

UNIVERSITE DE NANTES
UNITE DE FORMATION ET DE RECHERCHE D'ODONTOLOGIE

Année 2013

N°003

**Intérêt des animaux génétiquement modifiés
dans la compréhension de l'étiopathogénie des
fentes labiopalatines**

THESE POUR LE DIPLÔME D'ETAT DE DOCTEUR
EN CHIRURGIE DENTAIRE

Présentée et soutenue publiquement par

Thibaud MARIE D'AVIGNEAU

Né le 27 Septembre 1983

Le 5 février 2013 devant le jury ci-dessous :

Président : M. le Professeur Alain JEAN

Assesseur : Mme. le Docteur Sylvie DAJEAN-TRUTAUD

Assesseur : M. le Docteur Stephane RENAUDIN

Assesseur : M. le Docteur Pierre CORRE

Directeur de thèse: Mme. le Professeur Brigitte LICHT

**INTERET DES ANIMAUX
GENETIQUEMENT MODIFIES
DANS LA COMPREHENSION DE
L'ETIOPATHOGENIE DES FENTES
LABIOPALATINES**

TABLE DES MATIERES

<u>INTRODUCTION</u>	3
<u>1. LES FENTES LABIOPALATINES</u>	5
1. Définition	5
2. Formes cliniques	7
2.1. Formes anatomo-cliniques	7
2.1.1. Fentes labio-alvéolo-narinaires	8
2.1.2. Fentes vélares ou vélopalatines	10
2.1.3. Fentes associées : labio-alvéolaires et vélopalatines	11
<u>2. MORPHOGENESE CRÂNIOFACIALE</u>	12
1. Les étapes initiales de l'embryologie crâniofaciale	12
1.1. Acquisition de l'identité crâniocaudale	12
1.2. Les arcs branchiaux et leurs dérivés	15
1.2.1. Appareil pharyngien et dérivés de la face et du cou	15
1.2.1.1. Structure et fonctions	15
1.2.1.2. Structure au cours de l'embryogenèse et dérivés des arcs branchiaux	17
1.2.1.3. Sillons et poches branchiales	19
2. Morphogenèse de la face et des maxillaires	22
2.1. Le développement de la face pendant les périodes embryonnaires et fœtales	23
2.1.1. Le viscérocrâne	23
2.1.2. Les bourgeons de la face	24
2.1.2.1. Bourgeon frontal	25
2.1.2.2. Bourgeons maxillaires	25
2.1.2.3. Bourgeons mandibulaires	25
2.1.3. Les placodes olfactives	25
2.1.4. La formation de la face	26
2.1.5. Les fosses nasales	28
2.2. La formation des maxillaires et la palatogenèse	30
2.2.1. Le massif facial supérieur : rappels	30
2.2.2. La formation du palais	33
2.2.2.1. Le palais primaire	34
2.2.2.2. Le palais secondaire	34
<u>3. LES MECANISMES DE REGULATION</u>	38
1. Aspect génétique et moléculaire de la formation du palais : définitions	39
1.1. Les homéogènes	39
1.2. Les homéodomaines	40
1.3. Les facteurs de transcription	40
1.4. Les facteurs de croissance	40
1.5. Les molécules d'adhésion cellulaire	41
1.6. Les voies de signalisation intracellulaire	41
2. Les facteurs impliqués dans la formation des fentes labiopalatines	42
2.1. MSX	42

2.2. PAX	43
2.3. DLX	44
2.4. TGFβ	44
2.5. FGF	45
2.6. SHH	45
2.7. WNT	46
2.8. RSPO	46
2.9. IRF	47
2.10. SATB2	47
2.11. PDGF	47
2.12. Les molécules d'adhésion cellulaire	48
<u>4. MODELES ANIMAUX ET FENTES LABIOPALATINES</u>	49
<u>1. Souris KO : définition, méthodes d'inactivation génique</u>	49
1.1. Définition	49
1.2. Les méthodes d'inactivation d'un gène	50
<u>2. Les principaux gènes invalidés dans la recherche génétique sur les fentes labiopalatines</u>	54
2.1. <i>Msx1</i> , <i>Dlx5</i> et <i>Pax9</i>	55
2.1.1. <i>Msx1</i>	55
2.1.1.1. <i>Msx1</i> et <i>Dlx5</i> agissent indépendamment sur le développement du squelette crâniofacial, mais convergent sur la régulation de la voie Bmp dans le palais en formation	55
2.1.1.2. La correction des fentes palatines par du Bmp4 transgénique chez les souris déficientes <i>Msx1</i> révèle le rôle de <i>Shh</i> et de la Bmp4 au niveau de la régulation de la palatogenèse chez les mammifères	58
2.1.2. <i>Pax9</i>	60
2.1.3. Interactions entre <i>Msx1</i> et <i>Pax9</i>	62
2.2. Tgfβ3 / TgfβR1 (Alk5)	66
2.2.1. Rôle d' <i>Alk5</i> pendant la morphogenèse faciale et la fusion palatine	66
2.2.2. Rôle d' <i>Alk5</i> lors de la fusion de la lèvre supérieure	70
<u>CONCLUSION</u>	76
<u>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</u>	77
<u>TABLE DES ILLUSTRATIONS</u>	82

INTRODUCTION

Les fentes labiopalatines sont les malformations congénitales de la face les plus fréquentes chez l'homme. Leur étiologie, complexe et multifactorielle, reste à l'heure actuelle encore méconnue. Ces fentes orofaciales peuvent se produire dans le cadre d'un syndrome malformatif impliquant plusieurs organes, ou peuvent se développer de manière isolée, sans qu'aucun autre défaut ne soit perceptible.

Quelque soit le type de fente labiopalatine (labiale, palatine ou labiopalatine), ces malformations représentent un lourd fardeau pour l'enfant et sa famille. Leurs répercussions esthétiques et fonctionnelles sont importantes, et nécessitent une prise en charge pluridisciplinaire lourde et contraignante, regroupant chirurgie maxillo-faciale, orthopédie dento-faciale, oto-rhino-laryngologie, orthophonie, psychologie et génétique. Cette prise en charge débute dès la naissance et ne se terminera qu'une fois la croissance achevée.

Les mécanismes génétiques et moléculaires qui régulent la morphogenèse orofaciale sont encore relativement méconnus. Nous connaissons les principaux facteurs impliqués dans la formation de la lèvre supérieure, le nez et le palais, mais les voies de régulation moléculaire qu'ils régissent sont nombreuses et complexes. Elles interagissent entre elles, de sorte qu'il est très difficile de savoir quel gène joue quel rôle, où et à quel moment.

La recherche scientifique a connu grâce au développement du génie génétique des avancées spectaculaires. Depuis 1953 et la découverte de la structure de l'ADN par WATSON et CRICK, la génétique, ainsi que les nombreux outils offerts par la biologie moléculaire, permettent d'envisager un avenir où l'homme pourra vaincre la maladie. Les connaissances acquises depuis ces dernières décennies permettent par exemple aux scientifiques d'utiliser les modèles animaux pour comprendre le fonctionnement de certains mécanismes pathologiques.

Malgré ce que l'on pourrait penser à première vue, l'homme et la souris ont beaucoup de points communs. Par exemple, le développement embryonnaire de la lèvre et du palais est remarquablement similaire chez les deux espèces.

Pour comprendre l'étiopathogénie des fentes labiopalatines, les études épidémiologiques et génétiques humaines sont importantes. Cependant, nos connaissances actuelles ont été principalement recueillies à partir du modèle de la souris. Les recherches actuelles continuent, dans leur grande majorité, à l'utiliser.

Ce travail a un double objectif. Le premier est de faire le point sur les principaux gènes et autres facteurs impliqués dans la morphogenèse de la lèvre supérieure et du palais (et donc impliqués dans la formation des fentes labiopalatines). Le deuxième est d'expliquer pourquoi et comment les scientifiques utilisent les modèles animaux (en particulier la souris) dans la recherche sur les fentes labiopalatines.

Après avoir rappelé quelques notions concernant les fentes labiopalatines, nous nous intéresserons à l'embryologie crâniofaciale, en se concentrant particulièrement sur la morphogenèse du nez, de la lèvre supérieure et du palais.

Nous aborderons ensuite les principaux mécanismes de régulation impliqués dans ces phénomènes, c'est-à-dire les gènes et autres molécules qui interviennent dans la formation des fentes labiopalatines.

Nous terminerons ce travail en expliquant comment la recherche scientifique utilise les animaux génétiquement modifiés en présentant cinq études concernant notre sujet.

Nous nous limiterons à l'étude des fentes isolées, c'est-à-dire celles qui ne sont pas associées à un syndrome malformatif.

1 LES FENTES LABIOPALATINES

1. Définition

Les fentes labiopalatines représentent les troubles congénitaux orofaciaux les plus fréquents, avec une prévalence combinée (fentes labiales avec ou sans fente palatine et fentes palatines seules) de 1/700 naissances (26). Elles sont la conséquence de la défaillance du développement orofacial par défaut de fusion des bourgeons de la face.

Les fentes labiopalatines ont une étiologie multifactorielle, composée d'un volet génétique et de facteurs environnementaux, complexe et largement méconnue (31) (35) (41) :

- étiologie génétique : une mutation sur l'un des nombreux gènes intervenant dans la morphogenèse orofaciale peut entraîner une fente labiopalatine. Nous aborderons largement ce sujet tout au long de ce travail.

- facteurs environnementaux : les principaux sont :
 - le tabac : le lien entre les deux n'est pas très fort, mais est significatif, avec un risque relatif d'environ 1,5. Celui-ci est augmenté en cas de background génétique positif,
 - l'alcool : la consommation d'alcool chez la mère augmenterait les risques de fente labiopalatine de 1,5 à 4,7 fois ; ce chiffre dépend de la dose d'alcool consommée. Le lien entre les deux reste à approfondir,
 - l'acide folique et la cobalamine (vitamine B9 et vitamine B12) : un manque de ces deux vitamines a été observé chez des mères d'enfants atteints de fente labiopalatine,
 - les stéroïdes : la prise de corticostéroïdes pendant la grossesse peut augmenter les risques de fente labiopalatine,
 - Les anticonvulsivants (phénytoïne, acide valproïque) : leur prise chez la femme enceinte augmente clairement et significativement les risques de troubles congénitaux, y compris les fentes labiopalatines.

La majorité des fentes labiopalatines sont isolées (70% des cas), c'est à dire qu'elles ne sont pas associées à un syndrome malformatif. Les 30% restantes sont donc associées à un syndrome malformatif, où nous les retrouvons en compagnie d'autres dysmorphoses. Bien que notre travail se limite à l'étude des fentes non syndromiques, il est tout de même intéressant de présenter succinctement les principaux syndromes malformatifs associant une fente labiopalatine avec d'autres dysmorphoses :

- **Le syndrome de Van der Woude** : il est caractérisé par de petites dépressions (ou fistules) de la lèvre inférieure, de profondeur variable, associées ou non à une fente labiale, labiopalatine ou palatine. C'est le plus fréquent des syndromes avec fente orofaciale ;
- **le syndrome d'Apert** : cette maladie est une craniosynostose (fermeture prématurée, par soudure anticipée, d'une ou plusieurs sutures de la boîte crânienne) ;
- **le syndrome de Crouzon** : est aussi une craniosynostose ;
- **le syndrome de Pierre Robin** : la séquence de Pierre Robin est un groupe de maladies dont les symptômes comprennent au moins la triade orofaciale suivante : rétrognathisme – fente vélo-palatine médiane – glossoptose ;
- **Le syndrome de Treacher Collins** : trouble congénital du développement craniofacial caractérisé par une dysplasie oto-mandibulaire bilatérale et symétrique sans anomalie des extrémités, associée à diverses anomalies de la tête et du cou.

2. Formes cliniques



Fig. 1

2.1. Formes anatomo-cliniques (5) (29) (37)

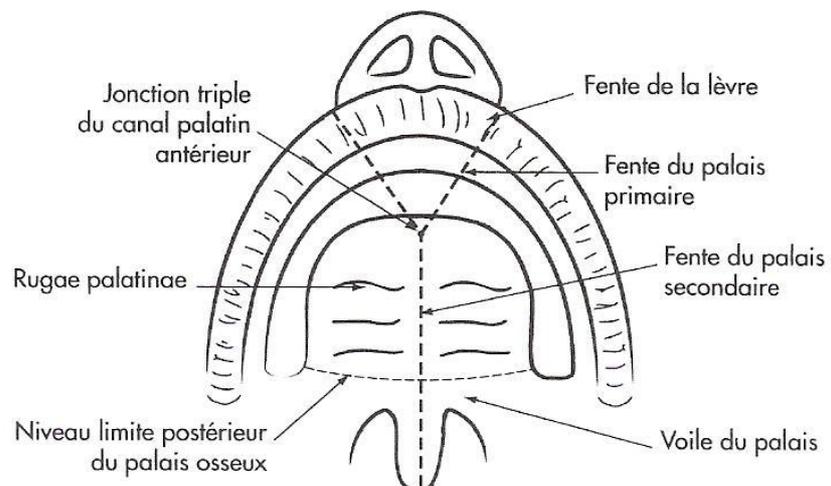


Fig. 2 : le palais et la lèvre supérieure vue inférieure

www.orthoedition.com, 2012

2.1.1. Fentes labio-alvéo-narinaires (fentes du palais primaire)

- **la fente labiale partielle** (Fig. 3) : simple encoche de la lèvre rouge (partie muqueuse ou vermillon) avec parfois une cicatrice de la lèvre blanche (partie cutanée) et asymétrie labiale et nasale,

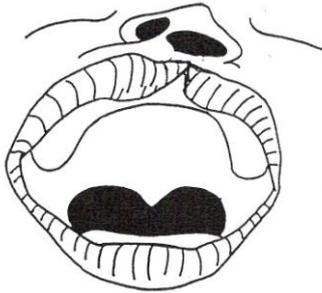


Fig. 3 : fente labiale unilatérale partielle
www.orthoedition.com, 2012

- **la fente labiale totale** : fente de la lèvre rouge et de la lèvre blanche, se prolongeant jusqu'à la narine, sans toutefois la déformer,
- **la fente labio-narinaire** (Fig. 4) : fente labiale totale avec ouverture du seuil narinaire et étalement de l'aile du nez,

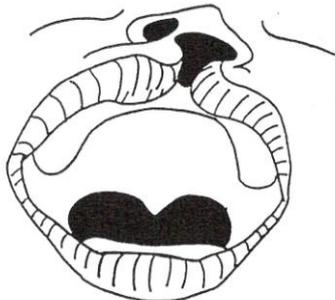


Fig. 4 : fente labio-narinaire unilatérale
www.orthoedition.com, 2012

- **la fente labio-alvéolaire et narinaire totale** (Fig. 5) : intéresse l'arcade alvéolaire et la partie antérieure du palais (jusqu'au foramen incisif), avec déformation nasale maximale,

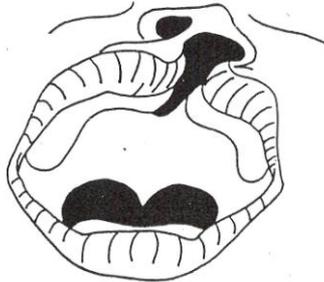


Fig. 5 : fente labio-alvéo-narinaire unilatérale totale
www.orthoedition.com, 2012

- **les formes bilatérales** (Fig. 6) : toutes les situations évoquées précédemment sont possibles. Dans 2/3 des formes bilatérales, la déformation est symétrique, isolant un bourgeon médian plus ou moins hypoplasique, avec une hauteur de lèvre réduite.

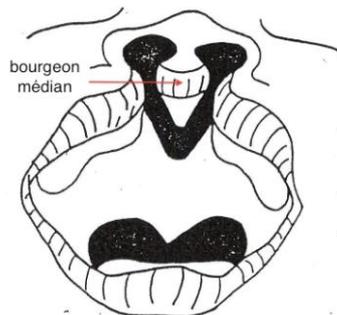


Fig. 6 : fente labio-alvéo-narinaire bilatérale totale
www.orthoedition.com, 2012

2.1.2. Fentes vélares ou vélopalatines (fentes du palais secondaire)

- **la division sous-muqueuse du voile** : on retrouve deux colonnes musculaires saillantes sous une muqueuse intacte. Minime, elle passe souvent inaperçue à la naissance. On observe une zone translucide sur la ligne médiane, à l'union du voile et de la voûte (ou sur le voile seul), ainsi qu'une encoche osseuse palatine. Dans 90% des cas, la luvette est bifide,
- **la fente vélaire partielle** (Fig. 7) : elle laisse une sangle musculaire antérieure intacte,

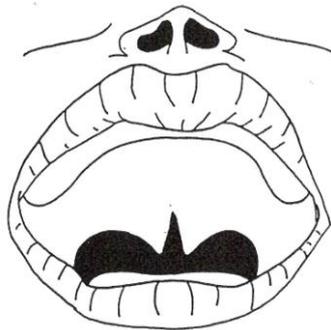


Fig. 7 : fente vélaire
www.orthoedition.com, 2012

- **la fente vélo-palatine** (Fig. 8) : partielle ou complète, elle peut s'étendre jusqu'au foramen incisif,

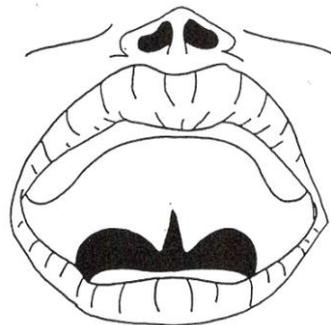


Fig. 8 : fente vélo-palatine partielle
www.orthoedition.com, 2012

- **les formes bilatérales** : dans les fentes vélo-palatines, la fente peut être bilatérale, mettant les deux fosses nasales en communication avec la cavité buccale. Le vomer est alors libre, au milieu de la fente.

2.1.3. Fentes associées : labio-alvéolaires ou vélopalatines

Représentant 45% des fentes, elles sont l'association des deux types précédents. Elles peuvent être :

- soit **séparées par un pont cutanéomuqueux, fibromuqueux voire osseux** (Fig. 9)

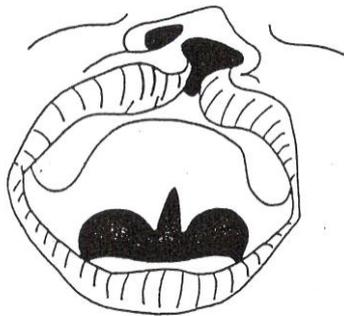


Fig. 9 : fente labiale unilatérale et division vélaire
www.orthoedition.com, 2012

- soit **totales uni** (Fig. 10) ou **bilatérales** (Fig. 11). Dans les formes totales bilatérales, le maxillaire est divisé en deux fragments

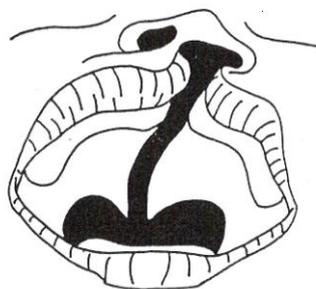


Fig. 10 : fente unilatérale totale



Fig. 11 : fente labiopalatine totale bilatérale

2 MORPHOGENESE CRÂNIOFACIALE

Cette deuxième partie va nous permettre de bien comprendre les différentes étapes de la formation crâniofaciale.

Nous commencerons par rappeler brièvement les étapes initiales de l'embryologie crâniofaciale, puis nous rentrerons plus dans les détails concernant la morphogenèse de la face et des maxillaires, et particulièrement la palatogenèse.

1. Les étapes initiales de l'embryologie crâniofaciale

Après un bref rappel sur l'acquisition de l'identité crâniocaudale, nous développerons plus en profondeur les arcs branchiaux et leurs dérivés.

1.1. Acquisition de l'identité crâniocaudale (10)

Le développement embryonnaire crâniofacial passe par une succession d'étapes déterminantes parmi lesquelles survient de façon précoce la formation de l'axe crâniocaudal.

Cet axe s'amorce dès la fin de la 2^{ème} semaine IU par la mise en place de la ligne primitive (fig. 12) au sein du disque embryonnaire didermique.

Il s'affirme par la suite avec l'apparition de la corde au sein du disque embryonnaire tridermique, puis par la formation en plusieurs étapes des structures nerveuses (tube neural et crêtes neurales). Dans le territoire céphalique de l'embryon, la segmentation du cerveau postérieur en rhombomères pairs et impairs, accompagnée de la segmentation en somitomères qui, pour la plupart, donnent naissance aux somites, amorce la migration des cellules dérivées des crêtes neurales (Fig. 13) et celles du mésenchyme para-axial vers les arcs branchiaux, autre système segmenté.

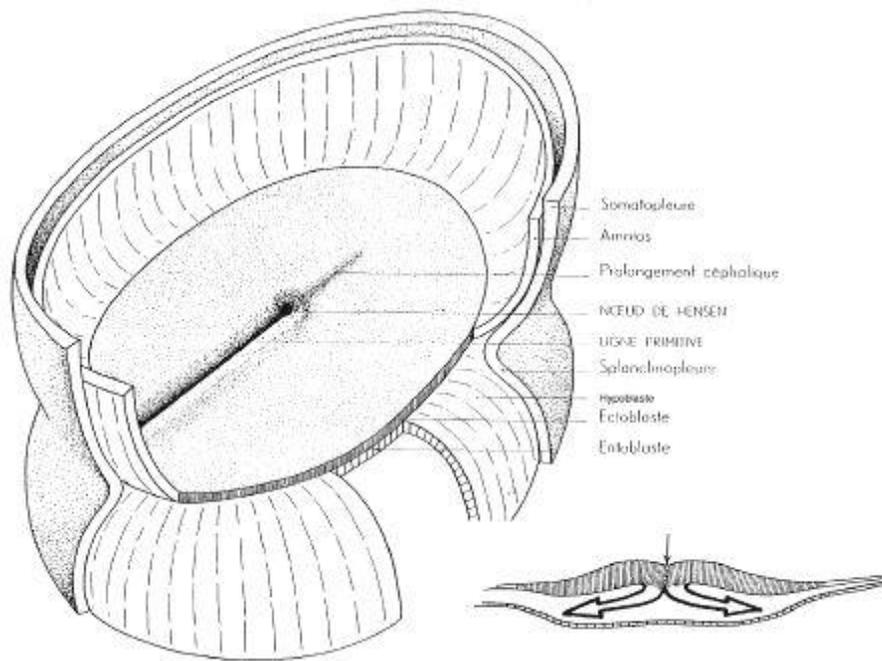


Fig.12 : ligne primitive

Pr. Daniel BALAS 2008, www.db-gersite.com

Le développement crâniofacial implique dès lors deux phénomènes majeurs :

- le développement et la croissance du cerveau antérieur qui contribuent à l'évolution de la courbure de la partie céphalique de l'embryon et déterminent directement la morphogénèse et la croissance de la tête ;
- la formation de la face autour de la cavité stomodéale, qui s'accompagne de la formation de la région nasale, des maxillaires et de la mandibule.

Dès la mise en place des premières ébauches, il devient possible de décrire :

- la morphogénèse des structures non minéralisées, qui ont une importance primordiale dans de nombreux organes (muscles de la face et de la langue, glandes salivaires, thyroïde et parathyroïdes) ;
- les structures osseuses minéralisées du squelette crânien impliquant deux types d'ossification primaire : ossification de membrane et ossification de type endochondral.

Chaque événement, chaque séquence s'accompagnent de changements morphologiques partant de la première apparition de l'ébauche d'un organe, pour

passer par l'acquisition de sa forme (morphogenèse proprement dite) et aboutir aux changements qui vont accompagner et rendre possible sa différenciation fonctionnelle (différenciation tissulaire ou histogénèse).

Ces différentes étapes sont liées à de multiples facteurs génétiques et épigénétiques de régulation (activation de gènes impliqués dans le développement, expression de facteurs de transcription et de facteurs de croissance, etc.). L'interaction entre gènes et facteurs épigénétiques contribue à rendre particulièrement complexe l'écheveau constitué par ces différents éléments.

En l'absence de compensation, le défaut de tel ou tel de ces facteurs peut conduire à des anomalies congénitales du développement crâniofacial.

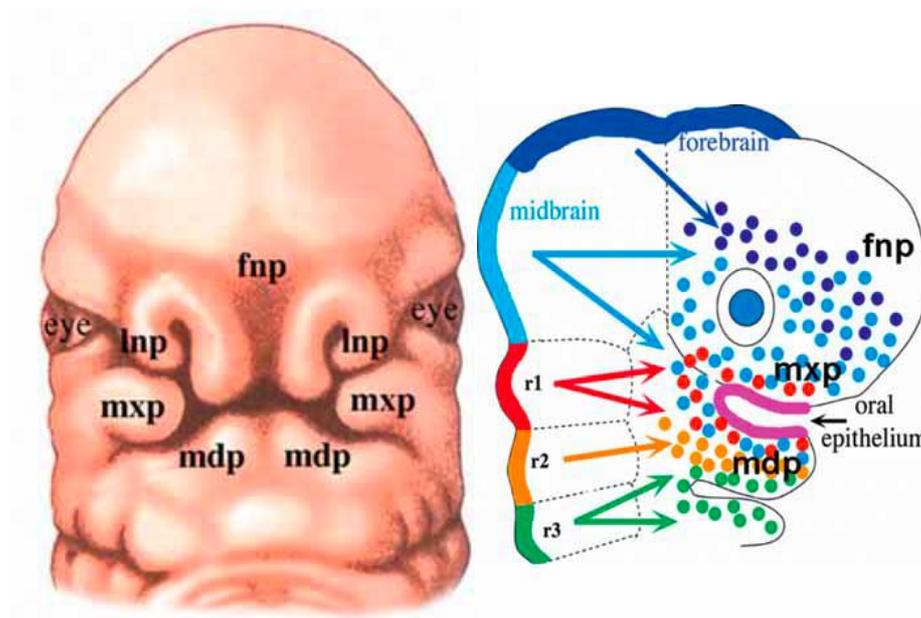


Fig.13 : Chaque groupe de cellules issues des crêtes neurales est destiné à suivre un chemin de migration spécifique et atteindre une destination finale spécifique. Ici, les cellules des crêtes neurales prolifèrent et forment les bourgeons faciaux.

fnp = bourgeon nasofrontal ; **lnp** = bourgeon nasal externe ; **mxp** = bourgeon maxillaire ; **mdp** = bourgeon mandibulaire ; **r** = rhombomère.

Bruce M. Carlson, « Human embryology and developmental biology », 2004

1.2. Les arcs branchiaux et leurs dérivés (10)

1.2.1. Appareil pharyngien et dérivés de la face et du cou (10)

1.2.1.1. *structure et fonctions*

L'appareil branchial est un système transitoire dont l'architecture de base est liée aux modifications de l'extrémité céphalique.

Les arcs branchiaux se développent chez tous les vertébrés. Chez les gnathostomes (groupe rassemblant les vertébrés pourvus d'une mâchoire), le 1^{er} arc donne naissance aux maxillaires et à la mandibule. Les autres arcs branchiaux forment les branchies chez les poissons et beaucoup d'autres structures de la face et du cou chez l'homme.

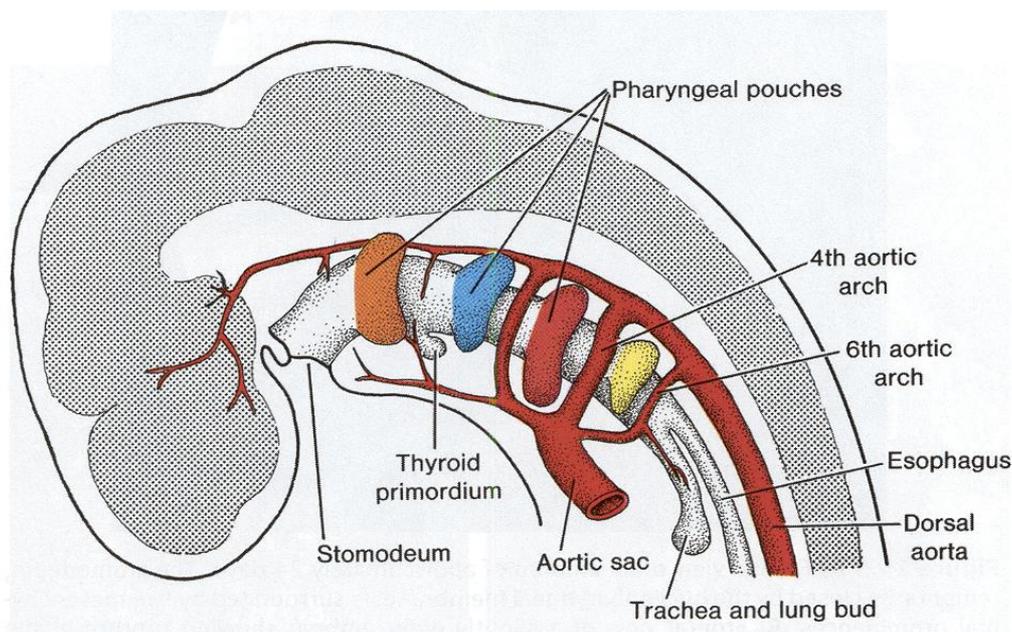


Fig. 14 : appareil pharyngien à la fin de la 4^{ème} semaine IU
Université Catholique de Louvain, 2012, www.md.ucl.ac.be

Chez l'homme, cinq (ou six) paires d'arcs pharyngés se forment selon une séquence crâniocaudale, de part et d'autre du stomodéum (Fig. 14).

Pour l'embryon humain, les cinq arcs pharyngés jouent un rôle correspondant aux 1^{er}, 2^{ème}, 3^{ème}, 4^{ème} et 6^{ème} arcs branchiaux. Le 5^{ème} arc peut ne pas se former chez l'homme, ou peut former un rudiment éphémère qui régresse rapidement.

Comme beaucoup d'autres structures du corps, les arcs pharyngés se forment selon une succession crâniocaudale :

- le 1^{er} arc apparaît à j22 IU
- les 2^{ème} et 3^{ème} à j24 IU
- les 4^{ème} et 6^{ème} à j29 IU

Chaque arc contient un support cartilagineux, une artère aortique et un nerf spécifiquement associé à un nerf crânien : V (1^{er} arc pharyngé), VII (2^{ème} arc), IX (3^{ème} arc), X (4^{ème} et 6^{ème} arcs) (Fig. 15).

Le cartilage qui se forme au sein des arcs pharyngés est dérivé des crêtes neurales encéphaliques, à l'exception des cartilages des arcs 4 et 6 qui dérivent des bords latéraux du mésoblaste.

Les éléments du viscérocône proviennent de l'évolution des arcs pharyngés cartilagineux qui se développent à partir d'une condensation mésenchymateuse à l'intérieur de chaque arc. La condensation mésenchymateuse du 1^{er} arc provient de l'ectomésenchyme dérivé des crêtes neurales.

Les arcs branchiaux donnent naissance à des structures squelettiques qui ne passent pas obligatoirement par des précurseurs cartilagineux. Les cartilages qui leurs sont associés assurent une fonction de soutien, mais ne sont pas impliqués dans l'ossification endochondrale. L'appareil branchial présente des poches qui vont soit s'effacer, soit donner naissance à des canaux.

Les muscles de l'expression faciale proviennent du 2^{ème} arc branchial, tandis que la langue et le larynx proviennent du 4^{ème} et 6^{ème} arcs branchiaux.

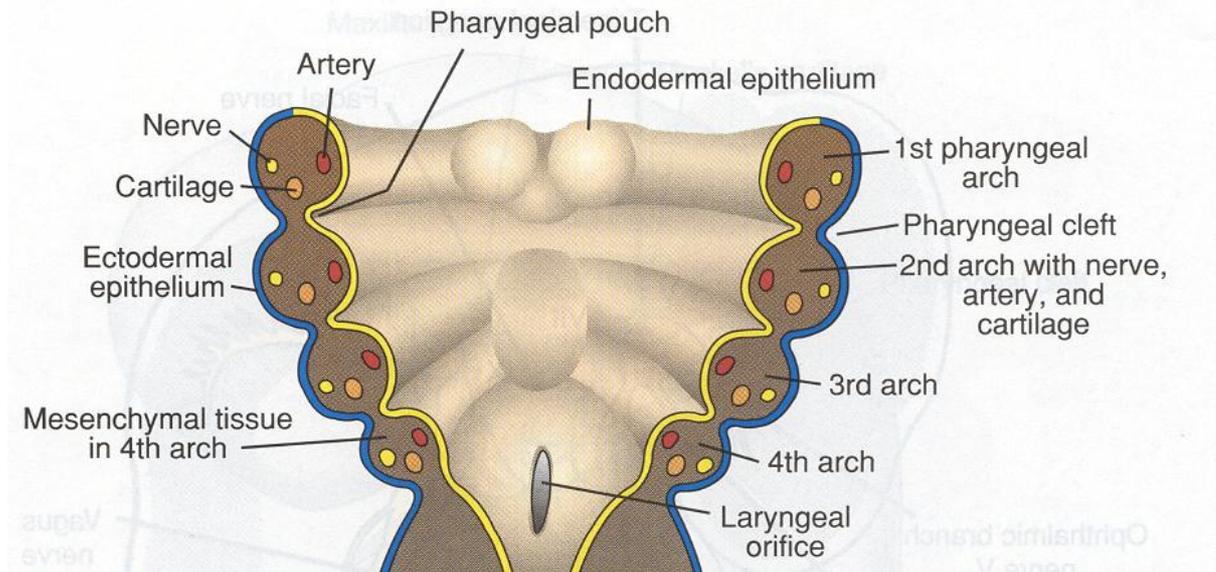


Fig. 15 : arcs pharyngiens avec leurs artères, nerfs et cartilages respectifs
UCL, 2012, www.md.ucl.ac.be

1.2.1.2. structure au cours de l'embryogenèse et dérivés des arcs branchiaux (Fig. 16) (10)

- 1^{er} arc pharyngé (ou arc branchial maxillomandibulaire)

Une fois que le 1^{er} arc pharyngé est développé, il est remodelé pour donner naissance à un bourgeon maxillaire contenant la barre ptérygo-palato-quadrante (cartilage central des maxillaires), et un bourgeon mandibulaire contenant le cartilage de Meckel. Ces protubérances donnent naissance aux héli-maxillaires et héli-mandibule droits et gauches, qui fusionneront ultérieurement au niveau médian. Les os qui se forment au niveau de cet arc sont des os de membrane, donc ils ne passent pas par le stade cartilagineux, ce qui les distingue des ossifications endochondrales. Les cartilages ne contribuent donc pas à l'ossification, mais à assurer transitoirement une fonction structurale.

Le 1^{er} arc est centré dans sa partie mandibulaire sur le cartilage de Meckel qui disparaîtra ensuite, sauf à ses extrémités (d'où sont issus le marteau et l'enclume de l'oreille moyenne).

Dans la partie constituée par le bourgeon maxillaire, chaque prolongement contient en son centre un élément cartilagineux, la barre ptérygo-palato-quadrate, qui résulte de la colonisation par les cellules des crêtes neurales.

La barre ptérygo-palato-quadrate renforce le bourgeon maxillaire du 1^{er} arc, et, par ossification de membrane du tissu adjacent, vont se former le maxillaire, l'os zygomatique et l'apophyse zygomatique du temporal.

Le 1^{er} arc contribue à la formation du muscle mylohyoïdien, du ventre antérieur du digastrique, du tenseur vélopalatin et du muscle du marteau.

Il est également à l'origine de l'incus, du malléus, du ligament antérieur du malléus et du ligament sphéno-mandibulaire.

Il est innervé par le V et est vascularisé par le premier arc aortique.

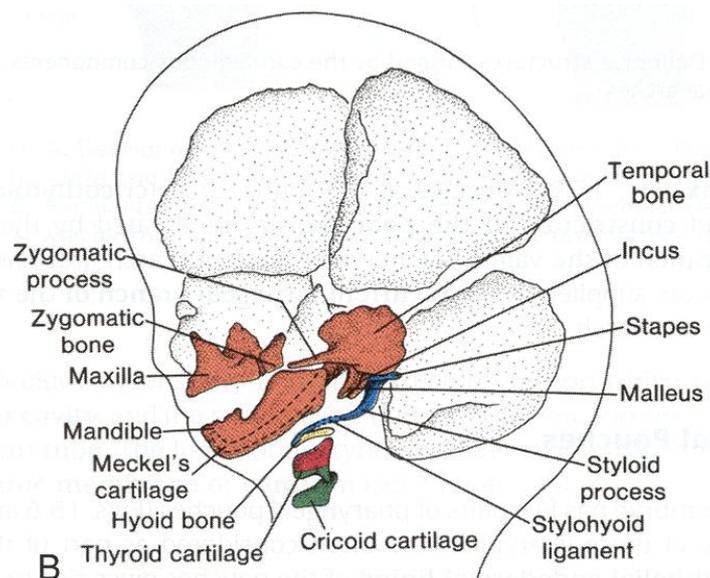


Fig. 16 : différentes structures dérivées des arcs pharyngés

UCL, 2012, www.md.ucl.ac.be

- 2^{ème} arc pharyngé (ou arc hyoïdien)

Le cartilage du 2^{ème} arc, le cartilage de Reichert, a pour origine des cellules dérivées des crêtes neurales, et subit une ossification enchondrale.

Il est à l'origine du stapès, de l'apophyse styloïde du temporal et de certaines parties de l'os hyoïde (petites cornes et partie supérieure du corps).

Le 2^{ème} arc intervient dans la formation de muscles cutanés de la face (buccinateur, auriculaire, muscles frontaux, orbiculaires des lèvres et des paupières), du ventre postérieur du digastrique, du stylohyoïdien et du stapédien.

Il est innervé par le VII et est vascularisé par le deuxième arc aortique (artère carotide externe).

- 3^{ème} arc pharyngé (ou arc thyroïdien)

Le 3^{ème} arc subit également une ossification endochondrale. Il participe à la formation d'une partie du corps et des grandes cornes de l'os hyoïde, du muscle stylopharyngien et du muscle constricteur supérieur du pharynx.

Il est innervé par le IX et est vascularisé par le troisième arc aortique (artère carotide interne).

Les arcs branchiaux suivant n'intéressant pas directement la formation de la tête, nous ne les développerons pas ici.

1.2.1.3. sillons et poches branchiales (10) (11)

- devenir des sillons branchiaux ou pharyngiens ou poches branchiales épiblastiques (ectoderme orofacial) (Fig. 17)

Les sillons branchiaux ou pharyngiens, également nommés poches branchiales épiblastiques, sont observés dès la cinquième semaine de la vie embryonnaire. Ils séparent les arcs branchiaux côté externe (épiblastique). Ils vont disparaître ensuite pendant le développement de l'embryon.

Les 2^{ème}, 3^{ème} et 4^{ème} sillons sont couverts par le 2^{ème} arc branchial. Ces poches épiblastiques sont progressivement enfouies et perdent toute connexion avec l'extérieur. Elles forment temporairement une cavité tapissée : le sinus caveux, qui disparaît ensuite complètement. Il constitue un espace bordé par un épithélium squameux, le sinus cervical, qui lui-même disparaît pendant l'extension de la flexion cervicale. On décrit des vestiges du sinus cervical qui peuvent provoquer la formation

d'un kyste branchial avec fistule pharyngocutanée par où la salive fuit pendant la mastication.

Le 1^{er} sillon branchial est le seul qui persiste partiellement. Il va former l'épithélium du conduit auditif externe et une partie de la membrane tympanique.

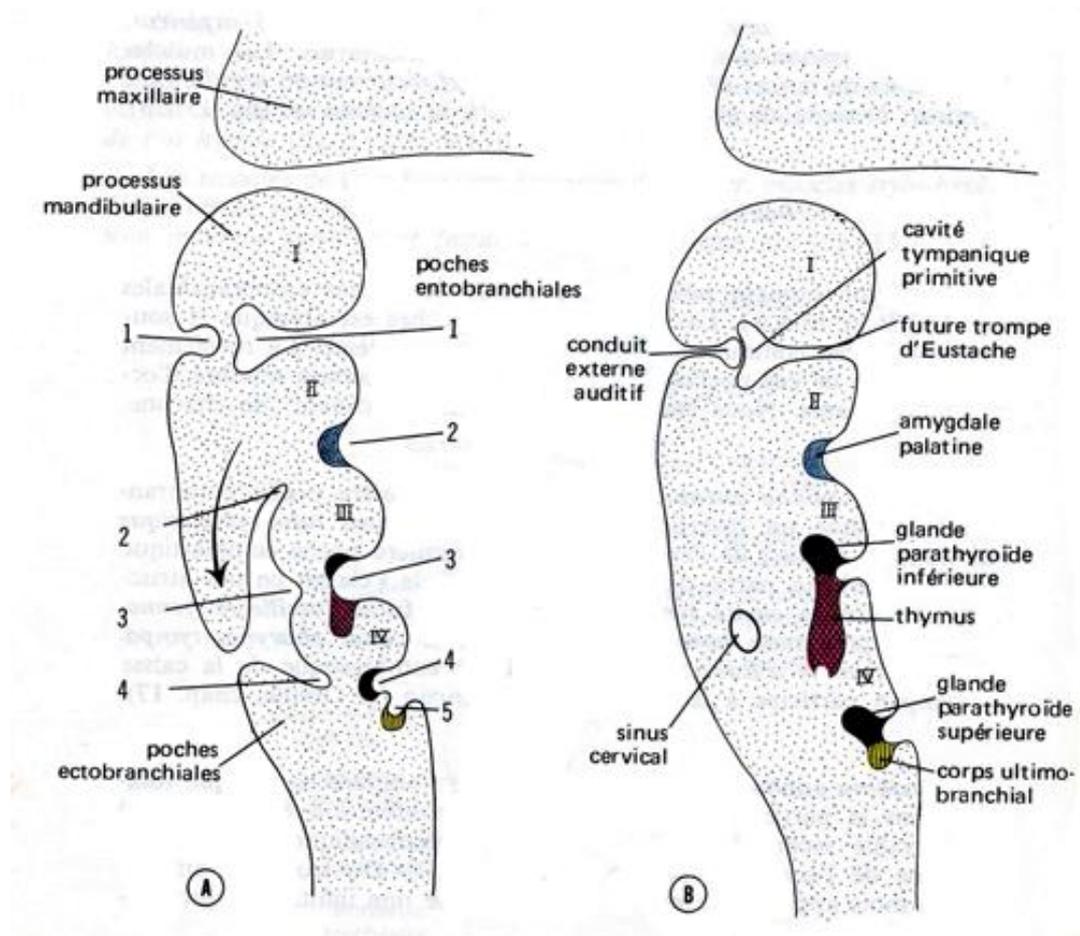


Fig.17 : devenir des sillons et poches branchiales
 Université de Strasbourg, 2012, <http://udsmed.u-strasb.fr>

- devenir des sillons et poches branchiales endoblastiques (endoderme pharyngé) (Fig. 17)

L'embryon humain possède cinq paires de poches endoblastiques ou entobranchiales. Les quatre 1^{ères} paires de poches sont bien développées. La 5^{ème} paire, un diverticule de la 4^{ème}, est rudimentaire ou absente. Les poches branchiales endoblastiques sont des diverticules en forme de ballon qui séparent les arcs branchiaux côté mésoblastique.

La 1^{ère} poche est située entre les 1^{er} et 2^{ème} arcs branchiaux. Ces arcs entourent le pharynx primitif à l'intérieur duquel se développent des structures comme la langue, les amygdales, la trompe d'Eustache, la thyroïde, le thymus et les parathyroïdes.

La 1^{ère} poche branchiale s'allonge et donne naissance au diverticule tubotympanique. La portion distale atteint le 1^{er} sillon branchial et forme la cavité tympanique, future oreille moyenne, et l'antre mastoïdien. Le reste (partie proximale) forme le canal pharyngotympanique, la future trompe d'Eustache qui s'ouvre dans le pharynx. La fusion des feuillets ectodermique et endodermique forme le tympan.

La 2^{ème} poche branchiale forme la fosse amygdalienne. A son extrémité, l'épithélium endodermique forme l'amygdale palatine, qui est infiltrée entre les 3^{ème} et 5^{ème} mois par du tissu lymphatique, ce qui aboutit à la formation des ganglions lymphatiques. Ce tissu persiste en partie et constitue la loge amygdalienne.

La 3^{ème} poche branchiale forme les parathyroïdes inférieures à partir de son épithélium rostral (supérieur) et le thymus à partir de son épithélium caudal (inférieur).

La 4^{ème} poche branchiale, ou bourgeon thyroïdien, est atrophiée chez l'homme. Elle contribue à la formation des glandes parathyroïdes supérieures.

La 5^{ème} poche branchiale, ou diverticule de la 4^{ème} poche branchiale, forme le corps ultimobranchial qui participe à la formation de la glande thyroïde. Cette structure est à l'origine des cellules C ou parafolliculaires, sécrétant la calcitonine.

2. Morphogenèse de la face et des maxillaires

Nous débuterons cette deuxième partie par l'étude des différentes étapes de la formation et du développement de la face pendant les périodes embryonnaire et foetale, puis nous aborderons plus précisément la palatogenèse et la formation des maxillaires.

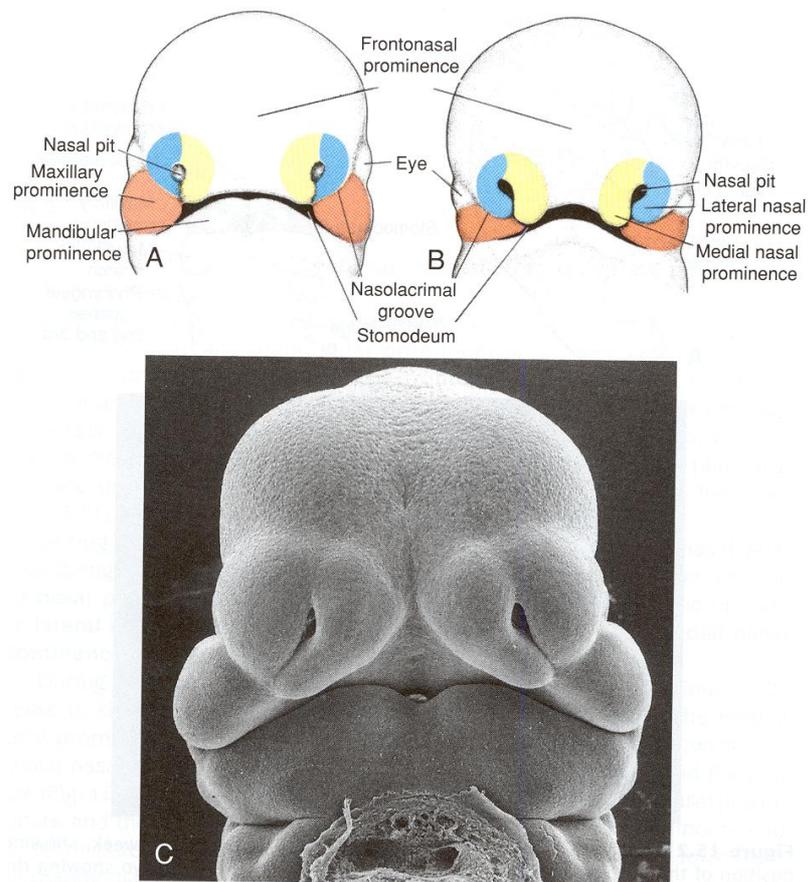


Fig. 18 : embryon vue de face ; A : schéma vue frontale 4^{ème} semaine IU ; B : schéma vue frontale 5^{ème} semaine IU ; C : embryon vue frontale 4^{ème} semaine IU

2.1. Le développement de la face pendant les périodes embryonnaire et foetale

2.1.1. Le viscérocrâne (11)

Le viscérocrâne ou squelette de la face est formé à partir des deux 1^{ers} arcs branchiaux soutenus par leurs axes cartilagineux (Fig. 19).

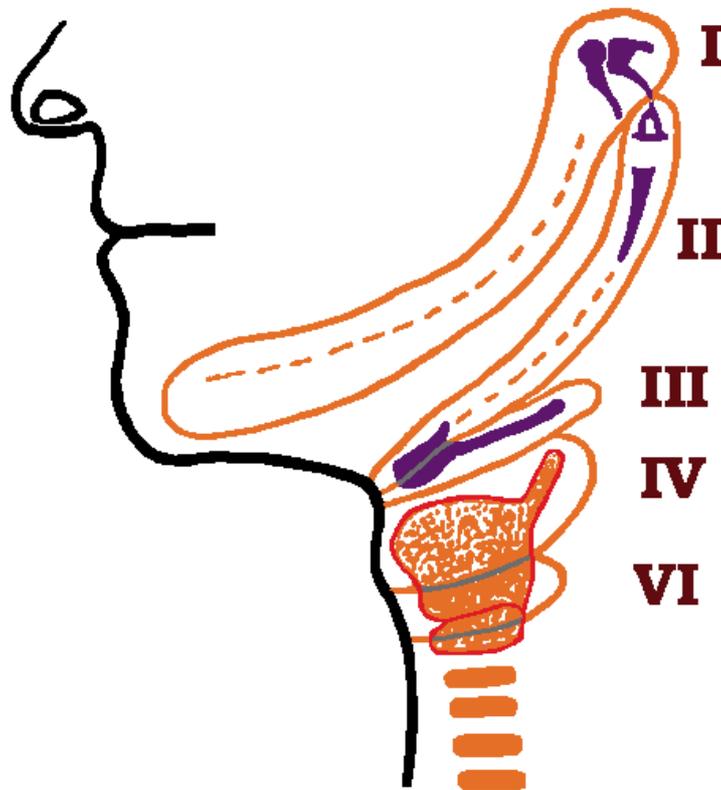


Fig. 19 : dérivés des cartilages branchiaux
www.coursmedecine.com, 2012

Le viscérocrâne s'oppose au neurocrâne, qui constitue l'étui protecteur du cerveau.

La face est formée par la fusion de cinq protubérances faciales (bourgeons), ce processus intervenant entre les 4^{ème} et 10^{ème} semaines IU. Il s'agit :

- du bourgeon nasofrontal (ou frontonasal), impair et médian ;
- d'une paire de bourgeons maxillaires ;
- d'une paire de bourgeons mandibulaires.

Les bourgeons maxillaires et mandibulaires proviennent du 1^{er} arc branchial dont ils constituent les régions crâniale et caudale. Ils seront à l'origine des maxillaires et de la mandibule.

Le bourgeon nasofrontal formera le front et les tempes. Les placodes nasales (ou olfactives) paires et d'origine épiblastique se développent à la base de ce bourgeon.

2.1.2. Les bourgeons de la face (11) (Fig. 18)

La face résulte du soulèvement épiblastique par les masses mésodermiques, autour d'une dépression du pôle céphalique : le stomodéum. A la fin de la 4^{ème} semaine IU, les cinq bourgeons apparaissent autour de celui-ci (Fig. 20).

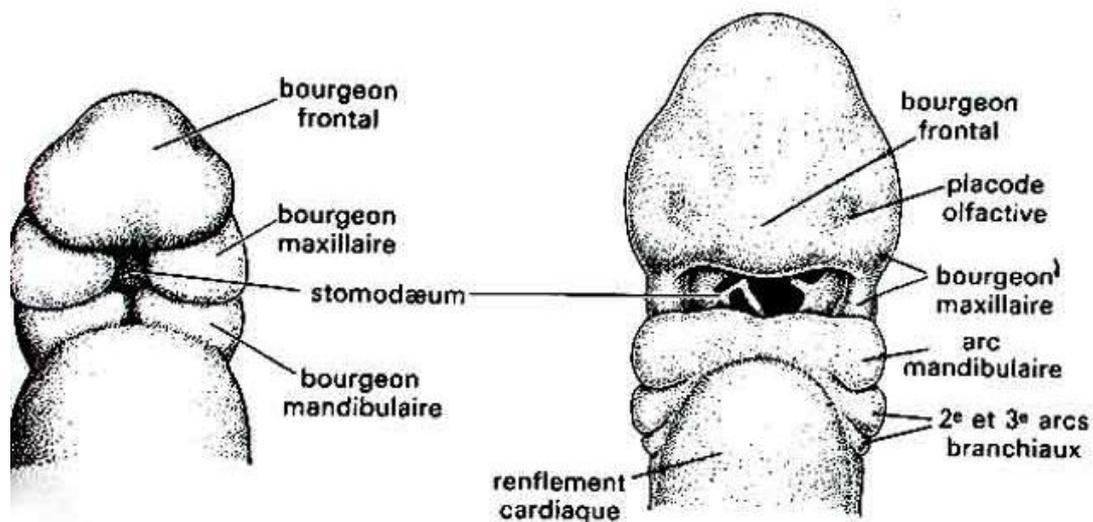


Fig. 20 : schéma de gauche : vue frontale d'un embryon d'environ 24 jours ; schéma de droite : vue frontale d'un embryon un peu plus âgé

2.1.2.1. *Bourgeon frontal*

Impair et médian, il constitue la limite supérieure du stomodéum. Il provient d'une prolifération en avant des tissus mésenchymateux de recouvrement du prosencéphale.

2.1.2.2. *Bourgeons maxillaires*

Pairs, issus d'un bourgeonnement latéral du 1^{er} arc branchial. Ils constituent les limites latérales du stomodéum.

2.1.2.3. *Bourgeons mandibulaires*

Pairs et symétriques, ils proviennent du 1^{er} arc branchial. Ils forment la limite inférieure ou plancher du stomodéum.

2.1.3. Les placodes olfactives (ou nasales) (11)

Les placodes olfactives sont des épaissements bilatéraux ovalaires de l'épiblaste de surface qui se développent de chaque côté de la partie inférieure du bourgeon frontal, juste au-dessus du stomodéum (fin de la 4^{ème} semaine IU).

Au bord des placodes se forment les bourgeons nasaux internes et externes (qui ont une forme de fer-à-cheval). Ces proliférations mésenchymateuses se forment à la 5^{ème} semaine IU. Les placodes olfactives forment alors des dépressions appelées cupules olfactives (Fig. 21).

- le bourgeon nasal interne sera à l'origine de :
 - l'aile du nez ;
 - la partie médiane de la lèvre supérieure ;
 - la partie antérieure et médiane du maxillaire.

- les bourgeons nasaux externes fusionnent avec les bourgeons maxillaires, formant ainsi les parties externes et latérales du nez, ainsi que la joue.

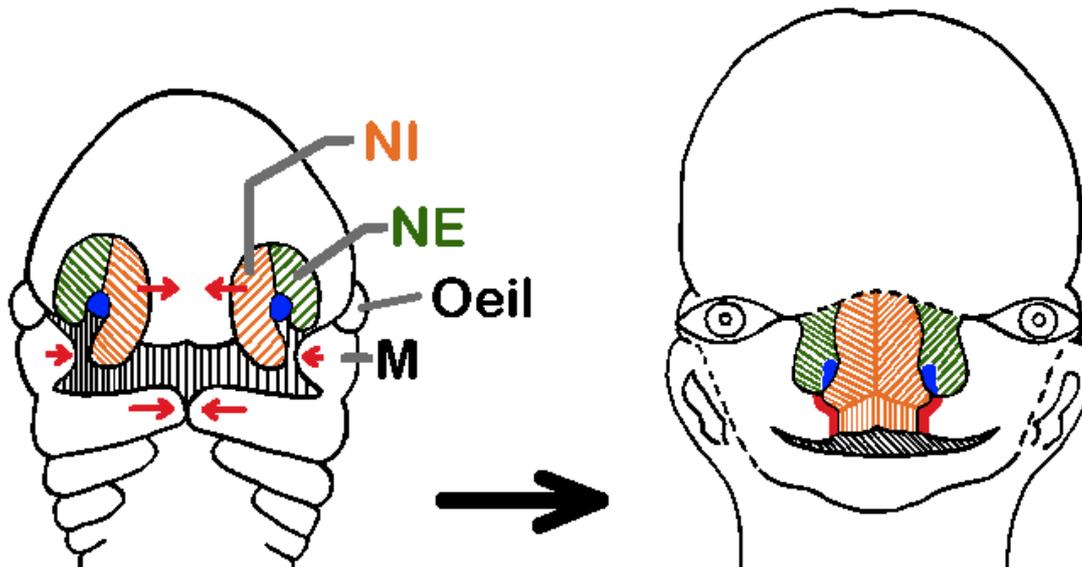


Fig. 21 : devenir des bourgeons nasaux ; NI = bourgeon nasal interne ; NE = bourgeon nasal externe ; M = bourgeon maxillaire ; les zones bleues représentent les placodes olfactives.

www.coursmedecine.com, 2012

Pendant la 6^{ème} semaine IU, les bourgeons nasaux internes migrent l'un vers l'autre et fusionnent sur la ligne médiane pour donner l'ébauche du septum du nez.

Pendant la 7^{ème} semaine IU, les bourgeons nasaux internes se développent et fusionnent avec les bourgeons maxillaires, fermant ainsi l'arc maxillaire supérieur. Le conduit lacrymal provient quant à lui du sillon naso-lacrymal, qui sépare le bourgeon nasal externe du bourgeon maxillaire.

2.1.4. La formation de la face (11) (39) (Fig. 23)

Pendant la 7^{ème} semaine IU, on assiste à la formation du segment intermaxillaire (Fig. 22). Ce terme désigne la région où les deux bourgeons nasaux internes fusionnent. Il est associé à la formation de la partie moyenne du philtrum de la lèvre supérieure, de la partie moyenne des maxillaires, et du palais primaire.

Les bourgeons maxillaires vont quant à eux contribuer à la formation :

- des parties latérales de la lèvre supérieure ;
- des maxillaires ;
- du palais secondaire

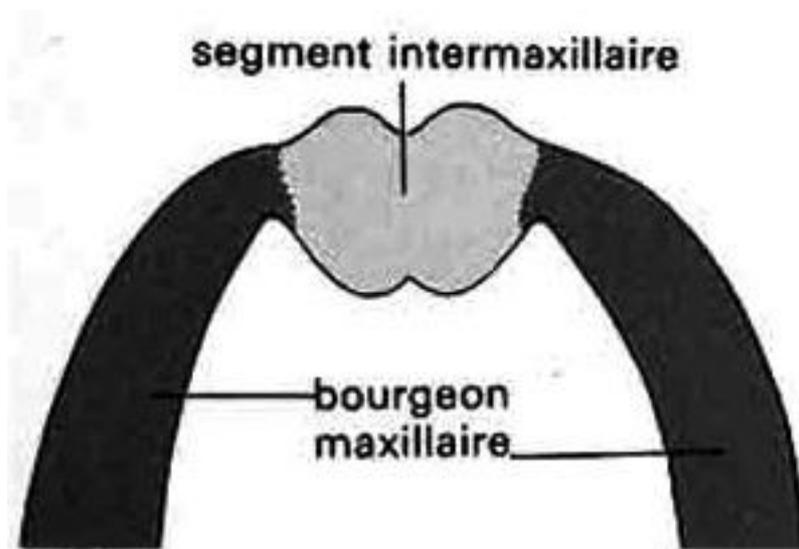


Fig. 22 : segment intermaxillaire vue inférieure
Université de Strasbourg, 2012, <http://udsmed.u-strasb.fr>

Le bourgeon frontal forme le front, le dos et la racine du nez. Les maxillaires proviennent donc de la fusion entre :

- les segments provenant du bourgeon nasofrontal et de la partie du bourgeon nasal interne ;
- et les bourgeons maxillaires provenant du 1^{er} arc branchial

Leur formation est liée à l'organisation de la cavité stomodéale et à la formation de la cavité nasale.

La formation des maxillaires accompagne la morphogenèse du palais et les transformations qui affectent la cavité stomodéale.

2.1.5. Les fosses nasales (11) (39) (Fig. 23)

Pendant la 6^{ème} semaine IU, les fossettes nasales se creusent à partir des cupules olfactives. Ces fossettes sont séparées de la cavité stomodéale par la membrane oronasale.

A la fin de la 7^{ème} semaine IU, les bourgeons maxillaires fusionnent avec le segment intermaxillaire, pour former le plancher des fosses nasales (ou palais primaire).

Parallèlement, la membrane oronasale disparaît, faisant ainsi communiquer les fosses nasales primitives avec la cavité buccale par deux orifices postérieurs, les choanes primitives.

Celles-ci formeront ultérieurement les choanes définitives, entre le pharynx et les fosses nasales.

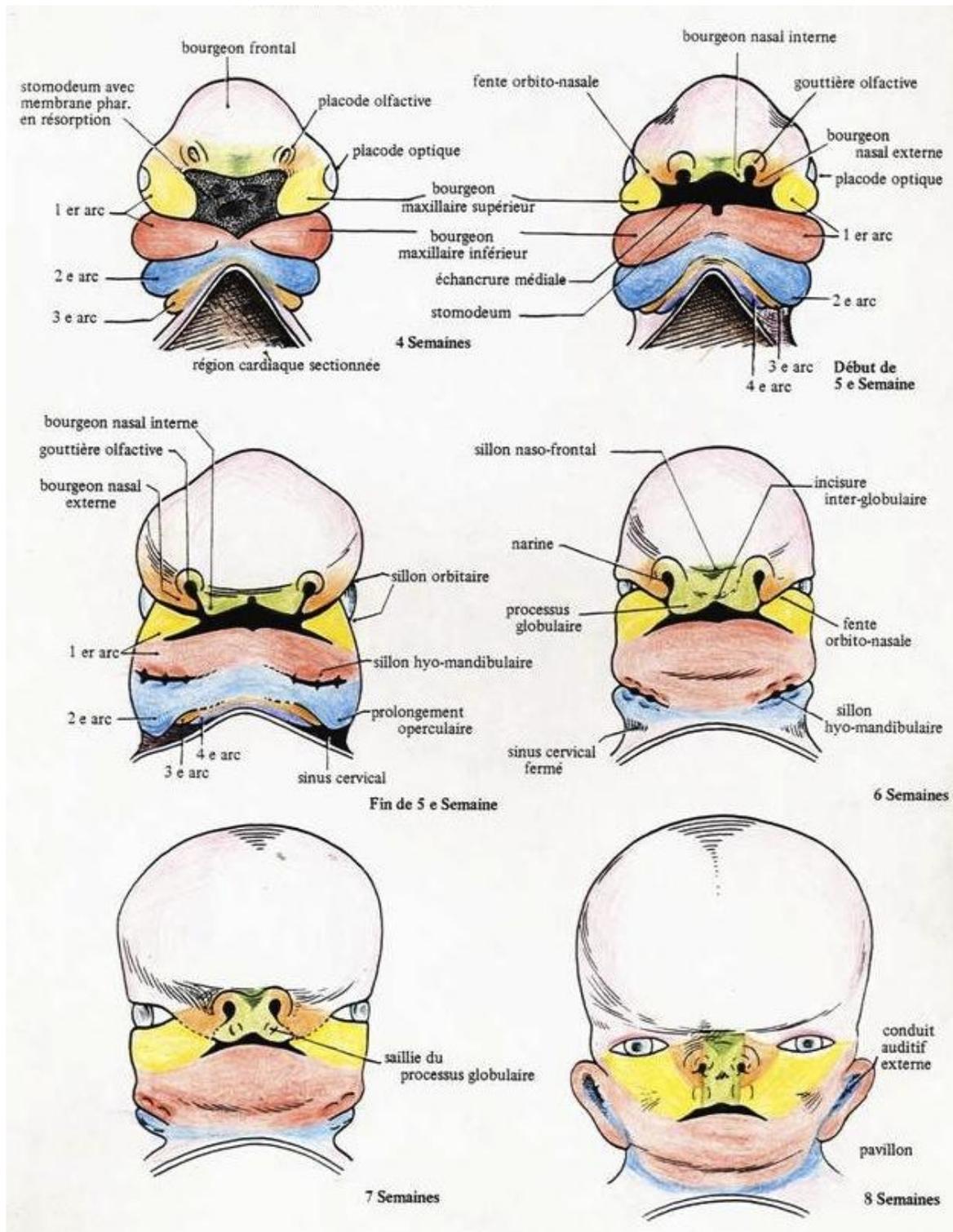


Fig. 23 : modelage de la face de la 4^{ème} à la 8^{ème} semaine IU

2.2. La formation des maxillaires et la palatogenèse

2.2.1. Le massif facial supérieur : rappels (1) (4) (11) (Fig. 24 et 25)

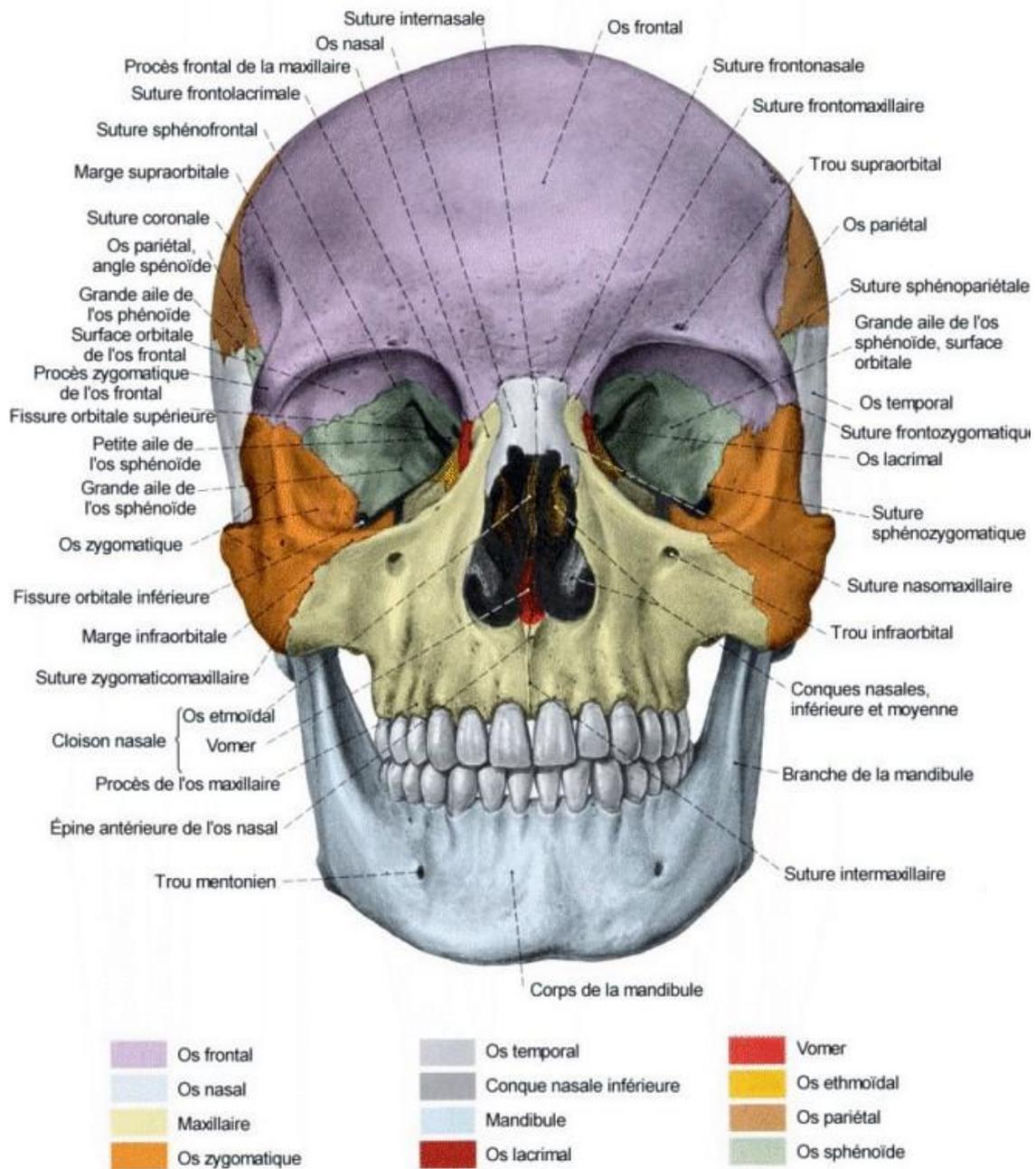


Fig. 24 : crâne vue frontale
Le Corps Humain, 2012, <http://corpshumain.ca>

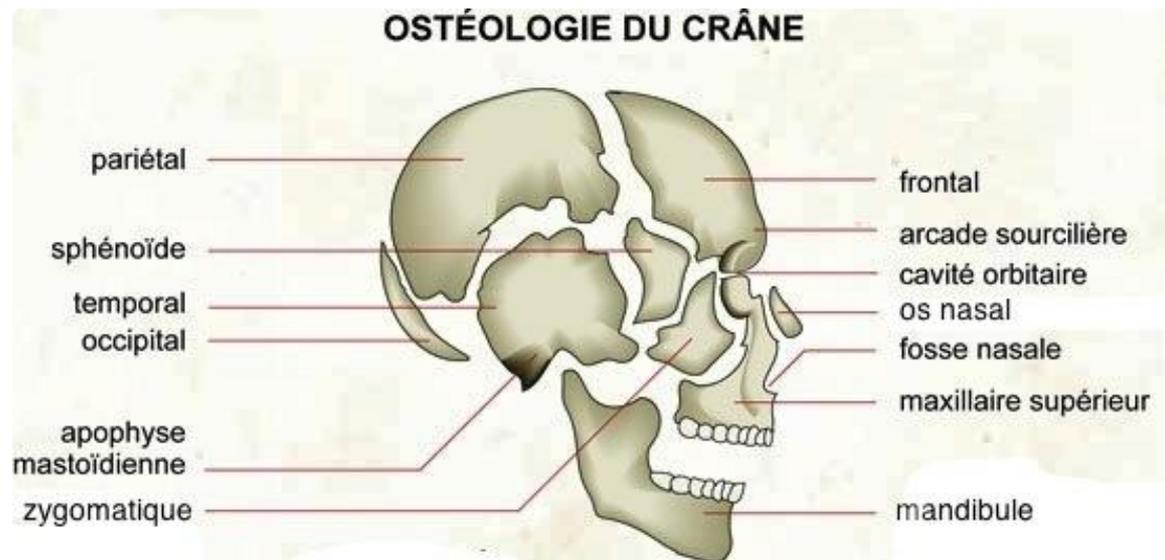


Fig. 25 : crâne vue latérale
The Visual Dictionary, 2012, www.infovisual.info

Massif facial supérieur : complexe nasomaxillaire composé de 12 os pairs et symétriques et un os impair, le vomer. Le massif facial supérieur est appendu à la base du crâne.

Le maxillaire est la pièce maîtresse de ce complexe. Autour des maxillaires droit et gauche (séparés par la suture intermaxillaire) s'organisent les autres éléments osseux :

- l'os lacrymal : lame quadrilatère participant à la face médiale de l'orbite ;
- l'os nasal : os propres du nez ;
- l'os palatin : composé d'une lame verticale et d'une lame horizontale ;
- l'os zygomatique : relie maxillaire, os frontal et os temporal ;
- le cornet inférieur : lame osseuse recourbée sur la partie externe des fosses nasales ;
- le vomer : os unique et médian qui appartient à la cloison nasale, dont il constitue la partie postéro-inférieure.

Le système sutural périmaxillaire regroupe les sutures séparant les maxillaires des os de la face qui l'avoisinent. Il comprend :

- la suture maxillomalaire : entre l'apophyse pyramidale du maxillaire et la partie antérieure du zygomatique ;
- les sutures maxillopalatines : l'une entre le maxillaire et l'apophyse pyramidale du palatin, l'autre entre le maxillaire et la lame verticale du palatin ;

- la suture ptérygopalatine : entre l'apophyse pyramidale du palatin et les deux ailes internes et externes de l'apophyse ptérygoïde ;
- la suture palatine transverse : entre la lame horizontale du maxillaire et le bord antérieur de la partie horizontale du palatin ;
- la suture nasomaxillaire : entre les os propres du nez et la branche montante du maxillaire ;
- la suture lacrymomaxillaire : entre le bord antérieur de l'os lacrymal et le bord postérieur de la branche montante du maxillaire ;
- la suture intermaxillaire : entre les maxillaires droit et gauche.

Les différentes sutures de la voûte palatine sont (Fig. 26) :

- la suture interincisive ;
- la suture incisivocanine ;
- la suture palatine transverse ;
- la suture interpalatine.

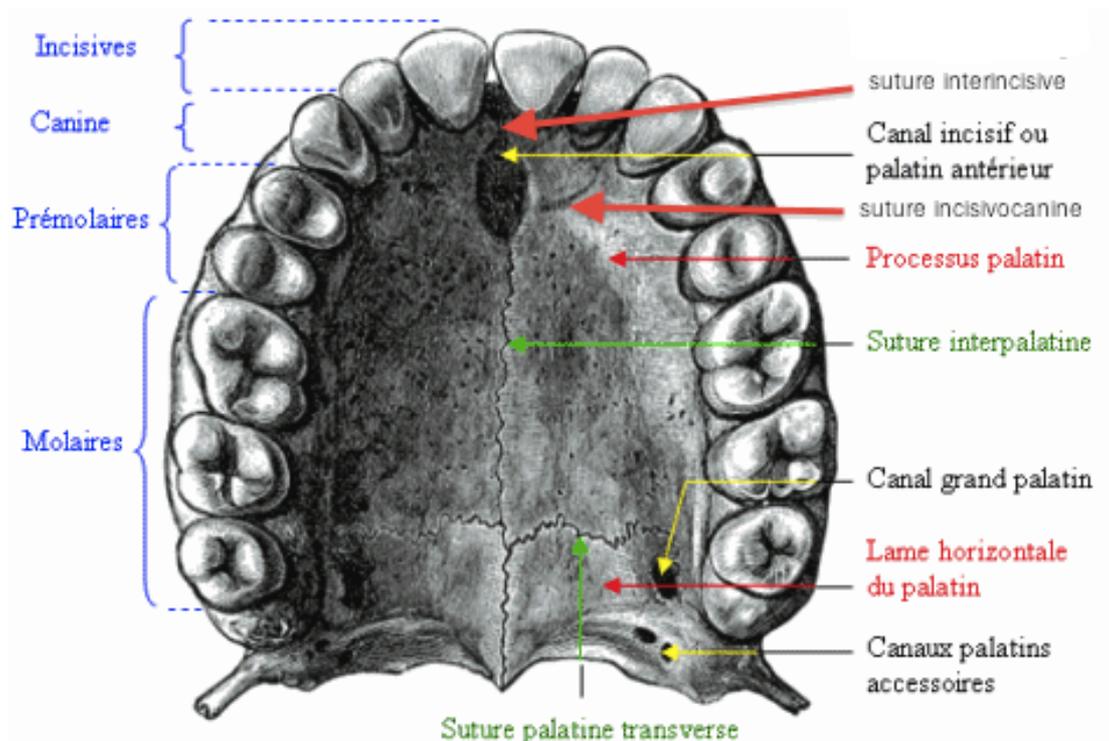


Fig. 26 : palais osseux en vue inférieure
 Medicopédia Beta, 2012, www.medicopédia.net

2.2.2. La formation du palais

Le développement du palais débute à la 5^{ème} semaine IU et se termine vers la 12^{ème} semaine IU (Fig. 27)

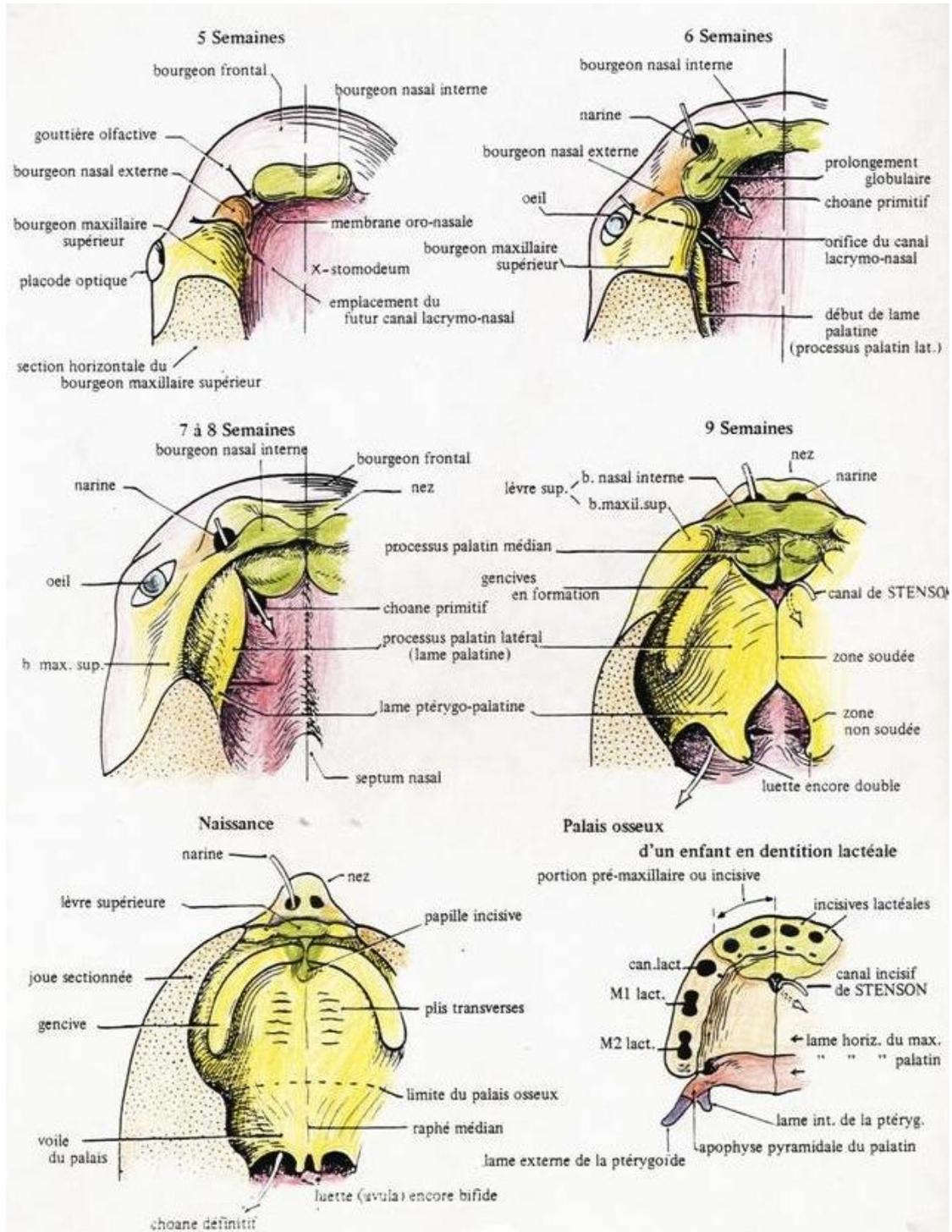


Fig. 27 : fermeture du palais, vue inférieure
S.E.R.E.T., 2012, www.seret-medecine.org

2.2.2.1. Le palais primaire (11) (13)

Dans un premier temps, on assiste à la formation du palais primaire (ou processus palatin médian), qui se développe à partir de la partie la plus interne ou ventrale du segment intermaxillaire. Ces événements se produisent vers la fin de la 5^{ème} semaine IU. Il s'agit d'un segment recouvert d'épiblaste. Il est formé par la convergence des bourgeons nasaux internes et constitue une masse mésodermique cunéiforme, présente entre les bourgeons maxillaires (Fig. 27).

2.2.2.2. Le palais secondaire (11) (13) (34) (44) (Fig. 28)

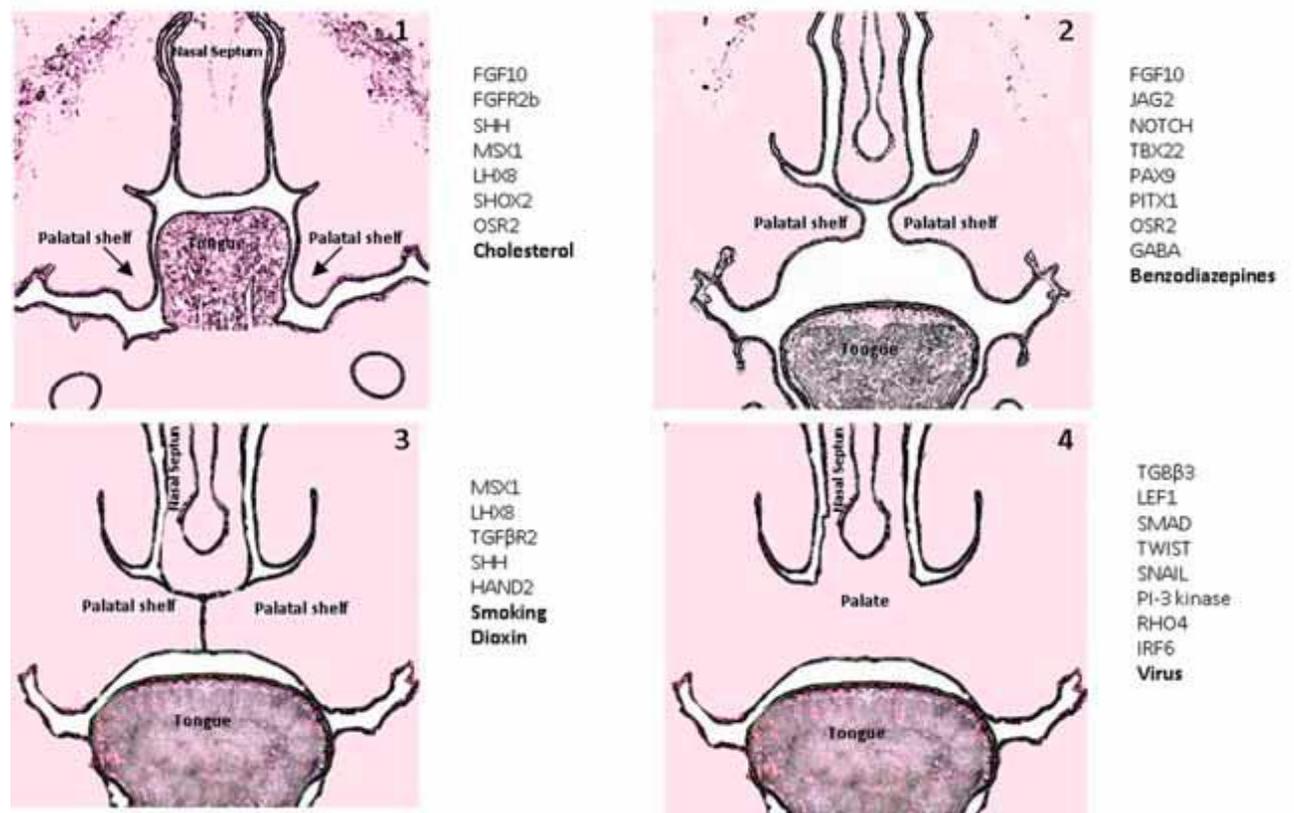


Fig. 28 : Développement et formation du palais secondaire

Les 4 étapes de la formation du palais secondaire sont:

1. Croissance des lames palatines à partir du bord médial des processus maxillaires.
2. Abaissement de la langue et élévation horizontale des lames palatines au dessus de la langue.
3. Croissance et rapprochement des lames palatines.
4. Fusion des lames palatines et du septum nasal pour former un palais secondaire continu.

Molécules et facteurs environnementaux (en gras) jouant un rôle dans la palatogenèse

Palatal shelf = lame palatine

Le palais secondaire se développe vers la 6^{ème} semaine IU à partir de deux lames mésodermiques appelées lames palatines (ou processus palatins latéraux), provenant de la face profonde des bourgeons maxillaires, qui vont successivement croître, s'élever et fusionner entre elles.

- Croissance

Les lames palatines se projettent obliquement du haut vers le bas, de chaque côté de la langue, qui est en position haute dans la cavité stomodéale. On assiste à la migration des cellules ectomésenchymateuses provenant des crêtes neurales vers la cavité buccale. Ces cellules provoquent le développement des processus maxillaires qui sont à l'origine des lames palatines, entraînant ainsi la croissance des lames palatines. Ces dernières poussent latéralement de part et d'autre de la langue. Elles présentent initialement une position verticale.

- Elévation

Quand la mandibule grandit et que l'embryon redresse la tête, la langue s'abaisse et la courbure nucale diminue. Les lames palatines se réorientent et se rejoignent pour fusionner sur la ligne médiane (la langue s'étant abaissée) (Fig. 28). Les mécanismes entraînant les lames palatines d'une position verticale à une position horizontale sont méconnus.

Divers mécanismes ont été proposés et restent fondamentalement inchangés depuis que le sujet a été étudié pour la première fois par Lazzaro en 1940, et plus tard par Ferguson en 1988. Le consensus général est que l'élévation des lames palatines est un mouvement rapide, déclenché et par des forces intrinsèques au sein des lames palatines, et par les influences d'autres structures orales et crâniofaciales, y compris les mouvements de la langue, la croissance de la mandibule et de la base du crâne.

Le rôle de la matrice extracellulaire (MEC) dans l'élévation des lames palatines a été soutenu et affiné par d'autres études et est actuellement considéré comme un déterminant important. Ces études (13) ont suggéré qu'une accumulation différentielle progressive des glycoaminoglycanes (GAG), principalement l'acide hyaluronique, dans les lames palatines, joue un rôle dans leur élévation. L'acide

hyaluronique est un GAG hautement chargé qui conserve une grande quantité d'eau, formant ainsi des gels hydratés conduisant à l'expansion de la MEC.

D'autres constituants des lames palatines, comme les fibres de collagène, la vascularisation, le revêtement épithélial ainsi que l'alignement polarisé des cellules mésenchymateuses, ont également été suggérés pour contribuer à la force élévatrice intrinsèque des lames palatines.

Les premières études attribuaient un rôle aux neurotransmetteurs (13). À l'heure actuelle, il est largement admis que le neurotransmetteur γ -aminobutyrique (GABA) régule non seulement les activités neuronales mais aussi la migration des cellules, leur survie, la prolifération et la différenciation des cellules neuronales et « non neuronales ». Des études chez les rongeurs ont montré que GABA ou les agonistes GABA génèrent des fentes palatines par inhibition de l'élévation des lames palatines, tandis que les antagonistes GABA stimulent le processus (13).

- Fusion (13)

Les lames palatines fusionnent d'abord avec le prémaxillaire et la cloison nasale (Fig. 27). La fusion entre les deux lames palatines se fait totalement entre la 9^{ème} et la 12^{ème} semaine IU. Le canal palatin antérieur persiste et constitue la limite entre palais primaire et secondaire.

La fusion des deux lames palatines est une étape cruciale et méconnue de la palatogenèse. Avant la fusion, les cellules épithéliales situées aux limites des rudiments entrent en apoptose, selon un processus allant d'avant en arrière. Cela permet ainsi l'exposition du mésoderme, où se trouvent les molécules d'adhésion, puis la fusion des deux lames palatines (à la manière d'une fermeture Eclair®).

L'épithélium des bords médiaux (Medial Edge Epithelium : MEE) des lames palatines rentrent en contact, créant ainsi ce que l'on traduira littéralement comme le « couture épithéliale médiale » (Medial Epithelial Seam : MES). Celui-ci va dégénérer, permettant la confluence mésenchymateuse à la ligne médiale.

Jusqu'à récemment, la disparition du MES a fait l'objet de désaccords considérables, et trois mécanismes ont été suggérés (13) :

- l'apoptose des cellules épithéliales ;
- la transformation épithélio-mésenchymateuse des cellules épithéliales en

cellules mésenchymateuses ;

- et la migration des cellules du MES vers la périphérie de la ligne médiane.

La transformation épithélio-mésenchymateuse a été proposée comme étant le mécanisme majeur sous-tendant la disparition du MES afin de générer une continuité mésenchymateuse. Ici, les cellules du MES (ainsi que celles de la jonction nasopalatine) restent viables et subissent une transdifférenciation en fibroblastes.

Le rôle crucial de l'apoptose au cours de la fusion palatine est démontrée chez les souris dépourvues de la fonction de l'Apoptotic Protéase Activating Factor 1 (Apaf1), qui présentent une fente palatine en raison de la persistance du MES. D'autres études expérimentales récentes *in vitro* ont pointé l'importance des phénomènes d'apoptose lors de la fusion palatine, processus susceptible d'être régulé par les rétinoïdes (13).

La migration des cellules du MES le long de la ligne médiane vers les épithéliums oraux et nasaux a également été suggéré comme mécanisme alternatif sous-tendant la régression du MES.

Une fois la fusion complète, on assiste au développement d'un os de membrane dans le palais primaire (donc au niveau de la partie prémaxillaire), alors que, dans le palais secondaire, il s'agit d'une ossification endochondrale, qui s'étend vers l'arrière et va constituer le palais dur (13). Les portions postérieures ne s'ossifient pas et forment le palais mou et la luette. Le raphé médian indique la ligne de fusion des lames palatines entre elles. Le canal nasopalatin va s'oblitérer, sauf au niveau du foramen incisif en arrière des incisives centrales supérieures (Fig. 26).

L'ensemble des événements que nous venons de décrire est bien entendu sous le contrôle de nombreux gènes et molécules. Une anomalie survenue lors d'une de ces étapes est susceptible d'entraîner une malformation crâniofaciale. Les fentes labiopalatines, qui correspondent à des anomalies de fusion entre les bourgeons faciaux et nasaux, sont les plus fréquentes.

3 LES MECANISMES DE REGULATION

Le développement embryonnaire correspond à un processus complexe et délicat guidé par des programmes génétiques spécifiques. Un approfondissement des mécanismes et des gènes impliqués dans la formation des structures orofaciales a été progressivement obtenu par l'analyse génétique de familles présentant des anomalies du développement et par l'utilisation de modèles expérimentaux de vertébrés tels que la souris et le poulet.

L'organogenèse est régie par les interactions entre l'épithélium et le mésenchyme sous-jacent. Des organes aussi divers que le poumon, la dent ou le cheveu partagent plusieurs voies de signalisation (Fig. 29), même si les conséquences sur le développement sont différentes. Ceci souligne la notion de «notes communes / mélodies différentes», où des réseaux moléculaires similaires sont utilisés au cours de l'ontogenèse de plusieurs organes, mais régulent des processus différents. Ainsi, les connaissances acquises à partir d'évènements biologiques opérant lors de l'embryogenèse d'un organe peuvent être utilisées pour faire la lumière sur ceux qui agissent dans d'autres organes.

1. Aspects génétique et moléculaire de la formation du palais : définitions

Avant d'aborder le sujet, nous allons rappeler quelques définitions de base :

- qu'est ce qu'un homéogène ?
- qu'est ce qu'un homéodomaine ?
- qu'est ce qu'un facteur de transcription ?
- qu'est ce qu'un facteur de croissance ?
- qu'est ce qu'une molécule d'adhésion ?
- qu'est ce qu'une voie de signalisation ?

1.1. Les homéogènes (ou gènes homéotiques) (41)

Les homéogènes sont les gènes qui déterminent le plan d'organisation d'un être vivant. Le plan d'organisation est la disposition relative des différents éléments constitutifs d'un organisme (les organes, les organites, les axes de polarité). Ils agissent donc pendant l'organogenèse.

Les homéogènes possèdent le plus souvent une boîte homéotique (ou homéoboîte), c'est-à-dire une séquence d'ADN d'environ 180 nucléotides codant pour un domaine protéique appelé homéodomaine (ou domaine homéotique).

Notons qu'on peut retrouver des boîtes homéotiques sur des gènes non homéotiques, comme il existe des homéogènes dépourvus de boîte homéotique.

Les homéogènes les plus connus sont les gènes *Hox* chez les mammifères, gènes homologues des gènes du complexe *HOM* chez les invertébrés. Ils participent à la mise en place des structures le long de l'axe antéro-postérieur (les vertèbres par exemple) ou le long de l'axe proximo-distal (les membres par exemple).

Les gènes *Msx* (Muscle Segment Homeobox) et *Pax* (Paired Box), qui interviennent lors de la palatogenèse, sont des homéogènes.

1.2. Les homéodomaines (ou domaines homéotiques) (41)

Domaines protéiques constitués d'une séquence de 60 acides amines capable de se lier à l'ADN ou à l'ARN. Codée par une homéoboîte, un homéodomaine comporte trois hélices alpha séparées par des boucles. C'est la 3^{ème} hélice qui interagit avec les domaines spécifiques de l'ADN (ou de l'ARN). On retrouve donc généralement ces domaines dans des facteurs de transcription.

1.3. Les facteurs de transcription (41)

Ce sont des protéines nécessaires à l'initiation ou à la régulation de la transcription d'un gène (c'est-à-dire la copie des régions codantes de l'ADN en molécules d'ARN).

Ils agissent comme activateurs ou répresseurs du complexe transcriptionnel constitué autour de l'ARN polymérase, en se fixant sur les séquences régulatrices en amont des gènes à transcrire.

1.4. Les facteurs de croissance (41)

Ce sont des substances organiques nécessaires à la croissance d'un micro-organisme. Chez les eucaryotes, ces molécules vont favoriser ou inhiber la prolifération et la différenciation cellulaire.

Ces molécules sont majoritairement de nature protéique (on retrouve en particulier des cytokines), même s'il existe des facteurs de croissance de nature lipidique (acides gras, stéroïdes).

Les facteurs de croissance peuvent intervenir soit au niveau de la membrane cytoplasmique, soit au niveau du noyau. La fixation sur son récepteur spécifique entraîne l'activation dudit récepteur, ce qui provoque la synthèse d'une autre molécule chimique appelée second messager. L'ensemble de ces mécanismes est à l'origine d'une réaction chimique qui aboutit à l'activation ou l'inhibition de la croissance cellulaire.

1.5. Les molécules d'adhésion cellulaire (ou Cell Adhesion Molecule (CAM))

Ce sont des molécules participant aux mécanismes permettant aux cellules de se lier à d'autres cellules.

Les mécanismes d'adhésion cellulaires sont nécessaires au développement des organismes pluricellulaires. Au cours de l'embryogenèse, les molécules d'adhésion transmettent des informations spécifiques aux tissus et aux organes, permettant la cohésion des organismes. De plus, ces molécules interviennent dans la régulation des interactions intercellulaires et exercent ainsi un contrôle des phénomènes physiologiques.

Une des fonctions importantes des molécules d'adhésion consiste en leur capacité de transmettre du milieu extérieur des signaux qui peuvent engendrer une modification du comportement cellulaire.

Ces molécules sont regroupées en quatre familles qui diffèrent selon leur structure :

- la superfamille des immunoglobulines
- les sélectines
- les intégrines
- les cadhérines

1.6. Les voies de signalisation intracellulaire (Fig. 29)

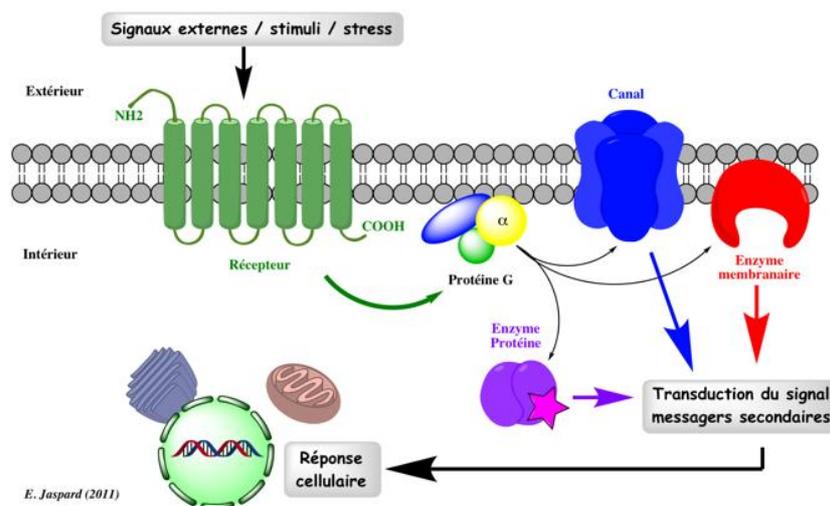


Fig. 29 : modèle d'une voie de signalisation intracellulaire

Une voie de signalisation moléculaire correspond à l'ensemble des réactions chimiques ayant pour but la transduction intracellulaire d'un signal d'origine extracellulaire. La transduction se traduit par une série de modifications moléculaires aboutissant à une réponse cellulaire appropriée au signal reçu.

Il existe de nombreuses voies de signalisation.

2. Les facteurs impliqués dans la formation des fentes labiopalatines

Les fentes labiopalatines sont la conséquence d'une défaillance du développement orofacial par défaut de fusion des bourgeons de la face. Le développement orofacial est sous le contrôle de nombreux gènes et molécules qui vont agir sur l'adhésion cellulaire, la prolifération cellulaire, la différenciation cellulaire, la communication inter et intracellulaire, l'apoptose, etc.

Dans cette partie, nous allons présenter les facteurs impliqués dans les différentes étapes de la palatogenèse, et donc dans la formation des fentes labiopalatines. Ce sujet étant vaste, complexe et encore relativement méconnu, nous n'étudierons ici que les principaux.

2.1. MSX (Muscle Segment Homeobox) (2) (13) (15) (20) (26) (27) (45) (46)

Les gènes *MSX* sont une famille d'homéogènes codant pour des facteurs de transcription agissant comme répresseurs transcriptionnels. Cette famille comporte 3 membres : *Msx1*, *Msx2* et *Msx3*.

Msx1 et *Msx2* sont largement exprimés sur de nombreux sites embryonnaires, en particulier ceux où des interactions épithélio-mésenchymateuses ont lieu. Durant le début du développement crâniofacial, *Msx1* et *Msx2* sont exprimés dans les cellules des crêtes neurales en migration, alors qu'on retrouve *Msx3* uniquement au niveau du tube neural dorsal.

Msx1 et *Msx2* vont stopper la différenciation cellulaire et activer la prolifération des cellules mésenchymateuses, agissant ainsi lors de toutes les étapes de la palatogenèse.

Les gènes *Msx1* et *Msx2* sont des cibles des Bone Morphogenetic Proteins (BMP) dans différents sites embryonnaires en développement, y compris le palais, la dent, les sutures crâniennes, le follicule pileux et le tube neural, où ils agissent pour réguler la morphogenèse et la différenciation cellulaire.

En effet, *Msx1* est nécessaire à l'expression de *Bmp4* et/ou *Bmp2*, à la fois dans la dent embryonnaire et le palais. D'autres expériences ont indiqué que *Msx1* et *Bmp4* fonctionnent au sein d'une boucle d'autorégulation dans la régulation de la prolifération mésenchymateuse au niveau du palais antérieur.

2.2. PAX (Paired Box) (13) (14) (19) (26) (27) (33) (36)

La famille des gènes *PAX* est une famille de gènes codant pour des facteurs de transcription se liant spécifiquement à l'ADN. Ils contiennent typiquement un domaine PAX (qui est un octapeptide) et un homéodomaine.

Chez les mammifères, cette famille comporte neuf membres, regroupés en 4 sous-groupes basés sur la conservation de leur structure primaire :

- groupe 1 : *Pax1* et *Pax9*
- groupe 2 : *Pax2*, *Pax5* et *Pax8*
- groupe 3 : *Pax3* et *Pax7*
- groupe 4 : *Pax4* et *Pax6*

Les gènes *PAX* jouent un rôle majeur pendant le développement foetal et pour la croissance des cellules cancéreuses.

Le gène qui va le plus nous intéresser est *Pax9*. Celui-ci est exprimé dans de nombreux tissus en formation, y compris la dent et le palais.

On le retrouve notamment à tous les stades de la palatogenèse au niveau de l'épithélium du bord médial des lames palatines : il est pleinement exprimé lors de la croissance et l'élévation des lames palatines mais son expression diminue lors de la fusion des lames palatines entre elles.

2.3. DLX (Distal-Less Homeobox) (15) (20) (27) (41) (45)

Les gènes *DLX* sont des homéogènes codant pour des facteurs de transcription agissant comme activateurs transcriptionnels, notamment lors du développement cérébral et du développement crâniofacial.

Il existe 7 gènes (*Dlx1* à *Dlx7*) codant pour 7 facteurs de transcription (*Dlx1* à *Dlx7*).

Dlx5 participe au développement crâniofacial de concert avec *Msx1* (qui, pour rappel, code pour un represseur transcriptionnel). En effet, ces deux gènes sont coexprimés dans certaines régions du mésenchyme maxillaire, régulant ainsi les interactions épithélio-mésenchymateuses qui dirigent l'induction, la croissance et la morphogenèse de structures embryonnaires comme la dent, le palais et la mandibule.

2.4. TGFβ (Transforming Growth Factor beta) (7) (21) (25) (33) (42) (47)

La superfamille TGFβ est une famille de facteurs de croissance appartenant aux cytokines, qui intervenant dans de nombreux processus physiologiques. On les retrouve sous trois formes : Tgfβ1, Tgfβ2 et Tgfβ3. Seuls les deux derniers sont impliqués dans le développement crâniofacial et la palatogenèse.

Ils agissent à ce stade de développement du palais en activant la prolifération mésenchymateuse.

Notons également que ceux-ci sont responsables de la fusion de la lèvre supérieure, par le biais de leur récepteur de type1, Alk5.

Le Tgfβ3 régule les mécanismes de fusion entre les différents bourgeons et processus. Lors de la fusion palatine, l'adhésion des MEE (épithélium des bords médiaux) des lames palatines en contact est nécessaire. Tgfβ3, qui est exprimée dans les MEE avant et lors de la fusion, en est ici le médiateur, à travers les filopodes et les chondroïtines sulfates (qui sont des glycoaminoglycanes) à la surface apicale des cellules du MEE.

Tgfβ3 est également nécessaire à l'apoptose des cellules du MES.

De plus, en l'absence de Tgfβ3, les cellules des MEE montrent une répartition modifiée de E-cadhérine, α- et β-caténines (ce sont des molécules d'adhésion

cellulaire) et une altération de l'adhésion cellule-cellule. Ainsi, Tgf β 3 joue un rôle crucial au cours des différentes étapes de fusion et d'adhérence des MEE.

Tgf β 3 opère donc non seulement dans le MEE, mais est également impliqué dans la médiation des interactions épithélio-mésenchymateuses aboutissant à des changements tissulaires qui régulent la fusion palatine. Les effets de Tgf β 3 sur la disparition du MES se font par le récepteur TGF β de type 1 (TGF β RI ou Alk5). Nous étudierons plus particulièrement ce mécanisme dans la quatrième partie de notre travail.

2.5. FGF (Fibroblast Growth Factor) (16) (23) (24) (25) (28)

La famille des facteurs de croissance FGF comporte 25 membres (de FGF1 à FGF25). Ils ont 7 récepteurs principaux : FGFR1b, FGFR1c, FGFR2b, FGFR2c, FGFR3b, FGFR3c et FGFR4.

La voie de signalisation FGF est active à la fois au niveau de l'épithélium et du mésenchyme, et est principalement impliquée dans les phénomènes de stimulation de la prolifération cellulaire.

Par exemple, par l'intermédiaire de ses récepteurs FgfR2b présents dans l'épithélium des lames palatines, le Fgf10 dérivé du mésenchyme participe non seulement à la prolifération et à la survie épithéliale mais induit aussi l'expression du gène *Shh* (Sonic Hedgehog) dans l'épithélium.

Les syndromes de Crouzon et d'Apert sont liés à des mutations des gènes *Fgfr2* et *Fgfr3*.

2.6. SHH (Sonic Hedgehog) (15) (41) (46)

Shh est un gène codant pour une protéine de signalisation agissant comme ligand dans la voie de signalisation SHH.

Pendant la palatogenèse, *Shh* est exprimé au niveau de l'épithélium des lames palatines. Il participe à la croissance de celles-ci en stimulant la prolifération mésenchymateuse sous-jacente.

On retrouve également *Shh* dans l'épithélium des bourgeons maxillaires et nasofrontaux, où il joue un rôle dans les phénomènes de différenciation cellulaire et d'apoptose. *Shh* est secrété dans l'épithélium des lames palatines, tandis que son récepteur membranaire Patched1 (PTC1) est présent à la fois dans l'épithélium et le mésenchyme. Notons également que *Shh* agit de concert avec la voie de signalisation WNT.

2.7. WNT (Wingless Type) (16) (17) (27) (41) (43)

La famille des WNT regroupe 19 protéines (Wnt1, Wnt2, Wnt2b, Wnt3, Wnt3a, Wnt4, Wnt5a, Wnt5b, Wnt6, Wnt7a, Wnt7b, Wnt8a, Wnt8b, Wnt9a, Wnt9b, Wnt10a, Wnt10b, Wnt11 et Wnt16) dont le rôle est d'activer les deux voies de signalisation WNT : la voie WNT canonique (β -caténine-dépendante) et la voie WNT non canonique (β -caténine-indépendante) (pour rappel, la β -caténine est une protéine qui constitue les jonctions adhérentes, avec l' α -caténine et l'E-cadherine).

Elles participent à la croissance des lames palatines en activant un de leurs 10 récepteurs spécifiques Fzd (Fizzled) 1 à 10.

Les voies de signalisation WNT sont également sous le contrôle d'une famille de protéines riche en cystéine, les R-Spondins (RSPOs).

2.8. RSPO (R-Spondins) (17) (43) (44)

Les *RSPO* sont une famille de 4 gènes : *Rspo1*, *Rspo2*, *Rspo3* et *Rspo4*. Ils codent pour des protéines (Rspo1, Rspo2, Rspo3 et Rspo4) récemment découvertes. Ces 4 protéines agissent de concert avec les protéines Wnt pour activer de manière synergétique la voie WNT canonique, ce qui implique qu'elles participent à de nombreux phénomènes, notamment : la formation osseuse, la myogenèse squelettique, la prolifération des cellules β pancréatiques et des entérocytes.

Celle qui nous intéresse est la *Rspo2*. Cette protéine régule l'expression de gènes codant pour des cytokines et autres facteurs de transcription tels *Msx1* et *Msx2* dans le mésenchyme du 1^{er} arc branchial, activant ainsi la différenciation des cellules ostéoblastiques.

2.9. IRF (Interferon Regulator Factors) (6) (32) (41)

La famille de gènes *IRF* comporte 9 gènes (*Irf1* à *Irf9*) codant pour des facteurs de transcription des interférons (pour rappel, les interférons sont des cytokines synthétisées par les cellules immunitaires en réponse à la présence d'un agent étranger).

Irf6 agit sur la prolifération mésenchymateuse lors de la palatogenèse.

Des mutations du gène *Irf6* ont récemment été mises en cause dans le syndrome de Van der Woude. Plus de 70 mutations ont été rapportées, affectant le fonctionnement du facteur de transcription *Irf6*.

2.10. SATB2 (Special AT-rich sequence-Binding Protein 2) (3) (8) (22)

Satb2, également connue sous l'appellation DNA-binding protein *Satb2* (protéine liant l'ADN), est une protéine codée par le gène *Satb2*. C'est un facteur de transcription agissant comme régulateur transcriptionnel.

SATB2 est impliqué dans les fentes palatines chez les individus porteurs du syndrome de microdélétion 2q32q33, caractérisé par un tableau clinique variable associant un déficit intellectuel modéré à sévère, un retard de langage, des difficultés d'alimentation, un retard de croissance et une dysmorphose faciale.

2.11. PDGF (Platelet-Derived Growth Factor) (11) (27) (41)

Les 4 gènes *PDGF* (*Pdgfa*, *Pdgfb*, *Pdgfc* et *Pdgfd*) codent pour 4 facteurs de croissance (*Pdgfa*, *Pdgfb*, *Pdgfc* et *Pdgfd*) agissant comme ligands de la voie de signalisation PDGF. La voie de signalisation PDGF est une voie indépendante qui régule les interactions épithélio-mésenchymateuses lors de la palatogenèse.

La voie de signalisation PDGF comporte donc 4 ligands, et deux récepteurs (*PdgfR- α* et β). Ils interviennent dans de nombreuses étapes de développement.

Bien que *Pdgfa* et *Pdgfc* soient exprimées au sein de l'épithélium des lames palatines, ils agissent sur le mésenchyme, via leur récepteur *PdgfR- α* .

Malheureusement, on ne connaît pas grand chose des mécanismes et des objectifs de cette voie de signalisation pendant la fusion palatine.

2.12. Les molécules d'adhésion cellulaire (11) (13) (41)

Les complexes jonctionnels cellules-cellules sont essentiels à la survie, la morphogenèse, la prolifération et la différenciation cellulaires. Les molécules d'adhésion vont logiquement avoir un rôle important lors de la fusion palatine.

Les jonctions adherens (JA) sont des structures essentielles pour l'adhérence intercellulaire. Elles contiennent au moins deux types de molécules d'adhésion cellulaire, les cadhérines et les nectines. Dans les cellules épithéliales, les α -caténines fonctionnent comme un commutateur moléculaire qui régule l'assemblage des filaments d'actine sur les sites d'adhésion cellule-cellule par les E-cadhérines.

La présence de E-cadhérine est nécessaire à la fusion palatine en elle-même, alors que les filipodes (prolongement de la membrane cytoplasmique, rétractile, permettant à la cellule de ramper le long d'une surface ; ce ne sont donc pas des molécules d'adhésion, mais des vecteurs de motilité cellulaire) sont cruciaux pour le bon alignement et l'orientation des cellules qui sont vouées à fusionner.

Ces molécules vont faire que les MEE (epithélium des bords médiaux) des deux lames palatines se faisant face vont adhérer. C'est une étape très importante de la palatogenèse.

Toutes ces molécules interagissent de façon très complexe afin de mener à bien la morphogenèse palatine. Cependant, aux vues du peu de connaissances que nous avons à ce niveau, et de la complexité de l'ensemble de ces mécanismes, des études complémentaires, utilisant notamment les modèles animaux, sont nécessaires pour élucider le rôle de toutes ces molécules dans la lèvre et le palais en développement.

4 MODELES ANIMAUX ET FENTES LABIOPALATINES

Les bases théoriques posées, nous allons maintenant pouvoir étudier l'intérêt des modèles animaux dans la compréhension de l'étiopathogénie des fentes labiopalatines. Dans ce travail, nous nous cantonnerons à l'étude des souris au niveau des fentes non syndromiques.

Nous commencerons par expliquer ce qu'est une souris KO et comment en obtenir une. Nous aborderons ensuite les principaux gènes invalidés au cours de nombreuses expériences, en développant des exemples concrets.

1. Souris KO : définition, méthodes d'invalidation génique

1.1. Définition (38) (41)

Les souris Knock-Out (souris KO) sont des souris domestiques (*Mus musculus*) dont certains gènes ont été invalidés. Pour obtenir des souris KO, on utilise la technique de l'ADN recombinant : la séquence d'ADN normale du gène étudié est modifiée de façon à empêcher la synthèse de la molécule normalement produite.

Le but de cette procédure est d'étudier les effets d'un gène sur un organisme entier, par son absence totale ou partielle, ou par son absence de fonctionnement.

Les souris sont des mammifères qui partagent avec l'être humain beaucoup de processus physiologiques. Les étapes embryologiques craniofaciales sont par exemple quasiment identiques entre nos deux espèces.

C'est donc grâce à cette technique que l'on commence à comprendre, par exemple, le contrôle moléculaire lors de la palatogenèse.

1.2. Les méthodes d'inactivation d'un gène (38)

La technique de l'inactivation génique consiste à remplacer les 2 copies d'un gène par un autre allèle (Fig. 30)

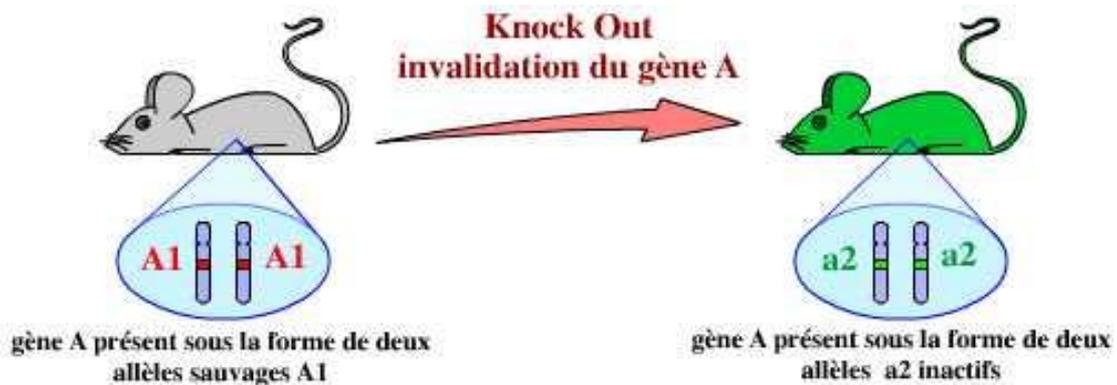


Fig. 30

Université Pierre et Marie Curie, 2012, www.snv.jussieu.fr/vie/documents/KO/KO.htm

Pour ce faire, le scientifique doit d'abord :

- identifier le gène à invalider ;
- le cloner ;
- identifier les séquences d'ADN bordant le gène cible (Fig. 31).

Il va ensuite utiliser la technique de la recombinaison homologe, c'est-à-dire qu'il va remplacer le gène cible par une version incomplète de ce gène, ou par un autre gène. Le but est que le gène cible ne s'exprime pas correctement (Fig. 31)

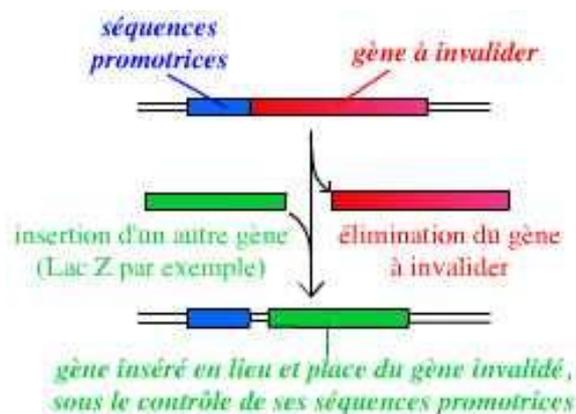


Fig. 31 : remplacement du gène cible par un autre, ici un gène « rapporteur » (lacZ, codant pour la β -galactosidase d'E coli)
Université Pierre et Marie Curie, 2012, www.snv.jussieu.fr/vie/documents/KO/KO.htm

Dans l'exemple Fig. 31, le gène cible est remplacé par un gène rapporteur (ici *LacZ*). L'intérêt réside dans le fait que les protéines codées par des gènes rapporteurs émettent un produit coloré ou une fluorescence lorsqu'elles s'expriment. Par conséquent, on retrouve un marqueur coloré là où la protéine codée par le gène cible est censée s'exprimer (puisque la protéine du gène cible a été remplacée par la protéine codée par le gène rapporteur).

Il est important de noter que le gène inséré à la place du gène cible reste sous le contrôle des séquences promotrices de celui-ci.

Première étape : il faut créer un vecteur portant le gène invalidé. En génie génétique, on appelle vecteur une molécule d'ADN permettant la propagation d'une séquence d'intérêt (ici, le gène invalidé). Ce sont le plus souvent des molécules d'ADN chimères telles que les plasmides (molécule d'ADN surnuméraire distincte de l'ADN chromosomique, capable de répllication autonome et non essentielle à la survie de la cellule ; ils proviennent généralement de bactéries) ou les chromosomes artificiels bactériens (41).

On introduit ce vecteur dans des cellules souches embryonnaires (ES) (étant totipotentes, elles sont capables de se différencier en n'importe quelle cellule de l'organisme). On va alors observer un phénomène de recombinaison homologue dans certaines cellules ES : une des deux copies du gène cible y est remplacée par le gène invalidé. On sélectionne les cellules ES ayant réalisé la recombinaison homologue.

Deuxième étape : elle consiste à injecter ces cellules ES modifiées dans le blastocœle de jeunes embryons de souris.

On réimplante ces embryons dans des mères porteuses. A la naissance, on obtient des souris « mosaïques » : leurs tissus proviennent pour partie des cellules ES normales, pour partie des cellules ES modifiées (Fig. 32)

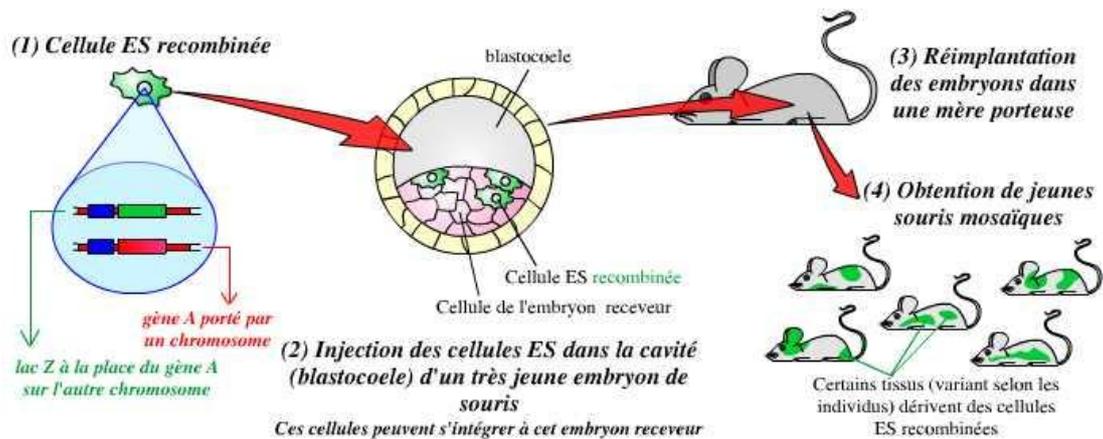


Fig. 32

Université Pierre et Marie Curie, 2012, www.snv.jussieu.fr/vie/documents/KO/KO.htm

Les tissus dérivant des cellules ES modifiées varient d'une souris mosaïque à une autre. Les souris qui vont nous intéresser sont celles dont les cellules germinales proviennent des cellules ES modifiées, car elles seules pourront transmettre le gène invalidé à leur descendance.

Troisième étape : elle consiste à croiser les souris mosaïques dont les cellules germinales proviennent des cellules ES modifiées avec des souris « sauvages » (génétiquement non modifiées). On obtient alors 50% de souris sauvages et 50% de souris hétérozygotes (sur les deux allèles du gène cible, elles portent un allèle sauvage et un allèle invalidé).

Dernière étape : on croise les souris hétérozygotes entre elles. On obtient alors :

- 25% de souris sauvages (*gène cible* +/+)
- 50% de souris hétérozygotes (*gène cible* +/-)
- 25% de souris KO pour le gène cible (*gène cible* -/-)

Notons que, dans certains cas, les effets du KO peuvent être difficiles à voir. Ceci s'explique par le fait que la protéine codée par le gène invalidé peut être compensée par d'autres voies de régulation. Il arrive également que le gène invalidé soit redondant avec d'autres gènes (c'est le cas de certains homéogènes).

Ce protocole est long (environ 2 ans), mobilise un grand nombre de personnel qualifié, et est par conséquent coûteux (entre 50000 et 100000 euros) (38) (41).

Certaines expérimentations que nous allons étudier par la suite utilisent des souris KO un peu particulières. En effet, le gène qui y est inactivé a des fonctions variées et trop importantes pour que l'on puisse l'invalider dans tout l'organisme (car la souris n'est pas viable). Il faut donc pouvoir invalider le gène cible dans le tissu souhaité et/ou à la période souhaitée.

Pour cela, on utilise la recombinaison Cre-LoxP. Ce système va permettre de modifier l'ADN d'un type cellulaire spécifique, ou de déclencher l'inactivation par le biais d'un stimulus externe (41).

La recombinase Cre est une enzyme spécifique du bacteriophage P1. Elle peut catalyser la recombinaison d'ADN entre deux sites spécifiques, les sites LoxP (41).

L'action de la recombinase Cre permet d'activer ou d'inactiver le gène sur lequel elle a été insérée.

Dans deux études menées sur *Alk5* (ou $TGF\beta$ R1, un récepteur spécifique des facteurs de croissance $TGF\beta$), nous retrouvons deux souris KO :

- les souris *Alk5/K14-Cre*
- les souris *Alk5/Nes-Cre*

K14 (Kératine 14) est une protéine synthétisée uniquement par les cellules épithéliales. Nes (Nestine) est une protéine synthétisée uniquement dans les cellules du système nerveux.

Dans ces deux cas, la recombinase Cre va inactiver *Alk5* uniquement sur les cellules synthétisant K14 (donc les cellules épithéliales) ou sur les cellules synthétisant Nes (donc les cellules nerveuses).

Cela permet ainsi aux scientifiques d'inactiver un gène qui, s'il était invalidé dans l'ensemble de l'organisme, entrainerait la mort de l'animal KO.

2. Les principaux gènes invalidés dans la recherche génétique sur les fentes labiopalatines

La maîtrise des sciences biologiques comme la génétique ou la biologie moléculaire a permis à la recherche scientifique de faire des découvertes considérables.

La face en développement, avec des structures comme la cavité buccale ou encore les fosses nasales, est sous le contrôle de réactions complexes faisant intervenir un grand nombre de gènes et de mécanismes moléculaires qui interagissent entre eux. Bien que nous ayons aujourd'hui une idée précise de leur fonctionnement, il nous reste encore beaucoup de détails à découvrir. Où et quand s'exprime tel ou tel gène ? Comment agit-il ?

C'est pourquoi les souris KO font l'objet de nombreuses expérimentations, notamment autour du contrôle moléculaire de la palatogenèse physiologique et pathologique (dont les fentes labiopalatines).

Dans cette ultime partie, nous allons illustrer ces propos en présentant certaines publications récentes sur :

- *Msx1*
- *Dlx5*
- *Pax9*
- *Tgfb3*
- *TgfbR1 (Alk5)*

Nous n'aborderons pas les détails techniques (matériels et méthodes) de ces expériences.

2.1. *Msx1*, *Dlx5* et *Pax9* (14) (20) (26) (46)

2.1.1. *Msx1* (20) (26)

2.1.1.1. *Msx1* et *Dlx5* agissent indépendamment sur le développement du squelette crâniofacial, mais convergent sur la régulation de la voie *Bmp* dans le palais en formation. (20)

Les homéoprotéines *Msx1* et *Dlx5* contrôlent la morphogenèse et l'organisation des structures squelettiques crâniofaciales. *In vitro*, *Msx1* et *Dlx5* ont des propriétés transcriptionnelles opposées, et forment des complexes hétérodimériques via leur homéodomaine, avec répression fonctionnelle réciproque. Dans cet article est étudié le phénotype squelettique de souris double KO *Msx1-Dlx5* (souris DKO), selon leur territoire d'expression pendant le développement crâniofacial.

- Les territoires d'expression de *Msx1* et *Dlx5* dans les structures crâniofaciales

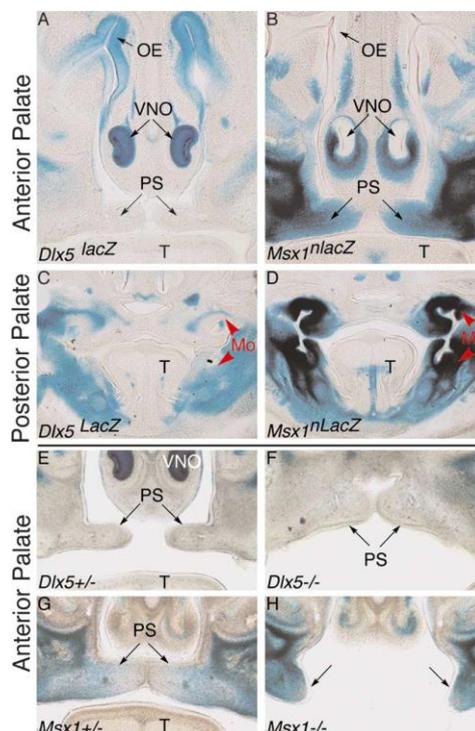


Fig. 33 : expression de *Dlx5* et *Msx1* dans les structures crâniofaciales

Mo : bourgeon molaire ; OE : épithélium olfactif ; PS : lame palatine ; T : langue ; VNO : organe voméronasal

Levi et coll. 2006, Mech Dev

Msx1 est exprimé dans le palais antérieur, mais pas postérieur, quand *Dlx5* n'est exprimé ni dans l'un ni dans l'autre.

La coexpression de *Dlx5* et *Msx1* est limitée aux régions les plus latérales du mésenchyme maxillaire (correspondant aux zones ostéogéniques), là où ces gènes ont des fonctions indépendantes. Ainsi, les interactions protéiques directes sont peu susceptibles de contrôler la morphogénèse du crâne (Fig. 33 A, B, C et D).

- le phénotype palatin des souris *Msx1*^{+/-}, *Msx1*^{-/-}, *Dlx5*^{+/-}, *Dlx5*^{-/-} et DKO

Chez la souris *Msx1*^{-/-}, les lames palatines ne s'élèvent pas d'une position verticale basse à une position horizontale ; en conséquence ils n'y a pas fusion, et la base du septum nasal est exposée dans la cavité orale (Fig. 33 H).

Chez la souris *Dlx5*^{-/-}, la formation et l'élévation des lames palatines sont partielles ; il n'y a donc pas fusion (Fig. 33 F).

Chez la souris *Msx1*^{+/-}, les lames palatines s'élèvent jusqu'à rentrer en contact l'une avec l'autre, mais ne fusionnent pas (Fig. 33 G).

Chez la souris *Dlx5*^{+/-}, les lames palatines se sont élevées en position horizontales, mais ne sont pas suffisamment développées pour rentrer en contact. Elles ne peuvent donc pas fusionner (Fig. 33 E).

Chez l'embryon DKO, les lames palatines sont normalement formées mais ne fusionnent pas, aboutissant à une fente médiane similaire à celle observée chez les souris KO *Dlx5* (Fig. 34B).

Le phénotype craniofacial de la souris DKO indique qu'il y a une interaction complexe entre ces gènes, agissant indépendamment (au niveau de la mandibule et de l'oreille moyenne), en synergie (au niveau des zones ostéoblastiques), ou convergeant vers le même processus morphogénétique (au niveau de la croissance et la fermeture du palais). Dans ce dernier cas, l'absence de *Dlx5* rattrape en partie les défauts de croissance et d'élévation du palais *Msx1*-dépendants (Fig. 34 C-K).

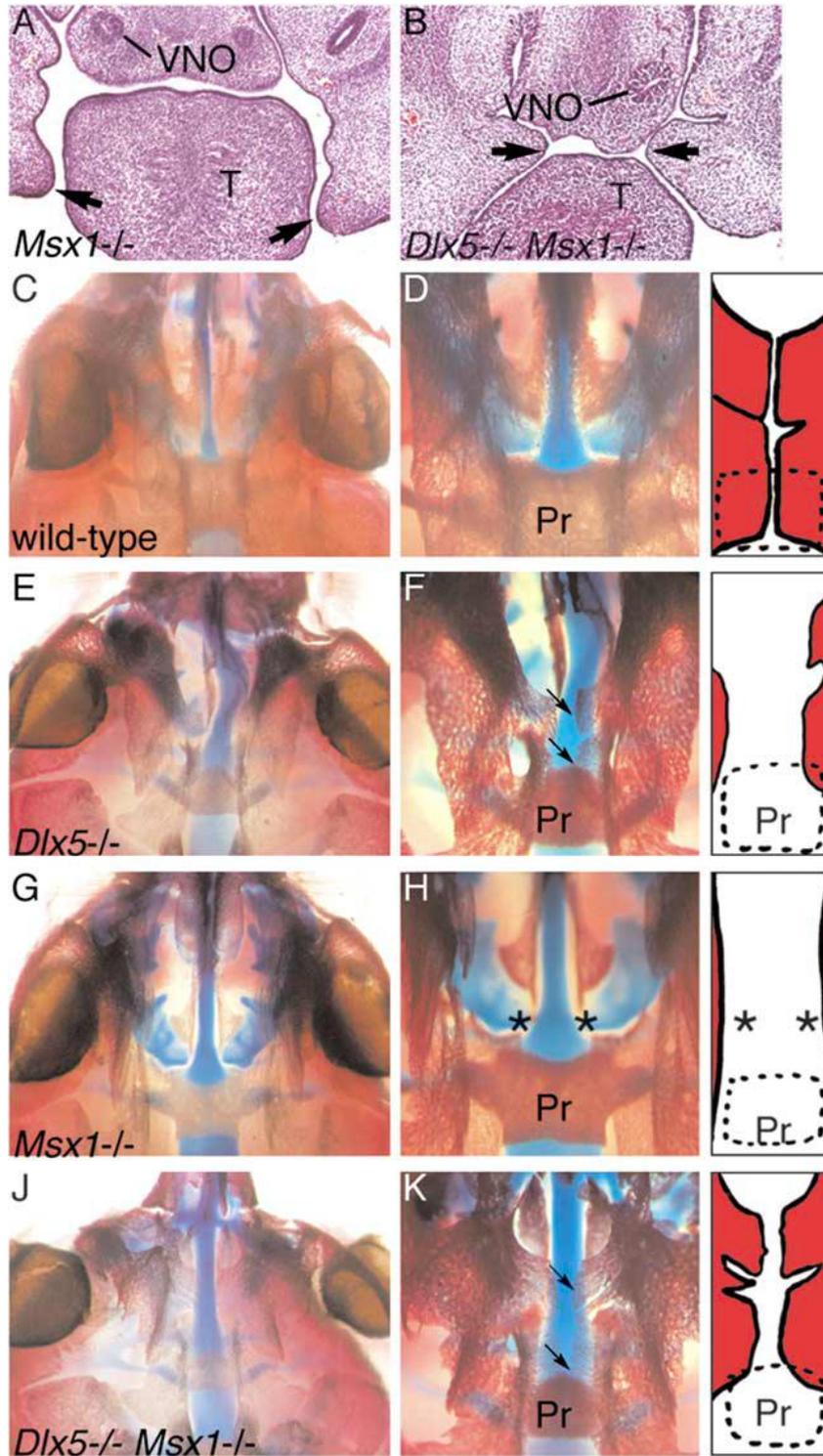


Fig. 34 : Correction des défauts palatins *Msx1*-dépendants chez la souris DKO

A-B : histologie du palais chez une souris Ko *Msx1* et chez une souris DKO à E13.5

C-K : souris « sauvage » (WT) (C-D), *Dlx5* KO (E-F), *Msx1* KO (G-H) et DKO (JK). Les images de droite sont des grossissements des images de gauche, avec la région palatine. L'os préphénoïde (Pr) et les lames palatines (flèches noires) sont indiqués.

H : l'absence des lames palatines est figurée par des astérisques. Colonne de droite : dessin représentant les lames palatines

- expression des Bmp et de leurs antagonistes chez la souris DKO (Fig. 35)

L'absence de *Dlx5* corrige les défauts palatins dus à l'absence de *Msx1*. Les facteurs Bmp4, Bmp7 et l'antagoniste des Bmp (la follistatine) peuvent expliquer ce phénomène. Des changements de niveau d'expression de Bmp7 et de la follistatine, au niveau du palais *Dlx5*^{-/-}, pallient à la réduction de l'expression de Bmp4 induite par l'absence de *Msx1*.

Dlx5 pourrait directement agir comme inhibiteur de l'expression de Bmp4, ou pourrait moduler la fonction Bmp, en régulant l'expression des antagonistes Bmp (Noggin, Chordin ou encore Follistatine).

Bmp4 est exprimé dans les sites de fusion du palais. Ici, Bmp4 est exprimé dans un domaine restreint du mésenchyme du palais antérieur, adjacent au MEE (épithélium du bord médial) des lames palatines. C'est également le cas de plusieurs gènes codant pour des molécules morphogénétiques, y compris Bmp2, Bmp4, Bmp7, Follistatine, Shh et les FGF. Ce domaine peut être considéré comme un centre de signalisation du palais en développement.

Ces résultats soulignent l'importance d'une régulation temporelle et spatiale précise du système Bmp/antagoniste des Bmp lors de la fermeture du palais.

2.1.1.2. La correction des fentes palatines par du Bmp4 transgénique chez les souris déficientes Msx1 révèle le rôle de Shh et de la Bmp4 au niveau de la régulation de la palatogenèse chez les mammifères. (46)

Des mutations de *Msx1* sont associées à des fentes palatines non syndromiques et à des agénésies dentaires chez l'homme.

L'expression de *Msx1* est :

- limitée aux sites antérieurs du mésenchyme palatin, et à la 1^{ère} molaire ;
- nécessaire à l'expression de :
 - *Bmp2* et *Bmp4* dans le mésenchyme ;
 - *Shh* dans le MEE.

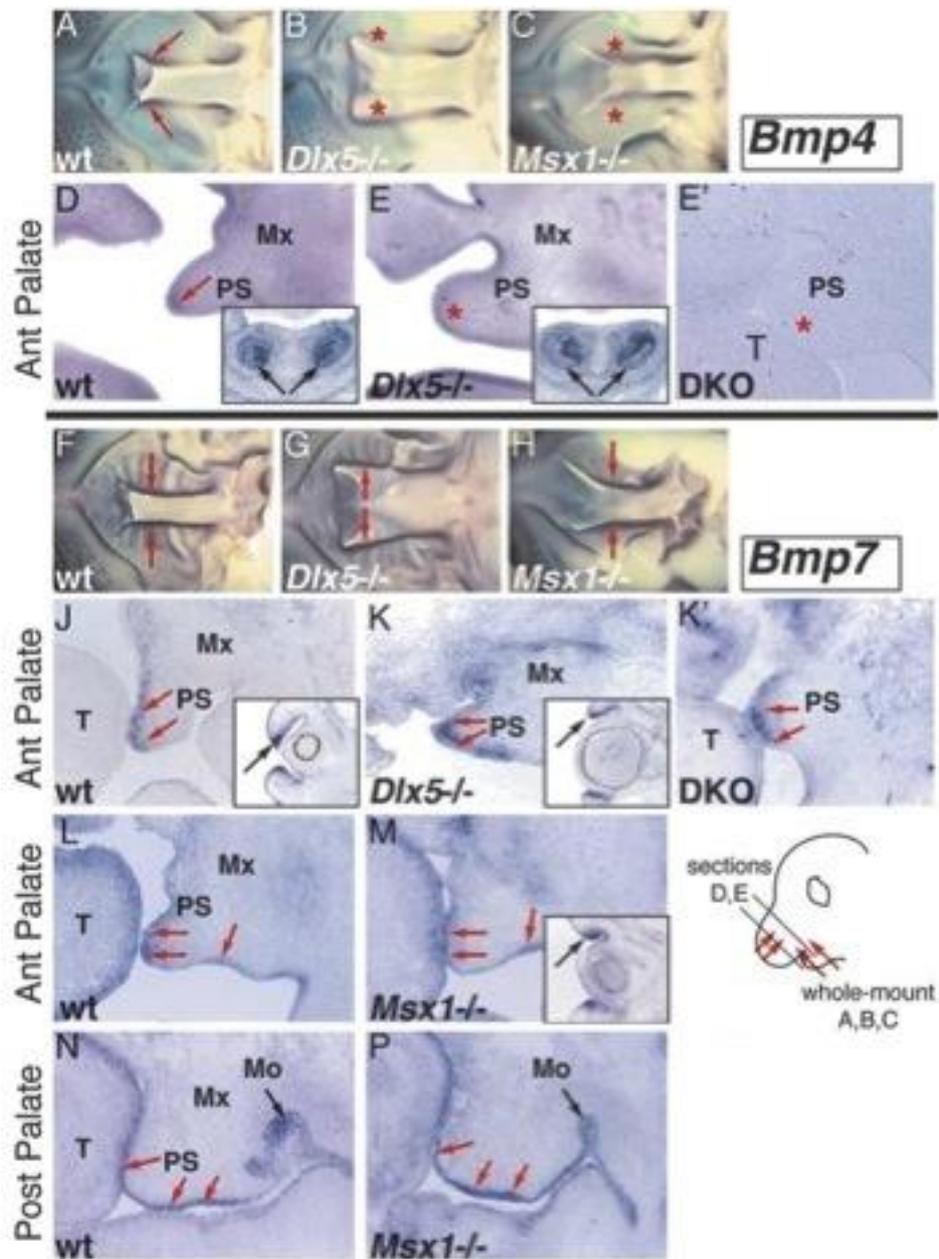


Fig. 35 : expression de Bmp4 et Bmp7 chez les embryons *Dlx5*^{-/-}, *Msx1*^{-/-} et DKO

A-C : hybridation in situ « whole-mount » pour Bmp4 dans les palais d'embryons « sauvages » (WT) (A), *Dlx5*^{-/-} (B) et *Msx1*^{-/-} (C), vue ventrale. Les signaux Bmp4 sont indiqués par des flèches rouges, ou des astérisques rouges en cas d'expression réduite.

D-E : hybridation pour Bmp4 dans des sections frontales d'embryons WT (D), *Dlx5*^{-/-} (E) et DKO (E').

F-H : hybridation in situ « whole mount » pour Bmp7 dans les palais d'embryons WT (F), *Dlx5*^{-/-} (G) et *Msx1*^{-/-}, vue ventrale.

Les signaux sont indiqués par des flèches rouges.

J-P : hybridation pour Bmp7 dans des sections frontales d'embryons WT (J, L, N), *Dlx5*^{-/-} (K), *Msx1* (M, P) et DKO (K'). Les signaux Bmp7 appropriés sont indiqués par des flèches rouges

Le schéma à droite illustre les plans de vue adoptés.

Levi et coll. 2006, Mech Dev

Des analyses *in vivo* et *in vitro* ont indiqué que les fentes palatines vues chez les mutants *Msx1* résultent d'un défaut de prolifération cellulaire au niveau du mésenchyme du palais antérieur plutôt que de l'échec de la fusion palatine.

L'expression transgénique de Bmp4 humain dans un mésenchyme palatin *Msx1*^{-/-} préserve d'un phénotype de fente palatine, restaure l'expression de *Shh* et *Bmp2* et permet un retour à des niveaux de prolifération cellulaire normaux.

La Bmp4 ectopique semble dispenser le palais en développement de *Msx1* et des fonctions en amont de *Shh* et *Bmp2*. En outre, les essais *in vitro* ont indiqué que *Shh* (normalement exprimé dans le MEE) active l'expression de *Bmp2* dans le mésenchyme palatin, qui à son tour agit comme mitogène pour stimuler la division cellulaire.

Msx1 contrôle ainsi une hiérarchie génétique impliquant des signaux BMP et *Shh*, régulant par là la croissance de la région antérieure du palais en développement.

2.1.2. *Pax9* (14)

En 2002, des chercheurs japonais ont étudié l'association entre la palatogenèse et les modèles d'expression de *Pax9* chez des embryons de souris atteintes de fentes labiopalatines.

Pour ce faire, les scientifiques ont créé une lignée de souris développant des fentes labiopalatines spontanées.

Ils ont par la suite étudié l'expression de l'ARNm de *Pax9* au niveau des lames palatines pendant la palatogenèse, pour déterminer la corrélation entre la morphogenèse du palais secondaire et l'expression de *Pax9*.

D'un côté, nous avons des embryons de souris sauvages, sans fentes labiopalatines ; de l'autre, nous avons les souris avec fentes labiopalatines spontanées. On compare alors des coupes transversales passant au niveau du palais secondaire à 3 moments différents (Fig. 36) :

- E13.5 : les lames palatines sont normalement en position verticale et bordent latéralement la langue ;
- E14.5 : contact entre les 2 lames en position horizontale ;
- E15.5 : fusion des 2 processus palatins.

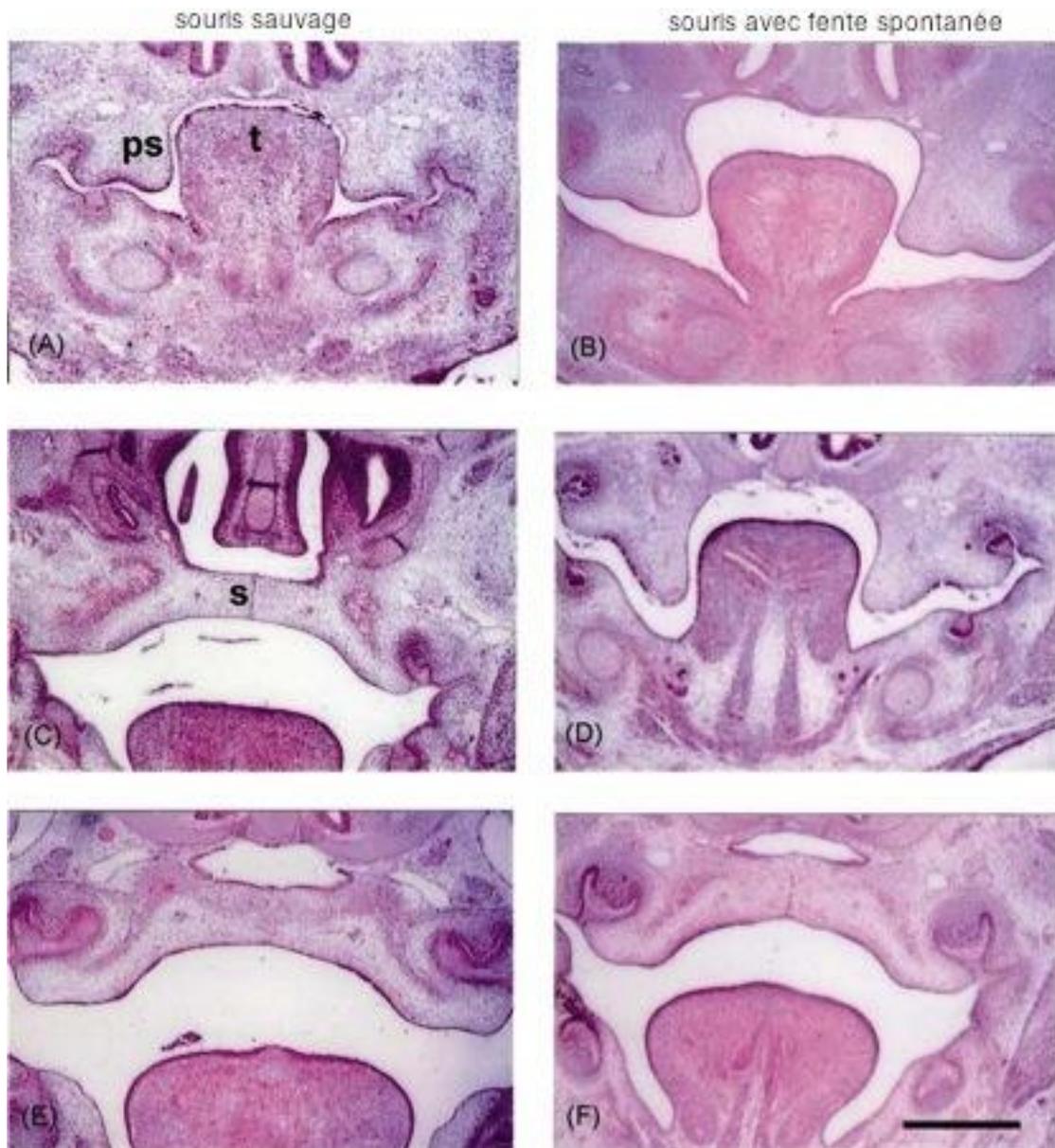


Fig. 36 : coupes transversales de tête. Coupes d'embryons sauvages et d'embryons avec fente spontanée à E13.5 (A-B), E14.5 (C-D) et E15.5 (E-F)

A-B : les lames palatines reposent verticalement latéralement par rapport à la langue

C-D : chez la souris sauvage, les lames palatines sont horizontales et forment le MES (Medial Epithelium Seam = joint épithélial médial) (C), alors que chez celle avec fente spontanée, elles sont verticales

E-F : Le MES disparaît chez la souris sauvage, alors qu'il reste chez celle avec fente spontanée.

S : Seam. Echelle : le trait noir en (F) représente 1mm

Hamashi et coll. 2003, Arch Oral Biol

Chez la souris sauvage, *Pax9* est exprimé spécialement au niveau du MEE (épithélium du bord médial) entre E13.5 et E14.5, lorsque les lames palatines se développent verticalement et s'élèvent vers une position verticale. Il est ensuite régulé

à la baisse à E15.5, quand les lames palatines se rencontrent et commencent à fusionner.

Chez la souris avec fente spontanée, on retrouve la même chose à E13.5 et E14.5. Cependant, à E15.5, le niveau d'expression de *Pax9* reste constant.

Ce modèle d'expression de *Pax9* chez ces deux lignées de souris montre que l'expression de *Pax9* régresse, lors de la fusion palatine, chez les souris sauvages, là où son expression est maintenue, d'après les auteurs de cet article, par la persistance du MES observée chez la souris avec fente spontanée.

2.1.3. Interactions entre *Msx1* et *Pax9* (26)

Une étude anglaise datant de 2010 a montré les interactions entre *Msx1* et *Pax9* lors du développement de la lèvre supérieure et de l'odontogenèse chez la souris.

L'objectif ici est de montrer comment l'inactivation simultanée de plusieurs gènes homologues entraîne un phénotype pathologique plus sévère que si un seul gène est inactivé.

On sait par des essais *in vitro* que des interactions entre *Msx1* et *Pax9* (qui sont, pour rappel, tous deux des homéogènes) peuvent exister. En revanche, on ne sait pas clairement si *Pax9* et *Msx1* interagissent pendant la palatogenèse. Pour observer cela, les scientifiques ont combiné des mutations sur *Msx1* avec des mutations sur *Pax9*, obtenant six génotypes différents (Fig. 38) :

- *Pax9*^{+/+} ; *Msx1*^{+/+}
- *Pax9*^{-/-} ; *Msx1*^{+/+}
- *Pax9*^{-/-} ; *Msx1*^{+/-}
- *Pax9*^{+/+} ; *Msx1*^{-/-}
- *Pax9*^{+/-} ; *Msx1*^{-/-}
- *Pax9*^{-/-} ; *Msx1*^{-/-}

Msx1 et *Pax9* ont des modèles d'expression craniofaciaux qui se chevauchent. De plus, leurs produits d'expression sont capables d'interagir *in vitro*, et les anomalies dentaires causées par leur mutation sont similaires chez l'homme comme chez la souris. Il est donc normal de se demander si, *in vivo*, on n'obtiendrait pas des résultats similaires.

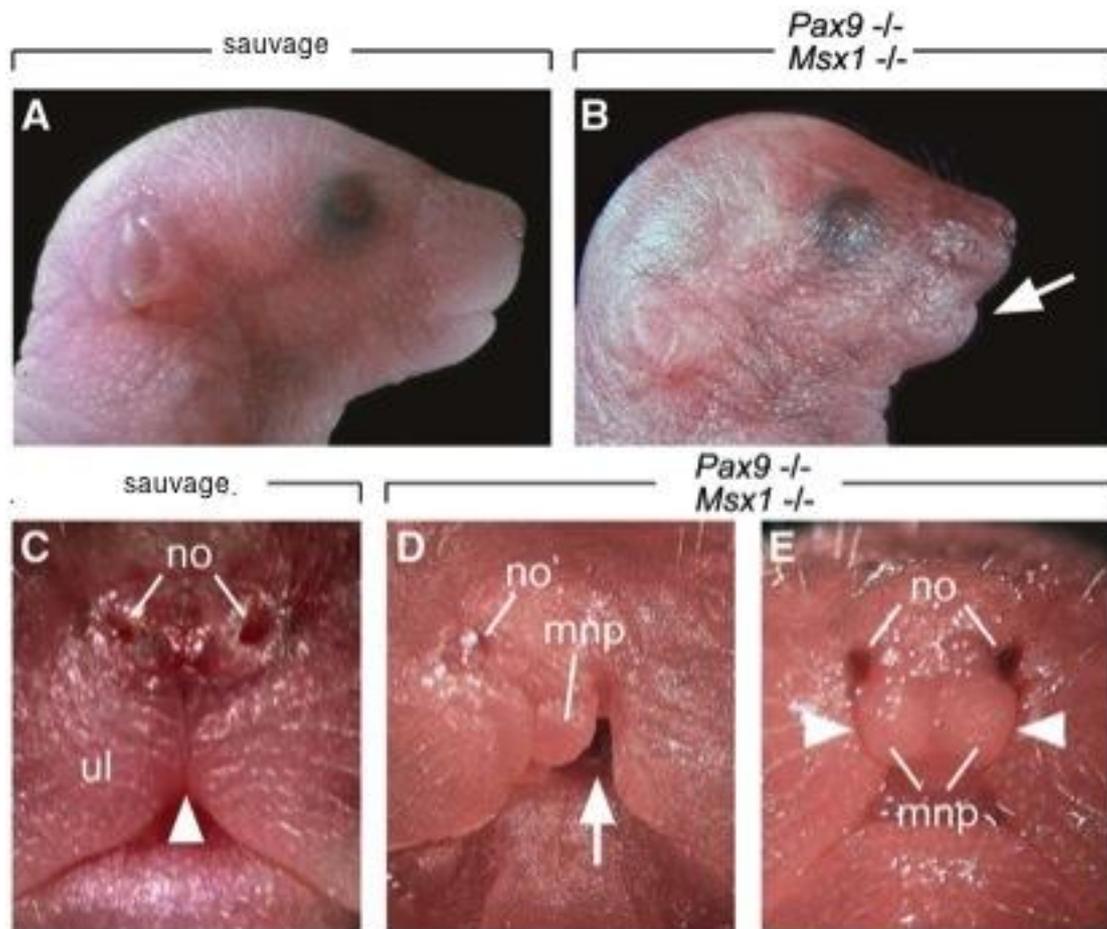


Fig. 37 : fente labiale chez une souris *Msx1*^{-/-} ; *Pax9*^{-/-}

A : tête d'une souris nouveau-né sauvage

B : la tête d'une souris nouveau-né *Pax9*^{-/-} ; *Msx1*^{-/-} a une taille réduite, des oreilles basses et une hypoplasie mandibulaire (cf. flèches blanches)

C : chez la souris sauvage, la lèvre supérieure est divisée par un simple sillon central (cf. têtes de flèche blanches)

D : on observe une fente labiale unilatérale chez le nouveau-né double KO, laissant le processus nasal médian gauche exposé

E : fente labiale bilatérale, donnant un palais primaire « flottant » formé par les processus nasaux médians

Mnp : processus nasal médian ; no : narine ; ul : lèvre supérieure

Nakatomi et coll. 2010, Dev Biol

Les sujets *Pax9*^{-/-} ; *Msx1*^{-/-} présentent une hypoplasie faciale, et 39% de ces mutants (soit dans cette étude 7/18) ont une fente labiale uni ou bilatérale (Fig. 37 D et E).

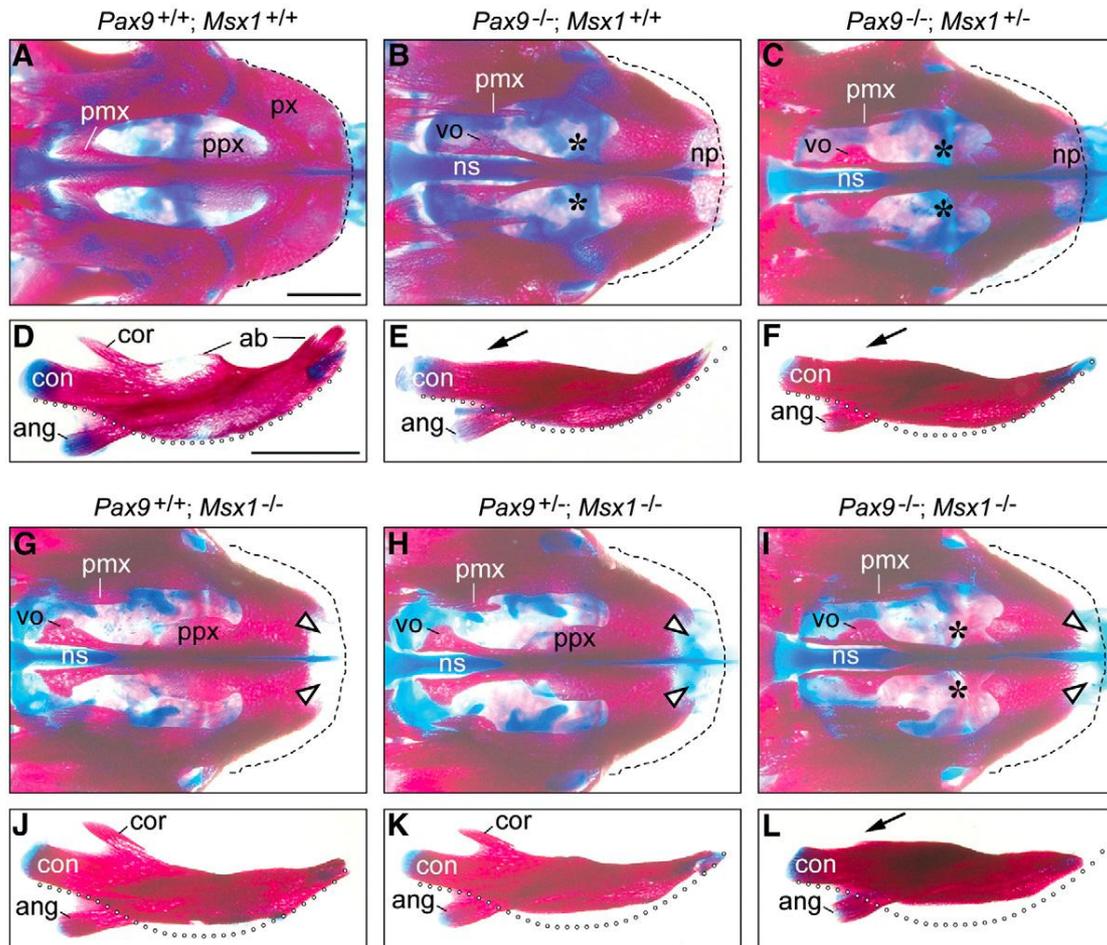


Fig. 38 : Défauts squelettiques maxillaires et mandibulaires chez différents mutants *Pax9* et/ou *Msx1* nouveau-nés (A-C ; G-I). Aspect de la mandibule vue sagittale (D-F ; J-L). Une fente du palais secondaire est observée chez tous les mutants composés avec homozygotie de *Pax9*, *Msx1* ou les deux.

Le processus palatin est déplacé, exposant le vomer et le septum nasal. L'absence des incisives supérieures fait que le prémaxillaire est court et étroit, quelque soit la mutation (le contour normal est figuré par des pointillés)

Ab : os alvéolaire ; ang : processus angulaire ; con : condyle ; cor : processus coronoïde ; np : processus nasal ; ns : septum nasal ; pmx : processus palatin du maxillaire ; ppx : processus palatin du prémaxillaire ; px : prémaxillaire ; vo : vomer ; échelle : (A-C ; G-I) barre = 1mm ; (D-F ; J-L) barre = 2mm

Bien que ce résultat identifie une interaction importante entre *Msx1* et *Pax9* lors de la formation de la lèvre supérieure, les défauts squelettiques des différents mutants composés (*Pax9* et *Msx1*) montrent que les problèmes rencontrés sont la combinaison des défauts observés chez les mutants simples (*Pax9* ou *Msx1*) (Fig. 38).

Le développement du processus palatin du prémaxillaire est *Pax9*-dépendant (astérisques Fig. 38 B, C et I), et n'est pas affecté par une déficience de *Msx1* (Fig. 38 G et H). A l'inverse, la partie osseuse du processus nasal est absent uniquement chez la souris *Msx1*^{-/-} (cf. têtes de flèche blanches Fig. 38 G et I).

Le phénotype prédominant causé par l'absence de *Pax9* seule, en plus d'une fente du palais secondaire, est l'absence de processus palatin dans la partie postérieure du prémaxillaire (Fig. 38 B, C et I), alors que l'absence de *Msx1* a pour conséquence le raccourcissement de la partie antérieure du prémaxillaire, du fait de l'absence du processus nasal (Fig. 38 G-I).

Dans cette étude (26), les scientifiques ont suivi le même procédé, mais en étudiant cette fois-ci les anomalies dentaires obtenues en inactivant *Msx1* et *Pax9*. Bien que nous n'ayons pas abordé cette partie de l'expérimentation, il faut tout de même noter que les chercheurs sont arrivés à la conclusion qu'un défaut sur l'un de ces gènes entraînait des agénésies et des anomalies de forme.

Il est intéressant de noter que les fentes labiopalatines sont souvent associées à des agénésies dentaires. Toutes ces données suggèrent que la lèvre supérieure, le palais secondaire et les dents partagent des voies génétiques pendant leur développement.

Chez l'homme, certains patients souffrant d'oligodontie avec une mutation hétérozygote sur *Msx1* ont également des fentes labiales et/ou palatines (26). De plus, des polymorphismes spécifiques de *Pax9* ou *Msx1* ont été associés avec des fentes labiales (26).

Chez la souris, les fentes labiopalatines sont relativement rares, mais les données obtenues dans cet article montrent que ce phénotype est présent chez la souris mutante *Msx1*^{-/-} ; *Pax9*^{-/-}. Cependant, leur variabilité (unilatérale ou bilatérale,

complète ou non) indique que d'autres facteurs génétiques contribuent à la formation de fentes labiales dans ce cas.

Les modèles animaux facilitent donc ici l'identification des facteurs génétiques impliqués dans la formation de fentes labiopalatines et aident à élucider le rôle des interactions génétiques dans les anomalies craniofaciales non syndromiques.

2.2. Tgf β 3 / Tgf β R1 (Alk5) (7) (21) (47)

Nous avons vu précédemment que ce facteur de croissance jouait d'importants rôles dans les organes en développement, et notamment lors de la morphogenèse craniofaciale.

Pour illustrer l'apport des modèles animaux dans la recherche sur les fentes labiopalatines, nous allons étudier deux expérimentations réalisées par la même équipe de scientifiques. Elles portent sur le rôle du récepteur de type 1 spécifique aux TGF β , Tgf β R1 (aussi appelé Alk5).

2.2.1. Rôle d'Alk5 pendant la morphogenèse faciale et la fusion palatine (7)

Dans cette première étude, les scientifiques ont supprimé le gène codant pour Alk5 dans l'ectoderme embryonnaire et les lignées cellulaires descendant des cellules des crêtes neurales chez la souris. Des défaillances dans la communication cellulaire via Alk5, que ce soit dans l'épithélium comme dans le mésenchyme, vont entraîner des défauts craniofaciaux sévères, y compris des fentes labiopalatines.

Chez les souris mutantes *Alk5/K14-Cre* (déficientes Alk5), on observe une fente palatine pénétrante à 100% dans la partie postérieure du palais mou, sur environ 20% de la longueur du palais (Fig. 39 G-J). Des analyses histologiques détaillées d'une série de coupes frontales révèlent un MES (Medial Epithelial Seam = joint épithélial médial) persistant et des défauts de fusion dans la partie antérieure restante du palais secondaire (Fig. 39 H-I).

On a ensuite comparé les coupes histologiques des 3 cas (souris sauvage, souris déficiente *Alk5* et souris *Tgfβ3*^{-/-}) (le Tgfβ3 est, pour rappel, un facteur de croissance qui se fixe sur Alk5) à E14 (avant la fusion), à E15 et à E17 (après la fusion). Les 3 types sont identiques avant et pendant la fusion. A E14.5, les lames palatines de chacun des cas forment le joint épithélial médial sur environ 90% de la longueur totale du palais, avec seulement des petites zones non adhérees, correspondant aux zones antérieures et postérieures. En revanche, à E15 et à E17, alors que le palais « sauvage » fusionne complètement, les palais mutants ont leurs lames palatines qui adhèrent, mais le joint épithélial médial persiste, sauf au niveau des zones antérieures et postérieures du palais. On retrouve en postérieur une fente. Cela prouve que *Alk5* joue un rôle indispensable dans la disparition du joint épithélial médial pendant la fusion palatine. En cas de problème, on observe une fente, particulièrement dans les zones antérieure et postérieure du palais secondaire (Fig. 39).

De plus, nous pouvons constater Fig. 39 E, K, Q et R que le nombre de cellules à filipodes est diminué chez les deux génotypes mutants. Chez la souris témoin, environ 85% des cellules du MEE ont des filipodes. Ce pourcentage passe à 16.6% et 15% respectivement chez la souris *Tgfβ3*^{-/-} et la souris déficiente *Alk5*.

La voie de signalisation Tgfβ3/*Alk5* joue donc un rôle spécifique dans la maturation morphologique des cellules du MEE (Medial Edge Epithelium = épithélium du bord médial).

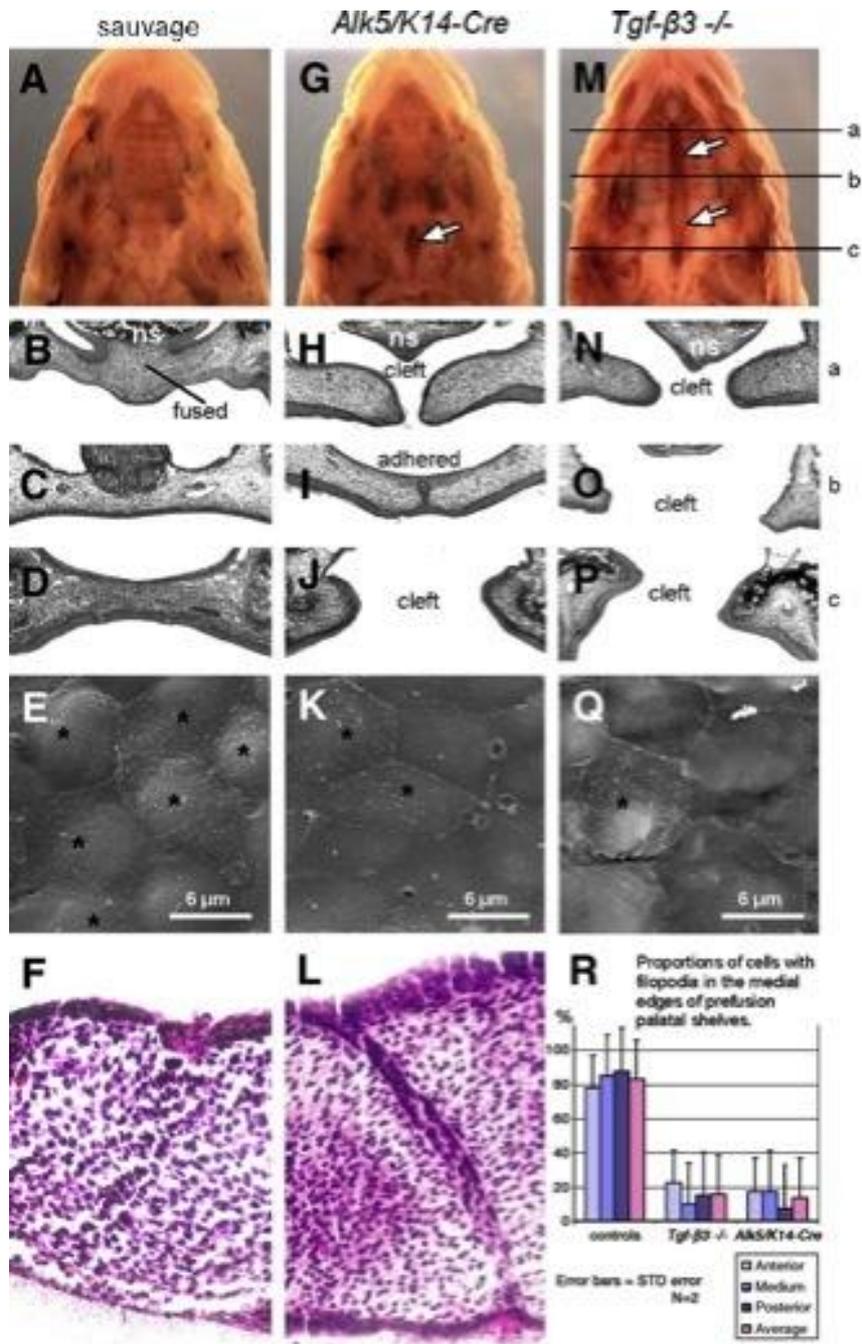


Fig. 39 : La délétion d'*Alk5* dans l'épithélium entraîne une mauvaise fusion des lames palatines et une fente palatine postérieure.

G-J : les mutants *Alk5* (*Alk5/K14-Cre*) naissent avec un défaut au niveau postérieur du palais mou (flèche cadre G).

M-P : les nouveau-nés *Tgfβ3*^{-/-} ont une fente palatine bilatérale complète (flèches cadre M)

A-D : les nouveau-nés sauvages ont des palais complètement fusionnés

Les images de la rangée supérieure montrent des images stéréoscopiques (grossissement x5) de têtes de nouveau-nés, après le retrait de la mandibule. Les images de la rangée suivante montrent des coupes histologiques à travers trois différents axes antéro-postérieurs (a, b, c) comme indiqué cadre M (grossissement x20).

L et F : à E14, les lames fusionnent chez la souris sauvage (F), pas chez la mutante *Alk5* (L)

Les images de la 4^{ème} rangée (E, K, Q) montrent une diminution des cellules avec filipodes (astérisques) à E14 sur les bords des lames palatines en pré-fusion, chez les souris mutantes (K et Q) par rapport à la souris sauvage (E)

R : comparaison des proportions de cellules avec filipodes dans les lames palatines en pré-fusion. Les cellules ont été comptées dans 3 zones distinctes (antérieure, moyenne et postérieure) des deux processus palatins des trois génotypes.

Pour savoir si la voie de signalisation Alk5 peut être le médiateur de l'apoptose dans le MEE, les scientifiques ont comparé les cellules du MEE des trois génotypes. Dans les souris sauvages, on retrouve un grand nombre de cellules apoptotiques. La souris *Tgfβ3*^{-/-} montre des lames palatines sans cellules apoptotiques. Bien que les lames palatines de *Alk5*/K14-Cre adhèrent, on ne retrouve pas de non plus de cellules apoptotiques (Fig. 40).

Ces données suggèrent que la voie de signalisation Tgfβ3/Alk5 contribue à induire l'apoptose des cellules épithéliales du joint épithélial médial (MES), soutenant par là même que l'apoptose est le mécanisme majeur (et non la transdifférenciation épithéliomésenchymateuse) permettant la disparition du MES indispensable à la fusion palatine.

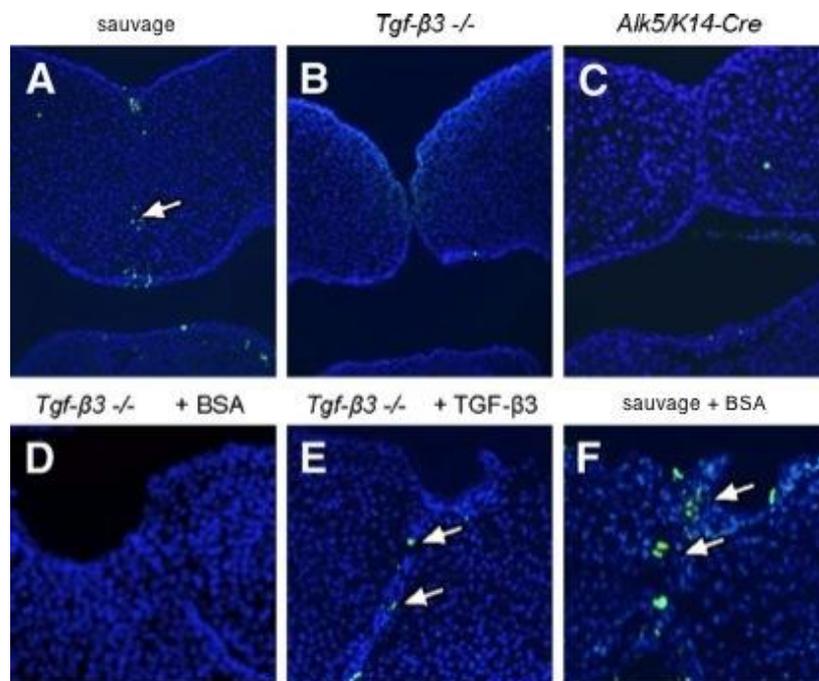


Fig. 40 : l'apoptose induite par Tgfβ3 dans le MES est nécessaire à la fusion palatine. Comparaison des cellules mortes par apoptose chez la souris sauvage (A), *Tgfβ3*^{-/-} (B) et *Alk5*/K14-Cre (C) en utilisant la méthode TUNEL (signal fluorescent vert) au niveau des lames palatines de têtes embryonnaires fixées à E14.5. La flèche en (A) montre un noyau TUNEL-positif à l'intérieur du MES en train de disparaître.

E : en rajoutant une goutte de Tgfβ3 dans la région du futur MES à E14, on augmente le nombre de cellules épithéliales apoptotiques jusqu'à un niveau vu chez le sujet contrôle traité de la même façon par du BSA (Serum Albumine Bovin) (F).

2.2.2. Rôle d'Alk5 lors de la fusion de la lèvre supérieure (21)

De nombreuses études portent sur la formation du palais secondaire. Ce n'est pas le cas de la formation de la lèvre supérieure et des fentes labiales. Nous avons vu le rôle d'Alk5 au niveau de l'ectomésenchyme palatin ; cette étude va cette fois-ci s'intéresser au rôle d'Alk5 dans la formation de la lèvre supérieure (21).

Pour ce faire, les chercheurs utilisent dans une lignée de souris transgénique Nes-Cre pour invalider le gène *Alk5* dans les bourgeons faciaux en développement.

Tout d'abord, on observe que les souris mutantes *Alk5/Nes-Cre* présentent des fentes labiales unilatérales, et occasionnellement des fentes labiales bilatérales (Fig. 41). L'inactivation d'*Alk5* dans l'épithélium et le mésenchyme des bourgeons faciaux aboutit donc à des fentes labiales.

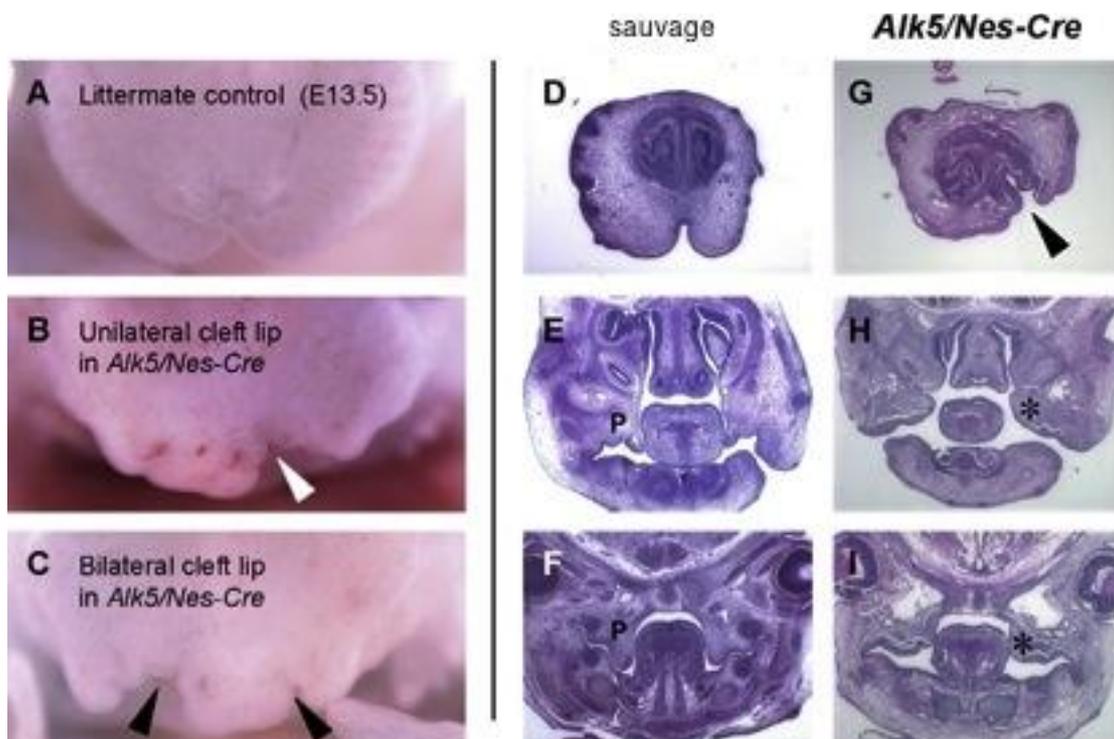


Fig. 41 : les mutants *Alk5/Nes-Cre* ont des fentes labiales uni ou bilatérales (têtes de flèche en B, C, G). Des coupes antéropostérieures de ces mutants (G-I) comparées avec des souris sauvages (D-F) révèlent également des lames palatines hypoplasiques à E13.5 (astérisques en H et I) ; P = lame palatine normale

Ensuite, afin de mieux cerner les possibles changements de signalisation pouvant entraîner des fentes labiales chez les mutants *Alk5/Nes-Cre*, les scientifiques effectuent une hybridation *in situ* pour observer l'expression des gènes candidats.

- *Bmp4* (Fig. 42)

Comparée avec les souris sauvages, l'expression de *Bmp4* (qui, pour rappel, est un membre de la superfamille Tgf β) est diminué chez les mutants *Alk5/Nes-Cre* à E10.

À E12, les différences morphologiques sont claires : les mutants *Alk5/Nes-Cre* ont une fusion incomplète de leur bourgeon nasal interne avec leur bourgeon maxillaire (astérisque Fig. 42 H, comparé avec la souris sauvage (Fig. 42 G)).

- *Shh* (Fig. 43)

On remarque que chez les mutants *Alk5/Nes-Cre*, l'expression de *Shh* est diminuée à E10 et E11 au niveau des bourgeons maxillaire et mandibulaire. Pour rappel, *Shh* est un gène important de la morphogenèse craniofaciale. Son inactivation dans les bourgeons nasofrontaux et maxillaire entraîne chez le poulet des fentes faciales analogues aux fentes labiales chez l'homme (21). De plus, on sait que *Bmp4* agit en amont de *Shh* au niveau du mésenchyme palatin durant la palatogenèse (21).

On note à E11 une fusion labiale incomplète sur le côté gauche (astérisque Fig. 43 H et J).

À E12, les souris sauvages ont une lèvre supérieure totalement fusionnée (Fig. 43 I). Ce n'est pas le cas des mutants *Alk5/Nes-Cre*, qui ont une fusion incomplète du bourgeon nasal interne avec et le bourgeon nasal externe, et le bourgeon maxillaire.

Les mutants *Alk5/Nes-Cre* ont donc une expression des gènes codant pour la *Shh* et la *Bmp4* altérée.

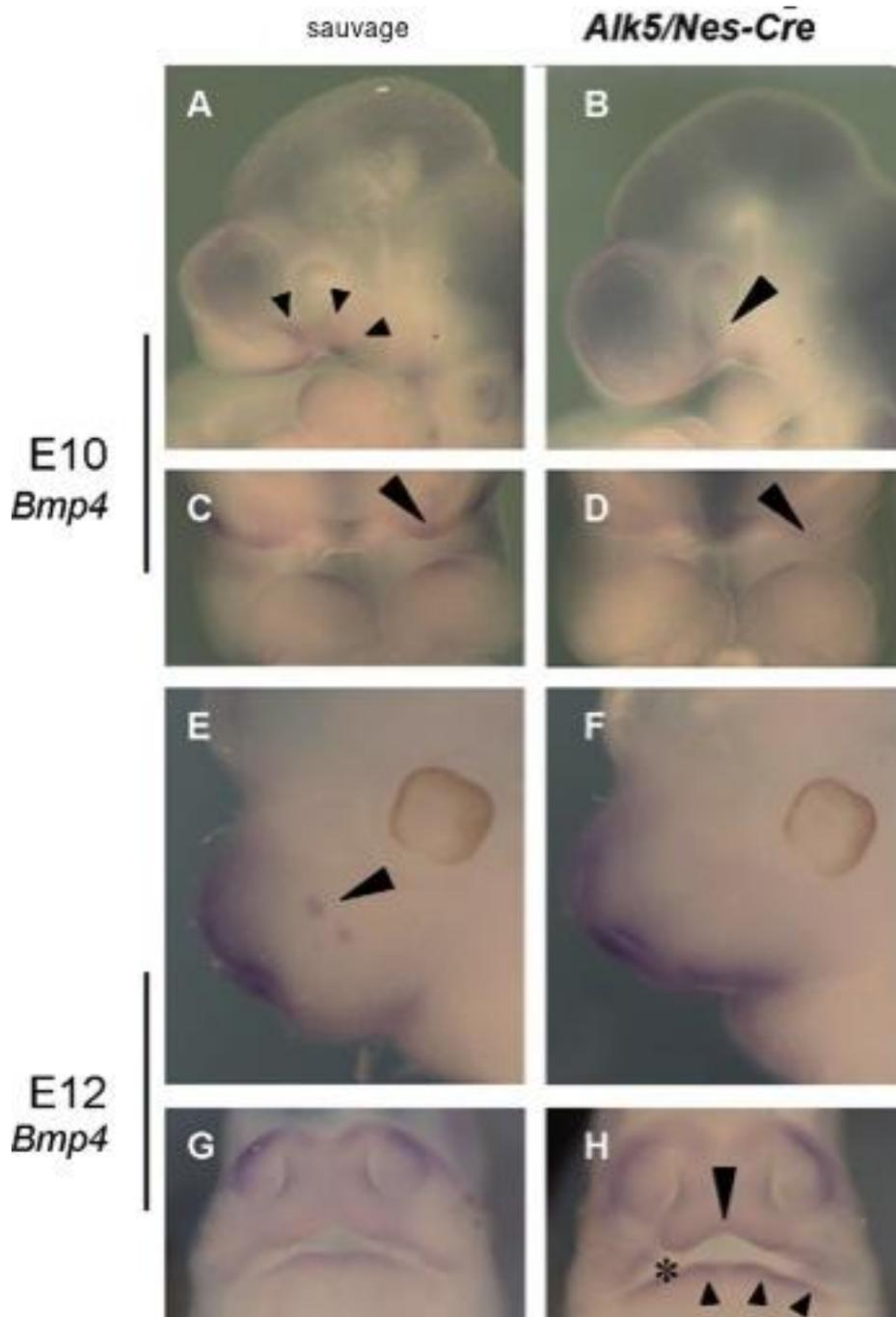


Fig. 42 : L'expression de *Bmp4* est altérée dans la région faciale des mutants *Alk5/Nes-Cre*
 A E10, on note que l'expression est plus faible au niveau du bord inférieur du bourgeon maxillaire des mutants (flèches en B et D). Les souris sauvages (A et C) montrent une expression de *Bmp4* plus étendue (flèches en A et C)

A E12 (E-H), la lèvre supérieure de la souris sauvage forme déjà une bordure continue (G), quand elle n'a clairement pas fusionné chez la souris mutante (H), avec le bord latéral du bourgeon nasal interne visible (astérisque)

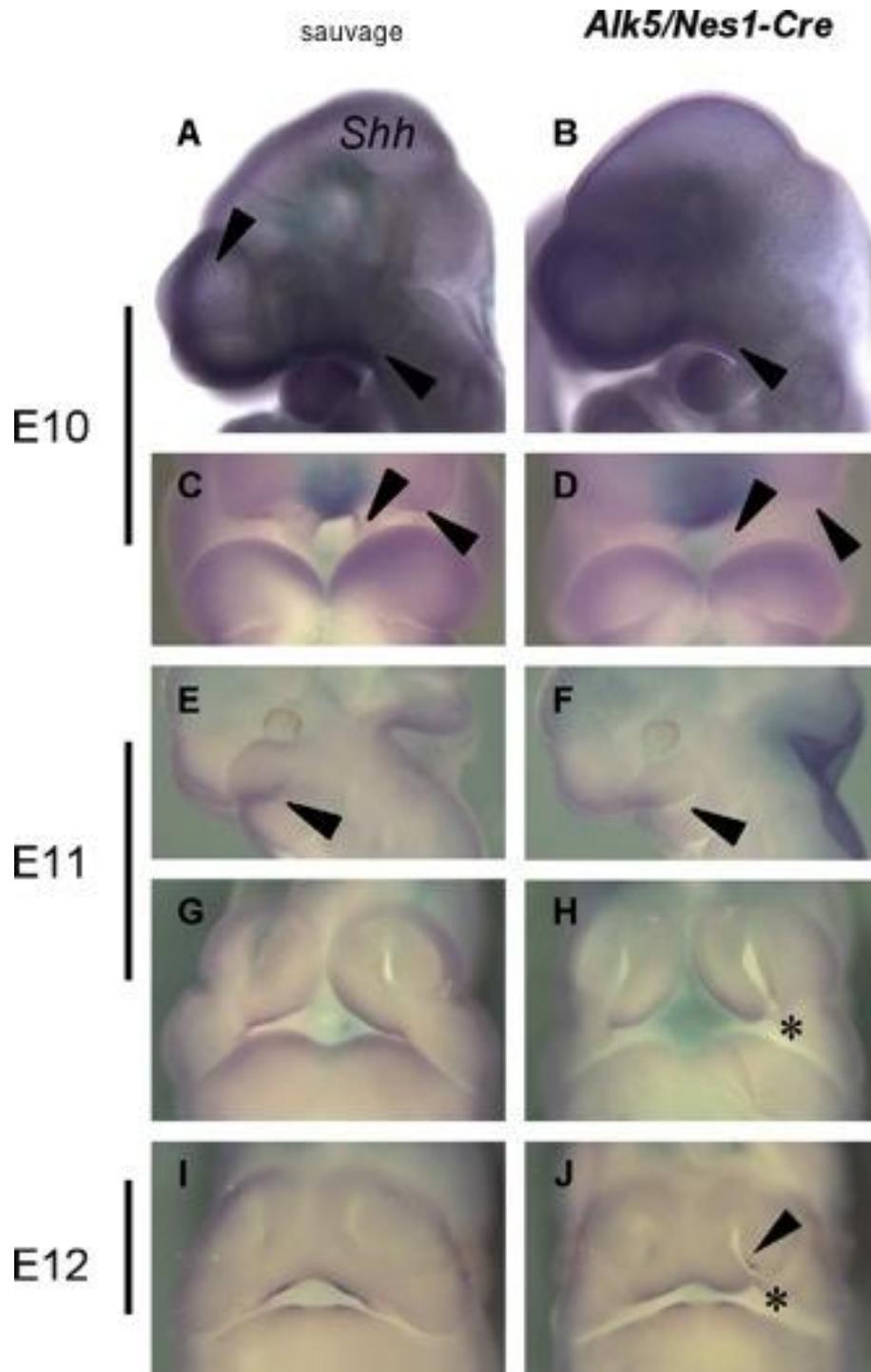


Fig. 43 : L'expression de *Shh* est diminuée chez les mutants *Alk5/Nes1-Cre*

A E10, le niveau d'expression est diminué au niveau des bourgeons maxillaire et mandibulaire chez le mutant (B et D) par rapport à la souris sauvage (A et C)

A E11, la différence est plus subtile, et est sûrement le reflet d'un bourgeon maxillaire hypoplasique vu chez l'embryon mutant (F et H). On note quand même que les mutants montrent une fusion incomplète de la lèvre supérieure côté gauche (astérisque en H)

A E12, alors que les souris sauvages ont une lèvre supérieure parfaitement fusionnée (I), les mutants ont une fusion incomplète du bourgeon nasal interne avec et le bourgeon nasal externe et le bourgeon maxillaire (astérisque en J)

Nous venons de constater que les mutants *Alk5/Nes-Cre* ont un défaut de fusion des bourgeon nasal interne, nasal externe et maxillaire (Fig. 42 H et 43 J). Les chercheurs se demandent si ce défaut de fusion n'est pas dû à la persistance du joint épithélial (ES) (équivalent au MES au niveau du palais).

Chez la souris sauvage, on observe clairement un joint épithélial, à E11, entre le bourgeon nasal interne et le bourgeon maxillaire. De plus, on note qu'il y a une grosse activité apoptotique des cellules épithéliales (Fig. 44 C).

Chez le mutant *Alk5/Nes-Cre*, la forme du bourgeon nasal interne diffère de celle de la souris sauvage. La zone de contact entre celui-ci et le bourgeon maxillaire en est réduite (Fig. 44 A et B). De plus, on note beaucoup moins de cellules apoptotiques.

Ces découvertes indiquent que la fente labiale chez le mutant *Alk5/Nes-Cre* peut être due au contact inadéquat entre le bourgeon nasal interne et le bourgeon maxillaire, exacerbé par la diminution des phénomènes d'apoptose et la persistance du joint épithélial.

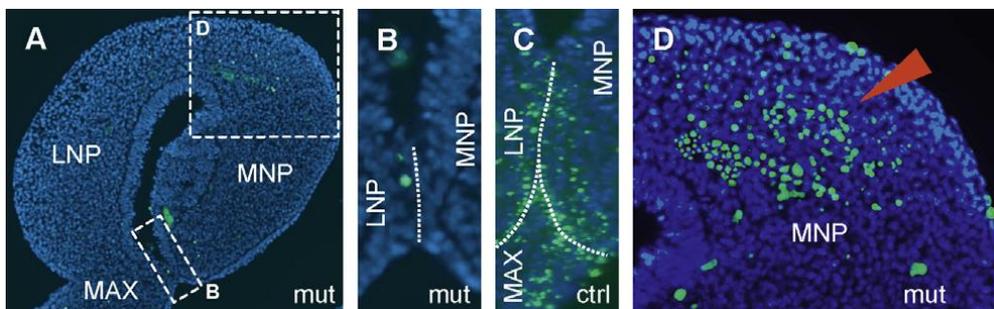


Fig. 44 : Méthode TUNEL montrant l'apoptose des cellules épithéliales le long du joint épithélial entre le bourgeon nasal interne (MNP) et le bourgeon maxillaire (MAX) chez les souris mutantes et les souris sauvages (ctrl en C) à E11. L'activité apoptotique (les cellules apoptotiques TUNEL-positives sont en vert) est diminuée chez le mutant (A et B) par rapport au sujet sauvage (C).

On note également que le joint épithélial est beaucoup plus réduit chez le mutant (B). C'est dû au contact réduit entre le bourgeon nasal interne et le bourgeon maxillaire.

Le mutant montre également un nombre accru de cellules TUNEL-positives dans le mésenchyme de la partie antérieure du bourgeon nasal interne (D) Lnp : bourgeon nasal externe

Tout ceci nous permet d'affirmer que *Tgfβ3*, *Alk5*, et *Bmp* sont nécessaires à la fusion de la lèvre supérieure. Cependant, le rôle précis d'*Alk5* n'est pas encore établi, et mériterait d'autres explorations.

Tableau récapitulatif des principaux gènes étudiés :

<i>Gène</i>	Protéine codée par le gène	Phénotype observé en cas d'inactivation du gène
<i>Msx1</i>	Répresseur transcriptionnel	Fente palatine par défaut de prolifération des cellules mésenchymateuses
<i>Pax9</i>	Activateur transcriptionnel	Fente palatine et absence du processus palatin du prémaxillaire
<i>Dlx5</i>	Répresseur transcriptionnel	Fente palatine par défaut de développement des lames palatines
<i>TGFβ3</i>	Facteur de croissance	Fente palatine par défaut de fusion des lames palatines
<i>Alk5</i>	Récepteur des TGFβ	Fente labiale + fente palatine par défaut de fusion des lames palatines

D'autres gènes et d'autres voies de signalisation ont été étudiés par les scientifiques, mais nous ne pouvons pas tous les présenter ici.

La présentation de ces quelques expériences a pour but de comprendre comment les scientifiques raisonnent et mettent en œuvre ces raisonnements.

Comme nous avons pu le constater, l'étiopathogénie des fentes labiopalatines est très complexe. Le volet génétique est vaste et relativement méconnu, et est l'objet, à l'heure actuelle, de nombreuses recherches à travers le monde. Celles-ci utilisent pour la plupart des animaux génétiquement modifiés.

CONCLUSION

La morphogénèse crâniofaciale est sous le contrôle de mécanismes moléculaires faisant intervenir de nombreux gènes, facteurs de transcription et autres facteurs de croissance, organisés en voies de régulation hautement coordonnées. Le moindre problème au sein de ce réseau moléculaire peut entraîner une malformation congénitale. C'est ce qui se passe dans le cas des fentes labiopalatines.

Si la science est parvenue à un tel degré de connaissance, c'est entre autres parce que le développement embryonnaire de l'homme est semblable à celui d'autres animaux. Ainsi, l'homme peut mener à bien des expériences génétiques complexes qui lui seraient éthiquement impossible à réaliser sur ses congénères.

Les modèles animaux présentent un haut degré de similitude avec l'homme au niveau de la réglementation spatiotemporelle et des interactions entre les facteurs clés qui régissent le développement des structures orofaciales (18).

La recherche médicale a pour but ultime de prévenir la maladie et de rétablir la santé de l'homme malade. De nos jours, même si l'étiopathogénie des fentes labiopalatines reste encore assez méconnue, la médecine est capable de soigner jusqu'à leurs formes les plus sévères, fonctionnellement et esthétiquement. On pourrait alors se demander pourquoi s'obstiner à continuer de chercher. Deux raisons viennent à l'esprit :

- pour qu'on puisse prévenir ces malformations avant même qu'elles n'apparaissent. En effet, pourquoi ne pas imaginer qu'on puisse un jour déceler sur un embryon la présence d'une mutation de tel ou tel gène participant à la morphogénèse orofaciale, de connaître le rôle de son produit d'expression et de palier à son absence par le biais d'autres molécules ? En 2002, Zhang et coll. ont bien montré que l'expression transgénique de Bmp4 humain chez la souris *Msx1*^{-/-} la préservait d'un phénotype de fente palatine (46) ;

- parce que c'est la nature de l'homme que de chercher à comprendre tout ce qui l'entoure ; à croire que même cela, c'est inscrit dans nos gènes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. AKNIN JJ.

Croissance craniofaciale.

Encycl Méd Chir (Paris), Médecine Buccale, 28-100-P-10, 2008, **21**.

2. ALAPPAT S, ZHANG ZY et CHEN YP.

Msx homeobox gene family and craniofacial development.

Cell Res 2003;**13**(6):429-442.

3. BRITANOVA O, DEPEW MJ, SCHWARK M et coll.

Satb2 haploinsufficiency phenocopies 2q32-q33 deletions, whereas loss suggests a fundamental role in the coordination of jaw development.

Am J Hum Genet 2006;**79**(4):668-678.

4. COULY G.

Croissance craniofaciale du fœtus et du jeune enfant.

Encycl Méd Chir (Paris), Stomatologie, 22-001-A-30, 2002, **10**.

5. COULY G, KVERNELAND B, MICHEL B et coll.

Fentes labiomaxillaires et vélopalatines. Diagnostic anténatal, modalités alimentaires, chirurgie réparatrice et surveillance pédiatrique.

Encycl Méd Chir (Paris), Pédiatrie, 4-014-C-55, 2009, **10**.

6. DESMYTER L, GHASSIBE M, REVENCU N et coll.

IRF6 screening of syndromic and a priori non syndromic cleft lip and palate patients : identification of a new type of minor VWS sign.

Mol Syndromol 2010;**1**(2):67-74.

7. DUDAS M, KIM J, LI WY et coll.

Epithelial and ectomesenchymal role of the type I TGF- β receptor Alk5 during facial morphogenesis and palatal fusion.

Dev Biol 2006;**296**(2):298-314.

8. FITZPATRICK DR, CARR IM, McLAREN L et coll.

Identification of Satb2 as the cleft palate gene on 2q32-q33.

Hum Mol Genet 2003;**12**(19):2491-2501.

9. FUNATO N, NAKAMURA N, RICHARDSON JA et coll.

Tbx1 regulates oral epithelial adhesion and palatal development.

Hum Mol Genet 2012;**21**(11):2524-2537.

10. GOLDBERG M, DAVIT-BEAL T et BARBET P.

Embryologie craniofaciale(I). Régulations cellulaires et moléculaires des étapes initiales de l'embryologie craniofaciale.

Encycl Méd Chir (Paris), Médecine buccale, 28-085-U-30, 2011, **21**.

11. GOLDBERG M, OPSAHL VITAL S et BARBET P.

Embryologie craniofaciale(II). Embryologie de la face et des structures squelettiques céphaliques : morphogenèse des maxillaires, de la mandibule et du crâne. Encycl Méd Chir (Paris), Médecine buccale, 28-085-U-31, 2011, **17**.

12. GOODNOUGH LH, BRUGMANN SA, HU D et coll.

Stage-dependant craniofacial defects resulting from Sprouty2 overexpression. Dev Dyn 2007;**236**(7):1918-1928.

13. GRITLI-LINDE A.

Molecular control of secondary palate development. Dev Biol 2007;**301**(2):309-326.

14. HAMASHI T, SASAKI Y, HIDAKA K et coll.

Association between palatal morphogenesis and Pax9 expression pattern in CL/Fr embryos with clefting during palatal development. Arch Oral Biol 2003;**48**(8):581-587.

15. HAN J, MAYO J, XU X et coll.

Indirect modulation of Shh signaling by Dlx5 affects the oral-nasal patterning of palate and rescues cleft palate in Msx1-null mice. Development 2009;**136**(24):4225-4233.

16. JIN YR, HAN XH, TAKETO MM et coll.

Wnt9b-dependant FGF signaling is crucial for outgrowth of the nasal and maxillary processes during upper jaw and lip development. Development 2012;**139**(10):1821-1830.

17. JIN YR, TURCOTTE TJ, CROCKER AL et coll.

The canonical Wnt signaling activator, R-Spondin2, regulates craniofacial patterning and morphogenesis within the branchial arch through ectodermal-mesenchymal interaction. Dev Biol 2011;**352**(1):1-13.

18. JURIOFF DM et HARRIS MJ.

Mouse genetic models of cleft lip with or without cleft palate. Birth Defects Res A Clin Mol Teratol 2008;**82**(2):63-77.

19. KOUSKOURA T, FRAGOUE N, ALEXIOU M et coll.

The genetic basis of craniofacial and dental abnormalities. Schweiz Monatsschr Zahnmed 2011;**121**(7/8):636-646.

20. LEVI G, MANTERO S, BARBIERI O et coll.

Msx1 and Dlx5 act independently in development of craniofacial skeleton, but converge on the regulation of Bmp signaling in palate formation. Mech Dev 2006;**123**(1):3-16.

21. LI WY, DUDAS M et KAARTINEN V.

Signaling through TGF- β type I receptor Alk5 is required for upper lip fusion. Mech Dev 2008;**125**(9/10):874-882.

22. MAO XY et TANG SJ.

Effects of phenytoin on Satb2 and Hoxa2 gene expressions in mouse embryonic craniofacial tissue.

Biochem Cell Biol 2010;**88**(4):731-735.

23. MATSUMURA K, TAKETOMI T, YOSHIZAKI K et coll.

Sprouty2 controls proliferation of palate mesenchymal cells via fibroblast growth factor signaling.

Biochem Biophys Res Commun 2011;**404**(4):1076-1082.

24. MININA E, KRESCHEL C, NASKI MC et coll.

Interaction of FGF, Ihh/Pthlh, and BMP signaling integrates chondrocyte proliferation and hypertrophic differentiation.

Dev Cell 2002;**3**(3):439-449.

25. MININA E, SCHNEIDER S et ROSOWSKI M.

Expression of FGF and TGF- β signaling related genes during embryonic endochondral ossification.

Gene Expr Patterns 2005;**6**(1):102-109.

26. NAKATOMI M, WANG XP, KEY D et coll.

Genetic interactions between Pax9 and Msx1 regulate lip development and several stages of tooth morphogenesis.

Dev Biol 2010; **340**(2):438-449.

27. ONLINE MENDELIAN INHERITANCE IN MAN (OMIM).

Catalogue online des genes humains et des désordres génétiques.

<http://www.omim.org>

28. PAUWS E et STANIER P.

FGF signaling and SUMO modification: new players in the aetiology of cleft lip and/or palate.

Trends Genet 2007;**23**(12):631-640.

29. PAVY B, VACHER C, VENDROUX J et coll.

Fentes labiales et palatines. Traitement primaire.

Encycl Méd Chir (Paris), Techniques chirurgicales, chirurgie plastique reconstructrice et esthétique, 45-580, 1998, **21**.

30. PORNTAVEETUS T, OOMMEN S, SHARPE PT et coll.

Expression of fgf signaling pathway related genes during palatal rugae development in the mouse.

Gene Expr Patterns 2010;**10**(4/5):193-198.

31. REITER R, BROSCH S, LUDEKE M et coll.

Genetic and environmental risk factors for submucous cleft palate.

Eur J Oral Sci 2012;**120**(2):97-103.

- 32. SALAHSHOURIFAR I, SULAIMAN WAW et HALIM AS.**
Mutation screening of IRF6 among families with non-syndromic oral clefts and identification of two novel variants: review of the literature.
Eur J Med Genet 2012;**55**(6/7):389-393.
- 33. SASAKI Y, O’KANE S, DIXON T et coll.**
Temporal and spatial expression of Pax9 and Sonic Hedgehog during development of normal mouse palates and cleft palates in TGF- β 3 null embryos.
Arch Oral Biol 2007;**52**(3):260-267.
- 34. SCHELLER K, SCHUBERT A et SCHUBERT J.**
In vitro investigation of the secondary palate development in two strains of mice.
Int J Oral Maxillofac Surg 2011;**40**(7):737-742.
- 35. SINGH KOHLI S et SINGH KOHLI V.**
A comprehensive review of the genetic basis of cleft lip and palate.
J Oral Maxillofac Pathol 2012;**16**(1):64-72.
- 36. SULL JW, LIANG KY, HETMANSKI JB et coll.**
Maternal transmission effects of the PAX genes among cleft case-parent trios from four populations.
Eur J Hum Genet 2009;**17**(6):831-839.
- 37. TALMANT JC, TALMANT JC et LUMINEAU JP.**
Fentes labiales et palatines. Traitement primaire.
Encycl Méd Chir (Paris), Techniques chirurgicales, chirurgie plastique reconstructrice et esthétique, 45-580, 2011, **26**.
- 38. UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE.**
UFR de biologie.
<http://www.snv.jussieu.fr/vie/documents/KO/KO.htm>
- 39. UNIVERSITE CATHOLIQUE DE LOUVAIN.**
Secteur des sciences et de la santé.
<http://www.md.ucl.ac.be>
- 40. WELSH IC, HAGGE-GREENBERG A et O’BRIEN TP.**
A dosage-dependent role for Spry2 in growth and patterning during palate development.
Mech Dev 2007;**124**(9/10):746-761.
- 41. WIKIPEDIA.**
Génétique.
<http://fr.wikipedia.org>
- 42. XU X, HAN J, ITO Y et coll.**
Ectodermal Smad4 and p38 MAPK are functionally redundant in mediating TGF- β /BMP signaling during tooth and palate development.
Dev Cell 2008;**15**(2):322-329.

43. YAMADA W, NAGAO K, HORIKOSHI K et coll.

Craniofacial malformation in R-Spondin2 Knockout mice.
Biochem Biophys Res Commun 2009;**381**(3):453-458.

44. YOON JK et LEE JS.

Cellular signalling and biological functions of R-Spondins.
Cell Signal 2012;**24**(2):369-377.

45. ZHANG Z, SONG Y, ZHANG X et coll.

Msx1/Bmp4 genetic pathway regulates mammalian alveolar bone formation via induction of Dlx5 and Cbfa1.
Mech Dev 2003;**120**(12):1469-1479.

46. ZHANG Z, SONG Y, ZHAO X et coll.

Rescue of cleft palate in Msx1-deficient mice by transgenic Bmp4 reveals a network of BMP and Shh signaling in the regulation of mammalian palatogenesis.
Development 2002;**129**(17):4135-4146.

47. ZHAO H, OKA K, BRINGAS P et coll.

TGF- β type I receptor Alk5 regulates tooth initiation and mandible patterning in a type II receptor independent manner.
Dev Biol 2008;**320**(1):19-29.

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : photo personnelle.

Figure 2 : schéma du palais et de la lèvre supérieure en vue inférieure.

ORTHOEDITION.

http://www.orthoedition.com/les_syndromes/Fente/fente2.html

Figure 3 : schéma d'une fente labiale unilatérale partielle.

ORTHOEDITION.

http://www.orthoedition.com/les_syndromes/Fente/fente2.html

Figure 4 : schéma d'une fente labio-narinaire unilatérale.

ORTHOEDITION.

http://www.orthoedition.com/les_syndromes/Fente/fente2.html

Figure 5 : schéma d'une fente labio-alvéolo-narinaire unilatérale totale.

ORTHOEDITION.

http://www.orthoedition.com/les_syndromes/Fente/fente2.html

Figure 6 : schéma d'une fente labio-alvéolo-narinaire bilatérale totale.

ORTHOEDITION.

http://www.orthoedition.com/les_syndromes/Fente/fente2.html

Figure 7 : schéma d'une fente vélaire.

ORTHOEDITION.

http://www.orthoedition.com/les_syndromes/Fente/fente2.html

Figure 8 : schéma d'une fente vélo-palatine partielle.

ORTHOEDITION.

http://www.orthoedition.com/les_syndromes/Fente/fente2.html

Figure 9 : schéma d'une fente labiale unilatérale et division vélaire.

ORTHOEDITION.

http://www.orthoedition.com/les_syndromes/Fente/fente2.html

Figure 10 : schéma d'une fente labiopalatine unilatérale totale.

ORTHOEDITION.

http://www.orthoedition.com/les_syndromes/Fente/fente2.html

Figure 11 : schéma d'une fente labiopalatine totale bilatérale.

ORTHOEDITION.

http://www.orthoedition.com/les_syndromes/Fente/fente2.html

Figure 12 : schéma de la ligne primitive.

PR DANIEL BALAS.

<http://www.db-gersite.com/EMBRYO/embdes/embdes1.html>

- Figure 13 : cellules des crêtes neurales et bourgeons de la face.
« **Human embryology and developmental biology** ».
Bruce M. Carlson, 2004.
- Figure 14 : schéma de l'appareil pharyngien à la fin de la 4^{ème} semaine IU.
UNIVERSITE CATHOLIQUE DE LOUVAIN.
Secteur sciences et santé.
<http://www.md.ucl.ac.be/didac/anat110/Tete%20et%20cou.html>
- Figure 15 : schéma des arcs pharyngiens avec leurs artères, nerfs et cartilages.
UNIVERSITE CATHOLIQUE DE LOUVAIN.
Secteur sciences et santé.
<http://www.md.ucl.ac.be/didac/anat110/Tete%20et%20cou.html>
- Figure 16 : différentes structures dérivées des arcs pharyngés.
UNIVERSITE CATHOLIQUE DE LOUVAIN.
Secteur sciences et santé.
<http://www.md.ucl.ac.be/didac/anat110/Tete%20et%20cou.html>
- Figure 17 : devenir des sillons et poches branchiales.
UNIVERSITE DE STRASBOURG.
UFR de médecine.
<http://udsmed.u-strasb.fr/emed/courses>
- Figure 18 : embryon vue de face.
UNIVERSITE CATHOLIQUE DE LOUVAIN.
Secteur sciences et santé.
<http://www.md.ucl.ac.be/didac/anat110/Tete%20et%20cou.html>
- Figure 19 : schéma des dérivés des cartilages branchiaux.
COURS DE MEDECINE.
<http://www.coursmedecine.com>
- Figure 20 : schémas vue frontale d'embryons.
SOCIETE FRANCOPHONE D'IMAGERIE PEDIATRIQUE ET PRENATALE.
<http://www.sfip-radiopediatrie.org/>
- Figure 21 : devenir des bourgeons nasaux.
COURS DE MEDECINE.
<http://www.coursmedecine.com/embryologie/cours-embryologie>
- Figure 22 : segment intermaxillaire vue inférieure.
UNIVERSITE DE STRASBOURG.
UFR de médecine.
<http://udsmed.u-strasb.fr/emed/courses>
- Figure 23 : modelage de la face de la 4^{ème} à la 8^{ème} semaine IU.
S.E.R.E.T.
<http://www.seret-medecine.org>

- Figure 24 : schéma d'un crâne vue frontale.
LE CORPS HUMAIN.
http://corpshumain.ca/le_crane.php
- Figure 25 : schéma d'un crâne vue latérale.
THE VISUAL DICTIONARY.
http://www.infovisual.info/03/013_en.html
- Figure 26 : schéma du palais osseux en vue inférieure.
MEDICOPEDIA BETA.
<http://www.medicopedia.net/term/17677,1,xhtml>
- Figure 27 : schéma de la fermeture du palais en vue inférieure.
S.E.R.E.T.
<http://www.seret-medecine.org>
- Figure 28 : Développement et formation du palais secondaire.
KOUSKOURA T, FRAGOUE N, ALEXIOU M et coll.
The genetic basis of craniofacial and dental abnormalities.
Schweiz Monatssch Zahnmed 2011;**121**(7-8):636-646.
- Figure 29 : Schéma de base d'une voie de signalisation moléculaire.
UNIVERSITE D'ANGERS.
<http://www.univ-angers.fr/fr/index.html>
- Figure 30 : Invalidation d'un gène.
UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE.
UFR de biologie.
<http://www.snv.jussieu.fr/vie/documents/KO/KO.htm>
- Figure 31 : Remplacement du gène cible par un gène rapporteur.
UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE.
UFR de biologie.
<http://www.snv.jussieu.fr/vie/documents/KO/KO.htm>
- Figure 32 : Création de souris « mosaïques ».
UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE.
UFR de biologie.
<http://www.snv.jussieu.fr/vie/documents/KO/KO.htm>
- Figure 33 : Expression de *Dlx5* et *Msx1* dans les structures craniofaciales.
LEVI G, MANTERO S, BARBIERI O et coll.
Msx1 and Dlx5 act independently in development of craniofacial skeleton,
but converge on the regulation of Bmp signaling in palate formation.
Mech Dev 2006;**123**(1):3-16.

- Figure 34 : Correction des défauts palatins *Msx1*-dépendants chez la souris DKO.
LEVI G, MANTERO S, BARBIERI O et coll.
Msx1 and Dlx5 act independently in development of craniofacial skeleton, but converge on the regulation of Bmp signaling in palate formation.
Mech Dev 2006;**123**(1):3-16.
- Figure 35 : Expression de Bmp4 et Bmp7 chez les embryons *Dlx5*^{-/-}, *Msx1*^{-/-} et DKO
LEVI G, MANTERO S, BARBIERI O et coll.
Msx1 and Dlx5 act independently in development of craniofacial skeleton, but converge on the regulation of Bmp signaling in palate formation.
Mech Dev 2006;**123**(1):3-16.
- Figure 36 : Coupes transversales de tête d'embryons.
HAMASHI T, SASAKI Y, HIDAKA K et coll.
Association between palatal morphogenesis and Pax9 expression pattern in CL/Fr embryos with clefting during palatal development.
Arch Oral Biol 2003;**48**(8):581-587.
- Figure 37 : Fente labiale chez une souris *Msx1*^{-/-} ; *Pax9*^{-/-}.
NAKATOMI M, WANG XP, KEY D et coll.
Genetic interactions between Pax9 and Msx1 regulate lip development and several stages of tooth morphogenesis.
Dev Biol 2010; **340**(2):438-449.
- Figure 38 : Défauts squelettiques maxillaires et mandibulaires.
NAKATOMI M, WANG XP, KEY D et coll.
Genetic interactions between Pax9 and Msx1 regulate lip development and several stages of tooth morphogenesis.
Dev Biol 2010; **340**(2):438-449.
- Figure 39 : La délétion d'*Alk5* dans l'épithélium.
DUDAS M, KIM J, LI WY et coll.
Epithelial and ectomesenchymal role of the type I TGF- β receptor Alk5 during facial morphogenesis and palatal fusion.
Dev Biol 2006;**296**(2):298-314.
- Figure 40 : L'apoptose induite par Tgf β 3.
DUDAS M, KIM J, LI WY et coll.
Epithelial and ectomesenchymal role of the type I TGF- β receptor Alk5 during facial morphogenesis and palatal fusion.
Dev Biol 2006;**296**(2):298-314.
- Figure 41 : les mutants *Alk5*/Nes-Cre ont des fentes labiales.
LI WY, DUDAS M et KAARTINEN V.
Signaling through TGF- β type I receptor Alk5 is required for upper lip fusion.
Mech Dev 2008;**125**(9-10):874-882.

- Figure 42 : L'expression de *Bmp4* est altérée dans la région faciale des mutants.
LI WY, DUDAS M et KAARTINEN V.
Signaling through TGF- β type I receptor Alk5 is required for upper lip fusion.
Mech Dev 2008;**125**(9-10):874-882.
- Figure 43 : L'expression de *Shh* est diminuée chez les mutants *Alk5/Nes-Cre*.
LI WY, DUDAS M et KAARTINEN V.
Signaling through TGF- β type I receptor Alk5 is required for upper lip fusion.
Mech Dev 2008;**125**(9-10):874-882.
- Figure 44 : Méthode TUNEL montrant l'apoptose des cellules épithéliales.
LI WY, DUDAS M et KAARTINEN V.
Signaling through TGF- β type I receptor Alk5 is required for upper lip fusion.
Mech Dev 2008;**125**(9-10):874-882.

MARIE D'AVIGNEAU (Thibaud). – Intérêt des animaux génétiquement modifiés dans la compréhension de l'étiopathogénie des fentes labiopalatines. – 100f. ; ill. ; tabl. ; 47 ref. ; 30cm. (Thèse : Chir. Dent. ; Nantes ; 2013)

RESUME :

Les fentes labiopalatines sont les malformations congénitales de la face les plus fréquentes chez l'homme. Leur étiologie, complexe et multifactorielle, reste à l'heure actuelle encore méconnue.

Cependant, l'évolution de la génétique et de la biologie moléculaire permet aux scientifiques de faire des découvertes spectaculaires. Ces découvertes sont possibles grâce à l'utilisation des modèles animaux, en particulier les souris génétiquement modifiées.

Afin de mieux comprendre l'étiopathogénie des fentes labiopalatines, de nombreux gènes, codant pour diverses molécules comme des facteurs de transcription ou des facteurs de croissance, ont été testés.

Pour ce faire, les scientifiques inactivent des gènes comme les gènes à homéobox *Msx1* ou *Pax9*. Ils observent ensuite le phénotype de la souris KO.

Ce travail s'intéresse particulièrement à *Msx1*, *Pax9* et la famille des *Tgfβ*.

RUBRIQUE DE CLASSEMENT : EMBRYOLOGIE

MOTS CLES MESH :

Fente labiale – Cleft lip.

Fente palatine – Cleft palate.

Souris knockout – Mice, Knockout.

Gènes homéotiques – Genes, Homeobox.

Facteur de transcription MSX-1 – MSX-1 Transcription factor

Facteurs de croissance transformants – Transforming Growth Factors

JURY :

Président : Professeur Jean A.

Directeur : Professeur Licht B.

Assesseur : Docteur Dajean-Trutaud S.

Assesseur : Docteur Renaudin S.

Assesseur : Docteur Corre P.