigénétique est initiée par des gènes exprimés avant la fécondation, les gènes de l'effet maternel. Ceux-ci encodent des signaux

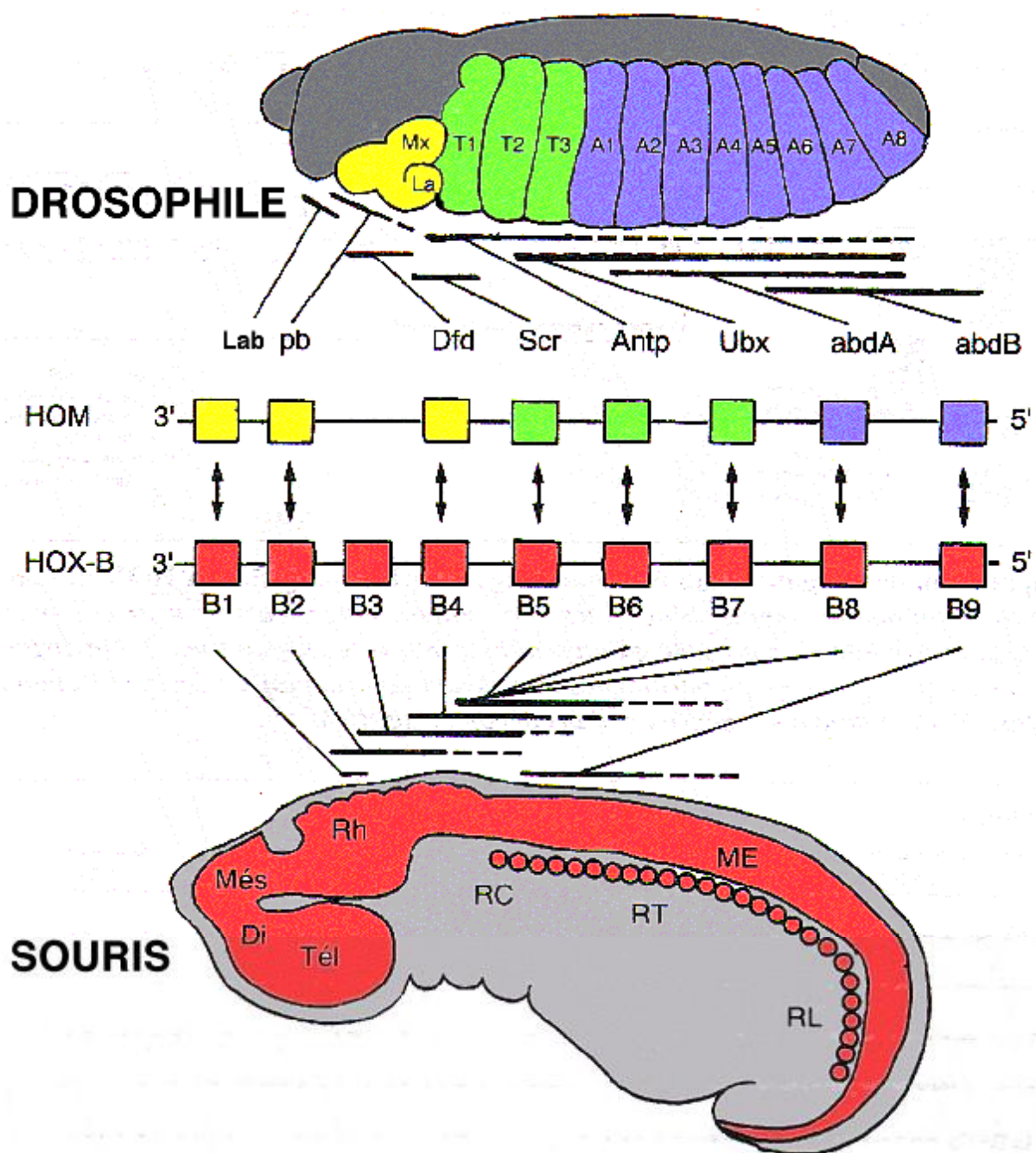
déterminant les axes de l'embryon, notamment l'axe antéro-postérieur (axe crânio-caudal de l'homme), l'axe dorso-ventral et l'axe droite/gauche. Chez la mouche, les gènes de l'effet maternel encodent des facteurs de croissance ou des facteurs de transcription qui communiquent les différences à des sous-régions de l'ovocyte, du zygote ou du jeune embryon, le long des axes respectifs. Bien qu'une telle localisation des déterminants cytoplasmiques soit importante pour le développement de la drosophile et de certains vertébrés, il est évident que le cytoplasme de l'ovocyte de mammifère est relativement homogène dans sa composition.

Au début du développement de l'embryon, l'expression des gènes de l'effet maternel est remplacée par une classe de gènes dits de zygotes. Chez la drosophile, une classe de gènes du zygote est appelée gènes de la segmentation parce que leur expression provoque la subdivision des embryons en plusieurs fragments virtuellement identiques. Nombre de ces gènes encodant des facteurs de transcription peuvent allumer ou éteindre d'autres gènes fixant d'autres régions régulatrices de l'ADN. En outre, plusieurs gènes contenant des séquences de nucléotides en rapport avec les gènes de segmentation de la drosophile ont été identifiés chez les mammifères et la conversion de « l'effet maternel » en « effet zygote » se produit également aux premiers stades de la segmentation dans ces organismes supérieurs. Comme dans le cas de la drosophile, certains de ces gènes de mammifères peuvent également jouer un rôle dans la segmentation. Par exemple, celle du cerveau postérieur de mammifères, des arcs pharyngiens des régions de la tête et du cou et des somites du tronc est contrôlée génétiquement.

Ensuite, les gènes de la segmentation de la mouche et les changements développementaux qu'ils apportent induisent l'expression des gènes homéotiques. Ces gènes contiennent une région de l'ADN, appelée homéobox, qui contient 183

paires de bases particulièrement bien conservées. Elle encode l'homéodomaine de 61 acides aminés. En retour, celui-ci reconnaît et unit les séquences spécifiques d'ADN d'autres gènes. Ces protéines encodées fonctionnent donc comme des facteurs de transcription qui contrôlent l'activité de nombreux gènes « en aval » et, en conséquence, sont souvent considérés comme gènes majeurs de contrôle. Un sous-groupe spécial de gènes homéobox de la drosophile est organisé en deux ensembles sur le chromosome 3 et sont appelés, collectivement, complexe homéotique, ou HOM-C. apparemment, un ancêtre commun de ce complexe a été reproduit une fois et ensuite, chaque complexe résultant a été reproduit à nouveau au cours de l'évolution des mammifères. Les quatre complexes des gènes homéobox des mammifères sont appelés les gènes Hox.

Les gènes HOM-C de la drosophile et les gènes Hox des mammifères se sont extrêmement bien conservés, au cours de l'évolution, aussi bien au niveau de l'organisation, de la séquence, de l'expression et de la fonction. Bien que les gènes Hox de mammifères aient été altérés individuellement au cours de l'évolution, ils ont gardé une séquence homologue significative avec les gènes HOM-C de la drosophile. Les séquences d'acides aminés des homéodomains de la drosophile et celles de leurs orthologues mammaliens ou correspondants sont souvent identiques à plus de 90%. En outre aussi bien chez les mammifères que chez les mouches, ces gènes montrent la propriété de colinéarité, avec la position de l'un d'eux dans le groupe reflétant son domaine d'expression dans l'embryon en développement. Les gènes situés dans des positions au-delà de 5' dans l'ensemble sont exprimés dans les régions les plus caudales de l'embryon.



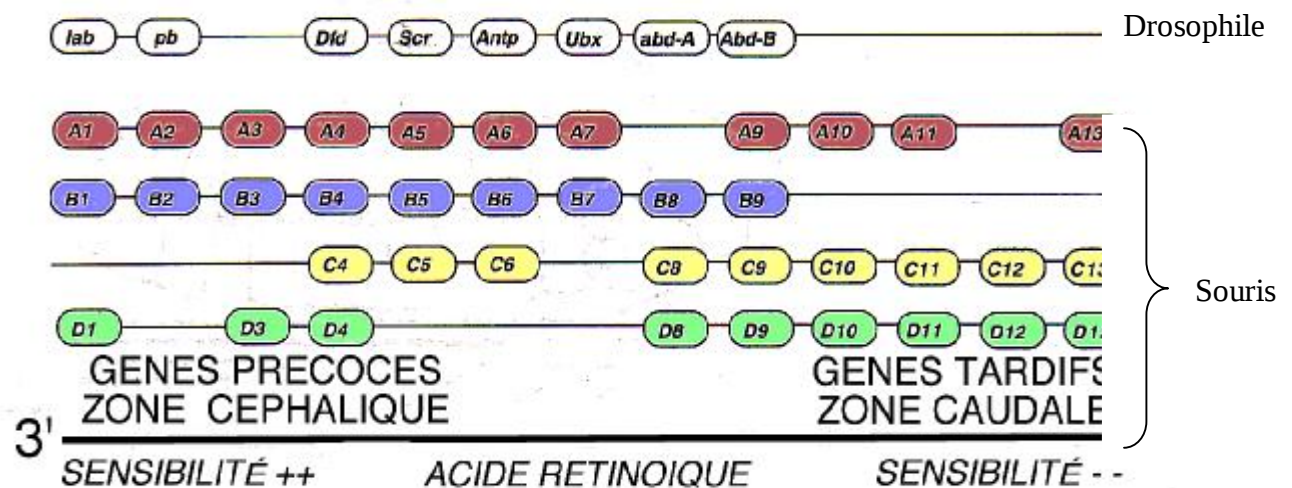


Fig. 7: Alignement de quatre complexes Hox de vertébrés avec le complexe homéotique de la drosophile (Adapté d'après Krumlauf R. 1993. Hox genes pattern and pattern formation in the bronchial region of the vertebrate head. Trends Genet: 106.)

2.4. La quatrième semaine [8], [9], [10]

On peut affirmer que la 4ème semaine apporte en quelques jours les transformations morphologiques les plus radicales de l'embryon. Cette quatrième semaine est caractérisée par 2 évolutions majeures.

a) la mise en place, à partir des 3 feuillets primordiaux de l'embryon (ectoblaste, mésoblaste, entoblaste), de la majorité des ébauches des grands organes du corps.

Trois évolutions sont particulièrement marquantes :

- la transformation des somites primitifs, à l'origine des vertèbres et des muscles
- la formation à partir de la plaque neurale d'un système nerveux central parfaitement identifiable,

- l'apparition de structures vasculaires et cardiaques déjà fonctionnelles.

b) la transformation du disque embryonnaire en un embryon parfaitement reconnaissable grâce à une délimitation du corps de l'embryon. Il s'agit d'un processus de plicatures complexes qui font passer très rapidement l'embryon d'une structure plate, à deux dimensions prévalentes, à une structure à 3 dimensions.

2.4.1. La mise en place des ébauches primordiales :

2.4.1.1. Les somites :

Déjà apparus à la 3^{ème} semaine, les somites vont poursuivre leur différenciation dans le sens crânio caudal : toujours par le même processus, les somitomères vont se transformer en somites, et ce jusqu'au début de la 5^{ème} semaine où le processus s'achève dans la zone caudale. 42/44 paires de somites sont alors constituées.

Au cours de cette maturation crânio-caudale, les somites vont subir des transformations successives et fournir différentes ébauches. Une fente étroite apparaît au sein des somites et forme une cavité médiane. Par rapport à cette fente centrale, les cellules de la zone la plus proche de la chorde, ainsi que celles bordant la cavité, vont proliférer et émettre des fusées de cellules qui se dispersent dans les espaces embryonnaires, et se dirigent vers la notochorde et le tube neural. L'ensemble de ces cellules constituent le sclérotome.

2.4.1.2. La transformation de la plaque neurale

A peine ébauchée à la fin de la 3^{ème} semaine, la transformation de la plaque neurale va aboutir à la mise en place du système nerveux central pendant la 4^{ème} semaine.

Dès le début de la 4^{ème} semaine, la zone céphalique du corps de l'embryon s'infléchit : c'est la courbure céphalique qui marquera la zone du futur mésencéphale.

La zone plus antérieure correspondra au prosencéphale, et la zone plus postérieure formera le rhombencéphale. Au total, la zone antérieure et large de la plaque neurale sera à l'origine des 3 premières vésicules constitutives du cerveau.

Le rhombencéphale (ou cerveau postérieur primitif) apparaît segmenté (neuromères ou rhombomères). Cette segmentation explique ultérieurement une émergence sectorielle de certaines paires de nerfs crâniens, en particulier les paires III à XI, avec un rôle complémentaire pour les somitomères adjacents qui exercent un tropisme sur les nerfs en croissance, et semblent guider leur progression périphérique.

Dans sa zone plus étroite déjà creusée en gouttière, et à partir du stade 5 somites (fin du 22ème jour), la plaque neurale va s'invaginer pour former le tube neural qui va s'isoler de l'ectoblaste sus-jacent.

2.4.1.3. La vasculogénèse

Elle permet d'aboutir à la fin de la 4ème semaine à la mise en place d'un système artério-veineux primitif mais déjà fonctionnel. La circulation d'échange entre la mère et l'embryon sera établie. Ce système comprend à la fois,

a) une circulation extra embryonnaire dont l'unité fonctionnelle est représentée par la villosité trophoblastique au sein du placenta en cours de formation.

b) une circulation intra embryonnaire morphologiquement et fonctionnellement très proche du système vasculaire des vertébrés inférieurs (poissons agnathes et protochordés).

Cette circulation primitive va par la suite se modifier au cours du deuxième mois de la vie intra-utérine pour acquérir ses caractéristiques définitives.

2.4.1.4. Mais la plupart des autres organes apparaissent aussi sous forme d'ébauches

Ces ébauches n'ont cependant encore aucune fonctionnalité.

a) La lame intermédiaire évolue pour constituer le pro et le mésonéphros, structures rénales très primitives. A la fin de la 4ème semaine, la différenciation du rein définitif sera même initiée dans une zone basse et compacte de la lame intermédiaire, le blastème métanéphrogène localisé dans une région latérale au cloaque et proche du sacrum.

b) Les cellules germinales primordiales apparaissent dans la couche entoblastique de la vésicule vitelline, préférentiellement dans une région proche de l'allantoïde, et à la fin de la 4ème semaine. Ces cellules migreront activement vers le tube digestif puis vers la paroi dorsale du corps dans une zone thoracique basse adjacente au mésonéphros.

c) Les arcs pharyngiens au nombre de 5, se développent dans le sens crânio caudal durant toute la 4ème semaine (22 à 29 jours).

d) La 4ème semaine verra également la mise en place de 5 bourgeons céphaliques (1 fronto-nasal, 2 maxillaires, 2 mandibulaires) qui par fusion et remodelage constitueront la face.

e) Les ébauches oculaires et des oreilles apparaissent également

f) Le tube digestif se forme en s'isolant de la vésicule vitelline secondaire, grâce aux mécanismes de fermeture du corps de l'embryon.

g) Le bourgeon pulmonaire : Il se forme simultanément, vers la fin de la 4ème semaine, à partir de l'entoblaste de l'intestin antérieur. Il se divise rapidement en 2 (bourgeons bronchiques droit et gauche)

h) Les bourgeons des membres apparaissent aussi ; d'abord ceux des membres supérieurs, ensuite ceux des membres inférieurs à la fin de la 4ème semaine/début de la 5ème.

Plusieurs points doivent déjà être soulignés :

- l'apparition d'un épaissement, la crête ectoblastique, à l'extrémité de chaque membre. Cet épaissement est indispensable à la différenciation des membres.
- l'ossification s'effectue par condensation et remodelage in situ du mésoblaste embryonnaire.
- les muscles résultent d'une migration à partir des myotomes voisins de la racine du membre, par un processus de segmentation du myotome.
- les doigts et orteils apparaissent à partir d'un aplatissement de l'extrémité du membre : la palette. Les rayons des doigts et orteils se forment.

L'individualisation des doigts et orteils est consécutif à un mécanisme d'apoptose.

2.4.2. Délimitation du corps de l'embryon

Au cours de la 4ème semaine, la croissance différentielle de l'embryon entraîne des plicatures et la délimitation du corps.

On peut admettre que le phénomène est consécutif à une prolifération hétérogène entre l'embryon proprement dit, qui s'accroît considérablement, et la vésicule vitelline qui ne se développe plus. Dès lors, tout se passe comme si la zone de jonction entre embryon et zone vitelline était inextensible. Cette fixité du bord externe entoblastique impose alors les incurvations du corps de l'embryon qui prend une forme convexe.

En fait, il ne s'agit que d'une image macroscopique : les processus de plicature et de courbure, avec les nombreuses migrations cellulaires associées, résultent de mécanismes moléculaires actifs.

La plicature du corps de l'embryon provoque le rapprochement des bords latéraux du disque vers la zone médio-ventrale. Les feuilletts entoblastiques, mésoblastiques et ectoblastiques fusionnent avec les bords homologues donnant naissance à l'embryon en 3 dimensions.

Le processus de fermeture sépare et individualise l'intestin primitif de la vésicule vitelline. La jonction entre les deux structures forme le canal vitellin.

Simultanément, le coelome intra et extra-embryonnaires vont être totalement séparés.

Le coelome intra-embryonnaire est limité par le somatopleure qui tapisse la face interne de la paroi du corps et par la splanchnopleure qui recouvre l'intestin primitif.

Rapidement, dans la portion abdominale, l'intestin primitif va être suspendu dans le coelome par un allongement de la zone de réflexion entre somatopleure et splanchnopleure : il s'agit du mésentère dorsal.

Le coelome intra embryonnaire va également être cloisonné au cours de la 4ème semaine en 3 cavités distinctes, les cavités pleurale, péricardique et péritonéale.

Le cloisonnement le plus important résulte d'une zone de mésoblaste plus compact (et non clivé en somatopleure et splanchnopleure) localisée entre la zone cardiaque et la limite crâniale du disque embryonnaire : le septum transversum.

La courbure de l'embryon dans le sens longitudinal, et plus particulièrement la courbure céphalique, amène cette zone à s'enfoncer comme un coin entre la région cardiaque et le futur canal vitellin.

Le septum transversum fournit une grande partie du diaphragme, séparant cavité thoracique et abdominale.

Le septum transversum dans sa zone abdominale est pénétré par le bourgeon hépatique crânial et participera à la formation de la glande hépatique.

Après la 4ème semaine, et à cause du phénomène de plicature, l'amnios s'enroule autour de la zone dorsale de l'embryon et finit par entourer totalement l'embryon jusqu'à la zone ventrale. L'amnios continue à s'accroître en volume si bien qu'à la 8ème semaine il aura oblitéré presque totalement la cavité chorale; la paroi amniotique tapissera aussi le cordon ombilical qui s'est formé par un allongement spectaculaire du pédicule embryonnaire et du canal vitellin.

La vésicule vitelline (ou ombilicale) persistera sous forme d'un élément rudimentaire au sein de la zone d'implantation chorale du cordon ombilical.

Le cordon ombilical assurera la jonction vasculaire foeto placentaire. Le vaste espace créé par l'amnios forme un volume important où le fœtus est hydrauliquement protégé, et où il peut grandir et bénéficier d'une importante mobilité.

2.4.3. La segmentation coordonnée et contrôlée du mésoderme para-axial produit des nombres spécifiques de paires de somites

Les cellules qui s'invaginent à travers la ligne primitive de l'homme réagissent avec le mésoderme para-axial préalablement formé et qui se segmente ensuite en somitomères. Tous, à l'exception des sept les plus craniaux se différencient en somites, à l'origine du caractère segmentaire apparent du tronc en développement. L'initiation de ce processus de somitogène, chez les mammifères, semble requérir l'action des fibroblast growth factors et d'une protéine sécrétée, Wnt-3a, qui associe la surface cellulaire à la matrice extracellulaire. Cependant, la coordination de ce mécanisme de segmentation nécessite, apparemment, l'activité du gène mammalien

notch-1, homologue du gène Notch de la drosophile. D'autres gènes régulateurs, comme Pax-3, Pax-7 et Pax-1, sont également exprimés dans le mésoderme presomitique ou au niveau des bords du somite mais, leur rôle exact dans la segmentation de ce dernier n'est pas clair.

2.4.4. Les territoires de l'expression des gènes Hox contrôlent la spécification régionale des vertèbres

Il est intéressant de noter que l'expression la plus crâniale des gènes Hox des vertébrés, comme le montre l'hybridation in situ ou l'usage du gène LacZ se produit aux limites approximatives entre les somites. Cet arrangement résulte de combinaisons uniques dans l'expression des gènes Hox à pratiquement chaque segment du tronc; cette organisation est en accord avec un modèle Homc de la segmentation des arthropodes, formulé par Edward Lewis, qui stipule que les gènes homéotiques peuvent spécifier la diversité des segments par un code combinatoire.

2.4.5. Mécanismes inducteurs de la formation du tube neural et de la différenciation des somites

La notochorde et le tube neural induisent le développement des sclérotomes. On sait que les somites se divisent en sous-unités. En premier lieu, ils donnent un dermatomyotome, dorso-latéral, et un sclérotome, ventro-médial. Ensuite, les sclérotomes se partagent pour se recombinaison et former les vertèbres ainsi que les disques intervertébraux. Les dermatomyotome donnent un dermatome, qui contribue à la formation du derme, et un myotome, à l'origine de la musculature du tronc.

Il apparaît maintenant que la segmentation et la différenciation de ces sous-unités somitiques se trouvent sous le contrôle de gènes régulateurs et de facteurs de croissance qui agissent à travers des mécanismes inducteurs spécifiques. L'induction se définit comme la stimulation de la différenciation d'un groupe de

cellules (tissu répondeur), dans une voie spécifique donnée, sous l'effet d'une population cellulaire voisine (tissu inducteur). Typiquement, le tissu inducteur produit une substance inductrice, qui peut nécessiter le contact cellulaire direct pour produire son effet sur le tissu répondeur, ou qui peut diffuser et agir sur des distances courtes ou des espaces entre tissu inducteur et tissu répondeur.

En effet, bien que les somites contiennent une information positionnelle ou régionale avant leur différenciation en sclérotomes et dermatomyotome, les cellules contenues dans les somites néoformés ne sont pas spécifiquement déterminées à entrer dans aucune lignée spécifique. La différenciation des sous-régions somitique semble requérir des signaux des tissus adjacents.

Le premier signal responsable de l'induction d'un sclérotome semble être l'homologue chez les vertébrés, du gène hedgehog (Shh). Des études d'hybridation in situ ont montré que l'ARNm de ce peptide est fortement exprimé dans les cellules de la notochorde et dans le plancher du tube neural, alors que des études immunohistochimiques montrent que la protéine Shh est également synthétisée dans ces cellules au cours de la période de la différenciation somitique. Il est également probable que le facteur de transcription winged-helix, HNF-3 β joue un rôle pivot dans l'activation du gène Shh dans la notochorde et dans le plancher du tube neural.

Il a été démontré que d'autres gènes régulateurs ont également un rôle clef à jouer dans le développement des sclérotomes. Par exemple, celui des arcs vertébraux dorsaux requiert l'induction de l'expression des gènes homéobox Msh et Pax-1 spécifiquement nécessaire au développement des corps vertébraux et des disques intervertébraux.

Le tube neural dorsal et l'ectoderme de surface induisent le dermatomyotome. D'une manière qui n'est pas surprenante, les tissus responsables en premier lieu de

l'induction des dermatomyotomes sont ceux qui se forment dans le voisinage de la région dorso-latérale du somite ; il s'agit de l'ectoderme de surface et de la partie dorsale du tube neural. Cependant, à l'inverse de l'induction du sclérotome, celle du dermatomyotome demande une association plus étroite entre le mésoderme para-axial (tissu répondeur) et l'ectoderme de surface avec la partie dorsal du tube neural (tissu inducteur). Dans ce système, le signal inducteur a été identifié comme des protéines de la matrice extracellulaire associées à la surface cellulaire, encodé par des membres de la famille des gènes Wnt. Les isoformes Wnt-1, Wnt-3 et Wnt-4 sont non seulement exprimées dans la partie dorsale du tube neural au cours de la période d'induction du dermatomyotome, du myotome et du dermatome mais aussi l'application exogène de Shh et de Wnt-1 ou Wnt-3 est suffisante pour induire l'expression de marqueurs spécifiques de muscles tel N-myc et la myogenine dans les myotomes. D'autre part, des inducteurs spécifiques des marqueurs spécifiques des dermatomes n'ont pas été identifiés mais semblent produits par l'ectoderme de surface. D'autres marqueurs spécifiques des dermatomes, notamment Wnt-11, et le facteur de transcription basic helix-loop-helix dermo-1 sont également induits pendant la période de formation des dermatomes.

La différenciation des dermatomyotomes demande aussi un signal inducteur Shh émis par la notochorde et le tube neural ventral. Une interaction à long terme avec Shh est nécessaire pour la différenciation des sclérotomes par la notochorde ou le plancher du tube neural. Shh semble cependant devoir agir uniquement de façon brève sur la région dorso-latérale du somite, aux premiers stades de la différenciation du dermatomyotome, apparemment pour induire leur compétence à répondre aux signaux inducteurs de l'ectoderme de surface. Par conséquent, la différenciation dorso-ventrale du somite semble requérir l'interaction synergique entre les facteurs de croissance dorsaux et ventraux.

Les gènes Pax sont exprimés dans le tube neural et dans le sclérotome. Neuf gènes Pax différents, Pax-1 à Pax-9, ont été identifiés et tous semblent jouer le rôle de facteurs de transcription, capable de s'attacher à des séquences spécifiques d'ADN. Tous ces gènes contiennent une paire spécialisée d'un domaine, certains contiennent l'homéodomaine et d'autres, uniquement celui de la première hélice. Ils sont tous en rapport avec les gènes de la segmentation de la drosophile.

Les schémas d'expression des gènes Pax sont compatibles avec leurs rôles possibles dans la spécification des différentes régions du système nerveux central et des somites. Au cours de l'induction du tube neural, par exemple, Pax-3 et Pax-7 sont exprimés uniquement dans la région dorsale du tube, au niveau des colonnes alaires (sensitives), du toit, ainsi que dans les dérivés de la crête neurale. Pax-6 est localisé dans la zone ventriculaire des régions basale et intermédiaire du tube neural et Pax-5, de même que Pax-8, sont exprimés dans les colonnes grises longitudinales intermédiaires. Des régions spécifiques des somites expriment également des gènes Pax spécifiques. La notochorde et/ou le plancher ou Shh elle-même induisent l'expression de Pax-1 dans la région ventro-médiale du somite, les sclérotomes présomptifs, alors que l'induction de l'ectoderme superficiel dépend de la restriction éventuelle de l'expression de Pax-3 et Pax-7, dans la région dorso-latérale du somite.

2.5. Développement du système nerveux

2.5.1. Le développement du système nerveux et des neurones

Le développement du système nerveux dépend de l'expression, à des temps précis, de différents facteurs localisés de façon ponctuelle. Des processus épigénétiques et des programmes moléculaires intégrés dans le matériel génétique des cellules entraînent l'expression finement contrôlée de différents gènes

responsables du développement. Les facteurs qui contrôlent la différenciation neuronale se retrouvent dans l'environnement, les facteurs sécrétés, les nutriments, les stimuli sensoriels, les expériences sociales et cognitives, ainsi que dans les différentes cellules de l'embryon, les molécules membranaires et sécrétées et les facteurs de transcription. L'interaction et l'équilibre entre ces éléments intrinsèques et environnementaux sont critiques pour la bonne différenciation de chaque cellule nerveuse.

2.5.1.1. Différenciation des cellules de la crête neurale

Les précurseurs neuronaux de la crête neurale migrent à l'endroit approprié pour former des cellules qui exerceront une fonction spécifique. Pour former les neurones sensoriels et les cellules de Schwann, les cellules de la crête neurale migrent jusque dans les DRG (DRG : spinal cord dorsal root ganglia /ganglions des racines dorsales de la moelle épinière).

Les cellules de la crête neurale migrent et se différencient sous l'influence de plusieurs facteurs. Leur chemin est contrôlé par la MEC (matrice extra cellulaire) entourant le tube neural et les cellules environnantes. C'est la balance des protéines permissives (laminine, fibronectine, tenascine et plusieurs collagènes) et restrictives (principalement les éphrines et les peanuts agglutinin (PNA) binding molécules) qui gèrent la migration des cellules de la crête neurale de façon similaire à la migration axonale [11]. Certains facteurs attractifs sont aussi importants pour la migration de ces cellules [12] tandis que d'autres, dont l'expression du facteur Sox10 (sex determining région Y-box 10), permettent de maintenir leur multipotence [13]. En effet, les cellules de la crête neurale peuvent devenir différents neurones ou des cellules gliales [14]. La différenciation finale des cellules de la crête neurale est déterminée aussi en grande partie par l'environnement où elles migrent et par les facteurs sécrétés par les cellules de ces différents environnements. Les facteurs

contrôlant la différenciation gliale versus neurale semblent être de nature diffusible, les bone morphogenic proteins (BMP) et le glial growth factor (GGF) entre autres [15], mais le processus décisif entre ces deux voies est encore obscur et d'autres facteurs, comme la signalisation de Notch, seraient aussi impliqués. Il appert par contre que la différenciation de certaines cellules soient davantage déterminée et qu'elle commence pendant la migration. En effet, les neurones sensoriels se différencient via le facteur de transcription neurogenin (Ngn) alors que les neurones sympathiques et parasympathiques sont déterminés par le facteur de transcription mammalian achaete-scute homolog (Mash-1) [16], ces facteurs étant exprimés dès que les cellules émergent de la crête.

a) Différenciation en neurones sensoriels

Dans les DRG, les différentes classes de neurones sensoriels sont générées en deux vagues, les neurones larges de la mécanosensation d'abord, suivis des petits neurones de la noci et thermoception, suite aux effets des facteurs de transcription Ngn1 et Ngn2 [17]. Les neurones sensoriels expriment aussi le facteur de transcription Brain-3.0 (Brn-3.0), dont l'inactivation chez la souris montre sa nécessité pour la survie de neurones sensoriels de la proprio, mécano et nociception, ainsi que pour l'expression de neurotrophines et de leurs récepteurs. Récemment, il a été démontré que l'identité spécifique des neurones sensoriels est déterminée par l'expression des runt-related transcription factors (Runx). En effet, Runx3 provoque la différenciation en neurones sensoriels cutanés et proprioceptifs en induisant la disparition de TrkB et l'apparition de TrkC et en spécifiant leur cible selon son niveau d'expression [18]. Aussi, Runx1 spécifie les neurones nociceptifs en réprimant l'expression de CGRP et en régulant l'expression des récepteurs TRP [18] .

b) Différenciation en cellules de Schwann

Les cellules de Schwann sont dérivées des cellules de la crête neurale. Certaines cellules semblent être déjà entrées dans la lignée gliale alors qu'elles migrent le long du tube neural et vers la périphérie, bien que les signaux extrinsèques importants pour l'induction du développement glial soient peu connus [19]. Plusieurs facteurs ont été impliqués dans le développement des cellules de Schwann in vitro et in vivo, notamment la neuréguline et l'endothéline [20]. L'endothéline serait un régulateur négatif du développement des cellules de Schwann, alors que la neuréguline aurait l'effet inverse. In vitro, la neuréguline bloque le développement neuronal des cellules de la crête alors que les cellules de Schwann se développent avec ou sans l'apport de ce facteur. Aussi, la gliogenèse dans les DRG s'effectue normalement chez les souris où la signalisation via la neuréguline a été inactivée [21]. Néanmoins, les souris déficientes en neuréguline ou en ses récepteur erbB3 et erbB4 présentent une absence, de cellules de Schwann et de leurs précurseurs. Ceci est probablement dû au fait que la neuréguline constitue aussi un facteur de survie pour ceux-ci. La signalisation via Notch recoupe certaines actions de la neuréguline, puisque son activation inhibe aussi la génération de neurones tout en favorisant le développement de davantage de cellules de Schwann. [22]

Le facteur de transcription Sox10, initialement exprimée dans les cellules migratoires de la crête neurale, est aussi impliqué dans le développement glial. Dans les souris déficientes en Sox10, les cellules gliales, cellules de Schwann et cellules satellites des DRG, manquent très tôt dans le développement. Au contraire, les neurones sensoriels sont retrouvés en quantité normale, bien qu'ils finissent par mourir plus tard [23].

Sox10 et le récepteur erbB3 sont exprimés très tôt dans les cellules de la crête et sont maintenus dans les lignées gliales et régulés à la baisse dans les lignées neuronales au cours de la différenciation. L'expression de erbB3 est régulée par Sox10 dans les cellules dérivées de la crête, puisque les souris mutantes pour Sox10 présentent une expression très faible du récepteur, mais pas dans les cellules initiales de la crête neurale où l'expression de erbB3 est normale. [23]

c) Différenciation en neurones moteurs

La différenciation des neurones moteurs s'amorce avec la contribution de signaux spatiaux via sortie hedgehog (Shh) sécrété par la notocorde et la plaque neurale [24]. Shh agit initialement pour convertir les cellules de la plaque neurale médiane en une population de précurseurs ventraux et dirige plus tard le schéma de différenciation de ces mêmes précurseurs en neurones moteurs et interneurones selon différents seuils de concentration. Les précurseurs neuronaux exposés au Shh se divisent une ou deux fois avant de quitter le cycle cellulaire et de suivre la voie de différenciation des neurones moteurs [24]. Ces précurseurs ont la possibilité de générer des interneurones ou des neurones moteurs. En effet, les souris dont le gène *Islet-1*, requis pour le développement de neurones moteurs, a été inactivé manquent de neurones moteurs mais aussi d'interneurones dans la racine ventrale de leur moelle épinière. C'est l'expression du facteur de transcription homéobox-9 (Hb9) qui est responsable de la consolidation de la différenciation en neurones moteurs via la suppression de l'expression de facteurs de transcription spécifiques aux interneurones [25].

2.5.1.2. Les marqueurs généraux de la différenciation neuronale

La différenciation de tous les neurones est ponctuée par l'expression séquentielle de différents marqueurs. Les précurseurs neuronaux sont caractérisés par l'expression de la nestine, un filament intermédiaire de type IV, bien que

l'expression de cette protéine ne soit pas restreinte au système nerveux. L'expression de la nestine cède la place à la β III-tubuline, un isotype de la β -tubuline spécifique aux neurones, alors que ceux-ci sont en cours d'élaboration de leur prolongement nerveux [26]. En même temps apparaît l'expression du neurofilament L suivie de près par celle du neurofilament M, tous deux des filaments intermédiaires de type IV qui prendront place dans le cytosquelette mature des neurones. La microtubule-associated protein 2 (MAP2) est aussi abondante lors de l'élongation des prolongements nerveux et deviendra restreinte aux dendrites alors que le neurone deviendra mature, ce qui fait qu'elle constitue un excellent marqueur pour les différencier des axones [27]. Les neurones matures expriment une autre sous-unité des neurofilaments, le neurofilament H, exprimé principalement dans les neurones de fort calibre. La neuron-specific protein (NeuN) est aussi reconnue pour n'être exprimée que par les neurones hautement différenciés [28]. Finalement, l'expression des diverses protéines impliquées dans la fonction synaptique montre bien la présence d'un phénotype neuronal hautement différencié et suggère même une capacité fonctionnelle. La spécialisation des neurones, en neurones moteurs ou sensoriels par exemple, peut être reconnue par l'expression spécifique de récepteurs membranaires ainsi que par leurs neurotransmetteurs (et les protéines responsable de leur métabolisme) respectifs.

2.5.1.3. La croissance et le guidage des prolongements nerveux

Une fois déterminé et établi dans les DRG, chaque neurone sensoriel envoie un prolongement dans la moelle épinière et un autre vers la périphérie pour choisir une cible qui lui est propre. Les neurones moteurs de la racine ventrale de la moelle épinière font de même en projetant leur axone vers les muscles et leurs dendrites vers d'autres neurones de la moelle épinière. La façon dont le choix précis de la cible

s'effectue est encore peu connue. Par contre, le processus de croissance des axones est assez bien documenté.

À la fin du 19^e siècle, Santiago Ramón y Cajal [29] a proposé que la croissance des axones en développement pourrait être dirigée par une distribution gradée de facteurs diffusibles dérivés de leurs cibles, un phénomène de guidage à longue distance appelé chimiotropisme. Ce modèle s'est avéré véridique et on sait maintenant que le tropisme est un facteur très important dans le guidage des prolongements nerveux.

À l'extrémité d'un prolongement neuronal en croissance, on retrouve une structure élargie irrégulière formant des pics ou épines, riche en composantes du cytosquelette. Cette structure a été décrite et illustrée pour la première fois par Ramón y Cajal [30] et est appelée le cône de croissance. Les pics du cône de croissance sont des filopodes qui s'étendent et se rétractent constamment sous l'influence de l'environnement. Les filopodes sont reliés entre eux par des lamellipodes caractérisés par une ondulation de la membrane, ceci fait en sorte que le cône de croissance ressemble à une minuscule main palmée. Le cône de croissance est caractérisé par une configuration spéciale des filaments d'actine de son cytosquelette et par de nombreuses molécules membranaires spécialisées dans l'adhésion, l'exploration de l'environnement et la médiation des signaux extracellulaires [31]. Lorsque le cône de croissance rencontre un environnement défavorable il se rétracte et lorsqu'il en trouve un plus permissif, il persiste et s'oriente vers cet environnement. Les cônes de croissance sont guidés par au moins quatre mécanismes différents : l'attraction médiée par un contact, la chimioattraction, la répulsion médiée par le contact et la chimiorépulsion. Les signaux de guidage peuvent être soit positifs, donc permissifs ou attractifs, soit négatifs, donc inhibiteurs ou répulsifs. Ils peuvent être attachés à la surface des

cellules ou à la MEC, créant ainsi une fonction locale ou diffusible, établissant un gradient ayant une grande distance de portée. Même si ces définitions impliquent des mécanismes distincts, les différences réelles entre ces phénomènes sont souvent floues puisqu'une molécule sécrétée peut dans certains contextes être immobilisée à la surface cellulaire ou sur la MEC et ainsi créer un gradient brusque apparaissant comme une frontière [32]. Les molécules de guidage axonal sont nombreuses, leurs actions très diversifiées et leur signalisation complexe. C'est l'intégration concertée de leurs signaux, ainsi que les propriétés intrinsèques du neurone, qui dictent la voie au cône de croissance.

a) Les molécules de la matrice extracellulaire

La MEC est très important pour le guidage des axones en croissance. Le cône de croissance de l'axone reconnaît les différentes molécules de la MEC via ses intégrines, des protéines membranaires. Les intégrines ont la propriété de se lier aux différentes molécules de la MEC, et se faisant, elles transmettent à la cellule différentes informations qui permettent de moduler le cytosquelette et de provoquer l'adhésion de la cellule sur un substrat favorable [33].

Plusieurs composantes abondantes de la MEC sont capables de favoriser la croissance de prolongements nerveux in vitro; celles-ci incluent la laminine [34], la fibronectine [35] et certains collagènes. Ces protéines sont multifonctionnelles et sont aussi capables de promouvoir l'adhésion et la différenciation cellulaire, entre autres, dans le système nerveux. Toutefois, leur habileté à stimuler la croissance des prolongements nerveux est différente de celle de l'adhésion cellulaire. La réponse du cône de croissance aux molécules de la MEC varie selon le type de neurone et les circonstances, bien qu'elles constituent souvent un environnement permissif [35]. Le chondroïtine sulfate est un protéoglycane de la MEC, exprimé notamment lors de dommages au SNC, reconnu pour sa fonction inhibitrice sur la migration des

prolongements nerveux. Les protéoglycanes sont d'importants modulateurs de la croissance des prolongements nerveux et peuvent être inhibiteurs ou promoteurs selon le cas [36]. De plus, le collagène de type V peut inhiber la croissance des prolongements nerveux pour permettre la migration des cellules de Schwann lors de la régénération [37]. En effet, les molécules de la MEC sont importantes lors de la régénération nerveuse puisque ce processus s'effectue sur la membrane basale entourant les prolongements nerveux et que certaines molécules la composant sont sécrétées, notamment par les cellules de Schwann lors de la régénération [38].

b) Les protéines membranaires

Outre la MEC, les prolongements des neurones peuvent croître sur d'autres prolongements neuronaux ainsi que sur des cellules gliales et des cellules de Schwann. Pour ce faire, ils utilisent les molécules d'adhésion cellulaire de leur membrane plasmique. Ces molécules se lient les unes aux autres de façon homo ou hétérodimérique afin de médier l'adhésion sélective entre deux cellules [39]. Outre les intégrines, les neurones possèdent des molécules membranaires responsables de l'adhésion entre cellules. Parmi les plus importantes dans la promotion de la croissance des prolongements nerveux notons la neural-cell adhesion molécule (NCAM), la neural-cadherin et la L1-CAM [40]. Par contre, il est à noter que les molécules d'adhésion cellulaire ne sont pas que permissives, la myelin-associated glycoprotein (MAG) et la connectine peuvent aussi servir de molécules répulsives [41].

D'autres types de protéines membranaires peuvent influencer la croissance des prolongements nerveux. C'est le cas des récepteurs tyrosine kinase Eph et de leurs ligands, les éphrines. Les éphrines sont liées à la membrane cellulaire de façon transmembranaire ou via un ancrage au glycosylphosphatidylinositol (GPI) [42]. Le signal des éphrines peut être soit attractif, soit répulsif et se fait par un contact

cellule-cellule [43]. Les éphrines, tout comme leurs récepteurs Eph, sont capables d'induire un signal intracellulaire ce qui fait que l'action de ces molécules s'effectue sur les deux cellules en contact. Ces molécules jouent un rôle important dans le guidage des prolongements nerveux [42], dans la morphogenèse et la topographie du système nerveux et dans le développement vasculaire [44]. Ces molécules auraient un rôle à jouer, non seulement dans le développement, mais aussi dans le maintien des tissus adultes [42]. Elles sont entre autres retrouvées à la jonction neuromusculaire et sur les vaisseaux sanguins matures [45].

c) Les facteurs diffusibles

Les neurotrophines sont parmi les facteurs solubles les plus connus favorisant la croissance des prolongements nerveux. Ces molécules doivent leur nom à leurs nombreux effets sur les neurones : survie, guidage et différenciation. En effet, en plus de jouer un rôle dans le guidage des axones [46], les neurotrophines sont impliquées dans le développement, la survie [47] et la régénération neuronale [48]. Le premier facteur neurotrophique identifié et le plus caractérisé est le nerve growth factor (NGF) [49]. Parmi les autres neurotrophines connues, on retrouve la neurotrophine-3 (NT-3), la neurotrophine-4/5 (NT-4/5), la neurotrophine-6 (NT-6) et le brain-derived neurotrophic factor (BDNF). Les récepteurs principaux des neurotrophines sont une famille de récepteurs Trk, nommés TrkA, TrkB et TrkC [50]. TrkA lie et est activé préférentiellement par le NGF, TrkB est activé de façon majeure par le BDNF et la NT-4/5 et que la NT-3 active principalement TrkC et de façon moins importante, TrkB. La liaison d'une neurotrophine à son récepteur entraîne sa dimérisation et son autophosphorylation. Le récepteur ainsi activé recrute différentes protéines cytoplasmiques afin de médier l'effet de la neurotrophine dans la cellule. Outre les récepteurs à tyrosine kinase, les neurotrophines lient aussi un autre récepteur, le neurotrophin receptor p75 (p75^{NTR}).

Ce récepteur est une glycoprotéine très conservée entre les différentes espèces et qui est largement exprimée dans les tissus nerveux et non neuronaux. Contrairement aux Trk, toutes les neurotrophines lient ce récepteur avec une affinité semblable [51]. Les fonctions du p75^{NTR} sont diverses et relativement peu connues. Il peut présenter le NGF à TrkA, transmettre des signaux intracellulaires directement via des lipides membranaires, et paradoxalement, la liaison du NGF à p75^{NTR} peut médier l'apoptose des cellules ne possédant pas de récepteurs Trk ou de certains neurones dans différentes conditions développementales [51].

En plus des neurotrophines, d'autres molécules diffusibles ont un effet sur les neurones et sur l'élongation axonale. Celles-ci incluent les membres de la famille du transforming growth factor- β (TGF- β), du fibroblast growth factor (FGF), du glial-derived neurotrophic factor (GDNF), du vascular endothelial growth factor (VEGF), ainsi que des interleukin 6-related cytokines dont le ciliary neurotrophic factor (CNTF) [52]. De plus, les protéines sécrétées Slits agissent généralement comme répulsifs sur les prolongements nerveux via leurs récepteurs roundabout (Robo). Toutefois, elles peuvent aussi s'avérer permissives pour certains. Récemment, la protéine diffusible Shh, reconnue pour son rôle dans la différenciation, a aussi été démontrée comme molécule de guidage axonal attractive qui coopère avec la nétrine-1 [53].

Les nétrines sont une famille de molécules hautement conservées pouvant diriger les prolongements neuronaux. Elles sont des protéines sécrétées bifonctionnelles, jouant un rôle attractif ou répulsif selon le type de neurone. Leurs récepteurs se divisent en deux classes, la famille deleted in colorectal cancer (DCC) et la famille uncoordinated (UNC) [54]. Même si elles ont d'abord été identifiées comme étant des signaux diffusibles à long rayon d'action sur les axones en développement, des résultats récents indiquent que les nétrines agissent également

comme des signaux à court rayon d'action près de la surface des cellules où elles sont produites [54]. La nétrine-1 est exprimée dans les cellules de Schwann lors du processus de régénération nerveuse [55].

Les molécules diffusibles démontrent l'importance de la formation de gradients dans le guidage des axones. Les gradients de substances attractives ou répulsives exploitent une réponse innée des cônes de croissance impossible à obtenir dans des conditions de distributions uniformes. Le gradient de nétrine-1 dans la moelle épinière en développement montre bien ce concept qui est applicable à de nombreuses molécules. Par exemple, l'effet d'un gradient de NGF en trois dimensions peut influencer le guidage et l'embranchement des cônes de croissances et la croissance des prolongements nerveux. L'effet des gradients s'applique aussi aux protéines de la MEC. L'extension des prolongements des neurones des DRG dans un gradient de laminine-1 est supérieure à la croissance dans un environnement où la laminine-1 est distribuée uniformément. De plus, une synergie est possible entre plusieurs gradients de différentes molécules [56].

d) Les autres molécules de guidage

Les sémaphorines sont une famille de molécules sécrétées, transmembranaires ou liées à la membrane cellulaire qui ont été très conservées dans l'évolution. Elles jouent un rôle important dans le guidage des prolongements nerveux mais aussi notamment dans l'angiogenèse [57]. Elles fonctionnent principalement en tant que chimiorépulsifs ou inhibiteurs du guidage des prolongements nerveux. Les plexines sont les principaux récepteurs des sémaphorines. Mais les sémaphorines sécrétées (de classe 3) peuvent aussi lier les récepteurs neuropilines 1 et 2 qui sont des corécepteurs du VEGF. Les sémaphorines seraient aussi impliquées lors de la régénération nerveuse [58].

Les protéines sécrétées slits et leurs récepteurs Robo sont une autre catégorie de molécules de guidage axonal. Elles ont un effet attractif sur les neurones sensoriels mais exercent surtout des effets répulsifs. L'expression des protéines slits n'est pas restreinte au système nerveux et ces protéines seraient aussi impliquées dans la migration cellulaire [59].

2.6. Développement des poumons

2.6.1. Aspects génétiques du développement pulmonaire

Dans le cas de la morphogénèse du poumon, les avancées de la biologie moléculaire ont permis de découvrir de nombreux gènes jouant un rôle clé dans le développement de cet organe. Plus d'une cinquantaine de gènes sont actuellement connus comme jouant un rôle de près ou de loin dans le phénomène de la morphogénèse pulmonaire. Nous ne ferons pas une revue exhaustive de tous ces gènes. Nous nous focaliserons principalement sur ceux dont la délétion a un effet majeur sur le développement. Les gènes et les protéines partagent le même nom.

2.6.1.1 Initiation du développement pulmonaire

Il n'existe pas de mutations génétiques ayant pour effet d'affecter la formation du poumon sans avoir un impact sur le reste de l'embryon. Il n'y a donc pas à proprement parler de gènes spécifiques à la morphogénèse du poumon. La majorité des gènes impliqués dans la genèse du poumon interviennent dans d'autres organes où ils ont fréquemment d'autres fonctions. La mutation du gène *Hnf3-β* conduit à une totale agénésie du poumon ainsi que du bourgeon trachéo-oesophagal du fait d'un échec de la formation de l'œsophage [60].

L'absence d'acide rétinoïque (noté RA) ou de ses récepteurs (notés RAR) conduit à une totale agénésie du poumon [61]. La double absence des gènes *Gli2* et *Gli3*, qui sont des facteurs de transcription de *Shh* (Sonic Hedgehog), conduit à

l'absence totale de la trachée du larynx et du poumon [62]. L'absence du gène Shh induit une mauvaise séparation de la trachée avec l'œsophage [63].

2.6.1.2. FGF10 / Sprouty2

La famille des Fibroblast Growth Factor (FGF) comprend 22 protéines différentes, chez la souris et chez l'homme, qui jouent un rôle majeur dans le développement [64], aussi bien dans la formation des dents que des ailes chez le poulet ou du poumon. 6 protéines de cette famille sont exprimées lors du développement pulmonaire chez la souris : FGF 1,2, 7, 9,10 et 18. Ces protéines font partie de la même famille car elles partagent une forte homologie de séquence entre elles et ont un effet plus ou moins commun.

FGF10 joue un rôle majeur lors du développement pulmonaire [65]. Détectée originellement à un haut niveau dans le mésenchyme de poumon de rats à E14, la protéine FGF10 est produite par les cellules mésenchymales et est reçue par les cellules épithéliales via un récepteur trans-membranaire FGFR2b [66]. FGF10 est exprimée dans le mésenchyme distal sous la forme de foyers en face des branches en train de croître. Son expression est dynamique. Il se situe toujours à l'avant des branches distales et sa région d'expression se divise en deux avant un branchement, spécifiant la direction de croissance des nouvelles branches formées. Il possède un rôle prolifératif et a un effet de chimiotaxie sur les cellules de l'épithélium distal. La présence de billes recouvertes de FGF10, greffées dans le mésenchyme distal de poumon en culture, induit une modification profonde des branches, celles-ci croissant vers la bille [65]. De la même façon, de l'épithélium dénudé (où le mésenchyme a été retiré) mis en culture en présence de billes de FGF10 migre et croît en direction de ces billes [67].

Les embryons de souris mutants pour lesquels les deux allèles du gène Fgf10 ont été supprimés présentent de sérieuses affections du développement, notamment

l'absence de la formation de poumons. La délétion de son récepteur Fgfr2b induit le même phénotype. L'ajout de FGF10 dans le milieu de culture d'épithélium dénudé induit une augmentation du branchement. FGF10 semble donc jouer un rôle « d'architecte » lors de la formation du poumon, induisant la croissance des branches, spécifiant la direction de croissance ainsi que le branchement.

La grande majorité des gènes impliqués lors du développement du poumon semble fonctionner par couple activateur/inhibiteur afin d'assurer un mécanisme de régulation de la croissance. Sprouty2 est un inhibiteur de FGF10 [68]. Il est exprimé par les cellules épithéliales et sa production est induite par FGF10.

Sprouty2 inhibe la réception de FGF10. Sprouty2 est exprimé par les cellules épithéliales distales, là où FGF10 est reçu. Son expression est diminuée aux sites de branchement.

L'inhibition de son expression induit la formation d'un nombre beaucoup plus important de branchements [69]. La surexpression de Sprouty2 conduit à la formation de poumons plus petits avec une réduction de la prolifération cellulaire [68].

Sprouty2 inhibe le chemin biochimique induit par la réception de FGF10 mais aussi d'autres facteurs de croissance comme Epidermal Growth Factor (EGF) et constitue donc un inhibiteur de la croissance.

La drosophile possède des gènes homologues à Fgf10, Fgfr2b et Sprouty2 qui sont respectivement Branchless, Breathless et Sprouty [70]. Ces derniers jouent un rôle similaire lors de la formation de la trachée de la drosophile. Branchless est un facteur de croissance, chimiotactique, exprimé dans le mésenchyme en face des branches croissantes et Breathless est son récepteur. Sprouty joue le même rôle de contrôle négatif de la prolifération.

C'est d'ailleurs chez la drosophile que ces gènes furent tout d'abord découverts, puis leurs homologues furent trouvés chez la souris et l'homme. Ceci montre le caractère hautement conservé lors de l'évolution de ces gènes clés du développement.

2.6.1.3. SHH / HIP

Sonic Hedgehog (SHH) est une protéine qui joue un rôle majeur dans le développement du poumon [71] (notons juste pour la remarque que les généticiens de la drosophile, SHH ayant tout d'abord été découvert chez la drosophile, ont tendance à parfois donner des noms « originaux » aux gènes qu'ils découvrent. Ainsi, Sonic The Hedgehog est un hérisson héros de jeux vidéo. Le nom a été gardé pour le gène homologue chez la souris et l'homme.). Shh est exprimé par les cellules épithéliales et est reçu par son récepteur Patched (Ptc) dans le mésenchyme. Ce fonctionnement met en évidence la communication épithélium-mésenchyme [72].

La délétion de Shh conduit à une trachée qui ne se sépare pas de l'œsophage.

Les souris *Shh*^{+/-}, où un seul allèle a été délété, possèdent des poumons hypoplasiques. Shh inhibe FGF10 au niveau transcriptionnel (lors de la synthèse d'ARN messager à partir du gène). La délétion d'un allèle de Shh induit une expression de FGF10 diffuse dans tout le mésenchyme pulmonaire qui n'est alors plus localisée en foyers.

La surexpression de Shh par l'utilisation du promoteur de SP-C (Surfactant Protein C exprimé spécifiquement par les cellules épithéliales) conduit à l'absence d'alvéoles fonctionnelles ainsi qu'à une augmentation du tissu interstitiel. SHH joue également un rôle de facteur de croissance des cellules mésenchymales, induisant leur prolifération. Ptc, exprimé au niveau du mésenchyme, est le récepteur de SHH.

La liaison de SHH à Ptc conduit à la dépression de Smoothed (Smo), normalement inhibé par Ptc [73], et à l'activation de l'expression des gènes Gli, facteur de transcription de Shh, Ptc, et Hedgehog interacting Protein (HIP) qui par sa liaison avec Shh conduit à une régulation négative de son action [74]. Ptc est exprimé au niveau du mésenchyme distal en face des branches croissantes.

SHH ne semble pas jouer un rôle direct dans le processus de branchement. Il est inhibé au niveau distal des branches, via Ptc et Hip, afin de permettre à FGF10 d'être reçu par l'épithélium. Cependant, il pourrait permettre la localisation de FGF10 par un processus d'inhibition latérale.

2.6.1.4. Wnt/DKK

La famille Wnt comprend 19 protéines différentes qui sont couramment divisées en deux groupes. La classe canonique agissant via les récepteurs Frizzled et la voie de signalisation β -caténine et la classe non canonique agissant notamment par la voie de signalisation Planar- Cell-Polarity [75]. Les expériences d'inactivation du gène β -caténine induisent la mort à la naissance des embryons de souris mutants du fait de défauts dans la formation du poumon, le nombre d'alvéoles formées étant fortement réduit ainsi que leur vascularisation [76].

De la même façon, la délétion du gène Wnt7b induit une mortalité à la naissance due à des problèmes respiratoires, liés à des poumons hypoplasiques, du fait d'une baisse de la prolifération du mésenchyme, et des défauts sévères dans la formation des vaisseaux sanguins et des cellules musculaires lisses. Les embryons ne possédant pas le gène Wnt5a montrent un accroissement du branchement épithélial ainsi qu'un rétrécissement du mésenchyme interstitiel. Wnt5a pourrait empêcher l'action de FGF10 sur les cellules épithéliales [77].

La famille Dickkopf (DKK) inhibe la voie de signalisation Wnt canonique.

L'ajout de DKK1 dans le milieu de culture de poumons embryonnaires de souris induit des défauts dans la formation des branches, caractérisées par une partie distale élargie et une incapacité à se diviser [78]. Ce phénotype s'accompagne d'une diminution du dépôt de Fibronectine au centre des branches. L'addition de Fibronectine à ces poumons permet de sauver ce phénotype en restituant la formation de branches et un développement normal.

L'inhibition de la Fibronectine par le biais d'un anticorps anti-Fibronectine donne le même phénotype.

La famille Wnt semble jouer un rôle dans la formation de branches en induisant le dépôt de fibronectine au niveau du centre de la branche en train de croître afin d'induire sa division. Le dépôt de Fibronectine pourrait induire la présence d'un obstacle devant la branche, forçant ainsi le processus de division.

2.6.1.5. Autres gènes impliqués dans la morphogénèse du poumon

De nombreux autres gènes interviennent dans le processus de morphogénèse du poumon mais leurs rôles et fonctions apparaissent moins clairement. Citons par exemple le couple BMP4/Gremlin. BMP4 est exprimé par les cellules épithéliales, de façon plus importante par les cellules distales. FGF10 semble réguler positivement sa production [79].

BMP4 pourrait avoir un rôle d'inhibition de la croissance épithéliale [80]. Cependant, d'autres expériences semblent montrer que BMP4 serait un activateur de la croissance épithéliale. BMP4 est régulé négativement par le biais notamment de Gremlin [81] et Chordin [82].

EGF est l'un des premiers facteurs de croissance découverts ayant un effet sur le branchement du poumon [83].

Exprimé par l'épithélium et le mésenchyme distal, la délétion de son récepteur Egfr induit une réduction du branchement de 50%. Cependant, certains

branchements continuent à se produire normalement. L'ajout d'EGF à des poumons en culture donne la formation d'un nombre de branches plus élevé. Son rôle semble plutôt être un effet global de croissance.

La famille des TGF- β (Transforming growth factor beta) comprend trois protéines, TGF- β 1,2 et 3, toutes exprimées dans le poumon embryonnaire murin [84]. TGF- β 1 est exprimé dans le mésenchyme, de façon plus importante au niveau des sites de branchements. L'ajout de TGF- β 1 au milieu de culture de poumons embryonnaires conduit à une inhibition dose dépendante du branchement. L'inhibition du récepteur de type 2 de TGF- β conduit à une augmentation du nombre de branches formées. La délétion de TGF- β 3 amène à un retard du développement pulmonaire et à la mort des souriceaux peu après la naissance.

VEGF (Vascular endothelial growth factor) est un facteur de croissance jouant un rôle clé au cours de la formation des vaisseaux sanguins (la vasculogénèse). La perte d'un seul allèle de ce gène est létale dès le 10ème jour de gestation chez la souris. VEGF affecte la prolifération des cellules épithéliales et l'addition de VEGF au milieu de culture de poumons embryonnaires conduit à une augmentation du branchement. [85]

2.7. Développement du cœur

2.7.1. Formation et plicature du tube cardiaque

Les tubes cardiaques, initialement au nombre de deux, droite et gauche, se fusionnent au 22ème jour pour former un tube cardiaque unique, légèrement infléchi, constitué d'un revêtement interne endocardique et d'un manteau myoépicaire [86].

Le tube cardiaque, impair et médian, est organisé selon un axe antéropostérieur. Les cavités veineuses et atriales occupent une position caudale, alors que les cavités ventriculaires et artérielles ont une position plus rostrale.

La croissance du tube conduit à des mouvements de repli. Le tube se déforme d'abord en S puis subit une rotation selon l'axe céphalo-caudal. Il en résulte que le pôle veineux cardiaque occupe une position dorsale alors que le pôle artério-ventriculaire se place au niveau ventral.

2.7.2. Cloisonnement des oreillettes

La première étape de la séparation de circulation systémique et pulmonaire correspond au cloisonnement partiel des oreillettes et à la division du CAV en deux portions : une droite et une gauche. Le septum inter-auriculaire de l'adulte résulte de la fusion de deux septa : le septum primum et le septum secundum. Chacun de ceux-ci est muni d'une large ouverture qui permet le shunt de droite à gauche du sang pendant la gestation. Ce cloisonnement auriculaire commence autour du 26^{ème} jour. Les deux mécanismes sont étroitement impliqués ; cloisonnement du CAV et cloisonnement de l'oreillette proprement dit [87].

2.7.2.1. Cloisonnement du canal auriculo-ventriculaire CAV

Le CAV prend une forme allongée de droite à gauche due au positionnement du cône artériel sur sa partie antérieure. A cet endroit, des bourrelets endocardiques vont se développer. Les plus importants sont les bourrelets endocardiques inférieur et supérieur. Les deux autres, droit et gauche, sont moins fondamentaux dans l'organisation du cœur. Ces bourrelets endocardiques, antérieur et supérieur, vont fusionner très rapidement pour créer deux canaux auriculo-ventriculaires, l'un droit et l'autre gauche [87].

L'absence de fusion de ces bourrelets détermine une cardiopathie grave : la persistance du canal atrioventriculaire.

2.7.2.2. Cloisonnement de l'oreillette

Le septum primum, crête falciforme descendant du toit de l'oreillette, ne forme jamais une cloison complète. Il laisse persister un orifice, l'ostium primum, entre les deux oreillettes. Le septum secundum, qui se forme par la suite, demeure également incomplet. Ce n'est qu'à la naissance, au moment où la pression augmente dans l'oreillette gauche, que les deux septa s'appliquent l'un contre l'autre, fermant ainsi la CIA [86].

2.7.3. Cloisonnement des ventricules

La cloison inter ventriculaire est composée d'une épaisse portion musculaire et d'une mince portion membraneuse. Elle est formée par la fusion du bourrelet endocardique auriculo-ventriculaire inférieur, du bourrelet aortico-pulmonaire droit, et du bourrelet aortico-pulmonaire gauche. L'absence de soudure entre ces éléments entraîne la persistance d'une CIV.

2.7.4. Aspects génétiques du développement cardiaque

Plusieurs facteurs de transcription ont été identifiés dans les cœurs en croissance de souris et de poulet et qui jouent un rôle pivot dans la morphogenèse cardiaque. Par exemple, la paire de gènes homéobox Prx-1 et Prx-2 sont spécifiquement exprimés dans le cœur et dans le cerveau antérieur, dès le stade de gastrulation. Plus tard, Prx-1 est localisé dans les bourrelets endocardiques et dans les valves du cœur alors que Prx-2 se trouve dans le septum musculaire ventriculaire et dans le conduit artériel.

Nkx-2.3 et Nkx-2.5 sont, chez les vertébrés, les homologues du gène homéobox tinman de la drosophile, qui est requis pour la formation du cœur chez cette mouche. Nkx2.5, un autre facteur de transcription clé homéodomaine contenant dans le programme cardiomyogénique [88]. , il est apparemment le premier induit dans l'ébauche primitive du cœur de poulet par l'endoderme crânial.

Un homologue humain de ce gène a également été cartographié au niveau du chromosome 5q34 et des mutations NKX-2.5 ont été associées à une maladie cardiaque congénitale humaine. NKX-2.5 est proche d'un autre gène homéobox, MSX2, qui est exprimé par les cellules du système conducteur du cœur en croissance. Tbx5, membre de la famille T, peut conférer polarité veno-artérielle au tube cœur, tandis que TBX2 initialement et TBX3 par étapes après développement empêcher l'entrée des voies cardiaques, de la région auriculo-ventriculaire, des voies d'écoulement, ainsi que les courbures cardiaques à partir de la différenciation chambre. À l'exception de la voie efférente qui devient incorporé dans les ventricules, ces régions contribuent au système de conduction cardiaque [89]. Des mutations TBX5 ont été identifiées dans les familles avec un syndrome de Holt-Oram, qui présente des malformations des cavités cardiaques. Des facteurs de transcription en aval, qui agissent plus tard au cours de la différenciation du myocarde comprennent MEF-2C et GATA4, qui sont nécessaires au développement du cœur, avant la formation de l'anse. Ces facteurs peuvent différer de ceux exprimés dans les muscles striés ou dans les muscles lisses. [90].

2.8. Développement du tractus gastro-intestinal

Par suite de la plicature céphalo-caudale de l'embryon, la cavité entoblastique se divise en une partie intra-péritonéale : l'intestin primitif et deux parties extra-embryonnaires, la vésicule ombilicale et l'allantoïde. Aux extrémités céphalique et caudale de l'embryon, l'intestin primitif forme deux tubes borgnes, l'intestin antérieur et l'intestin postérieur. A la partie moyenne, l'intestin moyen reste en communication avec la vésicule ombilicale par le canal omphalo-mésentérique ou vitellin.

- L'intestin moyen : Sur l'embryon de 5mm, l'intestin moyen qui va de la fin de l'intestin antérieur au début de l'intestin postérieur, communique largement avec la vésicule ombilicale par le canal vitellin. Le développement de l'intestin moyen est caractérisé par son allongement rapide, d'où résulte la formation de l'anse primitive. La branche céphalique de l'anse donnera le segment distal du duodénum, le jéjunum et une partie de l'iléon. La branche caudale donnera la branche inférieure de l'iléon, le cæcum et l'appendice, le côlon ascendant et les deux tiers proximaux du côlon transverse. La jonction entre les branches crânielles et caudale n'est reconnaissable chez l'adulte que s'il persiste une partie du canal vitellin sous forme d'un diverticule de Meckel.

- L'intestin postérieur : Donne naissance au tiers distal du côlon transverse, au côlon descendant, au côlon sigmoïde et au rectum ainsi qu'à la partie supérieure du canal anal.

L'évolution du tube intestinal de l'embryon passe par deux (2) stades :

- un premier stade au cours duquel l'ébauche intestinale, ou tube épithélial endodermique, s'oblitére, sauf au niveau de l'anse vitelline, par prolifération de l'épithélium.
- un deuxième stade au cours duquel la lumière intestinale se rétablit. [91]

2.9. Développement du système urogénital

2.9.1. Développement des voies génitales internes

Le développement du tractus urogénital interne débute dès le premier mois de gestation et s'étend jusqu'au sixième mois.

La différenciation dans le sens féminin ou masculin s'effectue très rapidement, avant même que la différenciation gonadique soit terminée.

2.9.1.1. Stade indifférencié

Pendant la cinquième semaine de développement embryonnaire, l'épithélium coelomique tapissant la paroi ventro-latérale du corps de Wolff s'épaissit pour former la crête génitale. A six semaines, les crêtes génitales prolifèrent donnant les cordons sexuels, futurs tubes séminifères chez l'homme et cordons médullaires chez la femme, qui vont s'anastomoser dans le mésenchyme pour former un réseau complexe, le rete. Les premières connexions uro-génitales s'établissent entre le rete et les tubes contournés mésonéphrotiques.

Jusqu'à la septième semaine, les voies génitales revêtent le même aspect

dans les deux constitutions chromosomiques 46, XX et 46,XY : elles comprennent les deux canaux de Wolff, mésonéphriques et les deux canaux de Müller, paramésonéphriques. Les canaux de Wolff atteignent la paroi latérale du sinus urogénital dans sa composante allantoïde, et forment le sinus uro-génital primitif [92]. Les canaux de Müller se forment à partir d'une invagination de l'épithélium coelomique en regard de l'extrémité crâniale de chacun des canaux de Wolff. Ils se développent parallèlement à l'existence des canaux de Wolff et les croisent ventralement. A leur portion terminale, ils fusionnent et forment le canal utéro-vaginal.

2.9.1.2. Différenciation masculine

La différenciation testiculaire débute à la fin de la septième semaine de vie embryonnaire. Après une brève phase de prolifération intense de l'épithélium coelomique, les cordons sexuels somatiques deviennent les tubes séminifères et incorporent les gonocytes primitifs. Cette région présente une prolifération mitotique importante. Entre les tubes séminifères se différencient les cellules interstitielles de Leydig, lieu d'élaboration des androgènes. A huit semaines de

développement, celles-ci secrètent les androgènes, responsables de la masculinisation du fœtus.

La première étape de différenciation masculine est la régression des canaux de Müller. Les cellules de Sertoli vont sécréter l'hormone anti-müllérienne (AMR) juste après la différenciation des tubules [93,94], responsable de la régression des canaux de Müller : une petite quantité de cellules épithéliales meurent, perdent leur polarité et leur orientation et cessent de se diviser; la membrane basale se dissout et un anneau serré de tissus conjonctif se forme autour des cellules épithéliales [95,96]. Chez le fœtus de rat mâle, on observe une augmentation de l'activité lysosomiale, une condensation du mésenchyme adjacent avec présence de macrophages [97]. A dix semaines de développement, les canaux de Müller ont totalement disparu, laissant persister un tubercule. Le degré de régression anatomique est en corrélation avec le taux d'AMR [98].

Le deuxième aspect de différenciation interne masculine est l'intégration des canaux de Wolff au système génital. Leur extrémité supérieure forme l'hydatide pédiculée. Le segment en regard du testicule forme l'épididyme. En dessous du testicule, les canaux de Wolff forment le canal déférent et la vésicule séminale.

Deux bourgeons de cellules épithéliales, les bourgeons sino-utriculaires, se développent à partir du sinus uro-génital pour former le cordon sino-utriculaire, futur utricule prostatique, équivalent mâle du vagin [99].

2.9.1.3. Différenciation féminine

L'ovaire fœtal, caractérisé par la conservation du pouvoir de prolifération de l'épithélium cœlomique, ne participe pas à la différenciation des voies génitales féminines.

En supprimant les gonades de fœtus de lapin au stade indifférencié du tractus reproductif, Jost en 1940 observait que tous les lapins se développaient en femelles

[100], mettant ainsi en évidence le contrôle endocrinien testiculaire de la différenciation sexuelle. Ce phénomène est également confirmé in vitro où l'on observe que les canaux de Müller régressent seulement s'ils sont exposés au tissu testiculaire [101].

En l'absence d'AMR, les canaux de Müller sont stabilisés. Leur développement s'étend jusqu'à l'attachement du ligament rond, où ils se terminent dans un renflement musculaire: l'utérus rudimentaire ou corne utérine. Ce renflement est localisé dans la région crâniale et latérale du septum uro-génital.

Le segment initial des canaux de Müller est une structure indépendante. Vers la huitième semaine embryonnaire, leur segment caudal fusionne pour former le canal utéro-vaginal, et leur portion rostrale donne naissance à l'infundibulum au-dessus du mésonéphros et aux trompes de Fallope. En l'absence de testostérone, les canaux de Wolff régressent.

L'origine embryonnaire du vagin est sujet à controverse [102]:

A onze semaines, le sinus uro-génital s'évagine et une prolifération épithéliale du canal de Müller donne les bulbes sino-vaginaux. L'extrémité borgne du canal utéro-vaginal bute à la face dorsale du sinus uro-génital et forme à ce niveau le tubercule müllérien. A quinze semaines, bulbes sino-vaginaux et tubercule müllérien fusionnent pour former la plaque vaginale. Les deux tiers rostraux, future portion supérieure anatomique du vagin, sont donc d'origine mésoblastique (canaux de Müller) et le tiers caudal d'origine entoblastique (sinus uro-génital).

2.9.2. Développement du tractus urinaire

Tout l'appareil urinaire dérive du mésoblaste intermédiaire et évolue dans le sens rostro-caudal.

Le plan d'ouverture des deux canaux de Wolff dans le sinus uro-génital permet de lui distinguer deux zones : une zone urinaire initialement caudale et une

zone 'initialement rostrale génitale. Le mouvement de formation du pli caudal inverse l'orientation embryologique initiale.

Vers la fin de la cinquième semaine, le mésonéphros, ou corps de Wolff, entre en régression, les glomérules disparaissent et seuls persistent les tubes mésonéphrotiques liés à la glande génitale, qui seront incorporés dans l'appareil excréteur génital. Chaque canal de Wolff émet un diverticule médial à proximité de son abouchement à la face dorsale du sinus uro-génital, le diverticule urétéral qui va entrer en contact avec le mésenchyme métanéphrique [103].

Il existe à ce niveau un système d'induction réciproque : le bourgeon urétéral induit la prolifération du mésenchyme métanéphrique et son agrégation; un deuxième signal provenant du mésenchyme induit la croissance du diverticule urétéral et sa formation en système collecteur du rein et de l'uretère. Le segment compris entre la naissance du diverticule urétéral et la paroi postérieure du sinus uro-génital se dilate en une large ampoule, la corne du sinus uro-génital. A sept semaines, les deux cornes sont englobées par le développement de la paroi postérieure du sinus uro-génital. Les deux uretères s'ouvrent dans le sinus uro-génital en dehors des canaux de Wolff.

2.9.3. Aspects génétiques

2.9.3.1. Gènes impliqués dans la différenciation des voies génitales internes

a) L'hormone anti-müllérienne (AMH)

La principale fonction de l'AMH est d'entraîner la régression des canaux de Müller. Pour être active, l'AMH a besoin d'être clivée: si ceci n'a pas lieu, elle ne peut entraîner de régression des canaux de Müller [104]. Il existe également au moins une fonction extra-müllérienne, celle de virilisation de l'ovaire fœtal [105,106]: exposé à l'AMR, l'ovaire fœtal se met à sécréter de la testostérone à la place de l'estradiol

suite à la répression de l'enzyme aromatase par l'AMH; il perd ses cellules germinales et développe des tubes séminifères.

b) Pax 2

Le gène Pax 2 est retrouvé au cours de l'embryogenèse du tube neural, du rein, de la vésicule optique et de l'appareil auditif [107].

En ce qui concerne son expression au niveau du tractus uro-génital, elle est présente pendant la formation et la différenciation des structures épithéliales dérivées du mésoderme intermédiaire.

Chez la souris, ce gène s'exprime très tôt au cours de la différenciation rénale, dans les canaux de Wolff, les canaux pronéphrotiques, ainsi que les tubules pronéphrotiques et mésonéphrotiques [108,109]. A l'âge adulte, l'expression de Pax 2 est également retrouvée au niveau des canaux déférents, de l'épididyme et de la vessie chez la souris mâle et au niveau de l'ovaire et de l'utérus chez la souris femelle.

c) Gènes Wnt

Le profil d'expression des gènes Wnt pendant l'embryogenèse suggère qu'ils sont impliqués dans la spécification régionale, la communication intercellulaire et la prolifération cellulaire' [110,111]. Actuellement, trois gènes Wnt sont connus comme intervenant dans le développement du tractus génital interne féminin, les gènes Wnt-4a, Wnt5 et Wnt-7a. Ces gènes s'expriment à la jonction épithélium müllérien mésenchyme de la crête génitale.

- Le gène Wnt-4

Le gène Wnt-4 s'exprime chez la souris pendant toute la néphrogenèse, du stade de pronéphros au stade de mésonéphros ou rein définitif [112].

Son expression au niveau du tractus génital interne est présente avant la différenciation des gonades, dans les cellules mésenchymateuses des canaux de

Müller le long du mésonéphros ainsi que dans les ébauches mésenchymateuses gonadiques. Elle se limite ensuite à la gonade femelle et aux cellules mésenchymateuses des canaux de Müller. A la naissance, l'expression gonadique a disparu. L'expression de Wnt-4 apparaît dans l'épithélium vaginal à l'âge adulte et se poursuit dans l'utérus quand il existe un taux élevé d'œstrogènes [113].

- Le gène Wnt-7a

L'expression de Wnt-7a chez la souris est localisée à l'épithélium des canaux de Müller [113]. Elle est présente jusqu'à l'âge adulte chez la femelle au niveau des trompes de Fallope et de l'utérus. Elle disparaît de l'épithélium vaginal quand celui-ci se cytodifférencie, correspondant à l'apparition de l'expression du gène Wnt-4.

d) Gènes Hox

Homologues vertébrés des gènes homéotiques de la drosophile, ils interviennent dans l'organisation de l'embryon selon l'axe dorso-ventral [114]. 38 gènes sont actuellement connus, codant pour des facteurs de transcription [115], et quatre d'entre eux s'expriment le long des canaux de Müller embryonnaires, Hoxa 9, 10, 11 et 13. Chez la souris, alors que l'expression de ces quatre gènes dans les canaux de Müller est identique en anténatal, on assiste à une régionalisation de leur expression dès deux semaines postnatal [116]. Cette régionalisation selon l'axe dorso-ventral se fait dans le même ordre que leur localisation chromosomique :

Hoxa9 est limité aux trompes de Fallope, Hoxa 10 s'exprime essentiellement dans l'épithélium utérin alors que Hoxa 11 s'étend au stroma et au col utérin, et enfin Hoxa13 s'exprime uniquement au niveau du tiers supérieur du vagin.

Hoxa 10 est un gène qui s'exprime dans le composant mésenchymateux des canaux de Wolff et de Müller.

L'expression de Hoxa 11 se retrouve au niveau des cellules stromales entourant les canaux de Müller, responsables de la formation de l'utérus, ainsi qu'au niveau de la zone sous-capsulaire du métanéphros, mais ni dans les cellules épithéliales des canaux de Müller, ni dans les tubules mésonéphriques [117].

L'expression de Hoxa13 est localisée aux parties distales des membres, ainsi que dans la partie terminale du tube digestif et du tractus urogénital. Au niveau génital, Hoxa13 apparaît chez la souris, dans le mésenchyme entourant le sinus uro-génital, puis est localisé à la partie caudale des canaux de Wolff et de Müller et à la naissance, au niveau du col utérin et du vagin.

e) Autres gènes

Le gène Emx2, homologue du gène empty spiracles (ems) de la drosophile, intervient dans le système uro-génital en développement [118]. Ce gène s'exprime dans tous les composants épithéliaux dérivés du mésoderme intermédiaire : cellules des canaux pronéphrotiques, tubules mésonéphrotiques, canaux de Wolff et de Müller, et crête gonadique [119].

De même, le gène Msx1 est exprimé dans tous les sites où existe une interaction épithélium / mésenchyme [120]. Son expression au niveau des cellules épithéliales des canaux de Müller est maintenue seulement si cette interaction persiste.

Enfin, le gène HNF-1 β , impliqué dans des formes familiales de diabète associé à un dysfonctionnement rénal et à une aplasie vaginale avec utérus rudimentaire [121], semble jouer un rôle important dans la production de signaux d'induction du mésoderme [122].

Ce tableau ci-dessous présente des syndromes dysmorphiques dont les gènes sont identifiés (tableau 1) :

Tableau 1 : Syndromes dysmorphiques dont les gènes sont identifiés

SYNDROMES DYSMORPHIQUES DONT LES GÈNES SONT IDENTIFIÉS		
Syndrome	Localisation chromosomique	Gène
Aarskog	Xp11.p21	FGD1
Albright	20q12-q13.2	GNAS1
ATR-X	Xq13	XNP
Beckwith-Wiedemann	11p15.5	IGF2
Greig céphalopoly-syndactylie	7p13	GLI3
MEN 2B	10q11	RET
MASA	Xq28	L1CAM
Rubinstein-Taybi	16p13.3	CBP
Simpson-Golabi-Behmel	Xq26	GPC3 (glypican 3)
Smith-Lemli-Opitz	7q32	7-déhydrocholestérol réductase
Treacher-Collins	5q32-q33	Treacle
Williams	7q11	ELN (élastine)
X fragile	Xq27	FMR1

3- Les étiologies de dysmorphie :

Compte tenu de la complexité du développement embryonnaire, il n'est pas étonnant que les malformations congénitales aient des étiologies multiples.

Les malformations d'origine chromosomique ou monogénique (transmission autosomique dominante ou récessive ou lié au sexe) représenteraient 20 à 25 % des causes de malformations congénitales [123,124, 125, 126]. Moins de 10 % des malformations seraient dues à des causes environnementales au sens large du terme.

On considère [123,124, 125, 126] que pour plus de 60 % des malformations, la cause précise est inconnue. Parmi ces causes inconnues, les causes polygéniques, les interactions gène-environnement, les erreurs spontanées du développement et enfin l'interaction synergique entre plusieurs facteurs ont été évoquées [124, 125, 126].

3.1 Les malformations d'origine chromosomique

Les anomalies chromosomiques correspondent à diverses anomalies comme une duplication entière ou d'une partie d'un chromosome ou au contraire une disparition d'une partie ou d'un chromosome entier.

Les anomalies chromosomiques les plus fréquentes sont les trisomies où un chromosome supplémentaire est présent. Une trisomie peut affecter tous les chromosomes mais elle affecte certains plus que d'autres. La plus fréquente trisomie est la trisomie 16 mais elle aboutit rapidement à la mort embryonnaire. Les trisomies les plus fréquentes selon les registres de malformations congénitales sont les trisomies 21, 18 et 13. Les enfants atteints présentent des malformations congénitales multiples qui dépendent du type de trisomie.

Les conséquences des aberrations des chromosomes sexuels sont souvent moins sévères que celles atteignant les chromosomes autosomiques. Les formes les plus connues sont le syndrome de Klinefelter (47,XXY) et le syndrome de Turner (45 X). Les autres aberrations des chromosomes sexuels (47,XXX et 47,XYY) n'ont le plus souvent pas d'impact sur le phénotype.

Il existe une association constante d'un pays à l'autre entre l'âge maternel supérieur à 35 ans et la survenue de malformations chromosomiques [127] notamment avec les trisomies 21 mais aussi avec les trisomies 13 et 18 [128].

A part l'âge maternel, peu de facteurs ont été associés à des malformations chromosomiques. Les résultats des études existantes divergent concernant la relation entre malformations chromosomiques et l'exposition maternelle aux rayonnements ionisants [129] [130] et la consommation maternelle de tabac [131].

3.2 Les malformations d'origine monogénique

Une mutation d'un gène peut être à l'origine de malformations : il s'agit dans ce cas de malformations d'origine monogénique. Pour ces anomalies, le plus souvent les malformations ne sont pas isolées et surviennent dans le cadre d'un syndrome. Le syndrome de Meckel se manifeste par exemple par un encéphalocèle, une polydactylie, et une polykystose rénale.

Ces désordres sont le plus souvent hérités et peuvent être autosomiques dominants, récessifs, ou liés au sexe [124].

Dans le cadre d'anomalies autosomiques dominantes, les manifestations sont présentes à l'état hétérozygote : c'est-à-dire quand une seule copie du gène atteint est touchée. Un individu atteint a alors un parent atteint et a 50 % de probabilité de le transmettre à sa descendance [124].

Dans le cadre d'anomalies autosomiques récessives, les manifestations apparaissent quand les deux copies du gène sont atteintes. Une copie est reçue de chaque parent, tous les deux étant porteurs mais non atteints [124].

Dans le cas de l'hérédité liée au sexe, la maladie est transmise par l'un des deux chromosomes sexuels. La forme la plus fréquente est la forme récessive liée à l'X. Dans ce cas, seuls les hommes sont atteints et ils transmettent l'anomalie à leurs filles qui deviennent porteuses [124].

3.3 Autres déterminants et facteurs de risque de malformations congénitales

3.3.1 Le sexe

Des variations de prévalence des malformations existent selon le sexe. Les anomalies du tube neural sont par exemple plus fréquentes chez les filles, tout comme les malformations de hanches et les fentes palatines. En revanche, les fentes labiales sont plus fréquentes chez les garçons.

3.3.2 L'âge maternel

Pour les malformations non chromosomiques, une étude réalisée à partir des données de 23 registres participant à EUROCAT (European Concerted Action on Congenital Anomalies and Twins) ne trouvait pas d'association entre les malformations non chromosomiques analysées dans leur ensemble et l'âge élevé de la mère [132]. Il semblait cependant qu'une association significative avec un âge élevé de la mère était retrouvée dans certains pays comme l'Allemagne et la Pologne et pour certains types de malformations : les syndromes d'alcoolisation foetale, les encéphalocèles, les atrésies de l'oesophage. Dans cette même étude, l'âge maternel inférieur à 20 ans par rapport à l'âge maternel de référence (25-29 ans) était associé avec une augmentation du risque de malformations non chromosomiques.

C'était particulièrement le cas pour certains pays (la France, l'Irlande et le Portugal) et pour certains types de malformations (gastroschisis, infection maternelle, atrésie tricuspidale, anencéphalie et anomalies du système digestif). D'autres études retrouvaient un excès de malformations non chromosomiques chez les mères jeunes [133, 134]. L'interprétation de ces observations est délicate. L'âge jeune de la mère est souvent associé à un plus faible niveau socio-économique qui peut lui-même être associé à une origine géographique différente (avec potentiellement une susceptibilité génétique différente), et à des modes de vie différents (tabac, alcool, supplémentation vitaminique par exemple). Au contraire l'âge élevé de la mère est souvent associé à un niveau d'études élevé ou une parité élevée.

3.3.3 Le niveau socio-économique

Le niveau socio-économique de la mère a été étudié en relation avec la survenue de malformations congénitales [135-137]. Les résultats de ces études divergent et la mesure même du niveau socio-économique est différente d'une étude à l'autre (approché par le niveau d'études, la catégorie professionnelle, le revenu du foyer ou des mesures plus complexes). Les associations le plus souvent rapportées pour les niveaux socio-économiques bas concernent les fentes orales [135, 136] et les malformations du tube neural [138, 139].

Les explications possibles concernant l'association entre bas niveau socio-économique et malformations peuvent être un mode de vie différent, des expositions professionnelles ou domestiques différentes.

3.3.4 Antécédents obstétricaux

3.3.4.1 Antécédents de fausses couches

Certains auteurs ont retrouvé une association entre malformations congénitales et antécédent de fausses couches [140, 141]. Une étude rapportait une

augmentation du risque de malformation congénitale pour les grossesses ultérieures uniquement pour la survenue de malformations multiples, de trisomie 21, d'anencéphalie, de spina bifida, et de luxation congénitale de la hanche [140]. Une autre étude a rapporté une augmentation du risque de malformation congénitale uniquement au delà de 3 antécédents de fausses couches [141]. Ces résultats mériteraient d'être confirmés par d'autres études.

3.3.4.2 Parité

La primiparité est associée à la survenue des luxations congénitales de hanche [142, 143]. Pour les autres malformations les résultats étaient divergents [144, 145].

3.3.5 Pathologies maternelles

3.3.5.1 Diabète maternel

Les diabètes de type 1 et 2 ont été associés à une augmentation du risque de malformations congénitales [146]. Dans plusieurs études, le diabète maternel a été associé à la survenue de malformations cardiaques, de syndromes de régression caudale et à des malformations du tube neural [124, 147]. La sévérité de l'atteinte semble associée au niveau de contrôle de la glycémie [148]. Les données existantes ne semblent pas associer diabète gestationnel et malformations congénitales.

3.3.5.2 Epilepsie

L'épilepsie de la mère est associée avec un doublement du risque de malformations congénitales dans leur ensemble. Cet excès de risque concerne principalement 4 sous-groupes de malformations : les fentes orales, les spina bifida, les malformations cardiaques et les hypospades [149].

Il est cependant difficile d'étudier l'effet propre de la maladie épileptique sur le risque de malformations congénitales de façon indépendante de la prise médicamenteuse antiépileptique. En effet, peu de patients épileptiques peuvent vivre sans traitement et chez ces derniers le diagnostic même d'épilepsie est incertain.

Différents traitements antiépileptiques ont été associés aux risques de malformations congénitales comme l'acide valproïque, le phénobarbital, la phénantoïne, la carbamazépine [149]. Certains auteurs suggèrent un mécanisme de dégradation des folates par certains antiépileptiques [150-151]. Une analyse poolée de 8 études de cohorte européenne sur le risque de malformations en rapport avec la prise maternelle en monothérapie d'acide valproïque, rapportait des associations significatives pour 6 sous-groupes de malformations sur 14 étudiés par rapport à l'absence de traitement : spina bifida, malformation du septum atrial, fentes palatines, hypospades, polydactylie et craniosynostoses [152]. Pour 5 de ces 6 sous-groupes (toutes sauf les craniosynostoses) les auteurs rapportaient une augmentation du risque chez les mères prenant de l'acide valproïque en monothérapie par rapport à celles prenant d'autres thérapeutiques antiépileptiques.

3.3.5.3 Hypertension artérielle

Entre 5 et 10 % des femmes présentent une hypertension artérielle (HTA) au cours de leur grossesse [153]. Même si l'HTA maternelle n'est pas habituellement considérée comme un facteur de risque de malformations cardiaques [154], des études récentes ont rapporté de telles associations [153, 155]. Les études existantes sont cependant délicates d'interprétation compte tenu de l'utilisation concomitante maternelle de médicaments anti-hypertenseurs dont certains ont été associés à une augmentation du risque de malformations cardiaques [153, 155].

Certaines de ces études ont été par ailleurs critiquées en raison de l'absence de prise en compte de facteurs de confusion potentiels (diabète maternel, obésité) [156, 157].

Certaines autres études récentes ont rapporté une association entre HTA maternelle et survenue d'hypospades [144, 158]. Ces résultats devront être confirmés par la suite.

3.3.5.4 Phénylcétonurie

La phénylcétonurie est une maladie génétique autosomique récessive où l'enzyme phénylalanine hydroxylase est absente. Si un régime adéquat n'est pas adopté, il existe une accumulation de phénylalanine dans le sang. L'excès de phénylalanine dans le sang chez la mère durant la grossesse a été associé à la survenue de microcéphalie, micrognathie, et de malformations cardiaques [124]. Le maintien d'un niveau de phénylalanine bas chez les mères atteintes est nécessaire pour prévenir ces malformations.

3.3.6 Infections pendant la grossesse

3.3.6.1 Rubéole

La rubéole est une maladie éruptive le plus souvent bénigne liée à un virus. Seule une primo-infection en cours de grossesse est grave [159].

Les malformations observées dépendent de la période d'infection : avant 10 SA il s'agit de malformations cardiaques et de cataracte. Entre 10 et 16 SA, il s'agit de rétinopathie et de perte de l'audition [124].

Entre 1997 et 2006, en France, 324 infections maternelles au virus de la rubéole ont été diagnostiquées. Elles ont été à l'origine de la naissance de 33 enfants atteints de rubéoles congénitales malformatives et de 86 interruptions médicales de grossesse [160].

3.3.6.2 Varicelle - Zona

La varicelle et le zona sont deux maladies liées au même virus (varicelle-zoster virus ou VZV). Le risque pour la survenue de malformations congénitales est plus important entre 13 et 20 SA avec le syndrome de varicelle congénitale qui regroupe diverses anomalies et malformations : microcéphalie, hydrocéphalie, microphthalmie et autres atteintes oculaires (choriorétinite, cataracte), hypoplasie des membres [124, 159].

En s'appuyant sur une étude américaine, l'InVS estime qu'en France il y aurait actuellement entre 350 et 500 varicelles per gravidiques par an dont 1 à 7 avec atteintes congénitales.

3.3.6.3 Cytomégalovirus

Le cytomégalovirus est à l'origine de la plus fréquente des infections materno-fœtales.

En France on estime à 277 le nombre d'infections congénitales annuelles liées à ce virus dont 30 conduisent à une interruption médicale de grossesse.

Cette infection peut alors être à l'origine d'hydrocéphalie, de calcifications périventriculaires et de troubles neurologiques divers chez l'enfant [124, 159].

3.3.6.4 Toxoplasmose

La toxoplasmose est due à l'infection par un parasite le *Toxoplasma gondii*. Les malformations associées à une infection maternelle sont l'hydrocéphalie, la microcéphalie, les calcifications cérébrales [124, 159].

En 2000 le nombre de cas annuels estimés par l'InVS était compris entre 400 et 800 dont 100 à 200 avec des séquelles.

3.3.6.5 Autres

Deux autres infections ont été décrites pour être à l'origine de malformations congénitales. La fièvre équine vénézuélienne peut être à l'origine d'anencéphalie, de microphthalmie et de luxation congénitale de la hanche [126]. Par ailleurs, une augmentation modérée du risque de malformations est décrite pour les infections par le parvovirus B19 [125, 159].

3.3.7 Facteurs nutritionnels

3.3.7.1 Obésité

L'obésité est définie comme un indice de masse corporel (correspondant au poids sur la taille au carré) supérieur ou égal à 30 kg/m². Une revue de la littérature rapportait un excès de risque de malformations congénitales pour les femmes obèses surtout pour les sous-groupes spina bifida, omphalocèle, malformations cardiaques et malformations multiples [161]. Une méta-analyse publiée récemment confirmait ces résultats pour les spina bifida, et les malformations cardiaques et retrouvait une augmentation de risques significative pour les hydrocéphalies, les fentes orales, les atrésies anorectales et les réductions des membres. En revanche une diminution du risque de gastrochisis était rapportée pour ces femmes [162].

Il semble également exister un excès de risque de malformations cardiaques et de malformations multiples pour les femmes en surpoids (IMC entre 25 et 30 kg/m²) par rapport à celles ayant un poids normal [161].

3.3.7.2 Dénutrition

Une association a été rapportée entre la dénutrition liée à la famine en Hollande après la deuxième guerre mondiale et une augmentation des anomalies du système nerveux central (hydrocéphalie et malformations du tube neural) [163]. Une hypothèse possible pour expliquer ces résultats est le rôle de carences notamment vitaminiques.

3.3.7.3 Carence vitaminique et supplémentation

Beaucoup d'études se sont intéressées à la relation entre carence ou supplémentation vitaminique et survenue de malformations. L'intérêt a beaucoup porté sur l'acide folique (vitamine B9) en raison de son rôle prédominant dans la prolifération cellulaire et donc potentiellement sur le développement embryonnaire.

La plupart des études sur le sujet sont des études cas-témoins avec des difficultés dans la comparaison des études compte tenu des différences dans l'évaluation de l'utilisation maternelle de multivitamines (interview, questionnaire, ou enregistrement médical), dans la définition des périodes de prise (premier trimestre de grossesse plus ou moins période péri conceptuelle), le mode de prise (régulière ou irrégulière), la composition en multivitamines et la dose de prise.

Les résultats des études existantes montrent une diminution des malformations du tube neural associée à la supplémentation en acide folique notamment pour un essai d'intervention [163, 164]. Plusieurs études ont également rapporté des associations entre suppléments vitaminiques et diminution du risque de fentes orales, de malformations cardiaques et de malformations urinaires ou des membres [163]. Des résultats divergents ont cependant été rapportés [163].

Enfin, des études ont testé des interactions entre prise de multivitamines et certains polymorphismes génétiques sur la survenue de malformations congénitales, avec là aussi des résultats divergents [165].

3.3.7.4 Autres apports nutritionnels

Le zinc a été associé avec la diminution du risque de malformations du tube neural dans certaines études mais les résultats d'autres études sont divergents [163]. Parmi les rares études s'étant intéressées à la relation entre consommation maternelle de thé ou de café et survenue de malformations congénitales, aucune n'a rapporté d'association statistiquement significative [163].

3.3.8 Mode de vie

3.3.8.1 Consommation maternelle d'alcool

La consommation maternelle d'alcool est associée à la survenue du syndrome d'alcoolisation fœtal. Ce syndrome associe : une dysmorphie faciale (avec des fentes palpébrales étroites, un étage moyen de la face plat, un philtrum bombé), une

microcéphalie, une déficience mentale avec des troubles du développement moteur, des troubles de la coordination oculomotrice et une surdité centrale.

Différentes études ont testé spécifiquement la relation entre la consommation maternelle d'alcool et certains sous-groupes de malformations congénitales. C'est le cas par exemple pour les fentes orales : plusieurs études rapportent des associations positives surtout pour les fentes labio-palatines [166-167] et moins pour les fentes palatines [168]. Les accroissements de risque observés et les doses d'alcool ingérées par la mère sont très variables d'une étude à l'autre, rendant délicates les comparaisons. Toutes les études ne semblent cependant pas concordantes [169-170]. Enfin des études d'interaction ont été réalisées entre certains variants ou polymorphismes génétiques (TGFA, TGFB3, MSX1, ADH1C) et la consommation d'alcool et la survenue de fentes orales [167, 170, 171].

Des études récentes rapportent également une association significative entre cryptorchidie et consommation maternelle d'alcool [172].

3.3.8.2 Consommation maternelle de tabac

La consommation maternelle de tabac a été associée dans de nombreuses études à la survenue de malformations congénitales [131].

Pour les fentes orales, différentes études ont rapporté des associations avec la consommation maternelle de tabac [167, 168, 173-175]. Certaines d'entre elles suggéraient une relation dose dépendante entre consommation maternelle de tabac et risque de fentes orales [167, 168, 174, 175]. A l'inverse certaines études ne rapportaient pas d'association [176, 177, 178].

Deux méta-analyses rapportaient une augmentation du risque de FL/P et de FP pour la consommation maternelle de tabac [179, 180]. Des études d'interaction entre certains variants génétiques ou polymorphismes (TGFA, TGFB3, BLC3, MSX1, CYP1A1, CYP2E1, GSTM1, GSTT1, NAT1, NAT2) et consommation maternelle de

tabac en rapport avec la survenue de fentes orales avaient des résultats divergents [167, 170, 181-182].

D'autres malformations ont été associées à la consommation maternelle de tabac comme les gastroschisis, les malformations des membres, les malformations cardiaques, les malformations urinaires et les cryptorchidies [131, 145, 183-184]. Les résultats des études existantes ne sont cependant pas toujours concordants [131, 185]. Enfin, concernant les anomalies de fermeture du tube neural et les hypospadias, il ne semble pas exister d'association [131].

Les discordances observées entre les résultats de différentes études peuvent être en partie expliquées par des méthodes de recueil différentes (le recueil de la consommation de tabac en début de grossesse étant certainement plus fiable que le recueil rétrospectif) ou des niveaux d'exposition différents [131].

3.3.9 Médicaments

La prise de certains médicaments pendant la période de susceptibilité de l'organogénèse a été associée à la survenue de malformations congénitales [186]. Parmi les médicaments reconnus pour être à l'origine de malformations, nous ne présenterons que les plus connus.

3.3.9.1 Le thalidomide

Le thalidomide était un médicament fréquemment utilisé comme antiémétique chez la femme enceinte dans les années 1960. Des phocomélies chez des enfants ont été observées lorsqu'ils avaient été exposés in utero à la thalidomide entre le 22ème et le 36 ème jour de gestation. D'autres types de malformations ont également été rapportés pour ce traitement : malformations du système nerveux central, fentes orales, atrésie de l'oesophage et du duodénum, malformations cardiaques et rénales [124, 125, 126].

3.3.9.2 Le diéthylstilbestrol

Le diéthylstilbestrol (distilbène) est un oestrogène de synthèse utilisé pour prévenir les fausses couches spontanées à répétition. La prise de distilbène pendant la grossesse a été associée à la survenue de malformations congénitales notamment des malformations vaginales et utérines chez les filles exposées in utero. Chez les garçons exposés in utero des malformations génitales (hypospades, hypotrophie testiculaire et cryptorchidie) ont été rapportées. Certaines études rapportaient par ailleurs un effet transgénérationnel du distilbène sur la survenue d'hypospades [187] tandis que d'autres études ne retrouvaient pas cette association [188].

3.3.9.3 Les médicaments anticonvulsivants

(Cf. 3.3.5.2)

3.3.9.4 L'acide rétinoïque

L'acide rétinoïque utilisé dans le traitement de l'acné a été associé à la survenue d'un syndrome poly-malformatif associant des anomalies cranio-faciales (microtie, anomalie des pavillons et des conduits auditifs externes, fentes orales), des malformations du système nerveux central (hydrocéphalie, microcéphalie) et des malformations cardiaques (tétralogie de Fallot et hypoplasie aortique) [124, 125, 126].

3.3.9.5 La warfarine

La warfarine (coumadine) est un anticoagulant qui a été associé à la survenue de malformations congénitales comme des hypoplasies du nez et des dernières phalanges. Des malformations du système nerveux central ont été rapportées. Ces dernières semblaient plus être en rapport avec des saignements que de véritables malformations [124, 125, 126].

3.3.9.6 Les médicaments anti-hypertenseurs.

(Cf. partie 3.3.5.3)

3.3.9.7 Autres

La prise maternelle de corticoïdes pendant la grossesse a été associée dans plusieurs études à la survenue de fentes orales [124, 125, 126].

Les traitements d'aide à la procréation ont été testés en association avec la survenue de malformations congénitales. Une méta-analyse des ces études rapportait une augmentation significative du risque de malformations congénitales [189].

3.3.10 Facteurs physiques

3.3.10.1 Hyperthermie

Des associations ont été rapportées entre épisodes d'hyperthermie maternelle et survenue de malformations du tube neural (anencéphalie, microcéphalie), microphthalmie, fentes orales et sténose de l'artère pulmonaire. Il est cependant difficile de distinguer les effets des agents infectieux à l'origine de cette fièvre et de cette fièvre elle-même. Les données concernant la relation entre la prise de bain chaud et de sauna sur la survenue de malformations congénitales semblent peu concluantes [124].

3.3.10.2 Radiations ionisantes

Dans les suites des bombardements atomiques à Hiroshima et Nagasaki, une augmentation des microcéphalies a été observée. Ces malformations étaient associées à un nombre important de mort-nés, de retard mentaux, de retard de croissance intra-utérin et d'altération du sexe ratio [129].

Concernant des expositions à doses plus faibles, des associations avec une augmentation du risque de trisomie 21 ont été observées sans que toutes les études

soient concordantes, y compris les études faisant suite à la catastrophe de Tchernobyl [129, 130].

3.3.11 Expositions chimiques

Les produits chimiques sont très présents dans l'environnement domestique ou professionnel. Cependant peu de choses sont connues concernant leur impact sur la survenue de malformations congénitales [190]. Les premières descriptions concernant l'impact des produits chimiques sur la survenue de malformations congénitales sont liées à des catastrophes sanitaires.

3.3.11.1 Quelques exemples historiques

Le méthylmercure est un exemple bien connu. 6 % des enfants nés entre 1955 et 1959 dans le village japonais de Minamata présentaient une microcéphalie avec un retard mental.

Ce village était proche d'une usine qui utilisait de l'oxyde de mercure comme catalyseur pour la production d'acétaldéhyde. Elle rejetait à la mer les résidus de ce catalyseur. Ce n'est qu'en 1963 que la responsabilité du méthylmercure, contaminant des produits de la mer a été reconnu [125, 126, 191].

L'ingestion maternelle accidentelle d'huile de riz contaminée par des polychlorobiphényles (PCB) au Japon et en Iraq a été associée à une pigmentation brunâtre de la peau et des ongles. Cette présentation a été appelée syndrome du bébé cola [125, 191].

3.3.11.2 Autres produits chimiques

L'exposition maternelle à d'autres produits chimiques a été testée en relation avec la survenue de malformations, c'est le cas de l'exposition aux dioxines, aux pesticides, aux sous-produits de la chloration de l'eau et également aux perturbateurs endocriniens. Les résultats de ces études divergent et ils ont fait l'objet d'une bonne revue de la littérature [192].

3.3.12 Autres facteurs retrouvés dans la littérature

3.3.12.1 Contraintes mécaniques

Certaines malformations congénitales peuvent être dues à des contraintes mécaniques in utero [125]. Les malformations touchant les pieds, les membres, la fermeture du tube neural, la peau, la face ou les oreilles peuvent avoir pour origine des contraintes mécaniques. Ces contraintes peuvent être l'oligoamnios (déficit en liquide amniotique), une malformation utérine (utérus bifide par exemple), des anomalies d'implantation du cordon ou des brides amniotiques ou ombilicales [125].

La malformation ayant été le plus souvent associée à ce type de facteurs est sans doute la luxation congénitale de hanche. Elle est associée fréquemment à l'oligoamnios et à la présentation par le siège [142, 143]. Un poids de naissance de l'enfant supérieur à 4 kg ou une macrosomie, sont aussi associés à une augmentation du risque de ce type de malformation [142, 143].

3.3.12.2 Retard de croissance intra-utérin et prématurité

La prématurité et le retard de croissance intra-utérin ont été associés dans plusieurs études à la survenue d'hypospades et de cryptorchidies [144, 145, 193-194]. Une hypothèse possible pour ces associations serait un facteur commun à ces pathologies. Par ailleurs, la migration testiculaire se poursuivant jusqu'à la naissance une relation causale entre prématurité et cryptorchidies est également possible.

4- Informations anamnestiques :

L'anamnèse est un temps majeur de la démarche diagnostique, elle comprend l'interrogatoire des parents avec réalisation d'un arbre généalogique (au minimum trois générations), le recueil des informations concernant la grossesse, l'accouchement, le déroulement des premiers mois de vie, jusqu'à l'âge du patient à la consultation. En effet l'arbre généalogique permet d'évoquer un mode de transmission et ainsi de restreindre les cadres diagnostiques [4;196]. Une hérédité horizontale, c'est-à-dire la récurrence du même tableau clinique dans une fratrie est évocatrice d'une hérédité récessive autosomique (Figure.8), de même une telle situation peut être liée à une mosaïque germinale parentale d'une mutation autosomique dominante ou déséquilibre d'une anomalie chromosomique parentale.

La consanguinité est un élément essentiel en faveur de la récessivité (figure.8) [1;4;196].

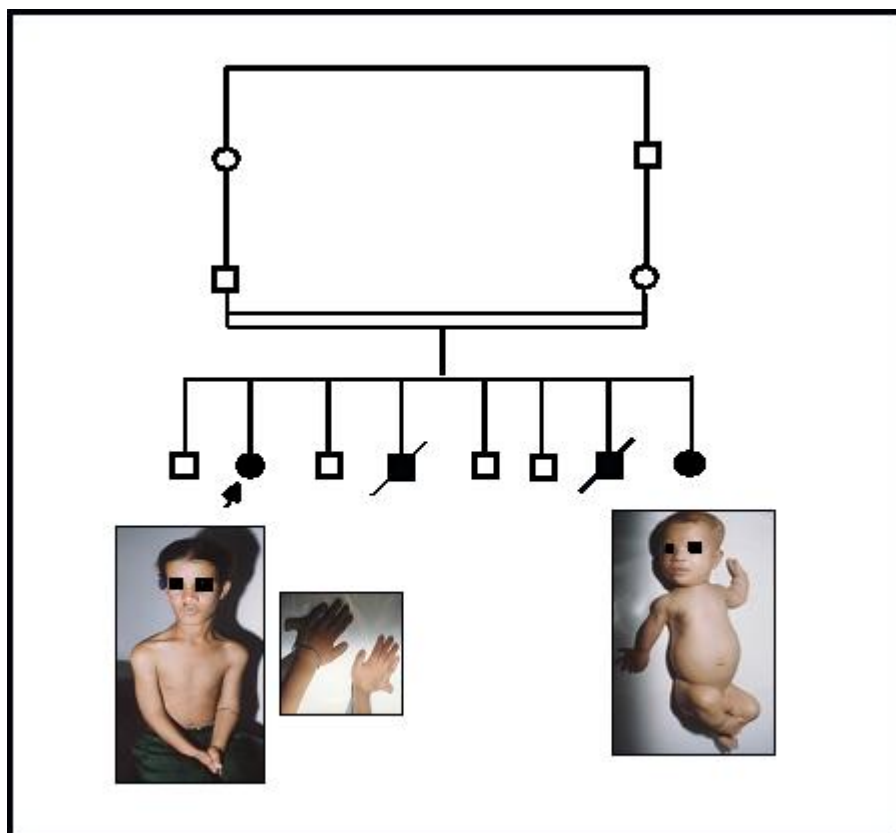


Figure. 8 : Récurrence dans une fratrie du syndrome d'Ellis-Van Creveled d'hérédité autosomique récessive (deux garçons et deux filles).

L'existence de plusieurs garçons atteints dans la branche maternelle est évocatrice d'une pathologie liée au chromosome X. L'hérédité autosomique dominante se reconnaît aisément dans le schéma classique d'une transmission verticale à transmission complète, le diagnostic d'une pathologie à hérédité autosomique dominante est plus difficile en cas d'expressivité variable. Un certain nombre des syndromes dysmorphiques qui surviennent de façon sporadique sont liés à des mutations dominantes de novo dans les gènes de développement [1]. L'âge parental est un élément important, en effet la notion d'un âge paternel avancé est un argument en faveur d'une mutation de novo. Alors que l'âge maternel avancé est corrélé à un risque plus important de trisomies 21, 13 et 18. La notion de fausses couches spontanées à répétition constitue un argument important en faveur d'une anomalie chromosomique [4].

La récupération de dossiers médicaux des apparentés en respectant le secret médical et le consentement (dossiers cliniques, photographies, bilans...) est nécessaire, en particulier dans les maladies autosomiques dominantes à expressivité variable [4]. L'histoire de la grossesse doit être détaillée et doit aussi être axée sur la notion de prise ou d'exposition (toxiques, médicaments...), ainsi que la recherche des épisodes d'infections. La récupération d'échographies (dates et résultats) et des bilans biologiques est aussi très importante [5]. De l'accouchement à la date de la consultation, l'interrogatoire clinique doit être minutieux et reconstituer le déroulement de l'accouchement [1]. La notion de souffrance néonatale, ainsi que toutes les mensurations prises en néonatale.

C'est ainsi que la reconstitution de l'histoire pédiatrique de l'enfant, et la mention de tout événement même d'allure banale (eczéma, éruptions cutanées, fièvre récurrente...) ou de troubles fonctionnels (diarrhées, constipation) peuvent par leur répétition, attirer l'attention. L'existence, chez un enfant dysmorphique ou

malformé, d'atteintes organiques multiples sans relation apparente ou d'une défaillance polyviscérale ne doit plus être considérée comme une coïncidence et doit faire suspecter une anomalie du métabolisme énergétique, en particulier peroxysomal ou mitochondrial. [195].

L'évaluation du développement staturo-pondéral et psychomoteur est primordial comme élément d'orientation dans le diagnostic étiologique en dysmorphologie. Le phénotype comportemental peut parfois permettre une réelle orientation diagnostique, tel que les accès de rire dans le syndrome d'Angelman [4;5].

5- Examen en dysmorphologie :

Cet examen est essentiellement descriptif et il est indispensable de noter tous les éléments recueillis et d'établir les mensurations [4]. Les photographies font partie intégrante de cet examen. Pour des observations complètes et détaillées il est indispensable de différencier deux types de malformations ou des anomalies rencontrées en dysmorphologie, les anomalies mineures et majeures [5]. L'approche doit être systématique par régions anatomiques mais n'obéit pas obligatoirement à un rituel. Nous ne détaillerons ici que l'examen de la région crânio-faciale, des extrémités et l'examen cutané, ainsi que l'identification d'un phénotype comportemental particulier. A la fin, il faut comparer le sujet examiné à ses parents et à sa fratrie [4].

On distingue deux types de malformations, mineures et majeures [5]. Les malformations majeures, sont graves, altèrent la fonction normale de l'organisme, et exigent une intervention chirurgicale, telle que l'atrésie duodénale, les malformations cardiaques et les myéloméningocèles [5]. La fréquence des malformations majeures est estimée à environ 2 à 3% des nouveaux nés [196]. Les

malformations majeures peuvent être isolées ou multiples et ils ont un pronostic différent. Les malformations isolées sont habituellement dues à des causes multifactorielles, alors que les malformations majeures multiples, dans différents organes et segments constituent la plupart du temps un syndrome [197]. Les anomalies ou malformations mineures se définissent par des variations morphologiques individuelles ou familiales qui, regroupées peuvent devenir très évocatrices d'un diagnostic [4], tel que le syndrome de Down dont les signes mineurs représentent 78% de l'ensemble du syndrome [197]. Les malformations majeures sont retrouvées chez 3% des nouveau-nés présentant une anomalie mineure. Cependant l'existence de 2 ou 3 anomalies mineures, le pourcentage de trouver une malformation majeure est estimé respectivement de 11% et de 90% [198]. Nous présentons sur le tableau 1, la liste des anomalies mineures fréquemment rapportées en dysmorphologie [5].

Tableau. 2 : Liste de quelques anomalies mineures fréquemment rapportées en dysmorphologie [5].

Cranio-faciale	Autres: tronc, membres	Peau
• Fontanelle sagittale • Hypertélorisme • Narines antéversées • Malrotation des oreilles • Oreilles bas implantées • Hétérochromie oculaire • Philtrum plat • Incisif unique central • Micrognathie • Puits pré-auriculaire • Hypodontie • Anomalies de l'hélix	• Xiphoïde bifide • Clinodactylie du cinquième doigt • Excès de peau de la nuque • Mamelons surnuméraires • Hernie ombilicale	• Taches hypopigmentées • Taches café au lait

5.1. Examen de la région crânio - faciale :

Le crâne est étudié dans ses formes et ses dimensions. L'inspection du crâne est faite de face, de profil et en vue supérieure, afin de juger de sa configuration, de sa symétrie, et de l'impression générale des proportions du crâne par rapport aux repères faciaux.

La mesure du périmètre crânien (mesure de la circonférence occipito-frontale) est indispensable, elle permet d'estimer la croissance cérébrale et de définir la notion de macrocéphalie (supérieur à -2 DS), de microcéphalie (inférieur à -2 DS) et ou de normocéphalie.

Il est nécessaire de différencier des variations non pathologiques de la forme du crâne (dolichocéphalie, saillie de la suture métopique, plagiocéphalie...) correspondant soit à une variante de la normale (ex : crâne volontiers dolichocéphale des enfants prématurés, déformation crânienne intra-utérine), soit à une anomalie mineure soit à des véritables anomalies morphologiques comme les craniosténoses (scaphocéphalie, trigonocéphalie, brachycéphalie...) dont le diagnostic est aidé par l'examen des sutures crâniennes est confirmé par les explorations radiologiques (Figure. 9). Une déformation à type d'occiput plat (plagiocéphalie) est volontiers liée à la position en décubitus dorsal du nourrisson et peut être secondaire à une hypotonie plutôt qu'à une véritable synostose coronale unilatérale prématurée. Une discrète asymétrie crânienne est parfois observée chez l'individu normal. Des anomalies focales des os crâniens doivent être notées, comme une hyperostose (bosses frontales ou pariétales) [5].

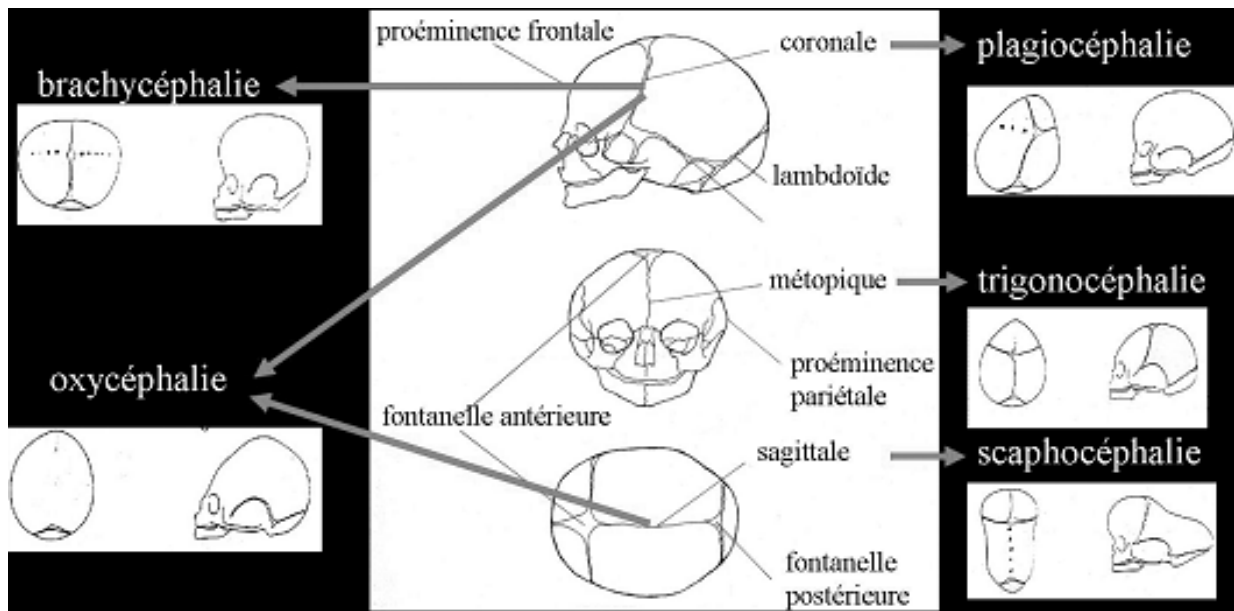


Figure 9 : schéma illustrant les différentes craniosténoses, en rapport avec la suture atteinte.

5.2. Examen de la face :

Il sera également intéressant de regarder l'aspect des cheveux (rares, cassants,...), leur couleur (des cheveux bicolores associés à un retard mental peuvent signer une anomalie chromosomique en mosaïque) et leur implantation.

L'examen du crane sera suivi par l'examen de la face qui sera divisé en deux étapes, en premier par l'évaluation de l'aspect général, en deuxième, un examen minutieux en subdivisant la face en trois étages (supérieur, moyen et inférieur) [1;5 ; 196] (figure 10)

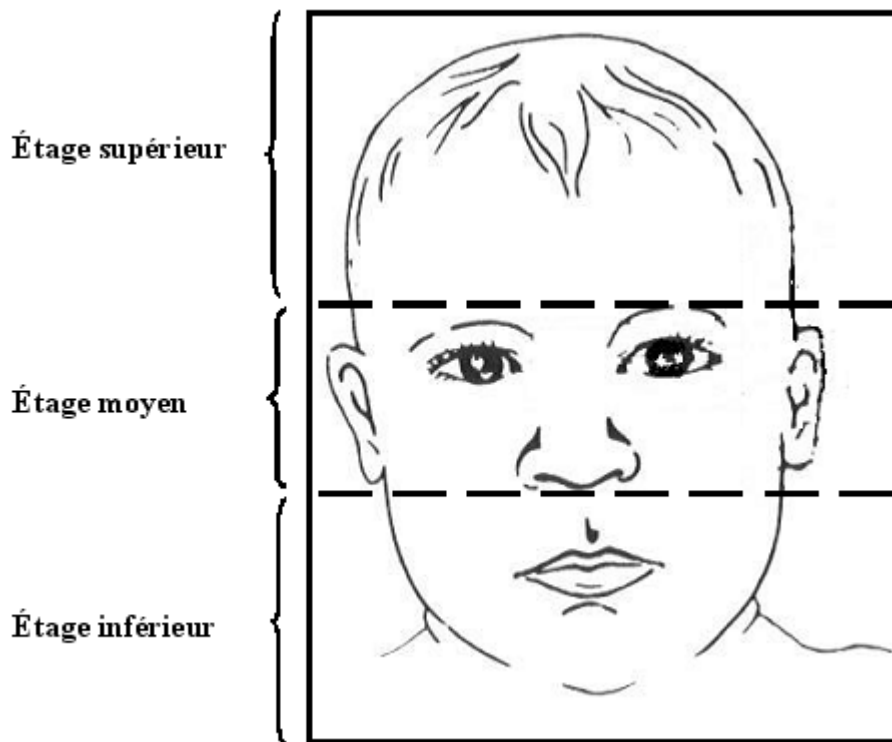


Figure 10 : Figure subdivisant la face en trois étages (supérieur, moyen et inférieur).

L'inspection permet de caractériser l'évaluation générale de l'aspect de la face.

Le visage peut avoir une forme allongée, large, étroite, ovale, ronde, triangulaire, plate ou se caractériser par des traits grossiers. L'expression du visage doit aussi être observée [1].

Le visage peut être décomposé en 3 parties afin de guider l'analyse morphologique : l'étage supérieur délimité entre le front et les sourcils, l'étage moyen délimité entre les sourcils et la racine inférieure du nez et enfin l'étage inférieur délimité entre la racine inférieure du nez et le menton (Figure. 10). D'autres délimitations de ces 3 étages pourront être retrouvées dans la littérature [1;5;196].

L'étage supérieur de la face permet d'identifier un front haut ou bas, large ou étroit (rétraction temporale), bombé ou plat, vertical ou fuyant (microcéphalie), lisse ou ridé (vieillesse prématurée). La hauteur et la forme de l'implantation des cheveux sur le front doivent être évaluées [1]

L'examen de l'étage moyen de la face permet de mettre en évidence une rétraction ou une protrusion de l'étage moyen en recherchant l'alignement du front, du philtrum et du menton qui en principe se trouvent sur la même ligne verticale. L'étage moyen intègre l'étude de la région périorbitaire, le nez et les oreilles. L'étude de la région périorbitaire inclut les fentes palpébrales, les orbites, les globes oculaires et les cils. Les fentes palpébrales sont mesurées (blépharophimosis si étroites), et leur orientation est notée (aspect mongoloïde en haut et en dehors [trisomie 21], aspect anti-mongoloïde en bas et en dehors).

Les notions d'hypertélorisme et d'hypotélorisme doivent être recherchées après comparaison à des courbes de référence selon l'âge. L'aspect des sourcils doit être précisé, tel que les anomalies de configuration (synophris observé dans le syndrome de Cornélia de Lange) [5 ; 198].

L'étude des globes oculaires recherche des anomalies de taille des globes (microphthalmie, anophthalmie, mégalocornée), des anomalies de l'iris, en premier les anomalies de coloration, de pigmentation ou des anomalies morphologiques comme un colobome irien [1,199]. La configuration du nez donne des informations sur les événements embryonnaires qui se sont produits entre la deuxième et la cinquième semaine de gestation. Il existe une grande variation normale de taille et de forme générale du nez. La taille du nez est évaluée et sa description morphologique est détaillée (racine, crête nasale, pointe, ailes du nez, narines, columelle, cloison nasale) [1,199].

On recherche au niveau des oreilles des anomalies de taille (macrotie, microtie), d'implantation (haute, basse), d'orientation (rotation postérieure ou antérieure), et de forme (hélix, anthélix, tragus, antitragus, lobule, conque...) (figure. 11). L'implantation normale des oreilles est définie par la ligne horizontale

qui joint le canthus externe de l'œil à l'occiput et coupe l'oreille au niveau de son tiers supérieur [1, 199].

Des marqueurs pré ou rétro-auriculaires sont recherchés comme des puits ou pertuis, des appendices pré-tragiens (chondromes, condylomes), retrouvés dans la dysplasie oculo-auriculo-vertébrale ou des indentations lobaires dans le syndrome de Beckwith-Wiedemann [1,199].

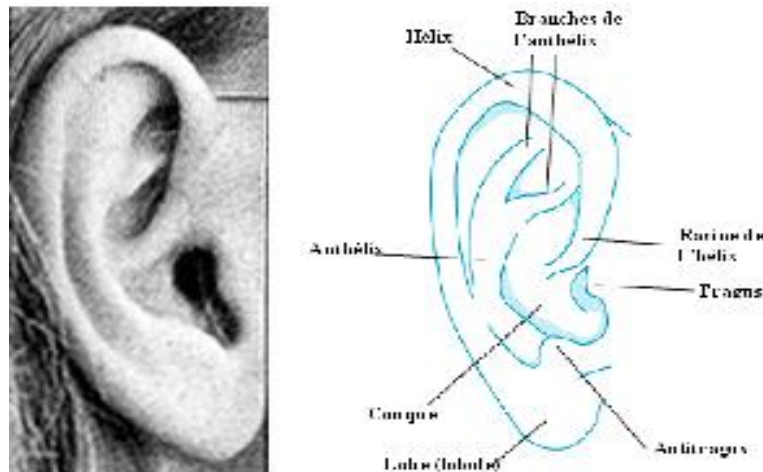


Figure. 11 : Aspect et différents constituants de l'oreille normale [199]

L'examen de l'étage inférieur de la face débute en premier par l'examen du menton, à la recherche d'anomalie de position (rétrognathie, prognathie) ou de taille (micrognathie) (figure. 12) [199,200]. Le philtrum est la région du visage entre la base du nez et le vermillon de la lèvre supérieure. La configuration, la taille et le relief des crêtes du philtrum doivent être notées. La taille de la bouche permet de définir une microstomie ou une macrostomie relative en cas d'anomalie. L'étude de la cavité orale comprend le palais, la luette, la langue, les gencives et les dents. L'anomalie majeure la plus fréquente est la fente palatine dont la luette bifide représente un équivalent mineur. La langue peut être le siège d'anomalie : microglossie, aglossie, ou macroglossie; langue proéminente ou glossoptose, langue lobulée, fendue ou fissurée. Des fibromes linguaux avec langue lobulée s'observent

dans le syndrome oro-facio-digital type II. L'examen des dents est important en dysmorphologie [1 ; 8 ; 199]

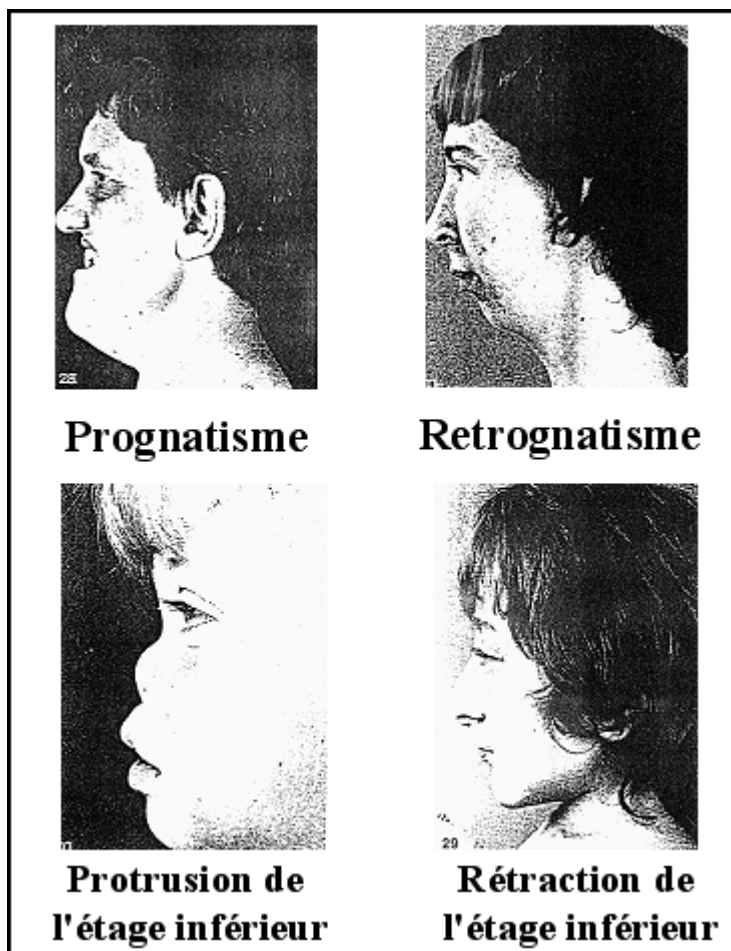


Figure 12: Les différentes anomalies de l'étage inférieur.

L'examen des cheveux est primordial dans l'évaluation des phanères, qui doit être descriptif au niveau de la quantité (hypertrichose, hypotrichose, ou alopécie) et de la qualité des cheveux [199].

5.3. Examen des extrémités

L'analyse des mains et des pieds est un élément important d'information sur l'embryogenèse précoce des membres [1]. En effet la morphogenèse des membres a lieu pendant une période de 4 semaines entre la 5ème et la 8ème semaine de gestation [200]. Les anomalies des membres peuvent être isolées, ou syndromiques. C'est souvent l'atteinte d'un autre système qui permet l'affirmation d'un cadre syndromique [200]. L'étude des extrémités s'inscrit dans l'ensemble des membres qui peuvent présenter toutes les anomalies possibles au niveau des différents segments, regroupant les amputations ou défauts transverses terminaux, les anomalies longitudinales, les hypoplasies du rayon radial, les hypoplasies du rayon cubital, les ectrodactylies, les polydactylies les syndactylies et les synphalangies [1;200] (figure. 13). Ces anomalies sont analysées au niveau des pièces osseuses sur les radiographies du squelette.



Figure 13 : Syndactylie dans le cadre du syndrome d'Apert.

L'analyse clinique des mains et des pieds comprend leur aspect général, la longueur (brachydactylie, arachnodactylie), la mobilité des doigts (camptodactylie, clinodactylie...); l'étude des plis de flexion de la paume de la main, des doigts et de l'extrémité pulpaire des doigts (dermatoglyphes) [4] (Figure. 14). Des anomalies similaires à celles décrites au niveau des mains peuvent se retrouver au niveau des pieds [200].

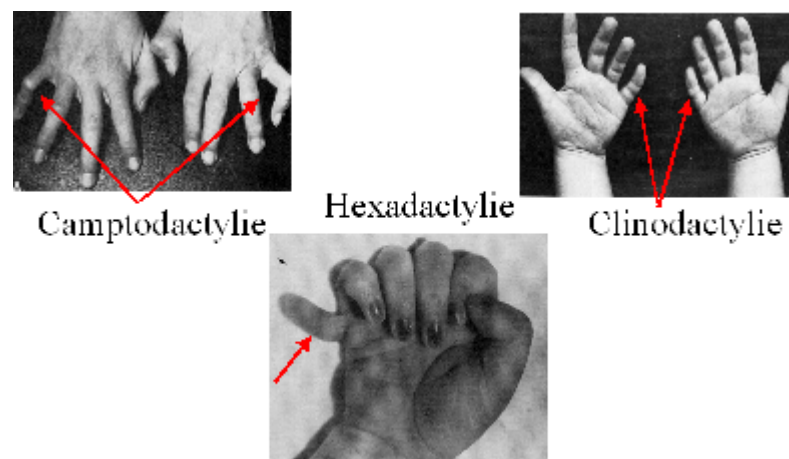


Figure 14: Différentes anomalies des mains (camptodactylie, hénadactylie et clinodactylie).

5.4. Examen de la peau

La peau est impliquée dans différents syndromes (au moins 1000 des 3500 syndromes) [5]. L'examen de la peau peut fournir des indices diagnostics importants et indiquer la présence des malformations. La recherche de six catégories de type des signes cliniques est importante au cours de l'examen de la peau [6]. En premier les anomalies du développement, tel que les anomalies du scalpe qui représentent un élément d'orientation vers des anomalies chromosomiques (la trisomie 13 et le syndrome de Wolf–Hirschhorn (4p-)) [6]. La deuxième catégorie des signes à rechercher est les changements de pigmentation, qui représente un élément sémiologique fréquent et important pour un diagnostic précis, tel que le syndrome

de Leopard [6]. La présence de lignes de Blaschko orientent vers un mosaïcisme chromosomique ou génique, indiquant une étude cytogénétique ou moléculaire [201]. En troisième lieu les anomalies des aires cutanées, observées dans le Syndrome Menkes [202]. Le quatrième élément dans l'examen de la peau est l'anomalie vasculaire cutanée [203]. Les anomalies de texture cutanées, sont également recherchées notamment si suspicion du syndrome Ehlers–Danlos [204].

En dernier, la recherche d'un aspect tumoral, observé dans plusieurs syndromes hamartomateux [6].

5.5. Mesures standards et développement général :

Les mesures standards (poids, taille, périmètre crânien...) sont des éléments indispensables dans l'examen dysmorphologique. Les mesures les moins courantes peuvent être comparées à des valeurs de référence [205].

Plusieurs syndromes dysmorphiques s'accompagnent d'anomalies du développement psychomoteur de gravité variable [196]. Dans certains cas, ces désordres neurologiques, psychomoteurs et comportementaux sont très particuliers [196]. Flint et Yule exigent deux conditions pour définir un phénotype comportemental. Premièrement il doit y avoir un comportement distinctif particulier retrouvé dans presque tous les cas du syndrome en cause et rarement dans les autres conditions et deuxièmement un rapport direct entre l'anomalie génétique et les manifestations physiques doit être démontré [206,207]. Pour mieux évaluer le fonctionnement psychologique et comportemental, il est préférable d'adopter une approche systématisée, tenant en compte, le niveau intellectuel, le langage, le déficit de l'attention, le comportement social, et les troubles du sommeil [206]. Les phénotypes comportementaux, représentent un critère de diagnostic pouvant

orienter vers un diagnostic précis tels que les syndromes : d'Angelman, de Prader-Willi et de Williams [1].

5.6. Reste de l'examen somatique :

L'examen somatique doit être complet, appareil par appareil, mais aussi guidé par les éléments anamnestiques et physiques précités.

5.7. Prise des photographies :

Les photographies font parties intégrante de l'examen en dysmorphologie, l'évolution du morphotype avec l'âge implique parfois de retrouver des photographies du patient à différents âges. La prise de films à petites séquences est nécessaire dans certains cas où le phénotype comportemental est très évocateur d'un syndrome, ou en cas de signes neurologiques [1;208].

6- Examens complémentaires :

Il faut éviter d'être systématique et proscrire les examens inutiles. Outre les raisons économiques évidentes, cette prudence dans les indications doit être guidée par un souci de confort et de respect de l'enfant et de sa famille. Chez l'enfant handicapé, tout examen requérant une immobilité parfaite peut nécessiter une contention traumatisante ou une anesthésie générale. Compte tenu du nombre et de la diversité des syndromes dysmorphiques, Les indications doivent se faire au cas par cas. L'approche multidisciplinaire est nécessaire, faisant intervenir plusieurs spécialités, rendant le diagnostic et la prise en charge plus orientée, de l'enfant et de sa famille. Nous ne détaillerons que les examens de nature génétique au cours de notre approche [197].

6.1. Examen de nature génétique :

Les avancées considérables de la génétique médicale ont conduit au développement de nouveaux outils de diagnostic et de conseil génétique. Le généticien dispose actuellement de trois catégories d'outils qui diffèrent par leur niveau de résolution [5].

a- Le caryotype

Le caryotype, permet l'observation et la classification des chromosomes présents au cours de la métaphase ou de la prométaphase de la mitose, il représente le premier examen permettant une analyse globale du génome et permet de détecter les anomalies de nombre ou de structure des chromosomes (figure. 15).

Le caryotype standard permet de visualiser 300 à 500 bandes par lot haploïde de chromosomes.

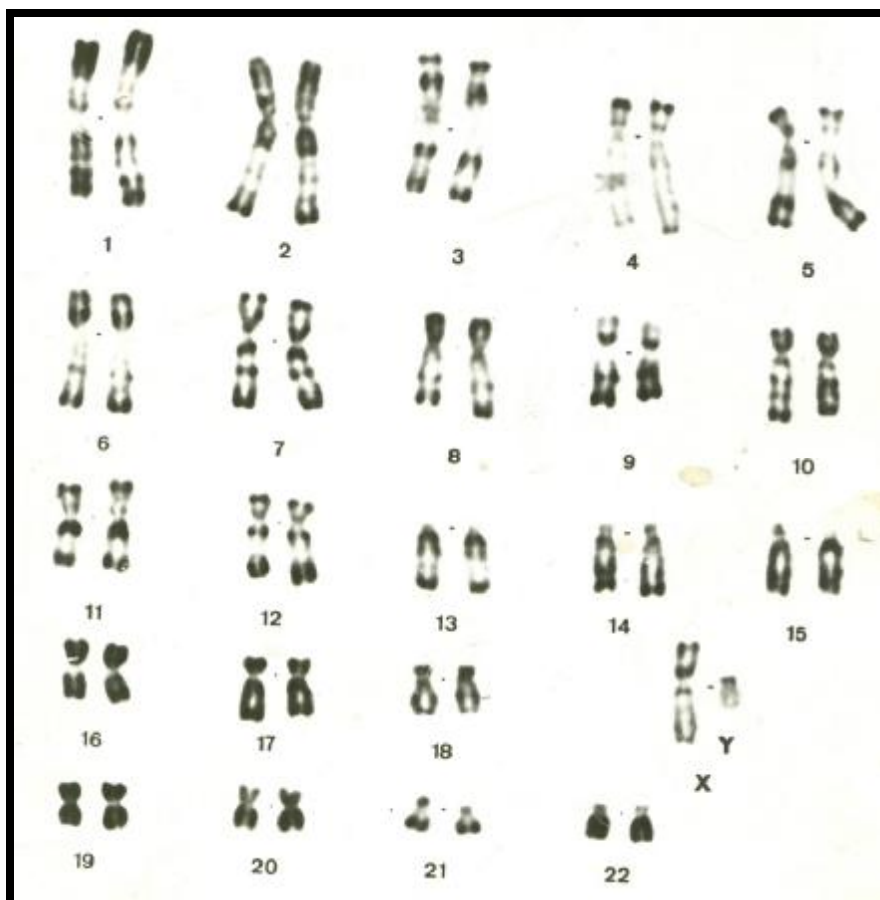


Figure. 15 : Caryotype normal en bandes R : 46,XY

Alors que le caryotype en haute résolution, réalisé sur des cellules en prométaphase, permet, L'observation de 700 à 850 bandes par lot haploïde de chromosomes. Des remaniements plus fins de la structure chromosomique, de 3 mégabases (Mb) au minimum, peuvent être observés mais l'interprétation est délicate et plus efficace si elle est focalisée sur un chromosome ou une région chromosomique donnée, orientée par le tableau clinique [209,210].

La première étape du caryotype est la Culture cellulaire, Pour cela, il est nécessaire d'avoir des cellules en phase de multiplication active, soit spontanément (cas des villosités chorales ou de certaines cellules tumorales) soit par une culture préalable le plus souvent (fibroblastes, tout type cellulaire capable de se diviser) parfois associée à une stimulation (lymphocytes sanguins). La durée de cette culture est variable en fonction du type cellulaire considéré et de la quantité du matériel biologique disponible au départ. L'étape suivante consiste à bloquer les cellules en métaphase afin de pouvoir observer les chromosomes. Pour cela, on utilise un poison du fuseau de division (classiquement c'est la Colchicine) qui empêche la progression de la mitose vers l'anaphase. Les cellules sont alors plongées dans une solution hypotonique ce qui entraîne leur gonflement et leur éclatement ainsi que la dispersion des chromosomes. Cette étape est indispensable à l'obtention d'un étalement correct des chromosomes. Enfin, la dernière étape consiste en une fixation par un mélange d'alcool et d'acide acétique. La préparation est alors étalée en laissant tomber une goutte de la suspension cellulaire sur une lame. Lorsqu'on colore des préparations chromosomiques avec du Giemsa, les chromosomes prennent un aspect rose violacé à peu près homogène sur toute leur longueur. On ne peut donc les distinguer les uns des autres que par leur taille et leur forme.

Cependant, ces critères sont insuffisants pour assurer la reconnaissance et l'interprétation correcte des anomalies chromosomiques [1].

Pour reconnaître spécifiquement chaque paire chromosomique, on utilise donc des techniques de marquage particulières qui permettent d'obtenir une coloration inhomogène des chromosomes par le Giemsa et l'apparition de bandes. C'est la succession de bandes sombres et claires le long d'un chromosome, identique chez tous les individus pour un chromosome donné, qui en permet l'identification précise.

Il existe deux principales techniques de marquage en bandes des chromosomes (Banding), utilisées en routine :

Ø Bandes R : Le marquage est obtenu par dénaturation thermique. Les bandes obtenues sont l'inverse de celles obtenues par la trypsine.

Ø Bandes G : Les lames sur lesquelles sont fixés les chromosomes sont trempées dans de la trypsine (enzyme entraînant une dénaturation chimique). Il y a dénaturation de certaines parties du chromosome qui deviennent presque blanches, alors que les parties non dénaturées restent noires.

Dans les deux cas, les bandes ne deviennent visibles qu'après une coloration avec le Giemsa.

D'autres techniques de marquage complémentaires existent qui permettent d'analyser certaines régions particulières du génome telles que les Bandes C et la Technique NOR (technique qui consiste en un dépôt de nitrate d'argent qui met en évidence les organisateurs nucléolaires).

Un caryotype normal comporte 46 chromosomes répartis en 44 autosomes et 2 gonosomes. La formule chromosomique normale de l'espèce humaine est 46, XX chez la femme et 46, XY chez l'homme.

Les chromosomes métaphasiques sont constitués d'un bras court (noté p) et d'un bras long (noté q), reliés entre eux par le centromère qui correspond à un étranglement situé à un niveau variable du chromosome et qui sert de point

d'attache au fuseau de division pendant la division cellulaire. Selon le stade de la mitose, les chromosomes comportent un chromatide (télophase) ou deux chromatides (métaphase). Les chromosomes appartenant à une même paire sont dits homologues, ceux de paires différentes sont dits hétérologues.

Plusieurs critères vont permettre de reconnaître et de classer les chromosomes : La taille : Par convention, les chromosomes sont classés du plus grand au plus petit. L'index centromérique : c'est-à-dire le rapport entre la taille du bras court et la taille totale du chromosome.

Cet index permet de reconnaître trois familles de chromosomes (figure. 16) :

- Les chromosomes métacentriques dont les deux bras ont une taille à peu près équivalente
- Les chromosomes submétacentriques qui ont un bras franchement plus petit que le bras long

Les chromosomes acrocentriques dont le bras court est quasi inexistant. On ne trouve sur ces bras courts que les gènes codant pour les ribosomes ; ces gènes étant présents à plusieurs centaines d'exemplaires double génome, la perte du bras court d'un chromosome acrocentrique n'a pas de conséquence clinique.

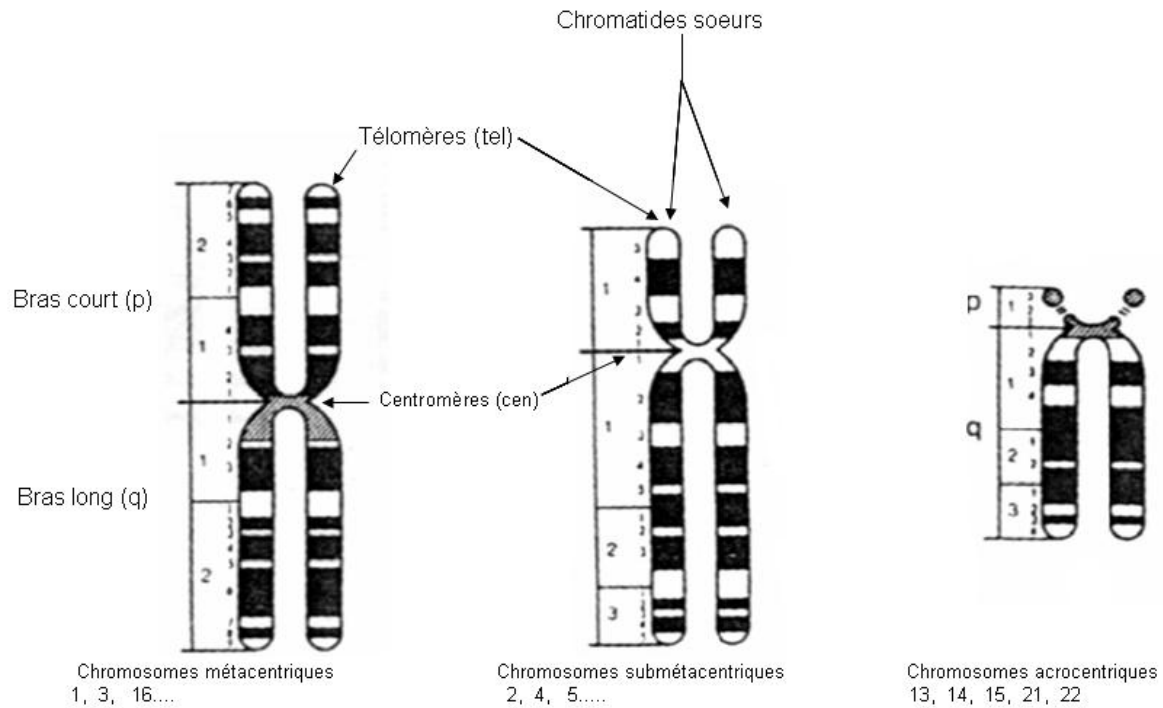


Figure 16: Chromosomes métaphasiques (métacentrique, submetacentrique et acrocentrique).

Les bandes chromosomiques, qui sont caractéristiques de chacune des paires.

Le nombre de bandes visibles est variable d'une mitose à l'autre et dépend du niveau de condensation du chromosome. Plus les chromosomes sont condensés, moins on peut observer de bandes et moins l'analyse permet de dépister des anomalies de petite taille. Le nombre de bandes par lot haploïde (c'est-à-dire pour 23 chromosomes) permet de définir la résolution de l'analyse cytogénétique; un caryotype standard a une résolution de 300 à 550 bandes ; certaines techniques dites de haute résolution permettent d'augmenter le nombre de bandes visualisées en bloquant les chromosomes au tout début de leur condensation : on peut ainsi obtenir 800 ou même 1000 bandes par lot haploïde.

Ces techniques de haute résolution sont de réalisation et d'interprétation plus délicates que le caryotype standard, mais permettent la mise en évidence des anomalies de taille beaucoup plus réduite [1;2].

Il existe une nomenclature internationale (ISCN : International System for human Cytogenetic Nomenclature) permettant de définir précisément la constitution chromosomique d'un sujet (la plus récente est celle de 2005).

Les indications du caryotype en dysmorphologie doivent être très larges. Néanmoins un caryotype est indiqué dans les circonstances suivantes [197;209] :

- 1 - La présence d'un syndrome chromosomique typique (trisomie 21, 13, 18) (figure. 17).
- 2 - La présence de l'association : retard mental, retard statural et dysmorphie. (figure 18 : syndrome de cri de chat)
- 3 - La présence chez le même enfant des signes cliniques, de deux syndromes ou plus, et ceci pour exclure un syndrome des gènes contigus.
- 4 - Des malformations connues pour avoir une association élevée avec une anomalie chromosomique par exemple l'holoprosencéphalie.
- 5 - Un enfant présentant une dysmorphie non spécifique sans diagnostic précis.

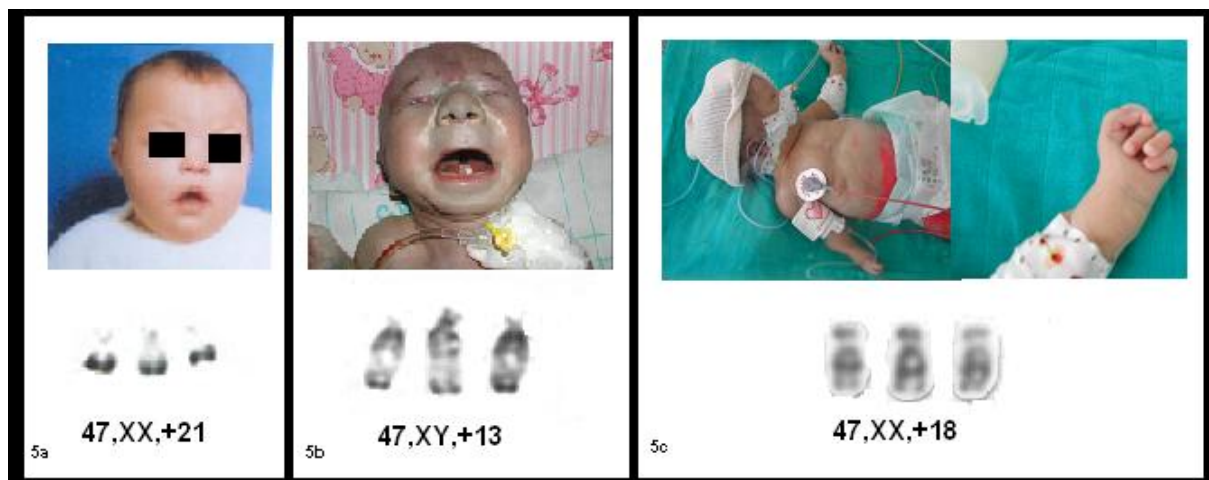


Figure 17: Aspect phénotypique et caryotype partiel de la trisomie 21, 13, 18
(service de génétique médicale du CHU Hassan II de Fès)

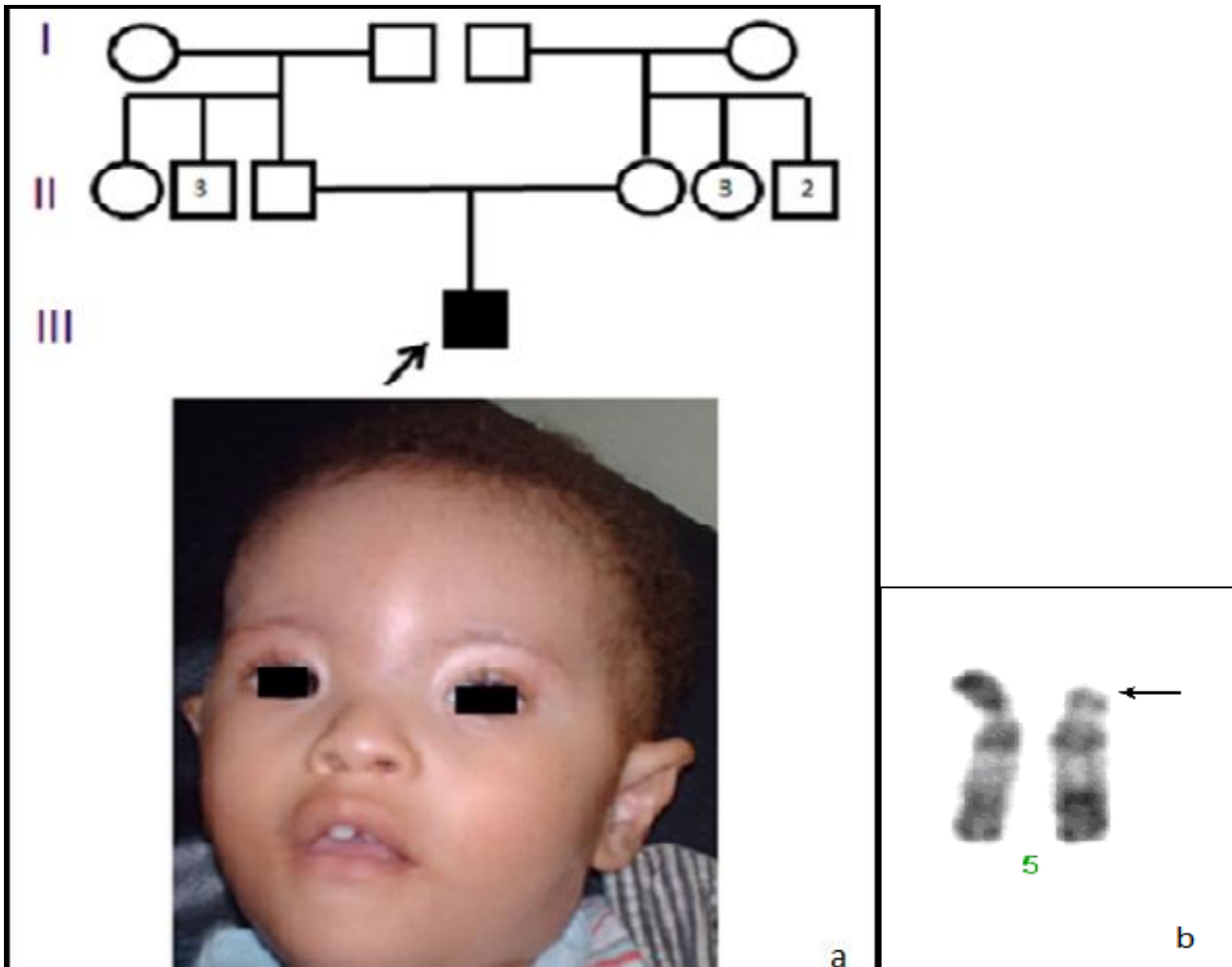


Figure 18 : Syndrome de cri de chat (service de génétique médicale du CHU Hassan II de Fès)

a/ Aspect phénotypique et arbre généalogique.

b/Le caryotype partiel métaphasique en bandes R a mis en évidence la délétion 5p-:46, XY, del(5)(p13) (La flèche indique le niveau de la délétion).

L'existence d'une asymétrie corporelle et/ou d'anomalies de la pigmentation doit rechercher systématiquement une anomalie chromosomique en mosaïque sur culture de fibroblaste [1]. L'étude cytogénétique à la recherche de l'instabilité chromosomique dans les syndromes d'instabilités chromosomiques, est indiquée (exemple du Syndrome de Fanconi) (figure. 19).

On va présenter 3cas de syndrome de Fanconi du service de génétique médicale du CHU Hassan II de Fès :

Observation :

Observation 1 : Enfant de 11 ans, issue d'un mariage consanguin qui consulte pour pancytopénie avec une dysmorphie, et retard staturo-pondéral.

Observation 2 : Enfant de 12ans, issue d'un mariage consanguin, qui consulte pour aplasie médullaire.

Observation 3 : Enfant de 6 ans, issu d'un mariage consanguin, qui présente un retard staturo-pondérale, une pancytopénie, et des taches café au lait.

Tableau 3 : manifestations cliniques de 3 cas de syndrome de Fanconi du service de
génétiq   médicale du CHU de Fès

Phénotype	Observation 1		Observation 2		Observation 3	
Age (ans)	11		12		6	
Dysmorphie faciale	+		+		+	
Origine	Taounat		Fès		Tissa	
Retard staturo-pondérale	Poids	Taille	Poids	Taille	Poids	Taille
	-2DS	-2DS	-3DS	-3DS	-2DS	-2DS
Anémie	+		+		+	
Pancytopénie,	+		+		+	
Aplasie médullaire	-		+		-	
Malformations du pouce	-		-		-	
Taches café au lait cutané	+		-		+	
Hyperpigmentation cutané	-		+		-	
Anomalies urogénitales	-		+		-	
Anomalies rénales	-		-		-	
Anomalies cardiaque	-		-		-	

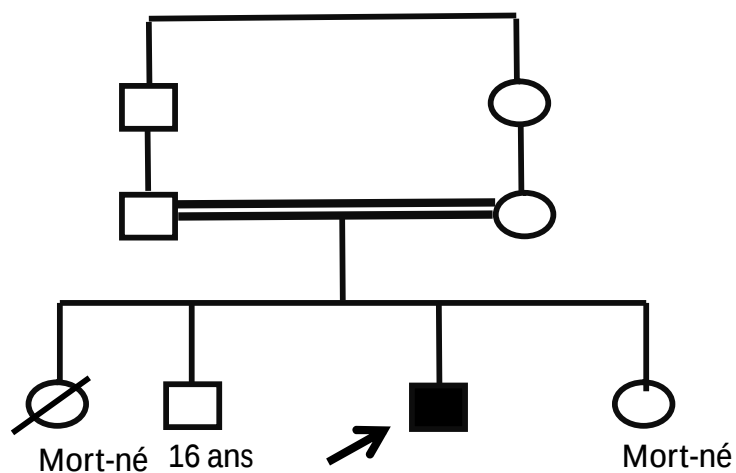


Figure19 : arbre généalogique de l'enfant de l'observation 1

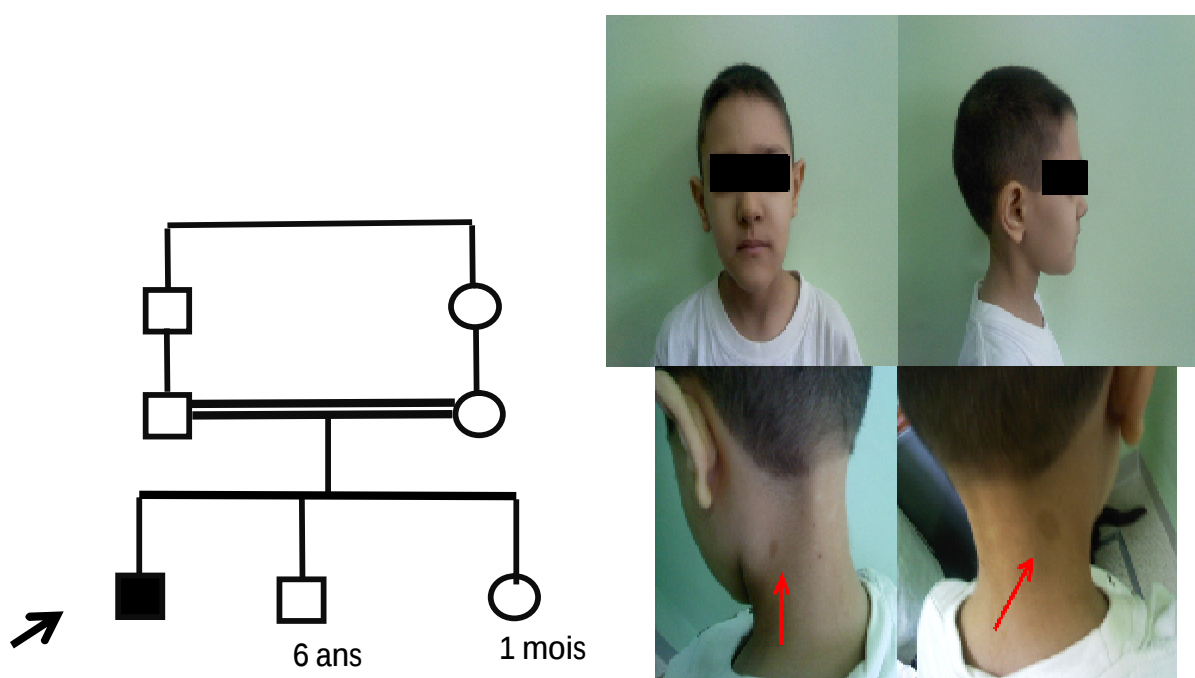


Figure20 : arbre généalogique et aspect phénotypique avec les taches cutanées café au lait de l'enfant de l'observation 2

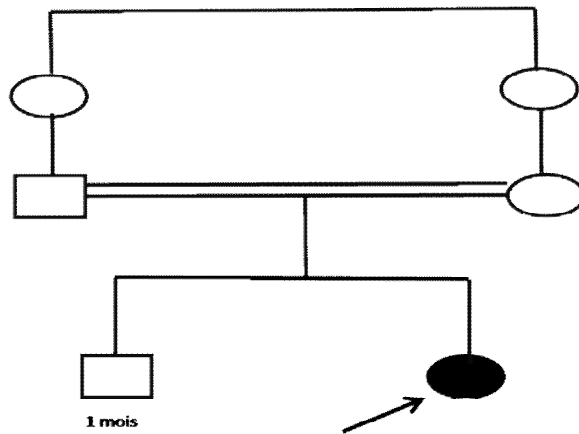
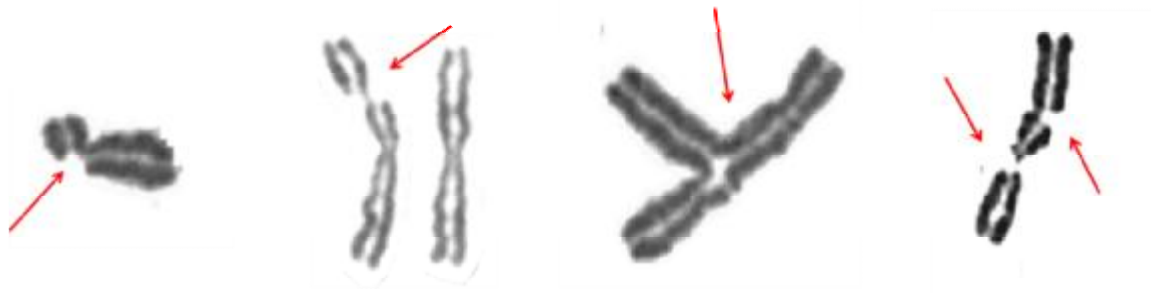


Figure 21 : arbre généalogique de l'enfant de l'observation 3

Tableau 4 : L'instabilité chromosomique des 3 cas observés

Résultats	Observation 1	Observation 2	Observation 3
Caryotype métaphasique (bande R)	46, XY	46, XY	46, XX
Nombre de mitoses observées	58	60	55
Nombre de cassures	22	23	20
Nombre d'images radiales	2	2	3
Résultats	Grande instabilité chromosomique après culture sous Mitomycine C en comparaison avec un témoin normal		



Différents aspects cytogénétiques d'une instabilité chromosomique après culture sous Mitomycine C

Figure 22 : différents aspects cytogénétiques d'une instabilité chromosomique après culture sous Mitomycine

b- Cytogénétique moléculaire

D'apparition relativement récente, la cytogénétique moléculaire est une discipline frontière entre la cytogénétique et la génétique moléculaire qui a révolutionné l'approche traditionnelle de la cytogénétique. Actuellement, ses outils principaux sont l'hybridation in situ en fluorescence (Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) sur préparation chromosomique et l'hybridation génomique comparative sur micropuce (Comparative Genomic Hybridization (CGH)-array)). Leur pouvoir de résolution, de quelques milliers de paires de bases, permet une analyse fine de la structure des chromosomes. Les applications en sont multiples, tant en recherche qu'en diagnostic. L'utilisation pratique de la FISH est relativement facile et rapide (2 à 3 jours) [210].

La technique de FISH est l'une des techniques de cytogénétique moléculaire les plus utilisées en pratique courante dans les départements de génétique médicale. Elle a des multiples indications aussi bien en pathologie constitutionnelle (prénatale ou postnatale) qu'en pathologie acquise (hématologie...).

Le principe de la FISH repose sur la propriété de l'ADN à pouvoir se dénaturer et se renaturer dans des conditions précises de température, de salinité et de pH. Elle nécessite une sonde et les chromosomes du patient (qui constituent la cible).

Une sonde est un fragment d'ADN, spécifique d'une région chromosomique, dans lequel a été introduit des bases nucléotidiques couplées à un composé repérable, comme des composés fluorescents (on parle d'ADN marqué). Cette sonde marquée, une fois hybridée sur les chromosomes du patient, permet de détecter en particulier des anomalies du nombre de copies pour la région testée [210].

La FISH est un moyen validé dans l'exploration en dysmorphologie, trois approches techniques relèvent actuellement de la pratique médicale [5], En premier les sondes locus spécifiques, les sondes de peinture chromosomique en second et les sondes spécifiques des régions subtélomériques en dernier (Figure. 23).

Les sondes locus spécifiques, représentent un outil indispensable dans l'exploration des microremaniements non détectables sur caryotype standard. En effet grâce à ce type des sondes, et à travers une orientation clinique (dysmorphie /profil comportemental), plusieurs syndromes microdélétionnels peuvent être confirmés aisément (Tableau. 5). La figure 26, illustre un résultat de cytogénétique moléculaire (FISH) du syndrome de la délétion 22q11, représentant un des syndromes microdélétionnels les plus recherchés par FISH en pratique médicale [5;210]

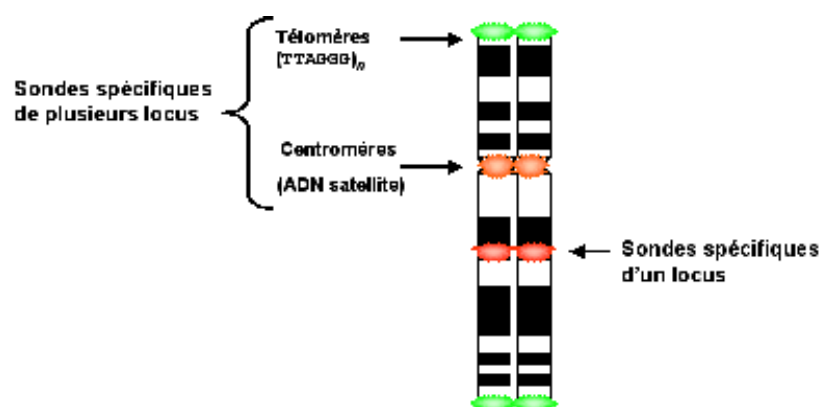


Figure. 23 : Disposition des différentes sondes dans un chromosome métaphasique (sondes télomériques, centromériques et à locus spécifique) t.

Tableau 5 : Principaux syndromes microdélétionnels comportant un retard mental, reconnaissables cliniquement et diagnostiqués par hybridation in situ en fluorescence (FISH) [210].

Syndrome	Localisation génétique	Clinique
Syndrome de Williams-Beuren	7q11.23	- Facès d'« elfe » - Cardiopathie - Comportement extraverti - Désorientation temporo-spatiale
Syndrome de Prader-Willi	15q11.q13	- Troubles précoces du tonus et de la succion-déglutition - Obésité par hyperphagie
Syndrome d'Angelman	15q11.q13	- Microcéphalie - Épilepsie - Absence de langage - Ataxie
Syndrome de Smith-Magenis	17p11.2	- Troubles massifs du comportement - Troubles du sommeil
Syndrome de Miller-Dieker	17p13.3	- Lissencéphalie - Dysmorphie
Syndrome de DiGeorge	22q11.2	- Cardiopathie conotruncale, anomalie vélopalatine - Dysmorphie - Troubles schizoïdes
Syndrome de Rubinstein-Taybi	16p13.3	- Microcéphalie - Dysmorphie - Anomalies des pouces
Syndrome de Langer-Giedion (syndrome tricho-rhino-phalangien)	8q24.1	- Dysmorphie - Exostoses, anomalies osseuses

On va présenter 2 cas de Syndrome de la délétion 22q11 du service de génétique médicale du CHU Hassan II de Fès (Observation 4 et 5) :

Tableau 6 : Syndrome de la délétion 22q11 du service de génétique médicale du CHU Hassan II de Fès : manifestations cliniques de 2 observations

Système atteint	Observation 4	Observation 5
Aspect facial + Arbre généalogique	Figure 24	Figure 25
Cardiopathie congénitale de type conotruncal	Tétralogie de Fallot + Atrésie pulmonaire	Tétralogie de Fallot + Atrésie pulmonaire et CIV
Fente palatine Dysfonction du voile du palais	Fente palatine	–
Croissance	Retard de croissance et mauvaise prise pondérale	Retard de croissance et mauvaise prise pondérale
Neurologie	Hypotonie musculaire	Hypotonie musculaire
Squelette et anomalies des extrémités	–	Héxadactylies des doigts Post axial
Reins, hypocalcémie, Hernies, Hypocalcémie, atteinte oculaire	Hernie ombilicale	–

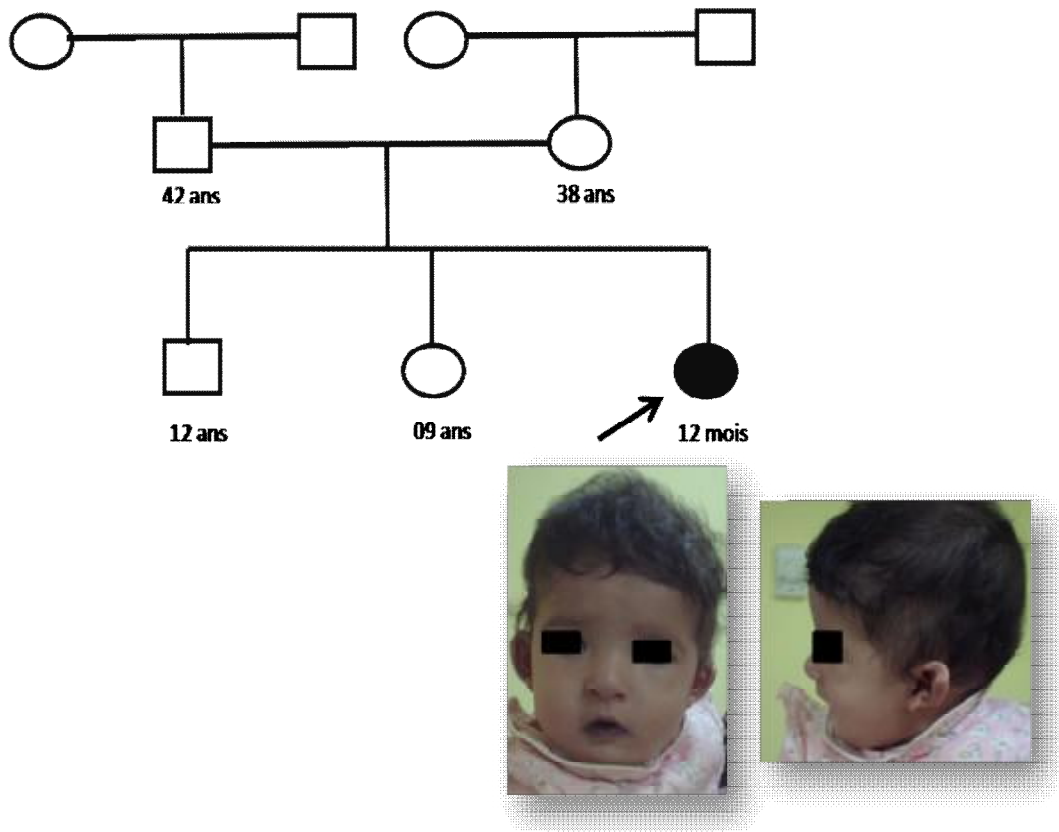


Figure 24 : L'aspect facial et l'arbre généalogique de l'observation 4

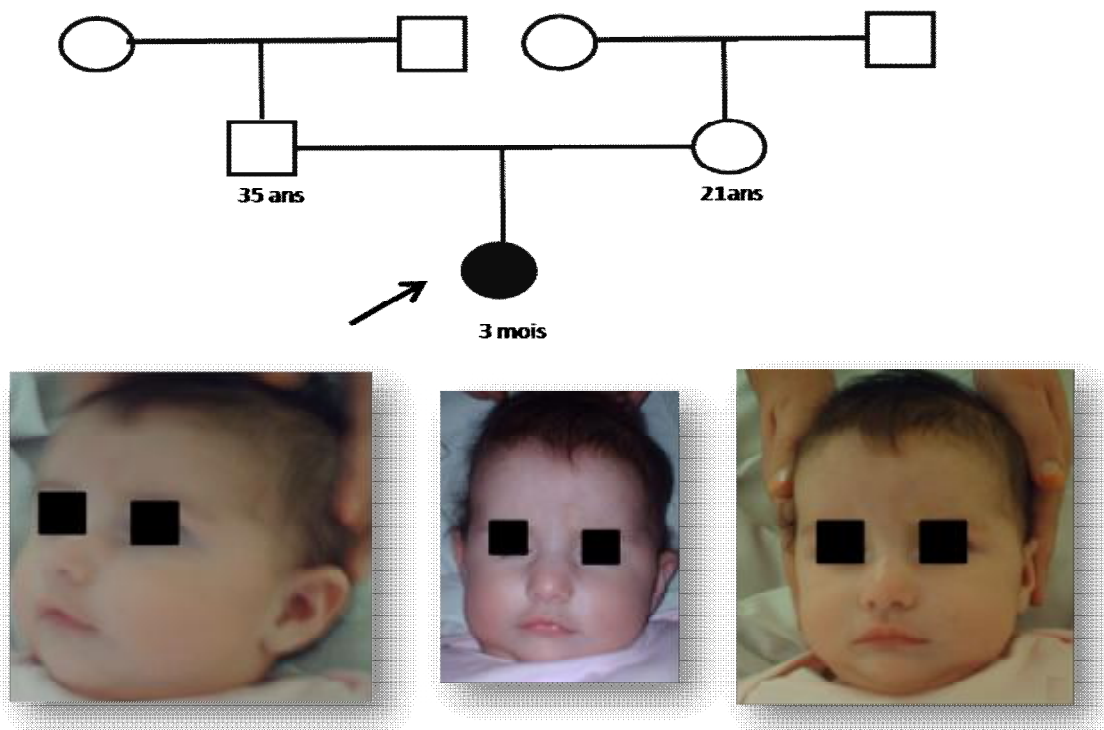


Figure 25 : L'aspect facial et l'arbre généalogique de l'observation 5

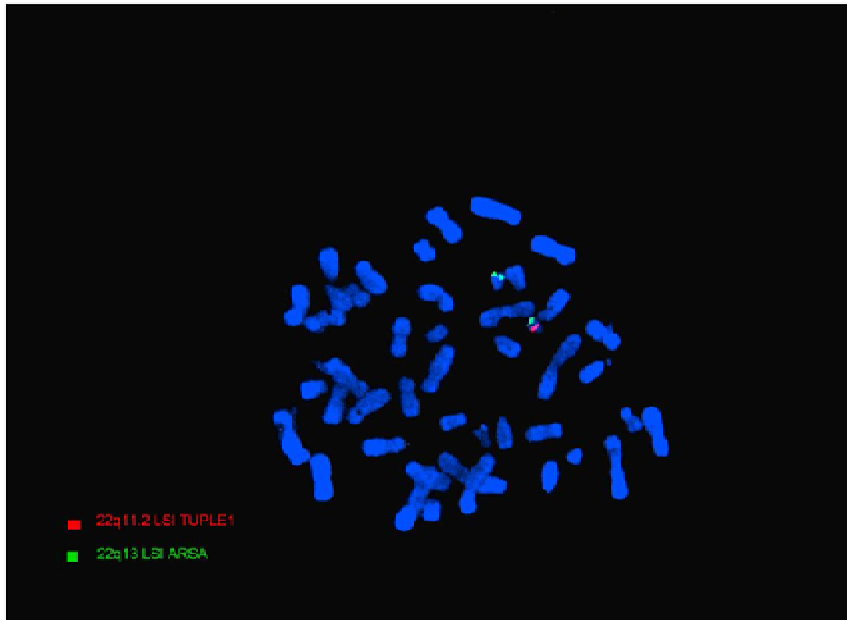


Figure 26: Hybridation In Situ en Fluorescence (FISH) mettant en évidence la microdélétion en 22q11.2.

Le syndrome de Williams (SW) ou syndrome de Williams-Beuren est l'un des syndromes microdélétionnels dit « à gènes contigus ». Sa fréquence est de 1/20 000 naissances et serait responsable de 2% de déficiences intellectuelles de l'enfant. C'est une anomalie du développement touchant le tissu vasculaire, le tissu conjonctif et le système nerveux central. Il associe une dysmorphie du visage, un retard mental souvent modéré, un comportement et un profil cognitif particulier et une atteinte cardio-vasculaire dont les plus fréquemment observées sont la sténose supra-valvulaire aortique et la sténose pulmonaire périphérique. Le SW est en majorité sporadique. Le risque de récurrence est faible, mais de rares cas de transmission autosomique dominante ont été décrits. L'anomalie génétique en cause est une microdélétion hémizygote de 1.5 mégabases du bras long du chromosome 7 en 7q11.23 [1] (figure 28).

On va présenter un cas de Syndrome de Williams du service de génétique médicale du CHU Hassan II de Fès (Observation 6) :

Tableau 7 : Syndrome de Williams: manifestations cliniques d'une Observation (6) du service de génétique médicale du CHU Hassan II de Fès

Dysmorphie du visage : Racine du nez aplatie avec extrémité bulbeuse, grande bouche avec lèvre inférieure large et éversée, long philtrum : Figure 27	Retard psycho- moteur	Retard staturo- pondéral	HTA PAS : 16 mmhg PAD : 11mmhg
Profil cognitif et comportementale : § Hypersociabilité § Hypersensibilité au bruit § Des dispositions pour la musique § Retard cognitif modéré § Langage préservé § Troubles du sommeil	Vomissement chroniques Constipation	Hypertrophie ventriculaire gauche (Complication d'une HTA sans sténose de l'artère rénale)	Ecographie abdomino- rénale : Normale

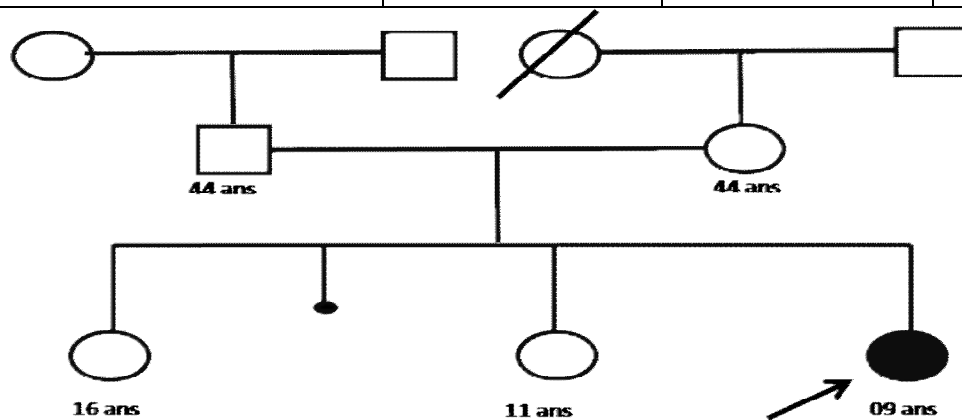


Figure 27 : L'arbre généalogique et l'aspect phénotypique du SW (Observation 6)

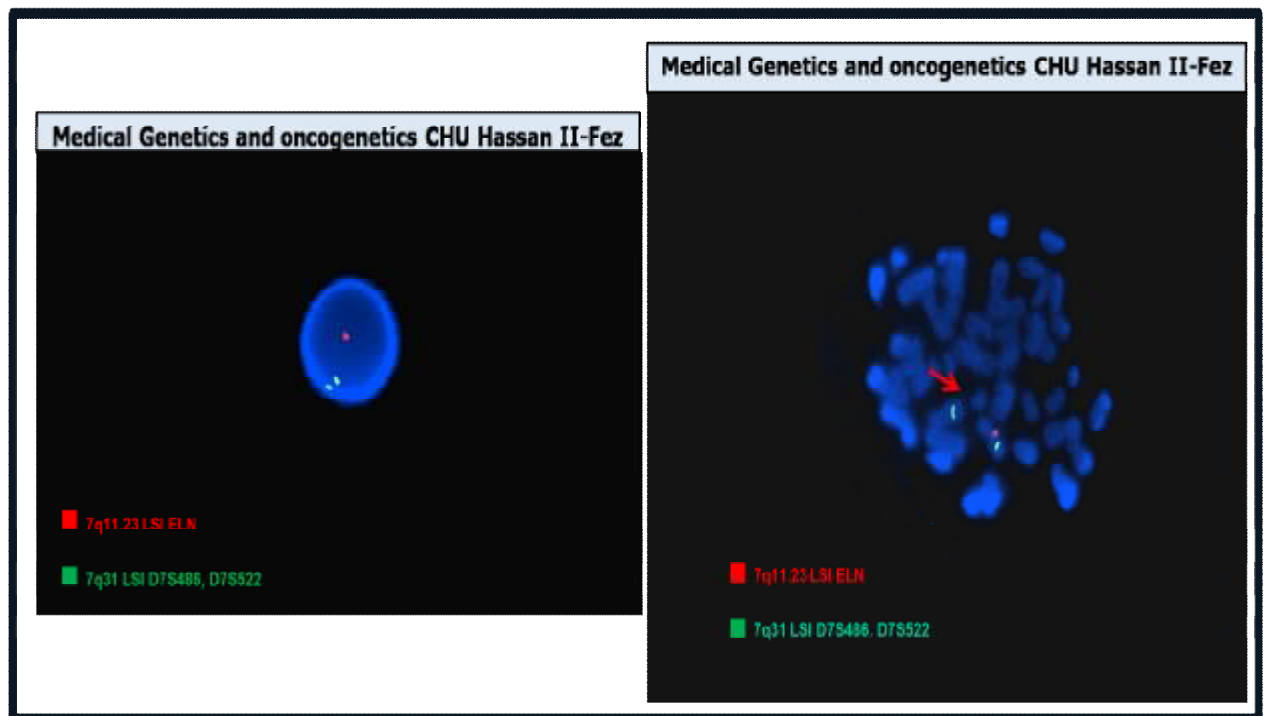


Figure 28: Syndrome de Williams (Observation 6) : Hybridation In Situ en Fluorescence (FISH) mettant en évidence la délétion en 7q11.23 (la flèche indique le chromosome 7 délété). La formule chromosomique chez un patient de sexe masculin est : 46, XY, ish.del(7)(q11.23q11.23)(ELN-) sur chromosome métaphasique et sur noyau interphasique.

En deuxième, les sondes de peinture chromosomique (whole chromosome painting (WCP)) qui s'hybrident sur toute la longueur d'un chromosome donné. Ce type de sondes moléculaire, est très utile pour identifier du matériel chromosomique additionnel observé sur un caryotype, mais non corrélé à un chromosome spécifique. Elles peuvent également être employées pour rechercher des translocations cryptiques (non visible sur caryotype) [5].

Nous rapportons l'observation d'un nourrisson de sexe féminin, de six mois, hypotrophe, hypotonique, présentant une dysmorphie avec cardiopathie congénitale (figure. 29). Le caryotype conventionnel en bandes R montre une monosomie 21. L'exploration par FISH en utilisant les sondes totales des chromosomes 4 et 21 a objectivé une translocation $t(4;21)$ chez notre nourrisson indétectable par cytogénétique classique. L'hybridation des sondes totales des chromosomes 4 et 21 sur les métaphases des parents a mis en évidence le caractère de novo de notre translocation. L'utilisation de la sonde locus spécifique du SWH en 4p16.3 a confirmé le diagnostic du syndrome de Wolf-Hirschhorn (WHS) (figure. 30). A travers cette observation nous illustrons le rôle des sondes totales dans l'exploration des anomalies non détectées par cytogénétique classique.



Figure 29 : Aspect phénotypique du nourrisson

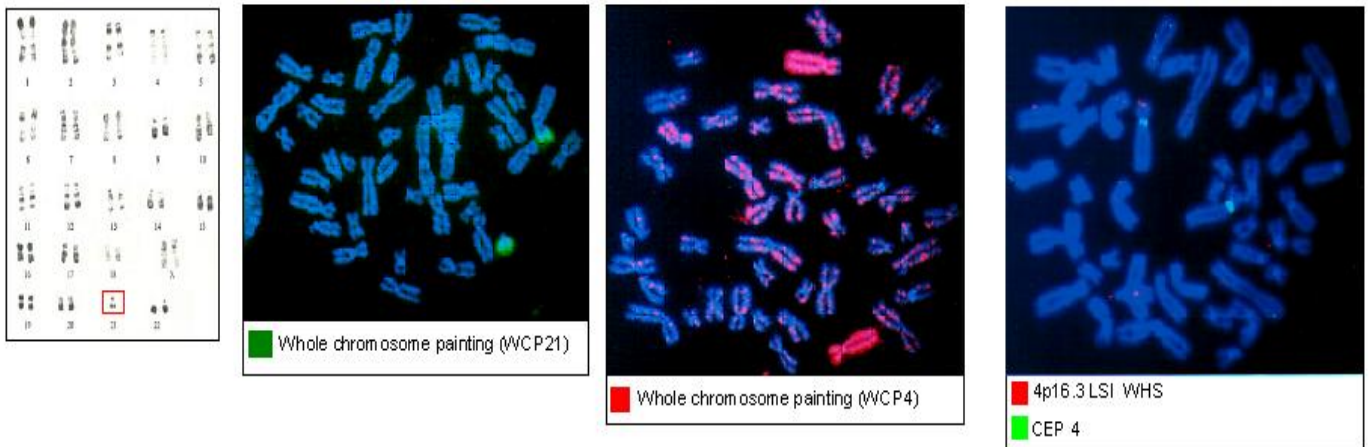


Figure 30: Syndromes de Wolf-Hirschhorn

- Ø Caryotype métaphasique en bandes R montre une monosomie 21
- Ø Présence de deux sondes totales vertes (WCP 21), une correspond au chromosome 21 libre, le deuxième correspond au chromosome 21 transloqué sur le chromosome 4
- Ø Sonde totale rouge (WCP 4), confirme la présence de matériel chromosomique n'appartenant pas au chromosome 4.
- Ø Sonde 4p16.3 (LSI WHS/CEP4) : hybridation sur chromosome métaphasique du nourrisson par la sonde locus spécifique en 4p16.3 : microdélétion 4p16.3 (Syndrome de Wolf-Hirschhorn).

Troisièmement, les sondes spécifiques des régions subtelomériques du bras court ("p") et long ("q") de chaque chromosome. Les régions subtelomériques des chromosomes sont riches en gène, et particulièrement sujettes à des réarrangements chromosomiques, qui ne sont pas visibles sur caryotype. Les indications pour l'usage de cette technique, évoluent toujours, mais il s'avère que jusqu'à 8% d'enfants ayant un retard mental syndromique associant une

dysmorphie et un retard mental modéré ou grave présentant des anomalies subtelomériques indétectables sur caryotype [211].

Les indications de la cytogénétique moléculaire en dysmorphologie peuvent être résumées en ces situations [1,196]:

- Ø Caractérisation d'un remaniement de novo et/ou complexe faisant intervenir plusieurs chromosomes.
- Ø Précision des points de cassure des anomalies de structure.
- Ø Détermination de l'origine des petits chromosomes surnuméraires (marqueurs).
- Ø Étude des translocations cryptiques et semi-cryptiques.
- Ø Remaniements subtelomériques.
- Ø Évaluation d'un mosaïcisme (figure. 31)
- Ø Diagnostic des microremaniements (essentiellement les microdélétions, mais rarement des microduplications)



Figure. 31: Image de la FISH réalisée avec la sonde centromérique du chromosome 12 (couleur verte) et du chromosome 7 (couleur rouge) sur les cellules buccales. Présence de 3 signaux verts signant la présence de 3 centromères pour le chromosome 12 (en mosaïque) :

Le syndrome de Pallister-Killian ou tétrasomie 12p en mosaïque

La CGH microarray est une technique en pleine expansion. Son principe est le suivant : des clones qui correspondent à des séquences d'acide désoxyribonucléique (ADN) régulièrement réparties sur le génome sont immobilisés sur une micropuce en verre. L'ADN d'un patient et d'un sujet contrôle, chacun marqué par un fluorochrome différent, sont cohybridés sur cette puce à ADN. Les signaux de fluorescence sont lus et intégrés. Chez un patient donné, une délétion, c'est-à-dire la perte sur un chromosome d'un segment de matériel génétique, sera détectée par une sur-représentation du fluorochrome de l'ADN du sujet contrôle tandis qu'une duplication, qui correspond à la situation où un segment de chromosome est présent en plus d'un exemplaire dans le génome haploïde, sera détectée par la surreprésentation du fluorochrome de l'ADN du patient. Cette méthode sensible et précise permet d'explorer la totalité du génome avec une meilleure résolution que le caryotype en haute résolution puisque certaines puces contiennent plus de 3 500 clones et ont donc une résolution de l'ordre de 1 Mb, soit 1 million de paires de bases (figure. 32) [210,212]. Il s'agit cependant d'une méthode coûteuse encore peu utilisée en routine. Cette technique va permettre dans un future proche, grâce à sa généralisation, une meilleure exploration des plusieurs syndromes dysmorphiques, jusqu'à maintenant sans étiologie précise et permettra l'identification des gènes impliqués dans l'embryogenèse normale et pathologique [212].

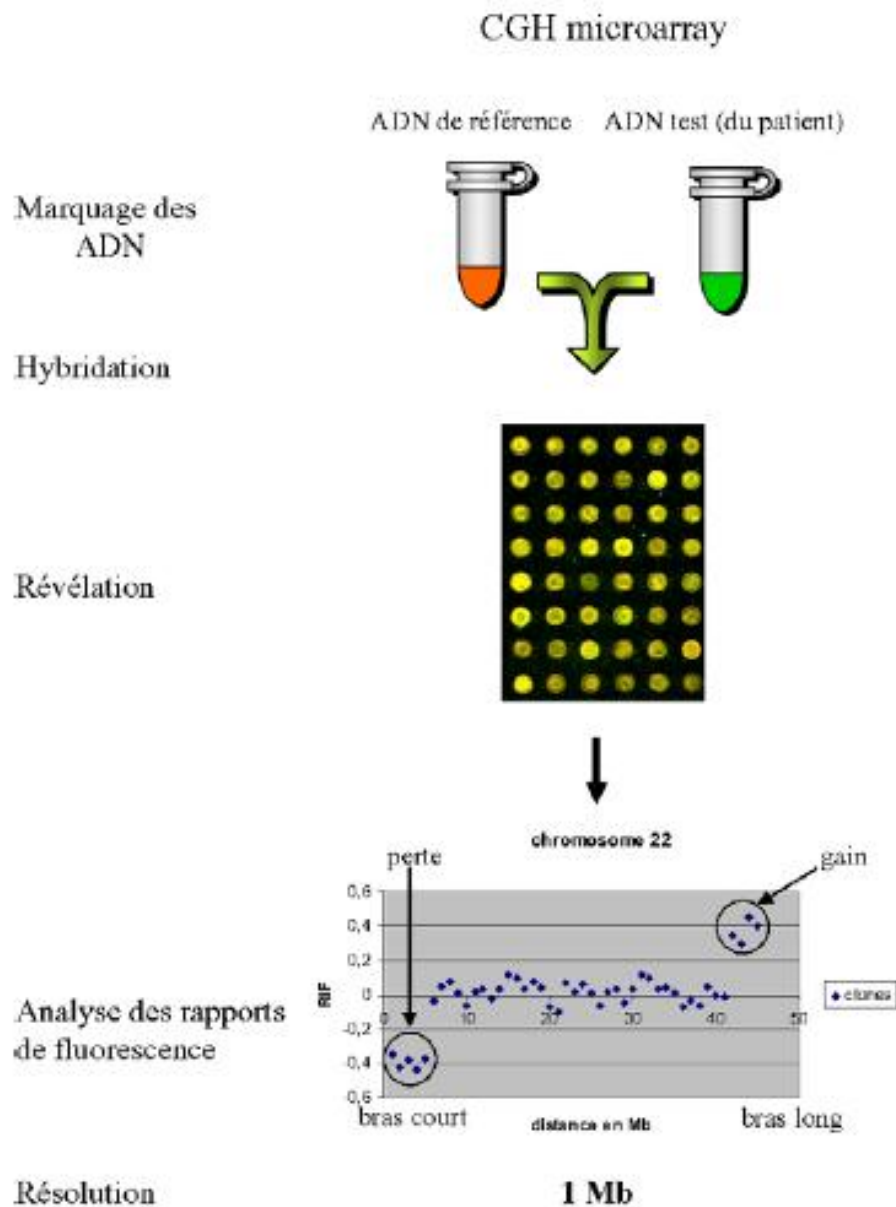


Figure. 32: Principe de la CGH microarray

Les applications de la CGH microarray dans le domaine de la pathologie constitutionnelle sont importantes en particulier en dysmorphologie et dans le retard mental.

Nous savons déjà l'importance des anomalies télomériques dans l'exploration du retard mental. Les puces permettant mieux que la FISH, de détecter des remaniements subtélomériques. En fonction des clones fixés sur la lame, la CGH microarray permet aussi de détecter des remaniements intercalaires. Le plus

souvent, les puces utilisées comportent environ 3500 clones offrant un niveau de résolution moyen de l'ordre d'une mégabase. Mais il a été démontré, d'une part qu'il est difficile de faire un lien direct entre un déséquilibre chromosomique de petite taille identifier par CGH microarray, surtout une duplication, et le phénotype (d'où la nécessité d'étudier les parents) et d'autre part de confirmé l'existence de polymorphismes [212].

c- Génétique moléculaire :

Les nouvelles technologies en biologie moléculaire ainsi que les informations recueillis à travers le projet du génome humain, ont accéléré la découverte de nouveaux gènes responsables des syndromes d'origine génétique [5]. Les techniques de biologie moléculaire représentent l'étape ultime de résolution pour l'exploration du génome, en particulier, le séquençage qui permet l'identification de mutations dans un gène donné [210]. La complexité du diagnostic moléculaire est très variable en fonction de la pathologie et du type de mutation. L'identification d'une mutation permet de confirmer un diagnostic suspecté cliniquement. Actuellement, l'analyse par biologie moléculaire, est plus facile pour des gènes de petite taille et/ou ceux qui montrent des mutations récurrentes à un nombre restreint de codons spécifiques. Pour des gènes de grandes tailles avec des mutations nombreuses et même privées, c'est à dire spécifiques de chaque patient et réparties le long de la région codante, ce qui rend la technique longue et nécessitant plusieurs mois de travail. Cette situation s'améliorera avec le développement ultérieur des microarrays assistées par bio-informatique [213]. La disponibilité d'un test moléculaire n'est pas une bonne raison de réaliser l'analyse de mutation. Un diagnostic clinique non ambigu n'exige pas la confirmation moléculaire. Dans ce cadre le diagnostic moléculaire peut être indiqué si les parents le souhaitent et dans une vision de conseil génétique et diagnostic prénatal ou

préimplantatoire. Néanmoins dans un doute diagnostic ou dans la présence des formes atypiques d'un syndrome, l'exploration moléculaire vient réconforter le diagnostic. Dans tous les cas, le praticien doit se rendre compte des limitations des explorations moléculaires, telles que l'hétérogénéité causale d'un syndrome ou de l'incapacité fréquente de trouver toutes les mutations dans un gène [5].

d- Conservation de matériel génétique

En l'absence de diagnostic précis, et surtout s'il existe un risque vital, il peut être utile de stocker du matériel biologique de l'enfant (ADN, culture de fibroblastique...). Ces prélèvements et leur conservation doivent être soumis au consentement des parents qui doivent être informés [1].

6.2. Imageries :

Les techniques d'investigation non invasives (échographie, Imagerie par Résonance Magnétique IRM...) rendent maintenant accessible les malformations des organes internes qui n'ont pas toujours une traduction clinique. L'échographie abdominale et rénale, doit être d'indication large car, elle permet non seulement de compléter le bilan malformatif mais parfois de détecter une malformation encore silencieuse.

L'imagerie cérébrale (scanner ou IRM), l'échographie transfontanellaire, sont extrêmement importantes dans des formes cliniques, telle que les craniosténoses graves, les microcéphalies, les macrocéphalies, ou les syndromes connus pour être associés aux malformations du système nerveux central, par exemple syndrome d'Acrocallosal, syndrome de Miller-Dieker [196]. Néanmoins dans ces explorations, l'avis du neuropédiatre est capital, s'intégrant dans le cadre du bilan neurologique [1]. L'échocardiographie doit être orientée par l'examen clinique, tel que l'aspect dysmorphique d'un syndrome de la délétion 22q11 (Figure. 24 et 25) [196]. Les

radiographies du squelette ne font pas partie du bilan systématique, mais sont indispensables dès qu'il existe une petite taille ou une suspicion de chondrodysplasie. En revanche les clichés des extrémités sont utiles, à part la détermination de l'âge osseux, elles permettent d'explorer le profil métacarpophalangien, élément utile pour certains syndromes dysmorphiques [1;196].

6.3. Explorations métaboliques :

Les explorations métaboliques et la dysmorphologie ont été en premier associées aux maladies de surcharges telle que les mucopolysaccharidoses (par exemple le syndrome de Hurler). Cependant, il y a une liste croissante des maladies métaboliques héréditaires associées à des signes dysmorphiques. Ainsi, qu'il ne faut jamais écarter un diagnostic de maladie métabolique en raison de la présence des malformations ou d'un phénotype dysmorphique. Les exemples incluent les pathologies du péroxysome (syndrome de Zellweger, chondrodysplasia punctata), des tableaux associés aux cytopathies mitochondriales, les syndromes dysmorphiques associés aux anomalies du métabolisme du cholestérol (syndrome de Smith-Lemli-Opitz) [5;214;215].

7- Vers un diagnostic précis :

A la suite de l'anamnèse et de l'examen clinique ainsi qu'aux différents examens complémentaires (généétique, imagerie...), un diagnostic précis n'est posé que dans moins de 50% des cas [4]. Un diagnostic précis implique, l'analyse des données de l'arbre généalogique, de l'anamnèse familiale, de l'examen clinique, ainsi que des différentes explorations complémentaires. Le diagnostic peut être rapide sur le simple aspect facial, tel que le syndrome de Turner, syndrome de Cornelia de Lange. Mais aussi le diagnostic rapide se basant sur la clinique dépendra de l'expérience du médecin, et de l'équipe médicale. Mais le plus souvent, le processus de diagnostic nécessite plusieurs étapes, ainsi que l'intervention multidisciplinaire. [216;217]. C'est ainsi que la plupart des équipes ont recours, au livres de dysmorphologie tel que le livre de dysmorphologie (Smith'S. Recognizable Patterns of Humain Malformation) [3], mais essentiellement a une nouvelle approche, qu'est l'application de l'informatique à la génétique médicale.

Les bases de données sur les maladies génétiques, qui représentent un système d'aide au diagnostic, Il existe plusieurs logiciels. Les systèmes commercialisés sont fondés sur la comparaison du nombre des signes communs à la description du malade et aux syndromes connus. Le support de ces logiciels a deux options, la microinformatique et l'informatique de réseau.

La micro-informatique est un système implanté sur microordinateur. La mise à jour n'est faite qu'à l'achat d'une nouvelle version (généralement tous les ans ou tous les deux ans). Les plus utilisés sont [218]:

- Le LDDB (London dysmorphology data base), qui contient des informations sur 2 500 syndromes dysmorphiques non chromosomiques.
- Le LNDB (London Neurogenetics Data Base), consacré aux maladies neurogénétiques.

- L'HCDB (Human Cytogenetics Data Base).
- Le POSSUM (Pictures Of Standard Syndromes and Undiagnosed Malformations), qui contient le même genre de syndromes que le LDDb avec quelques anomalies chromosomiques en plus ; la banque d'images est stockée sur cédérom.

L'informatique de réseau a l'avantage de permettre une mise à jour permanente et d'autoriser les interconnexions avec d'autres bases de données, comme celles de la cartographie des gènes. Elle nécessite une connexion au réseau Internet. Il existe deux options :

- L'Orphanet est une base de données sur les syndromes génétiques en langue française.
- L'OMIM (online mendelian inheritance in man) contient le catalogue des phénotypes mendéliens et celui des gènes humains, elle est interfacée avec Medline, qui permet l'accès au texte des articles cités en référence, et avec la GDB (génome data base), qui permet d'accéder à toutes les informations sur les gènes.

Au cours de l'exploration des syndromes dysmorphiques, en génétique médicale, il est nécessaire d'explorer des bases de données sur les gènes. La GDB (génome data base) est la base de données internationale dans laquelle sont répertoriés tous les objets identifiés dans les laboratoires : gènes, acide désoxyribonucléique (ADN) c, marqueurs, sites fragiles, etc. Elle est accessible sur le réseau à l'adresse <http://www.gdb.org/>. Le Genatlas donne des informations sur la structure, le polymorphisme et la fonction des gènes, ainsi que sur l'empreinte parentale. Genatlas/Gen met l'accent sur les maladies génétiques classées selon l'organe, le tissu, ou le système atteint. Elle est diffusée sous deux versions, une sur le Web, en accès libre, par l'intermédiaire du serveur Infobiogen à l'adresse

<http://www.infobiogen.fr>, et l'autre sous forme d'un cédérom GID (version PC et Macintosh).

Il existe des bases de données sur les ressources de services et mode de collaboration entre experts, ils recensent les laboratoires réalisant des diagnostics des maladies génétiques par la biologie moléculaire et aussi l'ensemble des ressources pour les maladies génétiques. Orphanet est une base de données qui organise l'information sur les laboratoires de diagnostic, les laboratoires de recherche, les consultations spécialisées et les associations de malades dans le domaine des maladies génétiques. Elle est consacrée aux maladies rares. Elle est accessible sur le réseau à l'adresse <http://orphanet.fr> [219].

8- Conseil génétique en dysmorphologie :

Devant une dysmorphie, la détermination de son caractère isolé ou associé est essentielle car elle permet de s'orienter vers un mécanisme pathogénique [4]. Face à une altération unique de la morphogénèse, on peut distinguer [4] (Figure. 33):

- une malformation : défaut morphologique d'un organe résultant d'un processus intrinsèque anormal de développement (Agénésie, polydactylie)
- une déformation : secondaire à l'action des forces mécaniques exogènes ou endogènes (pied bot, varus Equin)
- une disruption : défaut morphologique d'un organe résultant d'une interruption exogène (brides amniotiques)
- une dysplasie : organisation anormale d'un tissu (maladie d'Ehler-Danlos).

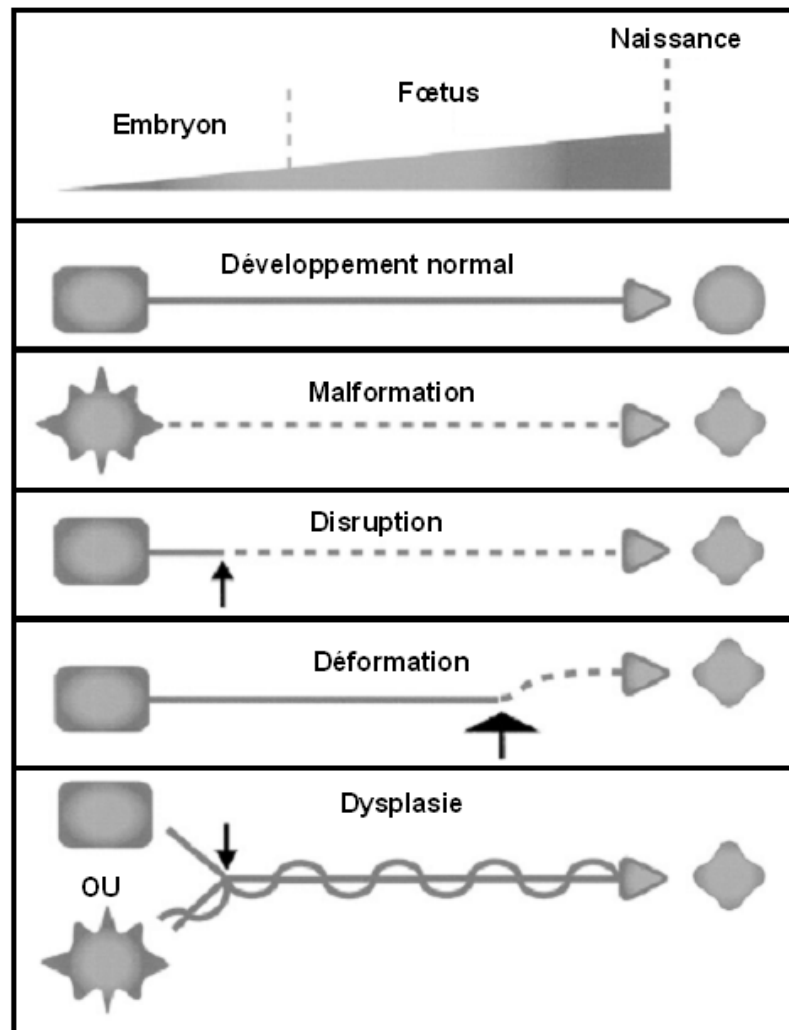


Figure. 33 : Aspect schématique des différentes altérations uniques de la morphogénèse.

Une altération multiple peut s'intégrer dans le cadre :

- d'une association: combinaison d'anomalies rencontrées plus fréquemment que ne le voudrait le hasard (association VACTERL).
- d'une séquence : anomalie primaire responsable d'une cascade d'anomalies secondaires (Séquence de Pierre-Robin).
- d'un syndrome: ensemble unique de malformations congénitales pathogéniquement liées (syndrome de Waardenburg, résultant d'une atteinte des dérivés de la crête neurale).

Cette classification par mécanisme permet d'orienter le clinicien dans sa démarche diagnostique (isolée/multiple) et dans son conseil génétique (accidentel/Génétique) [4].

Le conseil génétique en dysmorphologie, comme tout conseil génétique ne varie pas dans sa définition. Il s'agit d'une procédure par laquelle des patients ou des apparentés qui pourraient être porteurs d'anomalies héréditaires sont mis au courant des conséquences de ces anomalies, des risques de les développer et de les transmettre ainsi que de la façon dont elles pourraient être prévenues, évitées ou améliorées [219]. Le conseil génétique peut déboucher sur un diagnostic prénatal s'il est possible. Il doit délivrer une information la plus précise possible et proposer la meilleure prise en charge possible. Son but est d'informer le couple sur l'estimation du risque, sur l'évolution de la recherche et les méthodes d'analyse génétique [218].

La prise en charge du conseil génétique repose sur la collaboration d'une équipe multidisciplinaire permettant d'aider à la gestion des problèmes médicaux, obstétricaux, psychologiques et éthiques soulevés [218].

Il existe deux grandes situations pour une demande de conseil génétique en dysmorphologie. La présence d'un enfant présentant une dysmorphie, dont le conseil génétique dépendra du mécanisme, de la confirmation diagnostique (altération unique multiple, syndrome séquence, association...). Soit suite à des antécédents familiaux d'une dysmorphie potentiellement héréditaire au diagnostic non certain ou certain [4;197].

Il permet d'expliquer, avec une formulation adaptée à l'interlocuteur, le mode de transmission et le type d'analyse effectuée ainsi que ses résultats et leurs conséquences, afin de lui permettre de bien comprendre la situation dans le dessein de prendre les décisions qui lui conviennent le mieux.

Par ailleurs, il permet d'informer le couple sur l'état actuel du diagnostic prénatal pour les grossesses suivantes, et quand celui-ci est possible, il précise le type de prélèvement, la fiabilité des résultats, les avantages et les inconvénients des examens à effectuer.

Une affection connue et confirmée peut avoir un mode de transmission déterminé, alors, le conseil génétique consistera à expliquer, le mode de transmission, le risque de récurrence et les possibilités du diagnostic prénatal et ses indications.

Un mode de transmission inconnu ou difficile à déterminer, le conseil génétique sera difficile quant à l'estimation du risque de récurrence, et les possibilités du diagnostic prénatal dépendront de la pathologie.

Une hérédité autosomique dominante, les anomalies des protéines de structure [219] se transmettent selon ce mode, en particulier un grand nombre d'anomalies squelettiques comme l'achondroplasie, la maladie exostosante.... Le risque théorique de récurrence est de 50 % quand l'un des parents est atteint. Dans les maladies autosomiques dominantes à expressivité et/ou à pénétrance variable pour lesquelles des gènes ont été localisés ou isolés, mais dont le conseil génétique est d'une très grande difficulté, par exemple dans la sclérose tubéreuse de Bourneville, la neurofibromatose de von Recklinghausen.... Les maladies autosomiques dominantes peuvent être à l'origine de mutations de novo (syndrome d'Apert...), soit des possibilités de mosaïques germinales (ostéogénèse imparfaite), soit une expansion de triplets et une notion d'anticipation [218].

Les maladies autosomiques récessives pour lesquelles on dispose actuellement d'un diagnostic certain par la biologie soit métabolique, soit moléculaire comme, le Smith-Lemli-Opitz ... Le risque de récurrence est de 25 % [220].

Dans les maladies récessives liées à l'X, les femmes hétérozygotes sont conductrices de l'affection, transmettant la maladie à la moitié des garçons qui seront hémizygames, tandis que l'autre moitié des garçons seront indemnes. Par ailleurs, la moitié de leurs filles seront hémizygames conductrices comme elles, et l'autre moitié indemnes. Il n'y a aucune transmission père-fils et toutes les filles des hommes hétérozygotes atteints seront conductrices (l'exemple de Maladie de Menkes) [219].

Plus rarement des maladies dominantes liées à l'X (le rachitisme vitaminorésistant hypophosphatémique), dans ces formes de transmission, le caractère étant dominant, aussi bien les sujets masculins hémizygames que les sujets féminins hétérozygotes seront atteints et transmettront la maladie. Il n'y a aucune transmission père fils, et toutes les filles des pères atteints auront l'affection. Les femmes atteintes hétérozygotes verront la moitié de leurs fils et la moitié de leurs filles atteints et l'autre moitié rester sains [218].

Dans les hérédités multifactorielles ont un risque de récurrence plus élevé chez le couple qui a déjà eu un enfant atteint par rapport à la population générale (spina bifida, fentes labiales ou palatines...) [218;220] .

Le conseil génétique dans les anomalies chromosomiques, dépend essentiellement de la formule chromosomique. Dans les syndromes des trisomies autosomales, le caryotype est toujours indiqué pour déterminer s'il s'agit d'une trisomie libre (47 chromosomes) ou par translocation non équilibrée. Dans le cadre d'une trisomie libre, le risque de récurrence est environ 1%, mais pour les femmes de 35 ans ou plus, le risque est basé sur l'âge maternel pour chaque grossesse [220]. Si une translocation non équilibrée est identifiée, un caryotype chez les deux parents est indiqué pour déterminer si l'un des parents est un porteur équilibré de translocation, retrouvée approximativement dans un tiers de cas. Le risque de

réurrence d'une translocation parental est évidemment plus grand, mais est souvent moins que les possibilités théoriques pourraient indiquer. Informer des parents que leur enfant a une trisomie autosomale est capital pour le conseil génétique, et pour le pronostic ultérieur de l'enfant, soit en rapport avec le pronostic vital (trisomie 13,18), ou le pronostic mental (trisomie 21) [220]. Le soupçon du syndrome de Turner devrait mener à un caryotype, bien qu'une grande variété de formules chromosomiques sont impliquées dans le phénotype du syndrome de Turner, le risque de récurrence est très faible voir négligeable [220]. Les syndromes microdélétionnels classés dans les anomalies chromosomiques, diagnostiqués par technique de cytogénétique moléculaire (FISH), adoptent les lois mendéliennes. La majorité des microdélétions sont de Novo, le risque de récurrence est négligeable, mais il est de 50% pour la progéniture de l'individu affecté. L'exploration des parents par technique de FISH ou par caryotype à haute résolution est indiquée, puisque la transmission verticale du syndrome microdélétionnel a été rapportée [220].

Les cytopathies mitochondriales suivant une transmission maternelle qui posent un très grand problème dans le conseil génétique. L'hérédité des gènes mitochondriaux est uniquement transmise par les femmes à toute leur descendance, garçons et filles, avec une très grande variabilité phénotypique, et s'arrête à chaque garçon. Par ailleurs, il y a des maladies mitochondriales à transmission mendélienne par mutation du génome nucléaire [218].

9- Conclusion

Il est primordial de conclure sur quelques notions d'éthique dans ce domaine qui paraît de prime abord extrêmement technique. Cette approche éthique prend en compte la spécificité de la consultation de génétique, qui diffère par sa démarche, et par ses outils (examen de la face, prise de photos, caryotype, analyse moléculaire...). Car ce type d'approche peut être considéré comme une agression par la famille. Les prélèvements pour des explorations cytogénétiques ou moléculaires doivent passer impérativement par le consentement éclairé des parents.

La dysmorphologie est une spécialité visuelle qui nécessite une grande expérience pour avancer une hypothèse diagnostique. Le développement actuel des connaissances des bases cytogénétiques et moléculaires d'un certain nombre des syndromes dysmorphiques a bouleversé l'approche non seulement de l'enfant dysmorphique mais aussi des parents et de l'ensemble de la famille. Cette nouvelle approche nous ouvre l'horizon vers d'autres démarches en particulier le diagnostic prénatal. C'est ainsi que l'approche de l'enfant dysmorphique qui se veut essentiellement multidisciplinaire, prend en compte une approche médicale pluridisciplinaire, psychologique, et sociale. Il faut rester conscient qu'actuellement les meilleures équipes de dysmorphologie estiment ne pouvoir aboutir à un diagnostic syndromique de certitude que dans moins de 50 % des cas. En l'absence de diagnostic évident, cette démarche doit être expliquée longuement aux parents qui doivent être soutenus.

Le rôle du généticien est capital pour l'aide au diagnostic clinique, les explorations chromosomiques et moléculaires sont indispensables pour prodiguer un conseil génétique et pour la réalisation d'un diagnostic prénatal (figure. 34). En effet un diagnostic étiologique précis permet aux parents d'éviter des consultations, hospitalisations et explorations onéreuses et inutiles et par conséquent un confort

psychologique. Toute cette approche multidisciplinaire, ne sera qu'au bénéfice de la prise en charge de l'handicap d'origine génétique au Maroc.

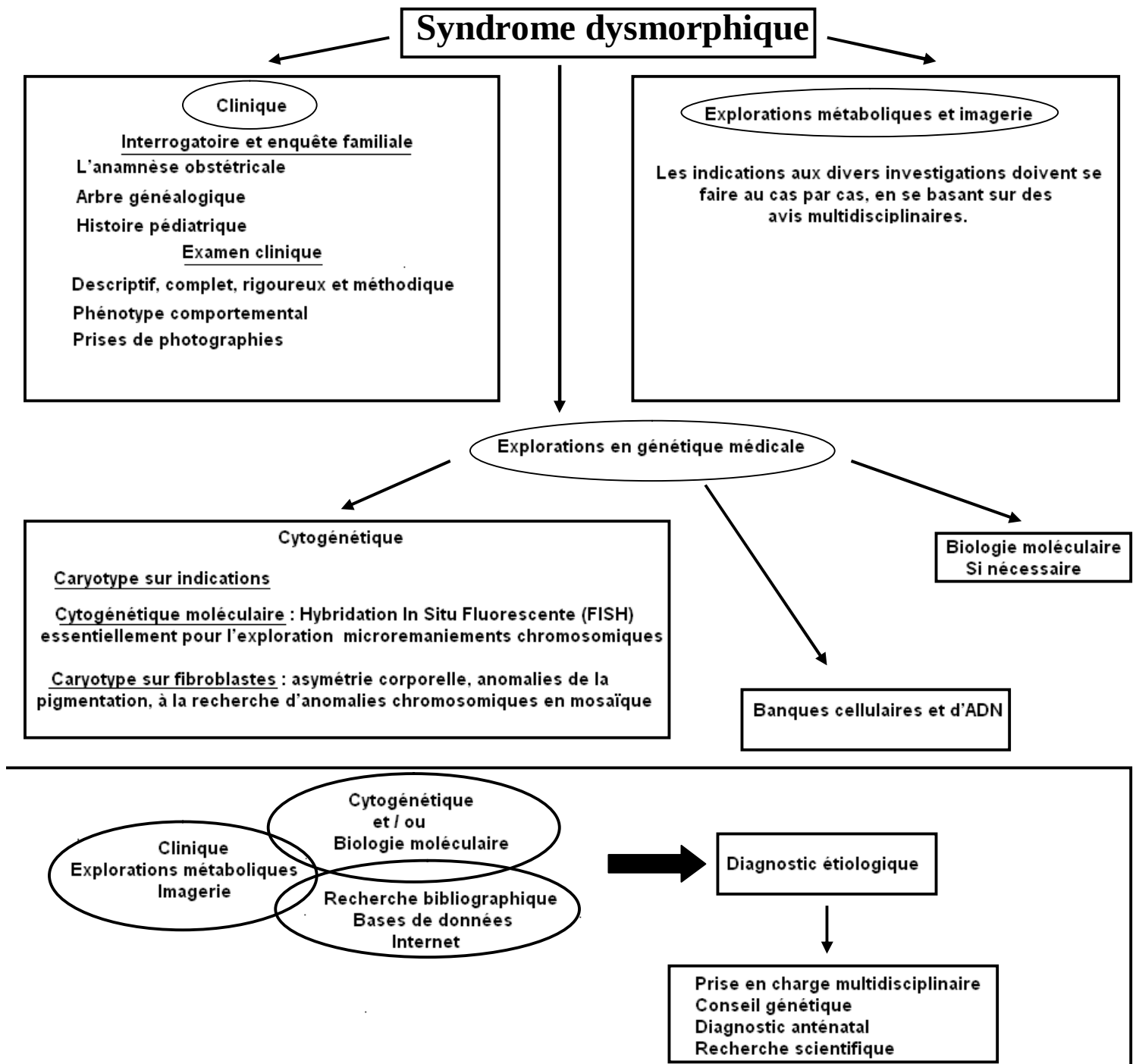


Figure 34: Schéma illustrant l'approche des syndromes dysmorphiques en génétique médicale

10 - RESUME

La dysmorphologie était jusqu'à récemment peu considérée en médecine clinique et en génétique humaine.

Cependant, Le but de notre travail de thèse a été de montrer que :

L'étude des enfants atteints de syndrome dysmorphique permettent d'envisager, dans certains cas, un diagnostic étiologique basé sur une approche multidisciplinaire et donc une notion de pronostic, de prise en charge adaptée de l'enfant, et de conseil génétique dans la famille.

Les progrès actuels, de la cytogénétique et de la génétique moléculaire, ont considérablement modifié la pratique diagnostique en dysmorphologie et permettent de détecter un grand nombre d'anomalies génétiques.

La connaissance de mécanismes embryonnaires et des gènes du développement dans la morphogenèse normale et pathologique chez l'homme contribue à mieux comprendre les bases moléculaires des syndromes dysmorphiques.

ABSTRACT

Until recently, clinical dysmorphology was poorly considered in medicine and human genetics.

However, the purpose of our thesis was to show that:

The study of children with dysmorphic syndrome can be considered, in some cases, an etiologic diagnosis based on a multidisciplinary approach and a notion of prognosis, appropriate care of the child, and genetic counseling in the family.

Current advances, cytogenetic and molecular genetics have significantly changed the diagnostic practice in dysmorphology and can detect many genetic abnormalities.

Knowledge of mechanisms of embryonic developmental genes in normal and abnormal morphogenesis in humans contributes to better understand the molecular basis of dysmorphic syndromes.

θ_K

[illegible]

11 Références

1. Génétique Médicale : formelle, chromosomique, moléculaire, clinique. Par le collège National des Enseignants et Praticiens de Génétique Médicale. Coordonné par : Marc Jeanpierre, Philippe Jonveaux, Didier Lacombe, Nathalie Leporrier, Stanislas Lyonnet, Claude Mauraine. Masson, Paris, 2004
2. D.Lacombe. Dysmorphologie et gènes du développement. médecine/sciences 1996 ; 12 : 825-30
3. Smith DW. An approach to clinical dysmorphology. J Pediatr 1966 ; 88 : 99
4. V.Cornier-Daire Approche clinique de l'enfant dysmorphique. Arch PEdiatr 2001 ; 8 Suppl 2 : 382-4.
5. Alasdair G.W. Hunter Medical genetics: 2. The diagnostic approach to the child with dysmorphic signs CMAJ 2002 167: 367-372.
6. S.F.SMITHSON AND R.M.WINTER Diagnosis in dysmorphology: clues from the skin British Journal of Dermatology 2004; 151: 953–960]
7. N. Philip E. Quarello G. Gorincour, S. Sigaudy Gynécologie Obstétrique & Fertilité : Approche de la dysmorphologie foetale in utero 38 (2010) 677–685.
8. Embryologie Humaine, Third Edition by William J. Larsen : 2003
9. Cours du Professeur Daniel Balas : Groupe de Recherche sur la Trophicité et la Biologie du Vieillissement (GRTV)
et Institut de Gérontologie des Alpes Maritimes (IGAM)
Faculté de Médecine & Hôpital Gérontologique de Cimiez, Nice
10. Abrégés d' Embryologie Humaine De la molécule à la clinique :
F.ENCHA-RAVAZI / E.ESCUDIER 2008 (4eme edition)

11. Britta J. Eickholt¹, Sarah L. Mackenzie¹, Anthony Graham¹, Frank S. Walsh² and Patrick Doherty¹. Evidence for collapsin-1 functioning in the control of neural crest migration in both trunk and hindbrain regions;
Printed in Great Britain © The Company of Biologists Limited 1999
12. The Neural Crest : Par Nicole Le Douarin, Chaya Kalcheim 1999, p :196
13. Kim J, Jung JI, Na HS, Hong SK and Yoon YW (2003). Effects of morphine on mechanical allodynia in a rat model of central neuropathic pain. Neuroreport 14:1017-1020
14. Scherson T, Serbedzija G, Fraser S, Bronner-Fraser M.
Regulative capacity of the cranial neural tube to form neural crest;
Developmental Biology Center, University of California, Irvine 92717
Development. 1993 Aug;118(4):1049-62
15. NIRAO M. SHAH* AND DAVID J. ANDERSON , Integration of multiple instructive cues by neural crest stem cells reveals cell-intrinsic biases in relative growth factor responsiveness.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA Vol. 94, pp. 11369–11374, October 1997
Cell Biology
16. Marie-Rose Hirsch¹, Marie-Catherine Tiveron¹, François Guillemot², Jean-François Brunet¹ and Christo Goridis¹ : Control of noradrenergic differentiation and Phox2a expression by MASH1 in the central and peripheral nervous system
Printed in Great Britain © The Company of Biologists Limited 1998
17. Mitsunori Ota and Kazuo Ito : BMP and FGF-2 Regulate Neurogenin-2 Expression and the Differentiation of Sensory Neurons and Glia
DEVELOPMENTAL DYNAMICS 235:646–655, 2006

18. Souichiro Nakamura^{1,*}, Kouji Senzaki^{1,*}, Masaaki Yoshikawa¹, Mika Nishimura¹, Ken-ichi Inoue², Yoshiaki Ito², Shigeru Ozaki¹ and Takashi Shiga¹ : Dynamic regulation of the expression of neurotrophin receptors by Runx3
Development 135, 1703-1711 (2008) doi:10.1242/dev.015248
19. Jessen KR and Mirsky R (2002) Signals that determine Schwann cell identity. J Anat 200:367-376
20. Helen J. S. Stewart, Angela Brennan, Mary Rahman, Georg Zoidl, Pamela J. Mitchell, Kristjaân R. Jessen and Rhona Mirsky : Developmental regulation and overexpression of the transcription factor AP-2, a potential regulator of the timing of Schwann cell generation
European Journal of Neuroscience, Vol. 14, pp. 363±372, 2001
21. George Zanazzi, Steven Einheber, Richard Westreich, Melanie-Jane Hannocks, Debra Bedell-Hogan, Mark A. Marchionni, and James L. Salzer : Glial Growth Factor/Neuregulin Inhibits Schwann Cell Myelination and Induces Demyelination
Norwood, Massachusetts 02062, Published March 19, 2001
22. Merritt K. Taylor*, Kelly Yeager and Sean J. Morrison : Physiological Notch signaling promotes gliogenesis in the developing peripheral and central nervous systems
Development 134, 2435-2447 (2007) doi:10.1242/dev.005520
23. Thomas J. Carney¹, Kirsten A. Dutton¹, Emma Greenhill¹, Mariana Delfino-Machín¹, Pascale Dufourcq², Patrick Blader and Robert N. Kelsh, : A direct role for Sox10 in specification of neural crestderived sensory neurons
Development 133, 4619-4630 (2006) doi:10.1242/dev.02668

24. Yuji Watanabe* and Harukazu Nakamura : Control of chick tectum territory along dorsoventral axis by Sonic hedgehog
Development 127, 1131-1140 (2000)
25. Joanne P. Odden, Scott Holbrook, and Chris Q. Doe : Drosophila HB9 Is Expressed in a Subset of Motoneurons and Interneurons, Where It Regulates Gene Expression and Axon Pathfinding
The Journal of Neuroscience, November 1, 2002, 22(21):9143–9149
26. Chuckowree, JA and Vickers, JC, Cytoskeletal and Morphological Alterations Underlying Axonal Sprouting after Localized Transection of Cortical Neuron Axons In Vitro
Journal of Neuroscience, 23, (9) pp. 3715-3725. ISSN 0270-6474 (2003)
27. C. González-Billault , M. Engelke , EM Jiménez-Mateos ,F. Wandosell , A. Cáceres , , J. Avila : Participation des protéines structurales associée aux microtubules (MAPs) dans le développement de la polarité neuronale
Journal of Neuroscience Research, Volume 67 , Issue 6 , pages 713-719 , (2002)
28. Mullen RJ, Buck CR, Smith AM (1992) NeuN, une protéine spécifique des neurones nucléaire chez les vertébrés
Development 116:201-211
29. Ramon y Cajal S (1892) La rétine des vertébrés. La Cellule 9:121-133.
30. Cajal, S. Ramón y. (1909) Histologie du Système Nerveux de l'Homme et des Vertébrés. Translated by Léon Azoulay. Masson: Paris.
31. Cypher, C. and Letourneau, P. C. (1992). Growth cone motility. Curr. Opin. Cell Biol. 4, 4-7.

32. Douglas Fambrough and Corey S Goodman : The Drosophila beaten path Gene Encodes a Novel Secreted Protein That Regulates Defasciculation at Motor Axon Choice Points
Cell, Volume 87, Issue 6, 1049-1058, 1996
33. ffrench-Constant, C., and Colognato, H. (2004). Integrins: versatile integrators of extracellular signals.
Trends Cell Biol. 14, 678–686.
34. Luckenbill-Edds, L. (1997). Laminin and the mechanism of neuronal outgrowth.
Brain Res. Rev. 23, 1-27.
35. ROGERS, S. L., LETOURNEAU, C., and PECH, I. V. (1989). The role of fibronectin in neural development.
Dev. Neurosci. 11:248-265.
36. Bovolenta P, Feraud-Espinosa I. : Nervous system proteoglycans as modulators of neurite outgrowth.
Prog Neurobiol. 2000 Jun;61(2):113-32.
37. Michael A. Chernousov, Richard C. Stahl, and David J. Carey : Schwann Cell Type V Collagen Inhibits Axonal Outgrowth and Promotes Schwann Cell Migration via Distinct Adhesive Activities of the Collagen and Noncollagen Domains.
The Journal of Neuroscience, August 15, 2001, 21(16):6125–6135
38. Ferguson TA, Muir D. : MMP-2 and MMP-9 increase the neurite-promoting potential of schwann cell basal laminae and are upregulated in degenerated nerve.
Mol Cell Neurosci. 2000 Aug;16(2):157-67

39. Takeichi, M. (1990). Cadherins: a molecular family important in selective cell-cell adhesion.
Annu. Rev. Biochem. 59, 237-252.
40. Bixby, J. L., and R. Zhang. 1990 : Purified N-cadherin is a potent substrate for the rapid induction of neurite outgrowth.
J. Cell Biol. 110:1253-1260.
41. McKerracher L, David S, Jackson DL, Kottis V, Dunn RJ, Braun PE (1994) : Identification of myelin-associated glycoprotein as a major myelin-derived inhibitor of neurite growth.
Neuron 13:805–811.
42. Pasquale, E. B. (2005). Eph receptor signalling casts a wide net on cell behaviour.
Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. 6, 462-475.
43. Holmberg J, DL Clarke and J Frisen: Regulation of repulsion versus adhesion by different splice forms of an Eph receptor.
Nature 2000 (408) : 203-206
44. Shima DT, Mailhos C. : Vascular developmental biology: getting nervous.
Curr Opin Genet Dev. 2000 Oct; 10(5):536-42.
45. Lai, E.C., Deblandre, G.A., Kintner, C., Rubin, G.M. (2001). Drosophila neuralized is a ubiquitin ligase that promotes the internalization and degradation of delta.
Dev. Cell 1(6): 783 - -794.
46. Paves H, Saarma M. Neurotrophins as in vitro growth cone guidance molecules for embryonic sensory neurons.
Cell Tissue Res. 1997; 290:285–29

47. Snider WD, Wright DE (1996): Neurotrophins cause a new sensation.
Neuron16:229–232
48. Raivich G, Kreutzberg GW. : Peripheral nerve regeneration: role of growth factors and their receptors.
Int J Dev Neurosci. 1993 Jun;11(3):311-24
49. Greene LA, Shooter EM : The nerve growth factor: biochemistry, synthesis, and mechanism of action.
Annu Rev Neurosci. 1980; 3:353-402.
50. Lamballe F, Smeyne RJ, Barbacid M. : Developmental expression of trkC, the neurotrophin-3 receptor, in the mammalian nervous system.
J Neurosci. 1994 Jan;14(1):14-28.
51. Barker PA. : p75NTR: A study in contrasts.
Cell Death Differ. 1998 May;5(5):346-56.
52. Thier M, März P, Otten U, Weis J, Rose-John S. : Interleukin-6 (IL-6) and its soluble receptor support survival of sensory neurons.
J Neurosci Res. 1999 Feb 15;55(4):411-22.
53. Charron F, Stein E, Jeong J, McMahon AP, Tessier-Lavigne M. : The morphogen sonic hedgehog is an axonal chemoattractant that collaborates with netrin-1 in midline axon guidance.
Cell. 2003 Apr 4;113(1):11-23.
54. Kennedy TE. : Cellular mechanisms of netrin function: long-range and short-range actions.
Biochem Cell Biol. 2000;78(5):569-75. Review.
55. Madison RD, Zomorodi A, Robinson GA. : Netrin-1 and peripheral nerve regeneration in the adult rat.
Exp Neurol. 2000 Feb;161(2):563-70.

56. Cao X, Shoichet MS. : Investigating the synergistic effect of combined neurotrophic factor concentration gradients to guide axonal growth.
Neuroscience. 2003;122(2):381-9.
57. Klagsbrun M, Eichmann A. : A role for axon guidance receptors and ligands in blood vessel development and tumor angiogenesis.
Cytokine Growth Factor Rev. 2005 Aug-Oct; 16(4-5):535-48.
58. Pasterkamp RJ, Verhaagen J : Emerging roles for semaphorins in neural regeneration.
Brain Res Brain Res Rev. 2001 Mar;35(1):36-54. Review
59. Piper M, Little M. : Movement through Slits: cellular migration via the Slit family.
Bioessays. 2003 Jan;25(1):32-8.
60. Ang SL, Rossant J. : HNF-3 beta is essential for node and notochord formation in mouse development.
Cell. 1994 Aug 26;78(4):561-74.
61. Mendelsohn C, Mark M, Dollé P, Dierich A, Gaub MP, Krust A, Lampron C, Chambon P. : Retinoic acid receptor beta 2 (RAR beta 2) null mutant mice appear normal.
Dev Biol. 1994 Nov;166(1):246-58.
62. Motoyama J, Liu J, Mo R, Ding Q, Post M, Hui CC. : Essential function of Gli2 and Gli3 in the formation of lung, trachea and oesophagus.
Nat Genet. 1998 Sep;20(1):54-7.
63. Litingtung Y, Lei L, Westphal H, Chiang C. : Sonic hedgehog is essential to foregut development.
Nat Genet. 1998 Sep;20(1):58-61.

64. Thisse B, Thisse C. : Functions and regulations of fibroblast growth factor signaling during embryonic development.
Dev Biol. 2005 Nov 15;287(2):390-402. Epub 2005 Oct 10.
65. Park, W. Y., Miranda, B., Lebeche, D., Hashimoto, G., Cardoso, W. V. (1998). FGF10 as a chemotactic factor for distal epithelial buds during lung development.
Dev. Biol. 201, 125-134.
66. Ornitz DM, Herr AB, Nilsson M, Westman J, Svahn CM, Waksman G. : FGF binding and FGF receptor activation by synthetic heparan-derived di- and trisaccharides.
Science. 1995 Apr 21;268(5209):432-6.
67. Weaver M, Dunn NR, Hogan BL. : Bmp4 and Fgf10 play opposing roles during lung bud morphogenesis. Development. 2000 Jun;127(12):2695-704.
68. Acosta JM, Thébaud B, Castillo C, Mailleux A, Tefft D, Wuenschell C, Anderson KD, Bourbon J, Thiery JP, Bellusci S, Warburton D. : Novel mechanisms in murine nitrofen-induced pulmonary hypoplasia: FGF-10 rescue in culture.
Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2001 Jul;281(1):L250-7.
69. Tefft, J. D., Lee, M., Smith, S., Leinwand, M., Zhao, J., Bringas, P., Jr., Crowe, D. L., and Warburton, D. (1999). Conserved function of mSpry-2, a murine homolog of Drosophila sprouty, which negatively modulates respiratory organogenesis.
Curr. Biol. 9, 219–222.
70. Hacohen N, Kramer S, Sutherland D, Hiromi Y, Krasnow MA. : Sprouty encodes a novel antagonist of FGF signaling that patterns apical branching of the Drosophila airways.
Cell. 1998 Jan 23;92(2):253-63.

71. van Tuyl M, Post M. : From fruitflies to mammals: mechanisms of signalling via the Sonic hedgehog pathway in lung development.
Respir Res. 2000;1(1):30-5. Epub 2000 Jun 20.
72. Marigo V , Davey RA , Zuo Y , Cunningham JM , Tabin CJ . : Biochemical evidence that patched is the Hedgehog receptor.
Nature. 1996 Nov 14; 384(6605):176-9.
73. Ingham PW . : Transduction Hedgehog: The Story So Far.
EMBO J. Jul 1998 1; 17 (13) :3505-11
74. Chuang PT, McMahon AP. : Vertebrate Hedgehog signalling modulated by induction of a Hedgehog-binding protein.
Nature. 1999 Feb 18; 397(6720):617-21.
75. Huelsken J, Birchmeier W. : New aspects of Wnt signaling pathways in higher vertebrates.
Curr Opin Genet Dev. 2001 Oct; 11(5):547-53.
76. Mucenski ML, Wert SE, Nation JM, Loudy DE, Huelsken J, Birchmeier W, Morrissey EE, Whitsett JA. : beta-Catenin is required for specification of proximal/distal cell fate during lung morphogenesis.
J Biol Chem. 2003 Oct 10;278(41):40231-8. Epub 2003 Jul 28.
77. Changgong Li, Lingyan Hu, Jing Xiao, Hongyan Chen, John T Li, Saverio Bellusci, Stijn Delanghe, Parviz Minoo : Wnt5a regulates Shh and Fgf10 signaling during lung development.
Developmental Biology (2005) Volume: 287, Issue: 1, Pages: 86-97
78. De Langhe SP, Sala FG, Del Moral PM, Fairbanks TJ, Yamada KM, Warburton D, Burns RC, Bellusci S. : Dickkopf-1 (DKK1) reveals that fibronectin is a major target of Wnt signaling in branching morphogenesis of the mouse embryonic lung. Dev Biol. 2005 Jan 15;277(2):316-31.

79. Hyatt BA, Shangguan X, Shannon JM. : FGF-10 induces SP-C and Bmp4 and regulates proximal-distal patterning in embryonic tracheal epithelium.
Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2004 Dec;287(6):L1116-26.
80. Weaver M, Dunn NR, Hogan BL. : Bmp4 and Fgf10 play opposing roles during lung bud morphogenesis.
Development. 2000 Jun;127(12):2695-704.
81. Hsu DR, Economides AN, Wang X, Eimon PM, Harland RM. : The Xenopus dorsalizing factor Gremlin identifies a novel family of secreted proteins that antagonize BMP activities.
Mol Cell. 1998 Apr;1(5):673-83.
82. Piccolo S, Sasai Y, Lu B, De Robertis EM. : Dorsoventral patterning in Xenopus: inhibition of ventral signals by direct binding of chordin to BMP-4.
Cell. 1996 Aug 23;86(4):589-98.
83. GOLDIN, G. V. AND OPPERMAN, L. A. (1980). Induction of supernumerary tracheal buds and the stimulation of DNA synthesis in the embryonic chick lung and trachea by epidermal growth factor.
Embryol. exp. Morph. 60, 235-243.
84. Schmid P, Cox D, Bilbe G, Maier R, McMaster GK. : Differential expression of TGF beta 1, beta 2 and beta 3 genes during mouse embryogenesis.
Development. 1991 Jan;111(1):117-30.
85. Del Moral PM, Sala FG, Tefft D, Shi W, Keshet E, Bellusci S, Warburton D : VEGF-A signaling through Flk-1 is a critical facilitator of early embryonic lung epithelial to endothelial crosstalk and branching morphogenesis.
Dev Biol. 2006 Feb 1;290(1):177-88.

86. Iselin M. Cardiopathies congénitales. Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris), Radiodiagnostic - Coeur-poumon, 32-015-A-12.
Pédiatrie, 4-070-A-05, 1999,6p
87. Embryologie du coeur
(www.heartandcoeur.com/definition/formation_coeur.php)
88. R.P. HARVEY, D. LAI, D. ELLIOTT, C. BIBEN, M. SOLLOWAY, O. PRALL F.STENNARD, A. SCHINDELER, N. GROVES, L. LAVULO, C. HYUN, T. YEOH, M. COSTA, M. FURTADO, and E. KIRK : Homeodomain Factor Nkx2-5 in Heart Development and Disease.
doi:10.1101/sqb.2002.67.107Cold Spring Harb Symp Quant Biol 2002. 67: 107-114
89. Moorman AF, Soufan AT, Hagoort J, de Boer PA, Christoffels VM. : Development of the building plan of the heart.
Ann N Y Acad Sci. 2004 May;1015:171-81.
90. Embryologie Humaine, Third Edition by William J. Larsen : 2003
Mécanismes moléculaires du développement cardiaque et pathogénie ; p :188
91. LANGMAN J : Intestin moyen. In : Abrégé d'embryologie médicale, 3ème Ed., Paris,
Masson, 1976 ; 315- 23 Masson, 1976 ; 315- 23
92. Ludwig KS. The development of the caudal ligaments of the mesonephros and of the gonads : a contribution to the development of the human gubernaculum (Hunteri). Anat Embryol1993; 188: 571-577.
- 93 - Josso N, Lamarre I, Picard JY, et al. Anti-Müllerian hormone in early human development. Early Hum Dev 1993; 33 : 91-99.

- 94 - Münsterberg A, Lovell-Badge R. Expression of the mouse anti-müllerian hormone gene suggests a role in both male and female sex differentiation. *Development* 1991; 11 : 613-624.
- 95 - Trelstad RL, Hayashi A, Hayashi K, Donahoe PK. The epithelial mesenchymal interface of the male rat müllerian duct: loss of basement membrane integrity and ductal regression. *Dev Biol* 1984; 106: 394-398
- 96 - Mac Laughlin D, Levin R, Catlin E, Taylor L, Preffer F, Donahoe P. Identification of müllerian inhibiting substance specific binding in human cell lines. *Horm Metab Res* 1992; 24: 570-5.
- 97 - Jirsova Z, Vemerova Z. The differentiation and involution of the mullerian duct in the rat. *Functional & Developmental Morphology*. 1993; 3 (2): 105-109.
- 98 - Rey R, Al-Attar L, Louis F et al (1996). Testicular dysgenesis does not affect expression of anti-Müllerian hormone by Sertoli cells in pre-meiotic seminiferous tubules. *Am J of Pathology* 148: 1689-1698.
- 99 - Glenister TW. The development of the utricle and of the so-called "middle" or "median" lobe of the human prostate. *J Anat* 1962; 96 : 443-455.
- 100 - Jost A. Recherches sur la différenciation sexuelle de l'embryon de lapin. III. : Rôle des gonades foetales dans la différenciation sexuelle somatique. *Arch Anat. Microsc Morphol Exp* 1947; 36: 271-315.
- 101 - Josso N, Picard JY, Tran D. The anti-müllerian hormone. *Recent Prog Horm Res* 1977; 33: 117-160.

- 102 - O'Rahilly R. The development of the vagina in the human. In: Blandau RJ, Bergsma D, eds. Morphogenesis and malformation of the genital system. New York: Alan Liss, 1977; 123-136.
- 103 - Saxen L. Organogenesis of the kidney. Cambridge University Press, Cambridge 1987, pp 1-34.
- 104 - Cate RL, Donahoe PK, Mac Laughlin DT. 1990. In handbook of Experimental Pharmacology, Vol. 951II(Spom MB, and Roberts AB, edited by), pp. 179-210, Springer-Verlag, Berlin.
- 105 - Di Clemente N, Ghaffari S, Pepinsky RB et al. A quantitative and interspecific test for biological activity of anti-Müllerian hormone : the fetal ovary aromatase assay. Development 1992, 114: 721-727
- 106 - Vigier B, Watrin F, Magre S et al. Purified bovine AMR induces a characteristic freemartin effect in fetal rat prospective ovaries exposed to it in vitro. Development 1987, 100: 43-55
- 107 - Terzic J, Muller C, Gajovic S & Saraga-Babic M. Expression of PAX2 gene during human development. J Dev Biol 1998; 42: 701-707.
- 108 - Dressler GR, Deutsch D, Chowdhury K, Nomes HO, Gross P. Pax 2, a new murine paired-box-containing gene and its expression in the developing excretory system. Development 1990; 109: 787-795.

- 109 - Torres M, Gomez-Pardo E, Dressler GR, Gross P. Pax-2 controls multiple steps of urogenital development.
Development 1995; 121: 4057-4065.
- 110 - Gavin BJ, Mc Mahon JA, Mc Mahon AP. Expression of multiple novel Wnt1/ int-1-related genes during fetal and adult mouse development. Genes Dev 1990; 4 (12B): 2319-2332.
- 111 - Moon RT, Brown JB, Torres MT. Wnts modulate cell fate and behaviour during vertebrate development.
Trends Genet 1997; 13 (4): 157-162.
- 112 - Stark K, Vainio S, Vassileva G & Mc Mahon AP. Epithelial transformation of metanephric mesenchyme in the developing kidney regulated by Wnt-4.
Nature 1994; 372 : 679-683.
- 113 - Miller C, Pavlova A, Sassoon DA. Differential expression patterns of Wnt genes in the murine female reproductive tract during development and the estrous cycle.
Mec of Dev 1998; 76: 91-99.
- 114 - Krumlauf R. Hox genes in vertebrates development.
Cell 1994; 78: 191-201.
- 115 - Mc Ginnis W & Krumlauf R. Homeobox genes and axial patterning. Cell 1992; 68: 283-302.
- 116 - Taylor HS, Vanden Heuvel GB & Igarashi P. A conserved Hox axis in the mouse and human female reproductive system: late establishment and persistent adult expression of the Hoxa cluster genes.
Biol of Reprod 1997; 57 : 1338-1345.

- 117 - Hsieh-Li HM, Witt DP, Weinstein M, Branford W, Li H, Small K & Potter SS. Hoxa II structure, extensive antisense transcription, and function in male and female fertility.
Development 1995; 121: 1373-1385.
- 118 - Simeone A, Gulisano M, Acampora D, Stomaiuolo A, Rambaldi M & Boncinelli E. Two vertebrate homeobox genes related to the drosophila empty spiracles gene are expressed in the embryonic cerebral cortex. EMBO J 1992; 11 : 2541-2550.
- 119 - Pellegrini M, Pantano S, Lucchini F, Fumi M & Forabosco A. Emx2 developmental expression in the primordia of the reproductive and excretory systems. Anat Embryol 1997; 196: 427-433.
- 120 - Pavlova A, Boutin E, Cunha G & Sassoon D. Msx1 (Hox-7.1) in the adult mouse uterus: cellular interactions underlying regulation of expression. Development 1994; 120: 335-346.
- 121 - Lindner TH, Njolstad PR, Horikawa Y, Bostad L, Bell GI & Sovik O. A novel syndrome of diabetes mellitus, renal dysfunction and genital malformation associated with a partial deletion of the pseudo-POU domain of hepatocyte nuclear factor-1B.
Hum Molec Genet 1999; 8, 11: 2001-2008.
- 122 - Vignali R, Poggi L, Madeddu F & Barsacchi G. HNF1B is required for mesoderm induction in the Xenopus embryo.
Development 2000; 127: 1455-1465.
- 123 - Ayme S, Mendizabal H. Généralités sur les malformations congénitales. In: Ayme S, ed. Le réseau de tératovigilance des Bouches du Rhône : dix ans de surveillance (1984-1994).
Marseille, France: Le conseil général des Bouches du Rhône, 1997; 9-22.

- 124- Seller M. Genetic causes of congenital anomalies and their interaction with environmental Factors. In: Eurocat, ed. Eurocat Special Report The environmental causes of congenital anomalies: a review of the literature. Dublin: Eurocat, 2004; 7-29.
- 125- Brent RL, Beckman DA. Environmental teratogens Bull N Y Acad Med 1990; 66:123-163.
- 126- Brent RL. Environmental causes of human congenital malformations: the pediatrician's role in dealing with these complex clinical problems caused by a multiplicity of environmental and genetic factors Pediatrics 2004;113:957-968.
- 127- Khoshnood B, Bouvier-Colle MH, Leridon H, Blondel B. [Impact of advanced maternal age on fecundity and women's and children's health] J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris) 2008;37:733-747.
- 128- Savva GM, Walker K, Morris JK. The maternal age-specific live birth prevalence of trisomies 13 and 18 compared to trisomy 21 (Down syndrome) Prenat Diagn 2010;30:57-64.
- 129- Doyle P. Ionising radiation. In: Eurocat, ed. Eurocat Special Report The environmental causes of congenital anomalies: a review of the literature. Dublin: Eurocat, 2003; 89-93.
- 130- Zatsepin I, Verger P, Robert-Gnansia E, et al. Down syndrome time-clustering in January 1987 in Belarus: link with the Chernobyl accident? Reprod Toxicol 2007; 24:289-295.
- 131- Little J. Smoking. In: Eurocat, ed. Eurocat Special Report The environmental causes of congenital anomalies: a review of the literature. Dublin: Eurocat, 2002; 83-88.

- 132- Loane M, Dolk H, Morris JK. Maternal age-specific risk of non-chromosomal anomalies BJOG 2009; 116:1111-1119.
- 133- Croen LA, Shaw GM. Young maternal age and congenital malformations: a populationbased study Am J Public Health 1995; 85:710-713.
- 134- Garne E, de Walle H. Parental age and congenital malformations Paediatr Perinat Epidemiol 2009; 23:279; author reply 279.
- 135- Clark JD, Mossey PA, Sharp L, Little J. Socioeconomic status and orofacial clefts in Scotland, 1989 to 1998 Cleft Palate Craniofac J 2003;40:481-485.
- 136- Carmichael SL, Nelson V, Shaw GM, Wasserman CR, Croen LA. Socio-economic status and risk of conotruncal heart defects and orofacial clefts Paediatr Perinat Epidemiol 2003; 17:264-271.
- 137- Varela MM, Nohr EA, Llopis-Gonzalez A, Andersen AM, Olsen J. Socio-occupational status and congenital anomalies Eur J Public Health 2009;19:161-167.
- 138- Grewal J, Carmichael SL, Song J, Shaw GM. Neural tube defects: an analysis of neighbourhood- and individual-level socio-economic characteristics Paediatr Perinat Epidemiol 2009; 23:116-124.
- 139- Canfield MA, Ramadhani TA, Shaw GM, et al. Anencephaly and spina bifida among Hispanics: maternal, sociodemographic, and acculturation factors in the National Birth Defects Prevention Study Birth Defects Res A Clin Mol Teratol 2009;85:637-646.
- 140- Paz JE, Otano L, Gadow EC, Castilla EE. Previous miscarriage and stillbirth as risk factors for other unfavourable outcomes in the next pregnancy Br J Obstet Gynaecol 1992;99:808-812.
- 141- Thom DH, Nelson LM, Vaughan TL. Spontaneous abortion and subsequent adverse birth outcomes Am J Obstet Gynecol 1992; 166:111-116.

- 142- Chan A, McCaul KA, Cundy PJ, Haan EA, Byron-Scott R. Perinatal risk factors for developmental dysplasia of the hip Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 1997;76:F94- 100.
- 143- Hinderaker T, Daltveit AK, Irgens LM, Uden A, Reikeras O. The impact of intra-uterine factors on neonatal hip instability. An analysis of 1,059,479 children in Norway Acta Orthop Scand 1994; 65:239-242.
- 144- Akre O, Boyd HA, Ahlgren M, et al. Maternal and gestational risk factors for hypospadias Environ Health Perspect 2008;116:1071-1076.
- 145- Damgaard IN, Jensen TK, Petersen JH, Skakkebaek NE, Toppari J, Main KM. Risk factors for congenital cryptorchidism in a prospective birth cohort study PLoS One 2008;3:e3051.
- 146- Garne E. Environmental causes of congenital anomalies : maternal diabetes. In: Eurocat, ed. Eurocat Special Report The environmental causes of congenitales anomalies : a review of the literature. Dublin: Eurocat, 2004; 94-97.
- 147- Loffredo CA. Epidemiology of cardiovascular malformations: prevalence and risk factors Am J Med Genet 2000; 97:319-325.
- 148- Dolk H. Epidemiological evidence regarding environmental causes of congenital anomalies: international issues. In: Eurocat, ed. Eurocat Special Report The environmental causes of congenitales anomalies: a review of the literature. Dublin: Eurocat, 2004; 30-48.
- 149- Robert E. Environmental causes of congenital anomalies : maternal epilepsy and antiepileptics. In: Eurocat, ed. Eurocat Special Report The environmental causes of congenitales anomalies : a review of the literature. Dublin: Eurocat, 2004; 98-104.

- 150- Dravet C, Julian C, Legras C, et al. Epilepsy, antiepileptic drugs, and malformations in children of women with epilepsy: a French prospective cohort study *Neurology* 1992; 42:75-82.
- 151- Wyszynski DF, Beaty TH. Review of the role of potential teratogens in the origin of human nonsyndromic oral clefts *Teratology* 1996; 53:309-317.
- 152- Jentink J, Loane MA, Dolk H, et al. Valproic acid monotherapy in pregnancy and major congenital malformations *N Engl J Med* 2010;362:2185-2193.
- 153- . Caton AR, Bell EM, Druschel CM, et al. Antihypertensive medication use during pregnancy and the risk of cardiovascular malformations *Hypertension* 2009;54:63-70.
- 154- Jenkins KJ, Correa A, Feinstein JA, et al. Noninherited risk factors and congenital cardiovascular defects: current knowledge: a scientific statement from the American Heart Association Council on Cardiovascular Disease in the Young: endorsed by the American Academy of Pediatrics *Circulation* 2007;115:2995-3014.
- 155- Cooper WO, Hernandez-Diaz S, Arbogast PG, et al. Major congenital malformations after first-trimester exposure to ACE inhibitors *N Engl J Med* 2006;354:2443-2451.
- 156- Scialli AR, Lione A. ACE inhibitors and major congenital malformations *N Engl J Med* 2006; 355:1280; author reply 1281.
- 157- Sealey JE, Itskovitz-Eldor J. ACE inhibitors and major congenital malformations *N Engl J Med* 2006; 355:1280-1281; author reply 1281.
- 158- Caton AR, Bell EM, Druschel CM, et al. Maternal hypertension, antihypertensive medication use, and the risk of severe hypospadias *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2008;82:34-40.

- 159- Bayeux-Dunglas M, Caron V, Le Bâcle C. Risques biologiques. In: d'expert A, ed. Grossesse et travail Quels sont les risques pour l'enfant à naître ? Paris: INRS, 2010; 325-389.
- 160- Parent du Châtelet I, Bouraoui L, Grangeot-Keros L, Six C, Lévy-Bruhl D. Bilan de 10 années de surveillance des infections rubéoleuses durant la grossesse à travers le réseau de laboratoires Rénarub en France métropolitaine, 1997-2006 BEH 2008;102- 106.
- 161- Neville A, Calzolari E. Maternal obesity and risk of congenital anomalies. In: Eurocat, ed. Eurocat Special Report The environmental causes of congenitales anomalies: a review of the literature. Dublin: Eurocat, 2004.
- 162- Stothard KJ, Tennant PW, Bell R, Rankin J. Maternal overweight and obesity and the risk of congenital anomalies: a systematic review and meta-analysis JAMA 2009;301:636- 650.
- 163- Little J. Nutrition. In: Eurocat, ed. Eurocat Special Report The environmental causes of congenitales anomalies: a review of the literature. Dublin: Eurocat, 2002; 51-82.
- 164- Czeizel AE, Dudas I. Prevention of the first occurrence of neural-tube defects by periconceptional vitamin supplementation N Engl J Med 1992; 327:1832-1835.
- 165- Johnson CY, Little J. Folate intake, markers of folate status and oral clefts: is the evidence converging? Int J Epidemiol 2008;37:1041-1058.
- 166- Werler MM, Lammer EJ, Rosenberg L, Mitchell AA. Maternal alcohol use in relation to selected birth defects Am J Epidemiol 1991;134:691 698.

- 167- Romitti PA, Lidral AC, Munger RG, Daack-Hirsch S, Burns TL, Murray JC. Candidate genes for nonsyndromic cleft lip and palate and maternal cigarette smoking and alcohol consumption: evaluation of genotype-environment interactions from a population-based case-control study of orofacial clefts *Teratology* 1999;59:39-50.
- 168- Lorente C, Cordier S, Goujard J, et al. Tobacco and alcohol use during pregnancy and risk of oral clefts. Occupational Exposure and Congenital Malformation Working Group *Am J Public Health* 2000;90:415-419.
- 169- Mills JL, Graubard BI. Is moderate drinking during pregnancy associated with an increased risk for malformations? *Pediatrics* 1987;80:309-314.
- 170- Mitchell LE, Murray JC, O'Brien S, Christensen K. Evaluation of two putative susceptibility loci for oral clefts in the Danish population *Am J Epidemiol* 2001;153:1007-1015.
- 171- Chevrier C, Perret C, Bahuaud M, et al. Interaction between the ADH1C polymorphism and maternal alcohol intake in the risk of nonsyndromic oral clefts: an evaluation of the contribution of child and maternal genotypes *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2005;73:114-122.
- 172- Jensen MS, Bonde JP, Olsen J. Prenatal alcohol exposure and cryptorchidism *Acta Paediatr* 2007;96:1681-1685.
- 173- Kallen K. Maternal smoking and orofacial clefts *Cleft Palate Craniofac J* 1997;34:11-16.
- 174- Chung KC, Kowalski CP, Kim HM, Buchman SR. Maternal cigarette smoking during pregnancy and the risk of having a child with cleft lip/palate *Plast Reconstr Surg* 2000;105:485-491.

- 175- Little J, Cardy A, Arslan MT, Gilmour M, Mossey PA. Smoking and orofacial clefts: a United Kingdom-based case-control study *Cleft Palate Craniofac J* 2004;41:381-386.
- 176- Beaty TH, Wang H, Hetmanski JB, et al. A case-control study of nonsyndromic oral clefts in Maryland *Ann Epidemiol* 2001;11:434-442.
- 177- Hwang SJ, Beaty TH, Panny SR, et al. Association study of transforming growth factor alpha (TGF alpha) TaqI polymorphism and oral clefts: indication of gene-environment interaction in a population-based sample of infants with birth defects *Am J Epidemiol* 1995;141:629-636.
- 178- Lief S, Olshan AF, Werler M, Strauss RP, Smith J, Mitchell A. Maternal cigarette smoking during pregnancy and risk of oral clefts in newborns *Am J Epidemiol* 1999;150:683-694.
- 179- Wyszynski DF, Wu T. Use of US birth certificate data to estimate the risk of maternal cigarette smoking for oral clefting *Cleft Palate Craniofac J* 2002;39:188-192.
- 180- Little J, Cardy A, Munger RG. Tobacco smoking and oral clefts: a meta-analysis *Bull World Health Organ* 2004;82:213-218.
- 181- Maestri NE, Beaty TH, Hetmanski J, et al. Application of transmission disequilibrium tests to nonsyndromic oral clefts: including candidate genes and environmental exposures in the models *Am J Med Genet* 1997;73:337-344.
- 182- Chevrier C, Bahuau M, Perret C, et al. Genetic susceptibilities in the association between maternal exposure to tobacco smoke and the risk of nonsyndromic oral cleft *Am J Med Genet A* 2008;146A:2396-2406.
- 183- Kallen K. Maternal smoking and urinary organ malformations *Int J Epidemiol* 1997;26:571-574.

- 184- Jensen MS, Toft G, Thulstrup AM, Bonde JP, Olsen J. Cryptorchidism according to maternal gestational smoking Epidemiology 2007;18:220-225.
- 185- Carmichael SL, Shaw GM, Laurent C, Lammer EJ, Olney RS. Hypospadias and maternal exposures to cigarette smoke Paediatr Perinat Epidemiol 2005;19:406-412.
- 186- Giavini E. Testing for teratogenicity: the current situation in Europe: EUROCAT, 2007.
- 187- Brouwers MM, Feitz WF, Roelofs LA, Kiemeny LA, de Gier RP, Roeleveld N. Hypospadias: a transgenerational effect of diethylstilbestrol? Hum Reprod 2006;21:666-669.
- 188- Palmer JR, Wise LA, Robboy SJ, et al. Hypospadias in sons of women exposed to diethylstilbestrol in utero Epidemiology 2005;16:583-586.
- 189- Hansen M, Bower C, Milne E, de Klerk N, Kurinczuk JJ. Assisted reproductive technologies and the risk of birth defects--a systematic review Hum Reprod 2005;20:328-338.
- 190- Schardein J. Chemically induced birth defects. New york: Marcel Dekker, 1993.
- 191- Cordier S, Ayotte P, De Wals P, et al. Reproduction. In: DOC ETe, ed. Environnement et santé publique. Québec, canada, 2003; 641-667.
- 192- Vrijheid M, Loane M, Dolk H. Chemical environmental and occupational exposures. In: Eurocat, ed. Eurocat Special Report The environmental causes of congenital anomalies : a review of the literature. Dublin: Eurocat, 2003; 107-209.
- 193- Hussain N, Chaghtai A, Herndon CD, Herson VC, Rosenkrantz TS, McKenna PH. Hypospadias and early gestation growth restriction in infants Pediatrics 2002;109:473-478.

- 194- Main KM, Jensen RB, Asklund C, Hoi-Hansen CE, Skakkebaek NE. Low birth weight and male reproductive function Horm Res 2006;65 Suppl 3:116-122.
- 195 -Didier Lacombe. Service de génétique médicale, CHU de Bordeaux, université de Bordeaux -2, 33076 Bordeaux.
didier.lacombe@chu-bordeaux.fr
LA REVUE DU PRATICIEN VOL. 61 ; Avril 2011
- 196 - Puri RD, Verma IC. Dysmorphology diagnosis.
Indian J Pediatr 2004;71:535-539
- 197- Aase JM. Dysmorphology diagnosis for the pediatric partitioner.
Pediatr clin North Am 1992; 39 : 135-156.
- 198- Jones KL. Smith's Recognizable Patterns of Human Malformations, Philadelphia; WB Saunders Company, 5th edn, 1997.
- 199- Human Malformations and Related Anomalies.
Volume II, Edited by R.E. Stevenson. Oxford University Press,1993.
- 200- Dollé P et Cormier-Daire V. Malformations congénitales des membres : embryologie, étiologie. Encycl Méd Chir. Appareil locomoteur, 15-198-A-10, Pédiatrie, 4-005-B-20, 2003, 8 p.
- 201- Moss C. Cytogenetic and molecular evidence for cutaneous mosaicism: the ectodermal origin of Blaschko lines. Am J Med Genet 1999; 85: 330–3.
- 202-Tumer Z, Horn N. Menkes disease: recent advances and new aspects. J Med Genet 1997; 34: 265–74.
- 203-Pascual-Castroviejo I, Diaz-Gonzalez C, Garcia-Melian RM et al. Sturge–Weber syndrome: study of 40 patients. Pediatr Neurol 1993; 9: 283–8.
- 204-Yeowell HN, Walker LC. Ehlers–Danlos syndrome type VI results from a nonsense mutation and a splice site-mediated exon-skipping mutation in the lysyl hydroxylase gene. Proc Assoc Am Phys 1997; 109: 383–96.

- 205- Hall JG, Froster-Iskenius UG, Allanson JE. Handbook of normal physical measurements. Oxford Medical Publication, Oxford, 1989.
- 206- Turk J, Hill P. Behavioural phenotypes in dysmorphic syndromes. Clin Dysmorphol. 1995 Apr; 4(2): 105-15.Review.
- 207-Flint J, Yule W: Behavioural phenotypes. In Ruter M, Taylor E, Hersov LA (eds) "Child and Adolescent Psychoiatry: modern Approches" Oxford: Blackwell Scientific. 1994
- 208- Saul RA, the importance of measurement. In : Stevenson RE, Hall JG, Goodman RM, Human malformation and related anomalies. Oxford University Press, New-York and Oxford, 1993.
- 209- Cohen MM Jr. Child with Multiple Birth Defects. New York; Oxford University Press, 1997].
- 210-Goldenberg A., Saugier-Weber P. Retards mentaux d'origine génétique. EMC (Elsevier SAS, Paris),Psychiatrie, 37-219-C-80, 2006.
- 211- Knight SJL, Regan R, Nicod A, Horsley SW, Kearney L, Homfray T, et al. Subtle chromosomal rearrangements in children with unexplained mental retardation. Lancet 1999;354:1676-81.
- 212- D. Sanlaville , J.M. Lapierre,A. Coquin , C. Turleau , J.Vermeesch , L. Colleaux ,G. Borck, M.Vekemans,A. Aurias, S.P. Romana. La CGH microarray : principe et applications en pathologie constitutionnelle. Archives de pédiatrie 12 (2005) 1515–1520
- 213- Sinclair A. Genetics 101: detecting mutations in human genes. CMAJ 2002; 167(3):275-9

- 214 -Hunter AGW. The brain. In: Stevenson RE, Hall JG, Goodman RM, editors. Human malformations and related anomalies. Vol 2. New York: Oxford University Press; 1993. p. 38-51.
- 215- Nowaczyk MJM, Whelan DT, Heshka T, Hill RE. Smith-Lemli-Opitz syndrome: a treatable inherited error of metabolism causing mental retardation. CMAJ 1999;161(2):165-70.
- 216- Buyse ML. Birth Defects Encyclopedia. Oxford; Blackwell Scientific Publications, 1990.
- 217- Taybi H. Handbook of Syndromes/Metabolic Disorders, Radiologic and Clinical Manifestations. Chicago; Elsevier Science Health Sc Div, 1998.
- 218- M. Kassis, F. Galacteros, C. Ferec, M. Delpech Place du conseil génétique en médecine Foetale EMC (Encyclopédie Médico-Chirurgicale), Elsevier SAS, 2005.
- 219- P.S. Harper – Practical Genetic Counseling. 4th ed. Butterworth. Heinemann Ltd Linacre House, Jordan Hill, Oxford, 1993.
- 220- Jones KL. Smith's Recognizable Patterns of Human Malformations, Philadelphia; WB Saunders Company, 6th edn, 2006.