



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

145092 *Double.*

UNIVERSITE HENRI POINCARÉ, NANCY 1

2000

FACULTE DE MEDECINE
DE NANCY

N° 109

THESE

pour obtenir le grade de
DOCTEUR EN MEDECINE

Présentée et soutenue publiquement
dans le cadre du troisième cycle de Médecine Spécialisée
par

Séverine VEYRIERES

le 18 octobre

ANOMALIES UTERINES ET VAGINALES TRANSVERSALES

**Données de génétique du développement
et apport personnel sur l'étude du syndrome de Mayer-
Rokitansky-Kuster**

Examineurs de la thèse :

M. B. LEHEUP
M. M. VIDAILHET
M. P. VERT
M. H. GERARD

Professeur
Professeur
Professeur
Professeur

Président

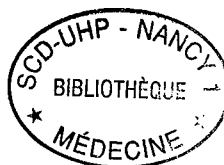
Juges



UNIVERSITE HENRI POINCARÉ, NANCY 1

FACULTE DE MEDECINE
DE NANCY
N°

2000



THESE

pour obtenir le grade de
DOCTEUR EN MEDECINE

Présentée et soutenue publiquement
dans le cadre du troisième cycle de Médecine Spécialisée
par

Séverine VEYRIERES

le 18 octobre

ANOMALIES UTERINES ET VAGINALES TRANSVERSALES

**Données de génétique du développement
et apport personnel sur l'étude du syndrome de Mayer-
Rokitansky-Kuster**

Examineurs de la thèse :

M. B. LEHEUP
M. M. VIDAILHET
M. P. VERT
M. H. GERARD

Professeur
Professeur
Professeur
Professeur

}
}
}
}

Président

Juges

44ème Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1ère sous-section : (*Biochimie et Biologie Moléculaire*)

Professeur Pierre NABET - Professeur Jean-Pierre NICOLAS - Professeur Francine NABET

Professeur Jean-Louis GUEANT

2ème sous-section : (*Physiologie*)

Professeur Jean-Pierre CRANCE - Professeur Jean-Pierre MALLIE

Professeur Hubert UFFHOLTZ - Professeur François MARCHAL - Professeur Philippe HAOUZI

3ème sous-section : (*Biologie cellulaire*)

Professeur Claude BURLET

4ème sous-section : (*Nutrition*)

Professeur Olivier ZIEGLER

45ème Section : MICROBIOLOGIE ET MALADIES TRANSMISSIBLES

1ère sous-section : (*Bactériologie, Virologie-Hygiène*)

Professeur Alain LE FAOU

2ème sous-section : (*Parasitologie et mycologie*)

Professeur Bernard FORTIER

3ème sous-section : (*Maladies infectieuses - maladies tropicales*)

Professeur Philippe CANTON - Professeur Alain GERARD - Professeur Thierry MAY

46ème Section : SANTÉ PUBLIQUE

1ère sous-section : (*Epidémiologie, économie de la santé et prévention*)

Professeur Jean-Pierre DESCHAMPS - Professeur Philippe HARTEMANN

Professeur Serge BRIANÇON - Professeur Francis GUILLEMIN

2ème sous-section : (*Médecine du travail et des risques professionnels*)

Professeur Guy PETIET

3ème sous-section : (*Médecine légale*)

Professeur Henry COUDANE

4ème sous-section (*Biostatistiques et informatique médicale*)

Professeur Bernard LEGRAS - Professeur François KOHLER

47ème Section : HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE, TRANSFUSION, CANCÉROLOGIE ET GÉNÉTIQUE

1ère sous-section : (*Hématologie*)

Professeur Christian JANOT - Professeur Thomas LECOMPTE - Professeur Pierre BORDIGONI -

Professeur Pierre LEDERLIN

(*Génie biologique et médical*)

Professeur J.François STOLTZ

2ème sous-section : (*Cancérologie*)

Professeur François GUILLEMIN - Professeur Thierry CONROY

(*Radiothérapie*)

Professeur Pierre BEY

3ème sous-section : (*Immunologie*)

Professeur Gilbert FAURE - Professeur Marie-Christine BENE

4ème sous-section : (*génétiq*)

Professeur Philippe JONVEAUX

48ème Section : ANESTHÉSIOLOGIE, PHARMACOLOGIE, RÉANIMATION ET THÉRAPEUTIQUE

1ère sous-section : (*Anesthésiologie et réanimation chirurgicale*)

Professeur Marie-Claire LAXENAIRE - Professeur Claude MEISTELMAN - Professeur Dan LONGROIS

2ème sous-section : (*Réanimation médicale*)

Professeur Alain LARCAN - Professeur Henri LAMBERT - Professeur Nicolas DELORME

Professeur Pierre-Edouard BOLLAERT

3ème sous-section : (*Pharmacologie fondamentale, Pharmacologie clinique*)

Professeur René-Jean ROYER - Professeur Patrick NETTER - Professeur Pierre GILLET

4ème sous-section : (*Thérapeutique*)

Professeur François PAILLE - Professeur Gérard GAY - Professeur Faiez ZANNAD

49ème Section : PATHOLOGIE NERVEUSE, PATHOLOGIE MENTALE et RÉÉDUCATION

1ère sous-section : (*Neurologie*)

Professeur Michel WEBER - Professeur Gérard BARROCHE - Professeur Hervé VESPIGNANI

2ème sous-section : (*Neurochirurgie*)

Professeur Henri HEPNER - Professeur Jean-Claude MARCHAL - Professeur Jean AUQUE

3ème sous-section : (*Psychiatrie d'adultes*)

Professeur Jean-Pierre KAHN

4ème sous-section : (*Pédopsychiatrie*)

Professeur Colette VIDAILHET - Professeur Daniel SIBERTIN-BLANC

5ème sous-section : (*Médecine physique et de réadaptation*)

Professeur Jean-Marie ANDRE

50ème Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE et CHIRURGIE PLASTIQUE

1ère sous-section : (*Rhumatologie*)

Professeur Jacques POUREL - Professeur Isabelle VALCKENAERE

2ème sous-section : (*Chirurgie orthopédique et traumatologique*)

Professeur Daniel SCHMITT - Professeur Jean-Pierre DELAGOUTTE - Professeur Daniel MOLE

Professeur Didier MAINARD

3ème sous-section : (*Dermato-vénéréologie*)

Professeur Jean-Luc SCHMUTZ

4ème sous-section : (*Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique*)

Professeur Michel MERLE - Professeur François DAP

51ème Section : PATHOLOGIE CARDIO-PULMONAIRE et VASCULAIRE

1ère sous-section : (*Pneumologie*)

Professeur Daniel ANTHOINE - Professeur Jean-Marie POLU - Professeur Yves MARTINET

Professeur Jean-François CHABOT

2ème sous-section : (*Cardiologie et maladies vasculaires*)

Professeur Etienne ALIOT - Professeur Nicolas DANCHIN - Professeur Yves JUILLIERE - Professeur Nicolas SADOUL

3ème sous-section : (*Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire*)

Professeur Pierre MATHIEU - Professeur Jacques BORRELLY - Professeur Jean-Pierre VILLEMOT

Professeur Jean-Pierre CARTEAUX

4ème sous-section : (*Chirurgie vasculaire*)

Professeur Gérard FIEVE

52ème Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF et URINAIRE

1ère sous-section : (*Hépatologie, gastro-entérologie*)

Professeur Pierre GAUCHER - Professeur Marc-André BIGARD

Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI

2ème sous-section : (*Chirurgie digestive*)

3ème sous-section : (*Néphrologie*)

Professeur Michèle KESSLER - Professeur Dominique HESTIN (Mme)

4ème sous-section : (*Urologie*)

Professeur Philippe MANGIN - Professeur Jacques HUBERT

**53ème Section : MÉDECINE INTERNE et CHIRURGIE GÉNÉRALE
MÉDECINE ET CHIRURGIE EXPÉRIMENTALE**

1ère sous-section : (*Médecine interne*)

Professeur Gilbert THIBAUT - Professeur Francis PENIN

Professeur Denise MONERET-VAUTRIN

Professeur Jean DE KORWIN KROKOWSKI - Professeur Pierre KAMINSKY

2ème sous-section : (*Chirurgie générale*)

Professeur Patrick BOISSEL - Professeur Laurent BRESLER

**54ème Section : PATHOLOGIE DE L'ENFANT, OBSTÉTRIQUE, SYSTÈME ENDOCRINIEN
REPRODUCTION ET DÉVELOPPEMENT**

1ère sous-section : (Pédiatrie)

Professeur Paul VERT - Professeur Danièle SOMMELET - Professeur Michel VIDAILHET - Professeur Pierre MONIN

Professeur Jean-Michel HASCOET - Professeur Pascal CHASTAGNER

2ème sous-section : (Chirurgie infantile)

Professeur Michel SCHMITT - Professeur Gilles DAUTEL

3ème sous-section : (Gynécologie et obstétrique)

Professeur Michel SCHWEITZER - Professeur Jean-Louis BOUTROY

Professeur Philippe JUDLIN - Professeur Patricia BARBARINO

4ème sous-section : (Endocrinologie et maladies métaboliques)

Professeur Jacques LECLERE - Professeur Pierre DROUIN - Professeur Georges WERYHA

5ème sous-section : (Biologie du développement et de la reproduction)

55ème Section : SPÉCIALITÉS MÉDICO-CHIRURGICALES

1ère sous-section : (Oto-rhino-laryngologie)

Professeur Claude SIMON - Professeur Roger JANKOWSKI

2ème sous-section : (Ophtalmologie)

Professeur Antoine RASPILLER - Professeur Jean-Luc GEORGE - Professeur Jean-Paul BERROD

3ème sous-section : (Stomatologie et chirurgie maxillo-faciale)

Professeur Michel STRICKER - Professeur Jean-François CHASSAGNE

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

27ème section : INFORMATIQUE

Professeur Jean-Pierre MUSSE

64ème Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Professeur Daniel BURNEL

=====

PROFESSEUR ASSOCIÉ

Hygiène et santé publique

Professeur Roland SCHULZE-ROBBECKE

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

42ème Section : SCIENCES MORPHOLOGIQUES

1ère sous-section : (Anatomie)

Docteur Bruno GRIGNON

2ème sous-section : (Histologie, Embryologie, cytogénétique)

Docteur Jean-Louis CORDONNIER - Docteur Edouard BARRAT - Docteur Jean-Claude GUEDENET

Docteur Françoise TOUATI - Docteur Chantal KOHLER

3ème sous-section : (Anatomie et cytologie pathologiques)

Docteur Yves GRIGNON - Docteur Béatrice MARIE

43ème Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

1ère sous-section : (*Biophysique et traitement de l'image*)

Docteur Marie-Hélène LAURENS - Docteur Jean-Claude MAYER
Docteur Pierre THOUVENOT - Docteur Jean-Marie ESCANYE - Docteur Amar NAOUN

44ème Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1ère sous-section : (*Biochimie et biologie moléculaire*)

Docteur Marie-André GELOT - Docteur Xavier HERBEUVAL - Docteur Jean STRACZEK

Docteur Sophie FREMONT - Docteur Isabelle GASTIN – Dr Bernard NAMOUR

2ème sous-section : (*Physiologie*)

Docteur Gérard ETHEVENOT - Docteur Nicole LEMAU de TALANCE - Christian BEYAERT

45ème Section : MICROBIOLOGIE ET MALADIES TRANSMISSIBLES

1ère sous-section : (*Bactériologie, Virologie-Hygiène*)

Docteur Francine MORY - Docteur Michèle WEBER - Docteur Christine LION

Docteur Michèle DAILLOUX

2ème sous-section : (*Parasitologie et mycologie*)

Docteur Marie-France BIAVA - Docteur Nelly CONTET-AUDONNEAU

46ème Section : SANTÉ PUBLIQUE

1ère sous-section : (*Epidémiologie, économie de la santé et prévention*)

47ème Section : HÉMATOLOGIE, CANCÉROLOGIE, IMMUNOLOGIE ET GÉNÉTIQUE

1ère sous-section : (*Hématologie*)

Docteur Jean-Claude HUMBERT - Docteur François SCHOONEMAN

3ème sous-section : (*Immunologie*)

Docteur Marie-Nathalie SARDA

4ème sous-section : (*Génétique*)

48ème Section : ANESTHÉSIOLOGIE, PHARMACOLOGIE, RÉANIMATION ET THÉRAPEUTIQUE

1ère sous-section : (*Anesthésiologie et réanimation chirurgicale*)

Docteur Jacqueline HELMER - Docteur Gérard AUDIBERT

3ème sous-section : (*Pharmacologie fondamentale - Pharmacologie clinique*)

Docteur Françoise LAPICQUE - Docteur Marie-José ROYER-MORROT

Docteur Damien LOEUILLE

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

19ème section : SOCIOLOGIE, DÉMOGRAPHIE

Madame Michèle BAUMANN .

32ème section : CHIMIE ORGANIQUE, MINÉRALE, INDUSTRIELLE

Monsieur Jean-Claude RAFT

40ème section : SCIENCES DU MÉDICAMENT

Monsieur Jean-Yves JOUZEAU

60ème section : MÉCANIQUE, GÉNIE MÉCANIQUE ET GÉNIE CIVILE

Monsieur Alain DURAND

64ème section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Madame Marie-Odile PERRIN - Mademoiselle Marie-Claire LANHERS

65ème section : BIOLOGIE CELLULAIRE

Mademoiselle Françoise DREYFUSS - Monsieur Jean-Louis GELLY - Madame Anne GERARD

Madame Ketsia HESS - Monsieur Pierre TANKOSIC - Monsieur Hervé MEMBRE

67ème section : BIOLOGIE DES POPULATIONS ET ÉCOLOGIE

Madame Nadine MUSSE

68ème section : BIOLOGIE DES ORGANISMES

Madame Tao XU-JIANG

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS

Médecine Générale

Docteur Gilbert ALIN

Docteur Louis FRANCO

=====

PROFESSEURS ÉMÉRITES

Professeur Georges GRIGNON - Professeur Claude PERRIN

Professeur Jean PREVOT - Professeur Michel MANCIAUX - Professeur Jean-Pierre GRILLIAT

Professeur Michel PIERSON – Professeur Alain GAUCHER – Professeur Michel BOULANGE

Professeur Alain LARCAN - Professeur Michel DUC – Professeur Michel WAYOFF

=====

DOCTEURS HONORIS CAUSA

Professeur Norman SHUMWAY (1972)

Université de Stanford, Californie (U.S.A)

Professeur Paul MICHIELSEN (1979)

Université Catholique, Louvain (Belgique)

Professeur Charles A. BERRY (1982)

Centre de Médecine Préventive, Houston (U.S.A)

Professeur Pierre-Marie GALETTI (1982)

Brown University, Providence (U.S.A)

Professeur Mamish Nisbet MUNRO (1982)

Massachusetts Institute of Technology (U.S.A)

Professeur Mildred T. STAHLMAN (1982)

Wanderbilt University, Nashville (U.S.A)

Professeur Harry J. BUNCKE (1989)

Université de Californie, San Francisco (U.S.A)

Professeur Théodore H. SCHIEBLER (1989)

Institut d'Anatomie de Würzburg (R.F.A)

Professeur Maria DELIVORIA-PAPADOPOULOS (1996)

Université de Pennsylvanie (U.S.A)

Professeur Mashaki KASHIWARA (1996)

Research Institute for Mathematical Sciences de Kyoto (JAPON)

Professeur Ralph GRÄSBECK (1996)

Université d'Helsinki (FINLANDE)

Professeur James STEICHEN (1997)

Université d'Indianapolis (U.S.A)

Professeur Duong Quang TRUNG (1997)

Centre Universitaire de Formation et de Perfectionnement des

Professionnels de Santé d'Hô Chi Minh-Ville (VIÊTNAM)

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur B. LEHEUP

Professeur de génétique (option clinique)

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse.

Vous nous avez inspiré ce travail et nous avez permis de le réaliser en nous
apportant votre concours éclairé.

Nous avons été sensible à votre disponibilité et avons pu apprécier votre rigueur
dans le travail et vos qualités humaines.

Nous vous prions de trouver ici l'expression la plus sincère de notre admiration et
de nos remerciements.

A NOTRE MAITRE ET JUGE

Monsieur le Professeur VERT

Professeur de Pédiatrie

Officier dans l'Ordre des Palmes Académiques

Vous nous faites l'honneur de bien vouloir juger cette thèse.

Nous avons été sensible à votre gentillesse et à vos qualités humaines.

Que ce travail soit pour nous l'occasion de vous témoigner notre profonde reconnaissance.

A NOTRE MAITRE ET JUGE

Monsieur le Professeur VIDAILHET

Professeur de Pédiatrie

Officier dans l'Ordre des Palmes Académiques

Nous sommes fier de l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger notre travail.

Nous avons eu l'honneur et le privilège d'être de vos élèves.

Nous avons été sensible à la chaleur de votre accueil et avons pu apprécier la richesse de votre enseignement.

Nous vous prions de trouver ici l'expression de notre gratitude et de notre profond respect.

A NOTRE MAITRE ET JUGE

Monsieur le Professeur H. GERARD

Professeur de Biologie et Médecine du Développement et de la Reproduction

Vous nous faites l'honneur de bien vouloir juger cette thèse.

Veillez trouver ici l'expression de toute notre reconnaissance.

A Vincent, Antoine et Simon, dont le soutien quotidien m'a été précieux.

A ma mère, pour sa patience et ses soutiens téléphoniques.

A mon père, que j'admire.

A mes sœurs, Hélène et Marion.

A mes neveux, en leur souhaitant d'exercer un métier aussi passionnant.

A Jean-Marie et Bénédicte, dont les qualités humaines dans leur exercice
quotidien de la pédiatrie m'ont donné l'exemple et l'envie de les suivre.

A Catherine Ajzenman et Marie Letessier, pour leur amitié.

A Anne Cortey, pour ses conseils en des moments difficiles et dont nous avons
apprécié la gentillesse et la disponibilité.

A Stanislas Lyonnet, pour sa gentillesse, son accueil et ses encouragements.

SERMENT

"Au moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque".

PLAN

<u>INTRODUCTION</u>	19
<u>PREMIERE PARTIE</u>	22
<u>1 - Embryologie descriptive</u>	23
<u>11 - Développement des voies génitales internes</u>	23
111 - Stade indifférencié	25
112 - Différenciation masculine	27
113 - Différenciation féminine	32
<u>12 - Développement du tractus urinaire</u>	35
<u>2 - Aspects génétiques</u>	36
<u>21 - Gènes impliqués dans la différenciation du tractus génital interne</u>	36
211 - L'AMH	36
212 - Pax2	39
213 - Les gènes Wnt	41
2131 - Wnt-4	
2132 - Wnt-7a	
214 - Les gènes Hox	44
215 - Autres gènes	46
<u>22 - Diéthylstilbestrol et génétique</u>	47
<u>23 - Le syndrome de persistance des dérivés müllériens</u>	50

<u>3 - Le syndrome de Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser</u>	51
<u>31 - Définition histo-embryologique</u>	52
<u>32 - Présentation clinique</u>	53
<u>33 - Explorations paracliniques</u>	54
<u>34 - Prise en charge thérapeutique</u>	55
<u>35 - Devenir à long terme</u>	57
<u>4 - Les anomalies transversales du vagin</u>	59
<u>41 - Présentations cliniques</u>	59
<u>42 - Aspects génétiques</u>	61
<u>DEUXIEME PARTIE</u>	64
<u>1 - Approche diagnostique du syndrome de Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser</u>	65
<u>2 - Patients et méthode</u>	66
<u>21 - Patients</u>	66
<u>22 - Méthodes</u>	68
221 - Dosage de l'AMH par technique ELISA	68
2211 - Principe	
2212 - Méthode	
222 - Analyse de gènes candidats par la technique des microsatellites	69

2221 - Principe
2222 - Gènes candidats et marqueurs
2223 - Technique

<u>3 - Résultats</u>	73
<u>31 - Dosage de l'AMH</u>	73
<u>32 - Analyse de gènes candidats</u>	75
<u>DISCUSSION</u>	86
<u>CONCLUSION</u>	94
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	97



INTRODUCTION

Les anomalies des voies génitales internes hautes concernant les dérivés müllériens sont représentées essentiellement par deux syndromes : le syndrome de persistance des dérivés müllériens (PMDS) chez le garçon et le syndrome de Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser (MRKHS) chez la fille.

Ce dernier, d'incidence estimée à 1/500, se manifeste le plus souvent de façon sporadique. Il correspond à une absence ou à une régression plus ou moins complète des dérivés müllériens : trompes de Fallope, utérus et tiers supérieur du vagin. L'étiologie de ce syndrome n'est pas connue actuellement.

Inversement, le PMDS est caractérisé par la présence d'un tractus génital interne de type féminin, correspondant à une absence de régression des canaux de Müller et à la poursuite de leur développement normal. Il est associé dans 80% des cas environ à une mutation du gène de l'hormone anti-müllérienne ou de son récepteur, responsable d'une inactivation de cette hormone.

Les malformations rencontrées dans le MRKHS peuvent être liées soit à une anomalie de la mise en place de l'ébauche müllérienne, soit à une activation anormale de sa régression, réalisant dans cette dernière situation un contre-type génétique de PMDS. Alors que le PMDS est bien étudié du point de vue génétique, aucune étude de génétique moléculaire n'a pour l'instant été publiée sur le MRKHS.

Après l'étude du développement embryonnaire du tractus génital interne, nous aborderons dans un premier temps l'analyse de gènes actuellement connus comme intervenant dans le développement du tractus génital interne. Puis nous

traiterons des aspects embryologique, cliniques et thérapeutiques du MRKHS.

La deuxième partie de ce travail rapporte l'étude de quelques cas de MRKHS dans le cadre d'un travail de recherche d'une localisation génétique par étude de liaison de gènes candidats sur une grande famille de MRKHS.

Ce travail de recherche, dirigé par le Professeur J.Y. Picard du laboratoire d'endocrinologie du développement (unité INSERM 493) à Montrouge, a été effectué au laboratoire de génétique moléculaire des anomalies du développement à l'hôpital Necker (unité INSERM 393) durant le stage du DEA de Génétique Moléculaire des Maladies du Développement et de l'Oncogenèse en 1999.

PREMIERE PARTIE

1 - Embryologie descriptive

11 - Développement des voies génitales internes

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

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

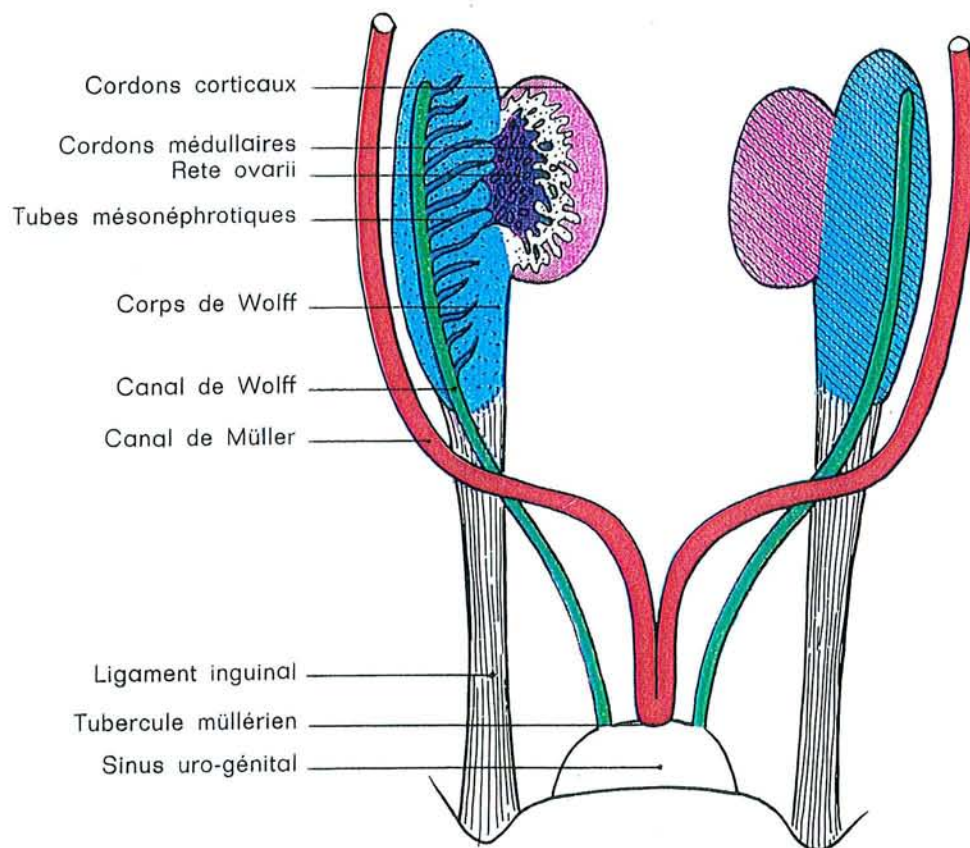
Chronologie des principaux événements de la différenciation sexuelle fœtale
humaine (d'après N Josso, Sexe fœtal, Obstétrique, Flammarion)

AGE FŒTAL (semaine de gestation)	LONGUEUR VERTEX- COCCYX (mm)	PROCESSUS
4	2-3	Développement des canaux de Wolff (CW)
4,5	5	Développement de la crête génitale
5	7	Migration des cellules germinales
6	10-15	Développement des canaux de Müller (CM)
7	13-20	Différenciation des tubes séminifères
8	30	Les CM mâles commencent à régresser Les CM femelles ne répondent plus à l'AMH Apparition des cellules de Leydig
9	43	Développement de la plaque vaginale
10	45	Début de la prophase méiotique ovarienne Les CM mâles ont disparu Début de la fusion des bourrelets génitaux chez le mâle Développement des bourgeons prostatiques Début de la régression des CW femelles
12	50	Testicule fœtal à l'orifice inguinal interne
12-14	70-90	Fin de l'organogenèse de l'urètre mâle
15-17	100-120	Pic du développement des cellules de Leydig et de la production de testostérone
17	120	Premiers follicules ovariens
24	200	Premiers follicules polystratifiés Canalisation du vagin
28	230	Arrêt de la prolifération des ovogonies Passage du testicule à travers l'orifice inguinal

111 - Stade indifférencié

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

Jusqu'à la septième semaine, les voies génitales revêtent le même aspect dans les deux constitutions chromosomiques 46,XX et 46,XY : elles comprennent les deux canaux de Wolff, mésonéphriques et les deux canaux de Müller, paramésonéphriques. Les canaux de Wolff atteignent la paroi latérale du sinus urogénital dans sa composante allantoïde, et forment le sinus uro-génital primitif (1). Les canaux de Müller se forment à partir d'une invagination de l'épithélium coelomique en regard de l'extrémité craniale de chacun des canaux de Wolff. Ils se développent parallèlement à l'existence des canaux de Wolff et les croisent ventralement. A leur portion terminale, ils fusionnent et forment le canal utérovaginal.

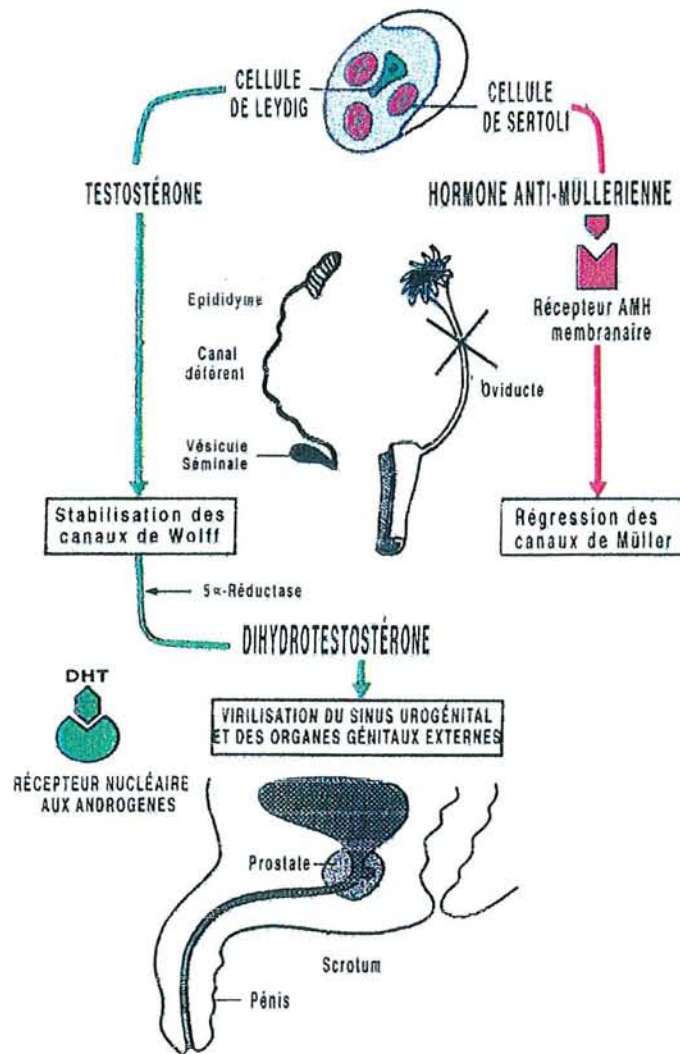


Tractus uro-génital interne au stade indifférencié

112 - Différenciation masculine

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

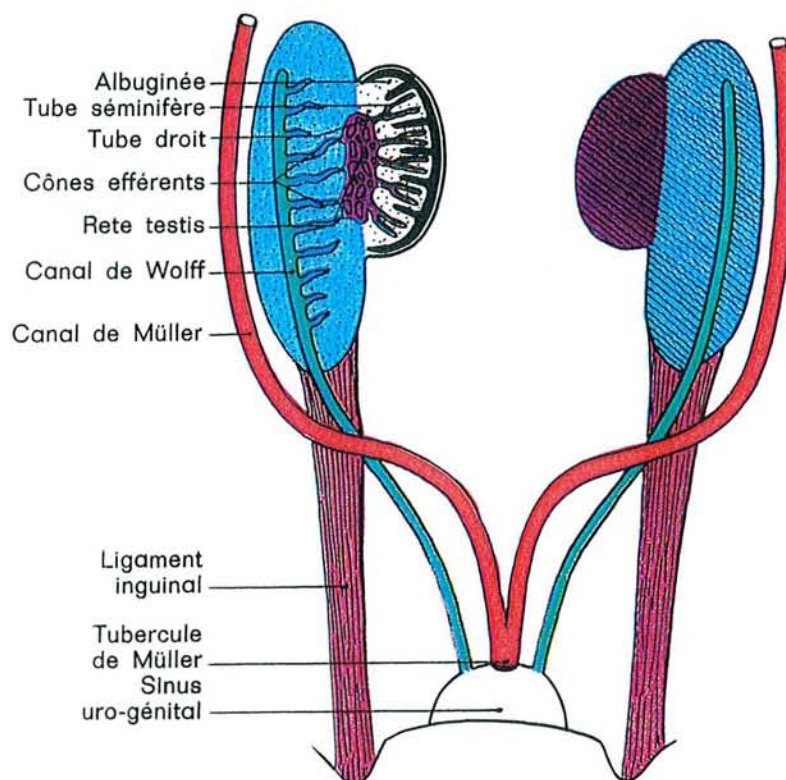
La première étape de différenciation masculine est la régression des canaux de Müller. Les cellules de Sertoli vont sécréter l'hormone anti-müllérienne (AMH) juste après la différenciation des tubules (2,3), responsable de la régression des canaux de Müller : une petite quantité de cellules épithéliales meurent, perdent leur polarité et leur orientation et cessent de se diviser; la membrane basale se dissout et un anneau serré de tissus conjonctif se forme autour des cellules épithéliales (4,5). Chez le fœtus de rat mâle, on observe une augmentation de l'activité lysosomiale, une condensation du mésenchyme adjacent avec présence de macrophages (6). A dix semaines de développement, les canaux de Müller ont totalement disparu, laissant persister un tubercule. Le degré de régression anatomique est en corrélation avec le taux d'AMH (7).



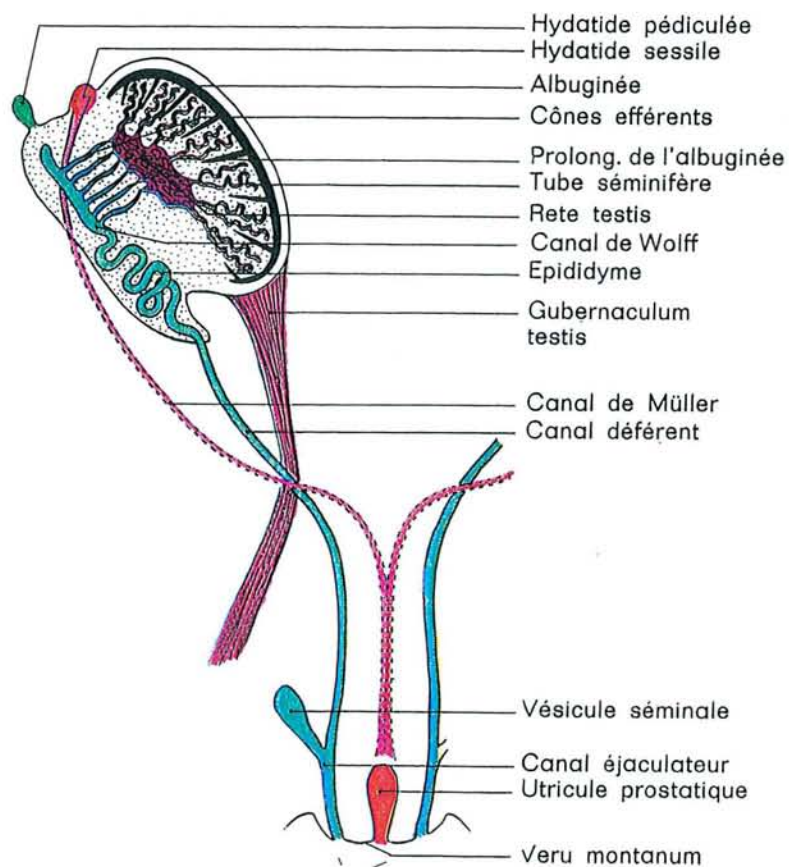
Contrôle hormonal de la différenciation sexuelle

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

Deux bourgeons de cellules épithéliales, les bourgeons sinoutriculaires, se développent à partir du sinus uro-génital pour former le cordon sino-utriculaire, futur utricule prostatique, équivalent mâle du vagin (8).



Appareil uro-génital au cours de sa différenciation dans le sens mâle



Appareil uro-génital mâle différencié

113 - Différenciation féminine

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

En supprimant les gonades de fœtus de lapin au stade indifférencié du tractus reproductif, Jost en 1940 observait que tous les lapins se développaient en femelles (9), mettant ainsi en évidence le contrôle endocrinien testiculaire de la différenciation sexuelle. Ce phénomène est également confirmé in vitro où l'on observe que les canaux de Müller régressent seulement s'ils sont exposés au tissu testiculaire (10).

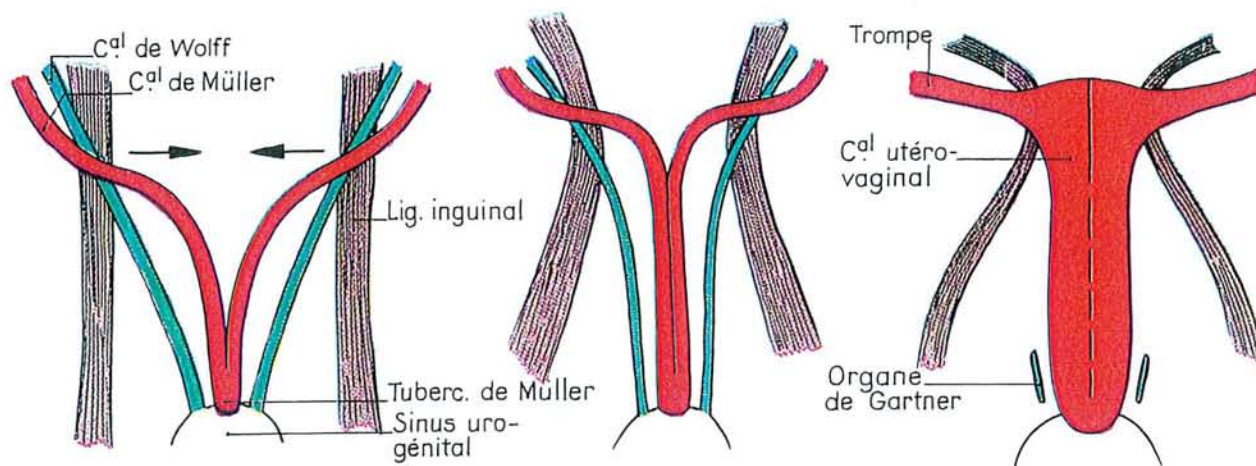
En l'absence d'AMH, les canaux de Müller sont stabilisés. Leur développement s'étend jusqu'à l'attachement du ligament rond, où ils se terminent dans un renflement musculaire : l'utérus rudimentaire ou corne utérine. Ce renflement est localisé dans la région craniale et latérale du septum uro-génital.

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

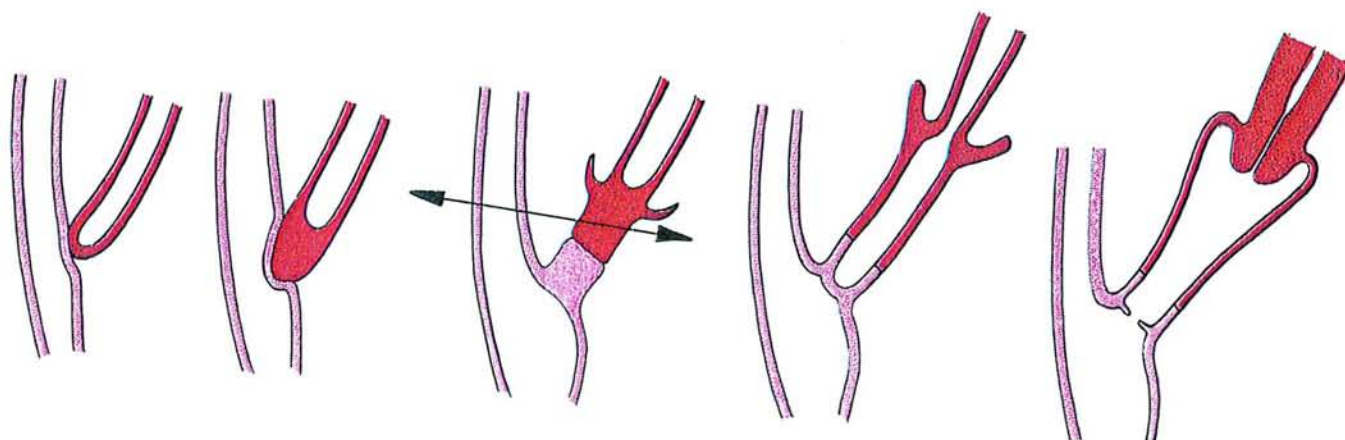
L'origine embryonnaire du vagin est sujet à controverse (11):

A onze semaines, le sinus uro-génital s'évagine et une prolifération épithéliale du canal de Müller donne les bulbes sino-vaginaux. L'extrémité borgne du canal

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



Formation de l'utérus



Formation du vagin

12 - Développement du tractus urinaire

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

Le plan d'ouverture des deux canaux de Wolff dans le sinus uro-génital permet de lui distinguer deux zones : une zone urinaire initialement caudale et une zone initialement rostrale génitale. Le mouvement de formation du pli caudal inverse l'orientation embryologique initiale.

Vers la fin de la cinquième semaine, le mésonéphros, ou corps de Wolff, entre en régression, les glomérules disparaissent et seuls persistent les tubes mésonéphrotiques liés à la glande génitale, qui seront incorporés dans l'appareil excréteur génital. Chaque canal de Wolff émet un diverticule médial à proximité de son abouchement à la face dorsale du sinus uro-génital, le diverticule urétéral qui va entrer en contact avec le mésenchyme métanéphrique (12).

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

génital en dehors des canaux de Wolff.

2 - Aspects génétiques

21 - Gènes impliqués dans la différenciation des voies génitales internes

211 - L'hormone anti-müllérienne (AMH)

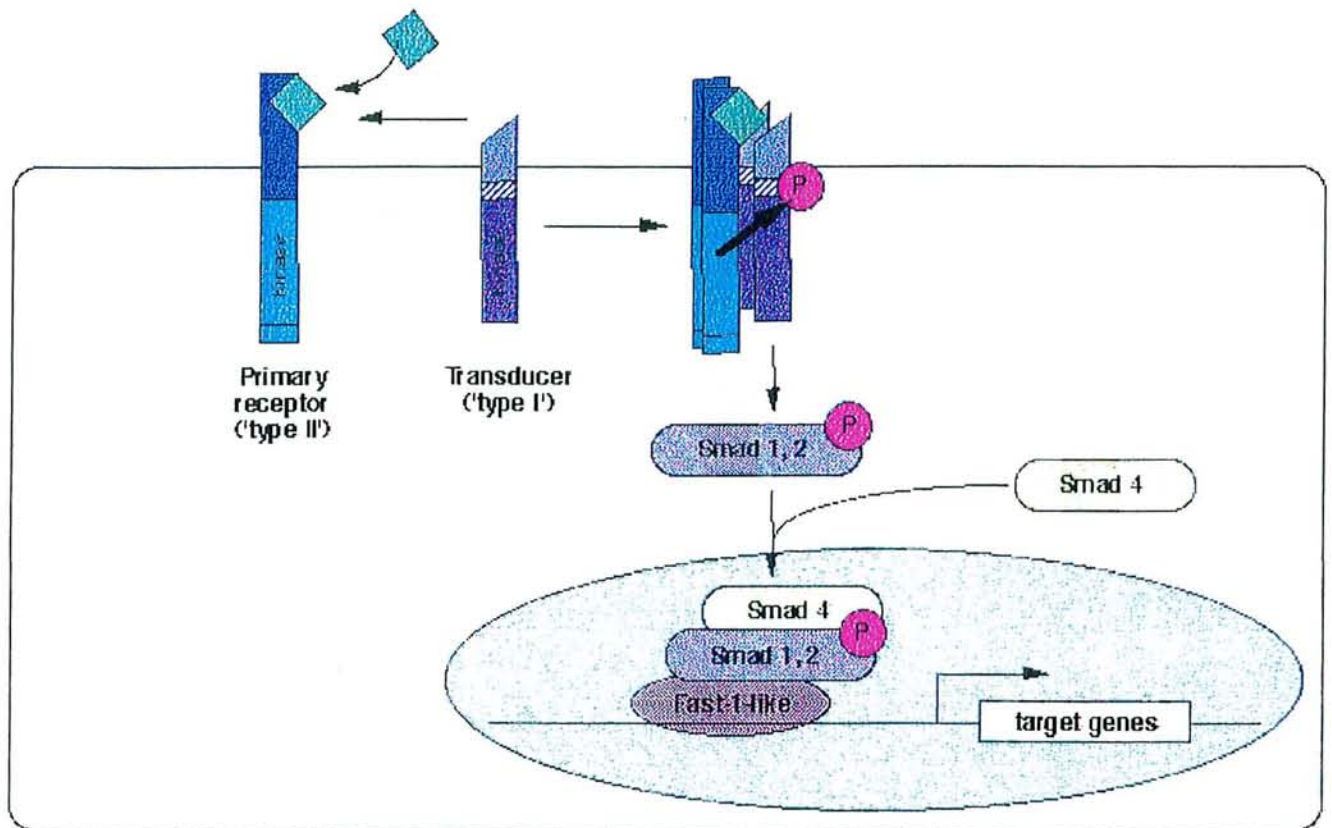
L'AMH est une glycoprotéine dimérique de 145 kDa apparentée à la famille du Transforming Growth Factor- β (TGF- β) (13), dont le gène a été cloné (14) et localisé sur le chromosome 19 (15). L'hormone est synthétisée par les cellules de Sertoli dès la différenciation des tubes séminifères et jusqu'à la puberté où elle est réprimée suite à leur maturation par les androgènes (16). Chez le fœtus féminin, une sécrétion d'AMH est détectée dans les cellules de la granulosa à un très faible taux dès la naissance et surtout après la puberté (3).

La principale fonction de l'AMH est d'entraîner la régression des canaux de Müller. Pour être active, l'AMH a besoin d'être clivée : si ceci n'a pas lieu, elle ne peut entraîner de régression des canaux de Müller (17). Il existe également au moins une fonction extra-müllérienne, celle de virilisation de l'ovaire fœtal (18,19) : exposé à l'AMH, l'ovaire fœtal se met à sécréter de la testostérone à la place de l'estradiol suite à la répression de l'enzyme aromatase par l'AMH; il perd ses cellules germinales et développe des tubes séminifères.

Les protéines de la superfamille du TGF- β , facteurs de croissance et de différenciation ubiquistes, agissent en liant deux sérine/thréonine kinases ensemble, récepteurs de type II et de type I respectivement. Couplé à son ligand, le récepteur de type II (RII) reconnaît un récepteur de type I (RI), forme avec celui-ci un complexe hétéro-oligomérique et le phosphoryle (20). Alors activé, RI phosphoryle spécifiquement des protéines Smad qui vont s'associer aux protéines liant l'ADN et participer ainsi à l'activation de la transcription de gènes cibles (21,22). La spécificité de la réponse dépend du type de récepteur de type I (23). Le récepteur spécifique de type II de l'AMH dont le gène a été cloné en 1994 (24), s'exprime pendant l'embryogenèse dans les cellules mésenchymateuses adjacentes aux canaux de Müller ainsi que dans les cellules de Sertoli et de la granulosa. Le récepteur de type I de l'AMH n'est pas encore identifié.

Les protéines Smad, homologues des protéines Mad (mother against decapentaplegic) de la drosophile, régulent l'expression de gènes intervenant dans la régulation du cycle cellulaire, de facteurs de transcription, de molécules d'adhésion cellulaire et d'autres composants qui sont déterminants pour le phénotype cellulaire. Elles contiennent des domaines amino et carboxy terminaux bien conservés et séparés par une zone riche en proline, mais elles ne possèdent pas de motif orientant vers leur mode de fonctionnement, en particulier en ce qui concerne l'activation transcriptionnelle de gènes spécifiques. Le récepteur de type I activé phosphoryle les protéines Smad 2 et 3 sur leur motif C-terminal. Il se forme un complexe Smad 2/3 avec une troisième protéine, Smad 4 (25). Ce

complexe Smad 2/3/4 est transloqué au noyau et s'associe à des facteurs de transcription (26). Les gènes codant pour ces protéines sont tous impliqués dans la différenciation embryonnaire, en particulier mésodermique.



Massagué et al., 1997

Voie de transduction du TGF- β

212 - Pax 2

Les gènes Pax (Paired box) constituent une famille de gènes codant pour des facteurs de transcription nucléaire, caractérisés par la présence d'un motif amino-acide très conservé se liant à l'ADN (27). D'abord détectés chez *Drosophila melanogaster* (28), ils participent au contrôle du développement embryonnaire (29).

Le gène Pax 2 a été localisé sur le chromosome 10 à partir de patients présentant une pathologie rénale associée à un colobome (30). Son expression est retrouvée au cours de l'embryogenèse du tube neural, du rein, de la vésicule optique et de l'appareil auditif (31).

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

Chez la souris, ce gène s'exprime très tôt au cours de la différenciation rénale, dans les canaux de Wolff, les canaux pronéphrotiques, ainsi que les tubules pronéphrotiques et mésonéphrotiques (32,33). A l'âge adulte, l'expression de Pax 2 est également retrouvée au niveau des canaux déférents, de l'épididyme et de la vessie chez la souris mâle et au niveau de l'ovaire et de l'utérus chez la souris femelle.

Plusieurs expériences d'inactivation du gène ont été réalisées chez la souris (33-35). L'absence totale du gène entraîne une pathologie létale, avec une agénésie complète du système uro-génital. Histologiquement, on ne retrouve pas

de tubules mésonéphrotiques. Le mésenchyme mésonéphrotique est donc incapable de subir la transformation épithéliale. Les canaux de Müller sont présents seulement dans leur partie supérieure au niveau de la crête génitale puis dégénèrent. Toutes les structures épithéliales dérivés du mésoderme intermédiaire sont absentes : trompes de Fallope, utérus et vagin chez la femelle, canaux efférents, épididyme et vésicule séminale chez le mâle, correspondant à la partie caudale des canaux de Wolff.

Chez les souris hétérozygotes, on n'observe pas d'anomalies du tractus génital, tant chez les femelles que chez les mâles.

Pax 2 agirait donc pendant la prolifération et la différenciation du mésenchyme métanéphrotique. Facteur de transcription, il régulerait l'expression de gènes essentiels pour la différenciation des composants épithéliaux du système urogénital.

Chez l'homme, la mutation du gène PAX 2 entraîne une hypoplasie ou une agénésie rénale ainsi que des anomalies de la rétine et du nerf optique (36,37) mais aucune anomalie du tractus génital n'est décrite.

213 - Gènes Wnt

Les gènes Wnt, équivalents chez les vertébrés des gènes wingless de la drosophile (38), constituent une famille d'au moins 16 gènes codant pour des molécules de signalisation intervenant dans le développement embryonnaire (39). Leur profil d'expression pendant l'embryogenèse suggère qu'ils sont impliqués dans la spécification régionale, la communication intercellulaire et la prolifération cellulaire (40-43). Actuellement, trois gènes Wnt sont connus comme intervenant dans le développement du tractus génital interne féminin, les gènes Wnt-4a, Wnt-5 et Wnt-7a. Ces gènes s'expriment à la jonction épithélium müllérien - mésenchyme de la crête génitale.

En 1976, Cunha constate que le développement utérin est dépendant des interactions spécifiques entre l'épithélium müllérien et le mésenchyme avoisinant (44,45) : par des expériences d'hétérogreffe pendant l'embryogenèse chez la souris, il observe que le mésenchyme utérin entraîne la cytodifférenciation utérine de l'épithélium vaginal et inversement que le mésenchyme vaginal peut induire l'épithélium utérin à se différencier en épithélium stratifié de type vaginal. Le signal d'induction du mésenchyme vaginal disparaît quand l'épithélium müllérien est différencié (46).

2131 - Le gène Wnt-4

Le gène Wnt-4 s'exprime chez la souris pendant toute la néphrogenèse, du stade de pronéphros au stade de mésonéphros ou rein définitif (47).

Son expression au niveau du tractus génital interne est présente avant la différenciation des gonades, dans les cellules mésenchymateuses des canaux de Müller le long du mésonéphros ainsi que dans les ébauches mésenchymateuses gonadiques. Elle se limite ensuite à la gonade femelle et aux cellules mésenchymateuses des canaux de Müller. A la naissance, l'expression gonadique a disparu. L'expression de Wnt-4 apparaît dans l'épithélium vaginal à l'âge adulte et se poursuit dans l'utérus quand il existe un taux élevé d'œstrogènes (48).

Des expériences d'invalidation du gène ont été réalisés chez la souris (49).

Les souris mâles homozygotes ne présentent aucune anomalie.

Les souris femelles meurent par anomalie rénale. Leurs gonades ont un aspect de type mâle (rondes, non encapsulées), avec diminution du nombre d'oocytes post-méiotiques, et certaines cellules de soutien prennent les caractéristiques des cellules de Sertoli avec une sécrétion d'AMH. Les canaux de Wolff se sont développés en épididyme en regard de la gonade et il n'existe pas de canaux de Müller à un stade où l'AMH n'est pas encore sécrétée chez le mâle. Wnt-4 intervient donc dans l'initiation de la formation des canaux de Müller et non seulement dans leur maintien.

Au niveau de l'ovaire, on détecte une sécrétion de l'enzyme 3 β -hydroxystéroïde déshydrogénase, normalement présente dans les cellules de Leydig et responsable

de la conversion de la prégnénolone en progestérone, intermédiaire de la synthèse de testostérone. De même, l'enzyme responsable de la transformation de la progestérone en androstènedione est détectée dans l'ovaire. Tout ceci aboutit à une stéroïdogénèse ovarienne, expliquant le maintien des canaux de Wolff. Cette synthèse semble cependant insuffisante pour entraîner une masculinisation des organes génitaux externes.

2132 - Le gène Wnt-7a

L'expression de Wnt-7a chez la souris est localisée à l'épithélium des canaux de Müller (48). Elle est présente jusqu'à l'âge adulte chez la femelle au niveau des trompes de Fallope et de l'utérus. Elle disparaît de l'épithélium vaginal quand celui-ci se cytodifférencie, correspondant à l'apparition de l'expression du gène Wnt-4.

La création de souris knock-out pour ce gène a permis de mieux comprendre son mode d'action :

Les souris mâles ainsi obtenues, présentent une persistance des dérivés des canaux de Müller mais ceux-ci sont indifférenciés. Wnt-7a est donc nécessaire pour permettre l'action de l'AMH, en rendant le mésenchyme müllérien apte à répondre à l'hormone (50).

Le phénotype des souris femelles montre l'absence de trompes de Fallope, un utérus fin, non glandulaire, avec un épithélium stratifié, dépourvu de différenciation épithéliale et mésenchymateuse (51). Ce phénotype est voisin de

celui constaté lors d'une exposition in utero au diéthylestradiol (DES) (52). Le DES agirait sur la régulation des gènes Wnt (53). Par le biais d'une activation des récepteurs aux hormones stéroïdes, il altérerait l'interaction entre l'épithélium et le mésenchyme (54, 55). Par ailleurs, en cas de perte des récepteurs aux œstrogènes, on obtient les mêmes anomalies phénotypiques que lors de l'inactivation du gène Wnt-7a. Les œstrogènes régulent donc négativement l'expression de Wnt-7a (52).

Concernant le génotype des souris dépourvues du gène Wnt-7a, Miller a constaté une perte d'expression des gènes *hoxa10* et *hoxa11* dans le stroma utérin, et de Wnt-5a dans l'utérus (56). Wnt-7a réprimerait donc l'expression d'autres gènes. Par ailleurs, l'expression du récepteur de type II de l'AMH est absente du mésenchyme des canaux de Müller (50). Wnt-7a semble donc générer un signal de l'épithélium vers le mésenchyme, nécessaire à la régulation de l'expression de l'AMH-RII dans le mésenchyme.

214 - Gènes Hox

Homologues vertébrés des gènes homéotiques de la drosophile, ils interviennent dans l'organisation de l'embryon selon l'axe dorso-ventral (57). 38 gènes sont actuellement connus, codant pour des facteurs de transcription (58), et quatre d'entre eux s'expriment le long des canaux de Müller embryonnaires, *Hoxa* 9, 10, 11 et 13. Chez la souris, alors que l'expression de ces quatre gènes dans les canaux de Müller est identique en anténatal, on assiste à une régionalisation de leur expression dès deux semaines postnatal (59). Cette régionalisation selon l'axe

dorso-ventral se fait dans le même ordre que leur localisation chromosomique : Hoxa9 est limité aux trompes de Fallope, Hoxa10 s'exprime essentiellement dans l'épithélium utérin alors que Hoxa11 s'étend au stroma et au col utérin, et enfin Hoxa13 s'exprime uniquement au niveau du tiers supérieure du vagin.

Hoxa10 est un gène qui s'exprime dans le composant mésenchymateux des canaux de Wolff et de Müller. En cas de mutation homozygote du gène, on observe des anomalies de la régionalisation du tractus uro-génital, avec une transformation homéotique de l'utérus proximal en oviduct (60) : anomalie de l'épithélialisation, rétrécissement et enroulement de l'utérus. Hoxa10 semble donc intervenir dans le mécanisme d'induction du mésenchyme sur l'épithélium.

L'expression de Hoxa11 se retrouve au niveau des cellules stromales entourant les canaux de Müller, responsables de la formation de l'utérus , ainsi qu'au niveau de la zone sous-capsulaire du métanéphros, mais ni dans les cellules épithéliales des canaux de Müller, ni dans les tubules mésonéphriques (61). En cas d'invalidation du gène chez la souris, on observe une ventralisation de la zone sacrale.

Hoxa13 a été plus étudié étant donné qu'il est impliqué dans le syndrome pied-main-bouche (62). Ce syndrome, de transmission autosomique dominant, est caractérisé par des anomalies des extrémités, des anomalies utérines évoquant un défaut de fusion des canaux de Müller (utérus bicorné ou didelphe), et des anomalies du tractus urinaire avec notamment malposition des uretères et de

l'urètre. L'expression de Hoxa13 est d'ailleurs localisée aux parties distales des membres, ainsi que dans la partie terminale du tube digestif et du tractus urogénital. Au niveau génital, Hoxa13 apparaît dès 12,5 dpc chez la souris, dans le mésenchyme entourant le sinus urogénital, puis est localisé à la partie caudale des canaux de Wolff et de Müller et à la naissance, au niveau du col utérin et du vagin. Warot a étudié des souris chez qui le gène a été invalidé, et a constaté une agénésie complète de la portion caudale des canaux de Müller et une hypoplasie du sinus urogénital avec absence d'extension craniale, et mort fœtale par sténose prématurée de l'artère ombilicale (63).

215 - Autres gènes

Le gène Emx2, homologue du gène empty spiracles (ems) de la drosophile, intervient dans le système urogénital en développement (64). Ce gène s'exprime dans tous les composants épithéliaux dérivés du mésoderme intermédiaire : cellules des canaux pronéphrotiques, tubules mésonéphrotiques, canaux de Wolff et de Müller, et crête gonadique (65). Les souris chez qui le gène est invalidé présentent une absence de transformation épithéliale du mésenchyme métanéphrique, une dégénérescence des canaux de Wolff et une agénésie complète des canaux de Müller (66). Ce gène est donc essentiel pour le phénomène d'induction réciproque de l'épithélium sur le mésenchyme.

De même, le gène Msx1 est exprimé dans tous les sites où existe une interaction épithélium / mésenchyme (67). Son expression au niveau des cellules

épithéliales des canaux de Müller est maintenue seulement si cette interaction persiste.

Enfin, le gène HNF-1 β , impliqué dans des formes familiales de diabète associé à un dysfonctionnement rénal et à une aplasie vaginale avec utérus rudimentaire (68), semble jouer un rôle important dans la production de signaux d'induction du mésoderme (69).

Ainsi, il apparaît que le développement et la différenciation des voies génitales internes font appel à une multitude de gènes qui interagissent probablement entre eux et dont la liste n'est pas exhaustive. Aucun d'entre eux n'a actuellement été considéré comme impliqué dans le MRKHS.

22 - Diéthylstilbestrol et génétique

Le diéthylstilbestrol (DES) est un oestrogène de synthèse utilisé en cancérologie dans les cancers de la prostate. Il fut prescrit chez des femmes enceintes dans un but abortif. Chez les filles dont la mère avait pris ce médicament pendant le premier trimestre de la grossesse, ont été décrits dans 69 % des cas des malformations utérines (70). Aucune différenciation épithéliale et mésenchymateuse de l'utérus ne peut être observée, aspect voisin de ce que l'on observe chez des souris dépourvues du gène Wnt-7a (51).

Newbold *et al* ont analysé l'effet du DES au cours de l'embryogenèse chez les

souris (71) :

Pendant le développement des canaux de Müller et des canaux de Wolff, on note la présence de récepteurs aux d'œstrogènes à leur niveau.

Chez les souris mâles exposés au DES, la régression des canaux de Müller ne progresse pas dans la région caudale, aboutissant à un phénotype de persistance des dérivés müllériens. L'analyse de l'expression de l'AMH et de l'AMH-RII pendant l'embryogenèse de ces souris met en évidence une augmentation de leur taux de mRNA mais il n'y a pas pour autant de régression des canaux de Müller. Le DES diminuerait donc la réponse à l'AMH des canaux de Müller peut-être en bloquant sa voie de transduction en amont (protéines Smad, récepteur de type I à l'AMH).

Chez les souris femelles exposées au DES, on observe une hypertrophie des cellules épithéliales utérines et une rétention des canaux de Wolff. Une deuxième hypothèse du mécanisme d'action du DES sur les canaux de Müller peut donc s'expliquer par son impact sur les canaux de Wolff qui empêcherait les canaux de Müller de régresser normalement.

Plus récemment, on a observé que le DES réprimait indirectement l'expression du gène *Hoxa10* (72). Le phénotype obtenu chez les souris dépourvues du gène *Hoxa10* est en effet voisin de celui des souris exposées au DES durant l'embryogenèse. L'expression du gène *Hoxa10* est normalement activée par la progestérone. Cette activation est bloquée par le DES, antagoniste du récepteur à la progestérone.

Ceci peut aussi expliquer ce que l'on observe chez les souris dépourvues du gène Wnt-7a, car ces dernières perdent l'expression de Hoxa10.

Ainsi, on peut supposer que le mécanisme de tératogenèse dû au DES résulte d'une mutation génétique entraînant un défaut de fonction de gènes tels que Wnt-7a et ceux impliqués dans la voie de transduction de l'AMH.

Cependant, dans les cas des jeunes filles exposées in utero au DES, seules sont présentes des anomalies utérines. Si le DES entraînait une dysfonction des gènes impliqués dans le développement embryonnaire précoce, le spectre des malformations rencontrées serait plus étendu. Il semble donc plus probable que cet oestrogène de synthèse agisse via les récepteurs aux d'œstrogènes localisés au niveau des canaux de Wolff et de Müller. Cette hypothèse est valable pour expliquer l'absence d'expression du gène Hoxa10. Elle pourrait également rendre compte de l'action du DES sur la voie de transduction de l'AMH. Le récepteur de type I à l'AMH n'étant pas encore identifié, on peut supposer qu'il possède une affinité pour les œstrogènes. Il y aurait un phénomène de compétition entre l'AMH et le DES qui aboutirait à une absence de transduction du signal anti-müllérien.

23 - Le syndrome de persistance des dérivés müllériens

D'incidence faible, voisine de 1/10.000, ce syndrome correspond à une pathologie masculine familiale à transmission autosomique récessive, caractérisée par la persistance des dérivés müllériens chez des garçons par ailleurs normalement masculinisés et sans autre anomalie associée (73).

Les signes d'appel sont le plus souvent une cryptorchidie bilatérale, les testicules étant attachés aux trompes de Fallope, ou une cryptorchidie unilatérale avec hernie inguinale, celle-ci contenant les dérivés müllériens (hernia uteri inguinalis). Les canaux de Müller se sont normalement différenciés dans le sens féminin, avec présence de deux trompes de Fallope, et d'un utérus médian.

Ce syndrome est génétiquement très hétérogène (74). Il est lié dans environ 80% des cas à une absence d'AMH, soit par mutation du gène de l'AMH responsable de la synthèse d'une hormone tronquée inactive, soit par anomalie du gène du récepteur de type II à l'AMH empêchant une transmission normale du signal. Parmi les 87 patients recrutés jusqu'en 1999 au laboratoire d'endocrinologie du développement à Montrouge, Inserm U 493, 43,7% sont porteurs d'une mutation du gène de l'AMH rendant celle-ci inactive, 35,6% sont associés à une mutation du gène du récepteur de type II à l'AMH, et 20,7% n'ont pas d'anomalie génétique détectée sur l'AMH et l'AMH-RII. Ces derniers pourraient être porteurs de mutation concernant le récepteur de type I ou les différentes protéines Smad impliquées dans la transduction du signal.

3 - Le syndrome de Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser

Il s'agit d'un syndrome d'incidence non négligeable, estimée en 1973 à 1/500 (75), avec un écart de fréquence selon les auteurs de 1/1 500 à 1/80 000 (1/4000 à 1/5000 filles à la naissance présentent une agénésie vaginale, 76). Il affecte des jeunes filles le plus souvent de façon sporadique, mais l'on retrouve rarement quelques cas familiaux.

Il fut nommé par Mayer pour la première fois au début du 19^{ème} siècle "uterus bipartitus" (77). Kuster en 1910 parle d' "uterus bipartitus solidus rudimentarius cum vagina solida " (78), ce qui rend compte du grand nombre de variations anatomiques rencontrées dans ce syndrome.

Le MRKHS se définit cliniquement par une agénésie vaginale partielle ou complète, ne respectant qu'une dépression cupuliforme, associée à une agénésie utérine ou à la présence d'un utérus rudimentaire ou unicorne, et à un développement tubo-ovarien normal avec parfois des trompes de Fallope un peu grêles, sans anomalie fonctionnelle des gonades (77-80). Il semble donc être le résultat d'une absence, d'une régression ou d'un retard dans le développement des canaux de Müller. Il est parfois associé à des anomalies rénales ou squelettiques.

Une variante de ce syndrome est représentée par le complexe MURCS qui est constitué d'une aplasie des canaux de Müller, d'une agénésie ou d'une ectopie rénale, et d'une dysplasie des somites cervico-thoraciques (81).

Actuellement, aucune étiologie ne lui est connue.

31 - Définition histo-embryologique

Peu d'auteurs parlent des caractéristiques morphologiques et histologiques de ce syndrome.

Il semble résulter d'une absence de fusion des canaux de Müller avec les canaux de Wolff, ce qui aboutit normalement à la formation de l'utérus et de la portion craniale du vagin.

Le vagin peut avoir différents aspects : indentation profonde, agénésie complète, degré variable d'hypoplasie le plus souvent, ou encore rarement la présence d'un vagin bien développé avec un hymen.

L'utérus est le plus souvent unicorne, avec une cavité rudimentaire à paroi fine, dont les structures myométriales et endométriales sont normales (82). Les trompes de Fallope sont soit normales, soit hypoplasiques voire absentes.

Histologiquement, au niveau du segment caudal des canaux de Müller, on retrouve normalement une membrane basale qui est commune avec les canaux de Wolff (82, 83). Le développement de ce segment se fait par prolifération des cellules müllériennes et non par des éléments wolffiens. Dans le MRKHS, cette portion caudale est absente, aboutissant à un défaut de développement du canal utéro-vaginal.

Au cours du développement embryonnaire normal, on observe des cellules en mitose dans l'épithélium cuboïdal des canaux de Wolff, dans la région où les canaux de Müller ont leur propre membrane basale. Dans le MRKHS, les deux

canaux sont séparés par du tissu conjonctif et on note l'absence de cellules cuboïdales.

32 - Présentation clinique

Le diagnostic de MRKHS est le plus souvent posé lors de la puberté, chez des jeunes filles sans antécédent particulier et généralement sans histoire familiale, consultant pour une aménorrhée primaire.

En effet, il n'existe aucune anomalie des organes génitaux externes et ces patientes présentent une féminité tout à fait normale. Par ailleurs, aucun aspect dysmorphique particulier n'est observé.

Le stade pubertaire est conforme à l'âge.

Au toucher vaginal, il existe un obstacle hyménéal. Le toucher rectal permet de mettre en évidence l'aplasie utérine en constatant l'absence de formation médiane utero, et de vérifier l'état des annexes. Les ovaires sont en position normale.

Dans approximativement un tiers des cas, on observe une anomalie rénale associée. Ceci peut être expliqué embryologiquement : Didier a démontré que chez l'embryon de poulet, si les canaux de Wolff sont sectionnés, la croissance des canaux de Müller est arrêtée (84). Il s'agit le plus souvent d'une agénésie rénale unilatérale, mais sont également décrits des malrotations, des reins ectopiques, ou des anomalies du tractus urinaire, avec notamment présence d'un reflux vésico-urétéral (85).

Dans 10% des cas de MRKHS, on observe des malformations squelettiques associées (86): anomalies spinales essentiellement (scoliose, asymétrie, fusion vertébrale), syndactylie, hypoplasie de l'éminence thénar.

33 - Explorations paracliniques

Les explorations paracliniques vont permettre de poser le diagnostic de MRKHS.

Il s'agit d'étudier des jeunes filles présentant une aménorrhée primaire isolée.

Biologiquement, on recherche un dysfonctionnement ovarien par un dosage des hormones gonadotrophines, lutéinisante (LH) et folliculo-stimulante (FSH), des d'œstrogènes et de la progestérone. Dans tous les cas, ces dosages s'avèrent normaux, et toutes les étapes du développement folliculaire sont observés, confirmant le fonctionnement normal de l'ovaire et permettant d'exclure le diagnostic de testicule féminisant.

Les ovaires sont visualisés par échographie pelvienne, ne montrant pas d'anomalie de position ni d'écho structure hétérogène. Sur une série de 19 cas, Carranza-Lira a un seul cas d'ovaire polykystique (87).

Concernant l'étude des organes génitaux internes, l'imagerie par résonance magnétique (IRM) permet au mieux d'apprécier l'extension des anomalies utero et de déterminer l'existence d'anomalies associées, tant au niveau rénal qu'au niveau vertébrale (88). Cet examen permet de mettre en évidence l'agénésie plus ou

moins complète des dérivés müllériens, de constater l'existence ou non d'un vagin et ses relations avec le rectum et la vessie, étape essentielle avant d'envisager tout geste thérapeutique.

Le bilan paraclinique sera complété par des radiographies du rachis, une échographie rénale suivie d'une urographie intra-veineuse, voire d'une cystographie.

34 - Prise en charge thérapeutique

L'intervention thérapeutique n'est effectuée que lorsque la patiente le désire, avec un soutien psychologique nécessaire. Les malformations dont est responsable le MRKHS entraînent des troubles psychologiques avec crise d'identité par altération de l'image corporelle et de l'estime de soi. C'est dans un deuxième temps, quand les jeunes filles réalisent leur handicap physique et ses conséquences, qu'une réaction dépressive apparaît (89).

Le but de la prise en charge du MRKHS est de permettre aux jeunes filles d'avoir des rapports sexuels. Il n'existe pas à l'heure actuelle de traitement de référence de l'agénésie vaginale et, de ce fait, de nombreuses techniques chirurgicales et non chirurgicales sont décrites dans la littérature.

L'opération de Vecchietti (90) est l'une des techniques disponibles et consiste en la création d'un fourreau vaginal par l'allongement progressif et continu de la cupule vaginale déjà existante. Cette traction est réalisée par l'intermédiaire d'une

olive prothétique sphérique introduite au niveau du vestibule vulvaire, reliée à un dispositif tracteur placé sur l'hypogastre. Dans sa description initiale, l'opération de Vecchietti nécessitait une laparotomie. Récemment, plusieurs auteurs ont adapté la technique à la laparoscopie permettant ainsi une diminution de l'agressivité chirurgicale et de la morbidité post-opératoire. La traction progressive demande quelques jours et peut être réalisée par la patiente elle-même à son domicile. Cependant, par laparoscopie, la difficulté réside dans le passage de l'aiguille à l'aveugle au travers de l'espace virtuel vésico-rectal, ce qui entraîne un risque de perforation des organes pelviens, obligeant de ce fait à un contrôle concomitant de l'intégrité vésicale et rectal. Cette difficulté est actuellement surmontée par l'utilisation de l'écho guidage (91). Sur une grande série d'agénésie vaginale (522 cas), Borruto en 1992 obtient quatre complications chirurgicales, une plaie vésico-rectale et trois saignements vaginaux (92). Il mentionne un taux de 12% de dyspareunie immédiate, qui disparaît à trois mois post-opératoire.

Dans les cas où il n'existe pas de cupule vaginale, un transplant digestif est utilisé pour créer un néovagin, intervention plus délicate à réaliser mais dont les résultats fonctionnels sont semble t'il aussi bons que ceux de l'intervention de Vecchietti (93).

35 - Devenir à long terme

La correction chirurgicale de l'agénésie vaginale permet aux patientes d'avoir une vie sexuelle quasi-normale.

Le problème majeur alors restant est la possibilité d'une grossesse.

Pour les patientes porteuses d'un MRKHS, la possibilité qui s'offre à elles est de faire appel à des mères porteuses. Deux études récentes portant sur un faible nombre de patientes relatent les résultats de cette méthode (94, 95). La stimulation de l'ovulation se fait selon un protocole classique, avec une phase lutéale détectée par un taux de progestérone supérieure à 6 nM. Le taux de naissance vivante est de l'ordre de 45% par patiente. Les enfants issus de ces grossesses ne présentent pas d'anomalie particulière et sont d'emblée en contact avec leur mère génétique. Cette méthode pose évidemment à la fois un problème d'éthique et psychologique.

En ce qui concerne les anomalies des dérivés müllériens, le problème est différent. Les patientes porteuses d'utérus unicorne, bicorne, didelphe ou septal, peuvent prétendre à une grossesse.

La grossesse a lieu le plus souvent sans stimulation, le taux d'infertilité étant voisin de 6% selon une étude rétrospective portant sur 3181 femmes (96). Dans cette même étude, le taux de naissance vivante varie de 50% à 80% selon la malformation utérine, mais seulement près de 40% des femmes porteuses d'un utérus unicorne seront enceintes et parmi celles-ci, 44% feront une fausse-couche

et à peine 30% accoucheront à terme d'un enfant vivant. Le suivi est essentiel afin d'éviter toute complication obstétricale. En effet, ces patientes sont exposées au risque de rupture utérine, et d'hémorragie interne par anomalie de la vascularisation utérine (97). L'accouchement doit être programmé et est réalisé le plus souvent par césarienne avec parfois une atonie utérine post-partum (97-99).

4 - Les anomalies transversales du vagin

41 - Présentations cliniques

Nous aborderons dans ce chapitre les anomalies transversales du vagin supérieur, représentées essentiellement par le septum vaginal transverse.

L'incidence de cette anomalie varie de 1/2100 à 1/84000 (100).

Cette membrane transversale se situe à la jonction du tiers supérieur et des deux tiers inférieurs du vagin. Elle résulte d'un défaut de croisement des dérivés du sinus uro-génital avec les canaux de Müller. Les surfaces craniales du septa sont doublées par les cellules de l'épithélium müllérien, et les surfaces caudales par un épithélium squameux formé par l'invagination du sinus uro-génital.

Dans cette pathologie, l'utérus est généralement normal, parfois bicorne. Le vagin inférieur ne présente aucune anomalie.

Le diagnostic est le plus souvent aisé et réalisé en période néonatale devant la présence d'un hydroméetrocolpos.

L'hydroméetrocolpos est caractérisé par une distension de l'utérus et du vagin causée par un défaut de canalisation de la jonction entre l'utérus inférieur et le vagin. Cette obstruction est responsable d'une accumulation des sécrétions des glandes muqueuses cervicales, sécrétions abondantes puisqu'elles résultent d'une stimulation par les oestrogènes maternels (101). Elle a pour conséquence clinique un syndrome de masse avec compression des organes intra abdominaux : détresse

respiratoire par compression diaphragmatique, oedèmes inférieurs par compression de la veine cave inférieure, hydronéphros par compression de l'appareil urinaire, et obstruction intestinale.

Devant ce tableau clinique, le premier diagnostic à évoquer est le syndrome de Mac-Kusick-Kaufman (MKKS).

Ce syndrome a été décrit pour la première fois en 1964 chez deux sœurs amish et seulement 60 cas ont été rapportés dans la littérature (102, 103). Il s'agit d'une pathologie à transmission autosomique récessive caractérisée par la triade : hydrométrocolpos, polydactylie post-axiale et cardiopathie congénitale (104 - 106).

L'hydrométrocolpos est présent dans 95 % des cas. L'obstruction peut-être due soit à la présence d'un septum vaginal transverse le plus souvent, soit, très rarement, à une atrésie vaginale (107).

Chez les garçons, il n'existe pas d'anomalie uro-génitale, parfois cependant, on peut noter un hypospadias et un raphé scrotal proéminent.

La polydactylie est toujours post-axiale, uni ou bilatérale.

Dans 10 à 20% des cas, on observe une cardiopathie congénitale : canal atrio-ventriculaire essentiellement.

D'autres anomalies peuvent être notées, notamment une persistance du sinus uro-génital, des reins polykystiques (102).

Concernant le diagnostic différentiel, quatre autres syndromes polymalformatifs s'accompagnent d'une polydactylie et d'un hydrométrocolpos :

- syndrome de Bardet-Biedl : hypogénitalisme, polydactylie post-axiale, dysplasie rénale, dégénérescence rétinienne, et troubles mentaux, de transmission autosomique récessive et généralement diagnostiqué dans l'adolescence, mais certaines formes à révélation précoce peuvent être confondues avec le syndrome de Mac-Kusick-Kaufman (108),
- syndrome de Pallister-Hall (109),
- syndrome d'Ellis-Van Creveld (110),
- syndrome Orofaciodigital type IV (111).

42 - Aspect génétique du syndrome de McKusick-Kaufman

Le syndrome de McKusick-Kaufman a été décrit initialement chez les amishs, population close, où les mariages consanguins sont fréquents, favorisant de ce fait l'émergence de maladies à transmission récessive.

La première approche de diagnostic génétique a donc consisté en une analyse de liaison par recherche d'homozygotie. Cette technique a pour but de détecter des régions chromosomiques présentes à l'état homozygote chez des patients atteints ayant un ancêtre commun. Elle permet d'inclure rapidement des régions candidates dans les maladies rares à transmission autosomique récessive.

Elle a ainsi permis d'identifier une petite région génétique sur le chromosome 20, région contenant le gène *jagged1* responsable du syndrome d'Alagille (112).

Cette région candidate a ensuite été séquencée puis analysée du point de

vue protéique (113). Ceci a permis de mettre en évidence une protéine de type chaperon.

Cette famille de protéines ubiquitaires joue un rôle dans la dégradation de protéines spécifiques et intervient lors de stress cellulaires (114). Elles possèdent un domaine ATPase spécifique composé de deux cavités permettant la reconnaissance de structures hydrophobes (115, 116). Les groupements hydrophobes d'une protéine sont en principe au centre de sa structure spatiale. En cas de stress, la protéine se déplie et expose ainsi ces groupements qui risquent d'interagir avec d'autres molécules et d'entraîner un agrégat. Les protéines chaperons entraînent une déstabilisation de leur structure et une translocation des polypeptides dans des cylindres protéiques, évitant ainsi des interactions nocives pour la cellule.

En dehors de tout stress, les protéines chaperons agissent également sur les protéines nouvellement synthétisées et jouent un rôle dans la communication intracellulaire. Chez la drosophile, la protéine HSP90 (Heat Shock Protein) de la famille des chaperons, protège certaines protéines instables impliquées dans les processus de division cellulaire et d'embryogenèse. Son action masque des mutations qui ont pu s'accumuler et dont l'expression pourrait perturber ou interrompre l'activité des protéines qu'elle protège. En cas de stress, les mutations jusqu'alors silencieuses vont pouvoir alors s'exprimer, conduisant à des malformations (117).

Chez les sujets étudiés atteints de syndrome de McKusick-Kaufman, deux

mutations faux-sens au niveau du domaine ATPasique de la protéine chaperon isolée ont été observées (113). Ces mutations touchent une partie très conservée du gène. On peut donc supposer qu'en cas de stress lors du développement embryonnaire, celui-ci est altéré, aboutissant à un syndrome polymalformatif.

DEUXIEME PARTIE

1 - Approche diagnostique du syndrome de Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser

Dans la littérature, plusieurs hypothèses diagnostiques ont déjà été envisagées pour expliquer ce syndrome, comme une cause toxique qui aurait un effet tératogène, ou encore une origine infectieuse responsable d'une embryopathie. Mais ces étiologies potentielles ne permettent pas de rendre compte du caractère homogène des malformations décrites et surtout, ne conviennent pas pour les cas familiaux rencontrés.

En effet, bien que ce syndrome s'exprime le plus souvent de façon sporadique, plusieurs descriptions de cas familiaux sont rapportés dans la littérature, suggérant qu'une origine génétique est possible au moins dans certains cas (118-124).

Opitz en 1987 posait l'hypothèse qu'une anomalie génétique à transmission autosomique dominante à pénétrance incomplète et expressivité variable pouvait être responsable d'une agénésie rénale uni ou bilatérale associée à un spectre plus ou moins large d'anomalie müllérienne (125). Ainsi, les gènes intervenant dans le développement et la différenciation des canaux de Müller et du mésonéphros sont des gènes candidats qui pourraient expliquer ces anomalies cliniques.

L'AMH et son récepteur spécifique de type II, par leur profil d'expression et leur mécanisme d'action sont des candidats potentiels pour expliquer le MRKHS. Cette hypothèse a été formulée pour la première fois en 1997 par

Lindenman (126). Une mutation activatrice du gène de l'AMH ou de son récepteur, entraînant une production excessive d'AMH à un moment anormal du développement ou un récepteur constitutivement actif, pourrait être responsable d'une régression des dérivés müllériens. De même, une mutation d'un gène impliqué dans la voie de signalisation de l'AMH pourrait également être en cause.

2 - Patients et méthodes

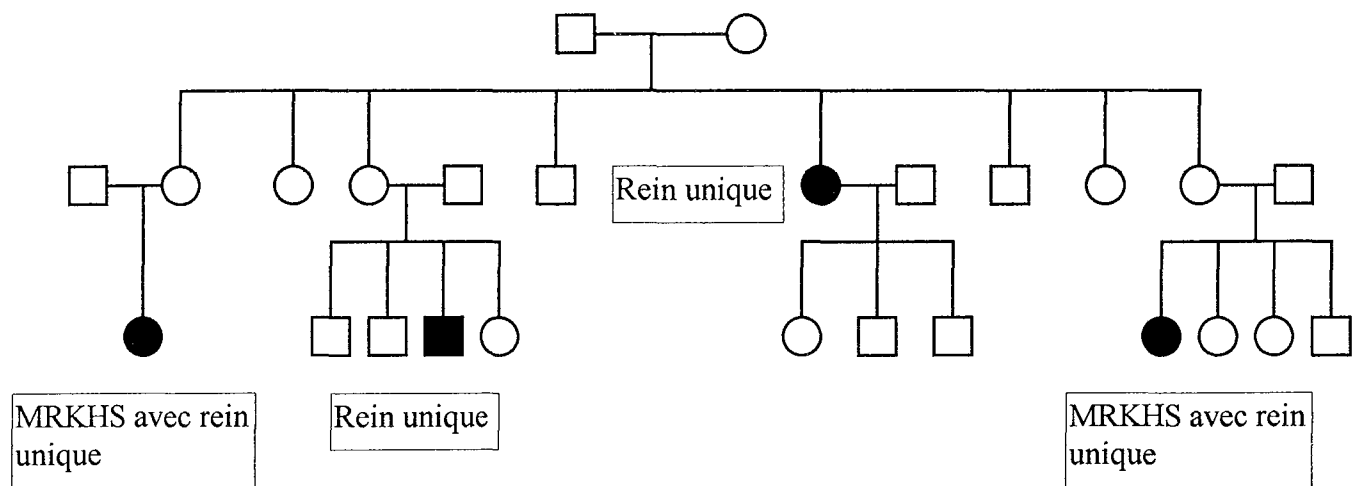
21 - Patients

La première partie de ce travail a consisté à doser l'AMH par technique ELISA. Cette étude a été effectuée chez seize patientes, jeunes filles non apparentées d'origine caucasienne, recrutées au hasard parmi les quelques 200 cas sporadiques répertoriés à ce jour dans le service de gynécologie du professeur Paniel à Créteil. Elles présentent toutes un MRKHS avec agénésie de l'utérus et du tiers supérieur du vagin. Chez l'une d'elles, y est associé une agénésie rénale unilatérale. Ces patientes ont une féminité normale, ne présentent pas d'anomalie des organes génitaux externes, ni de dysmorphie particulière. Cet échantillon est donc très homogène et représentatif des cas sporadiques de MRKHS.

Concernant l'analyse de gènes candidats, nous avons étudié une grande famille française recrutée dans le service de chirurgie infantile du professeur Nihoul-Fékété à l'hôpital Necker-Enfants Malades à Paris. Cette famille non

phénotype : une agénésie vaginale et une agénésie rénale homolatérale, une de leur tante est porteuse d'une agénésie rénale unilatérale et un de leur cousin a également une agénésie rénale unilatérale.

Comme pour les cas sporadiques précédents, aucune autre anomalie clinique et paraclinique n'est observée.



Arbre généalogique de la famille étudiée

22 - Méthodes

221 - Dosage de l'AMH par technique ELISA

2211- Principe :

La production de protéine recombinante a permis de préparer des anticorps monoclonaux et polyclonaux dirigés contre l'AMH, et ainsi de mettre au point un dosage enzymo-immunologique de type "ELISA" (70,127).

Le dosage de l'AMH par cette technique est déjà utilisé dans certaines circonstances cliniques, comme marqueur de la maturation des cellules de Sertoli (128, 129), de l'insensibilité à la testostérone (130), ou de l'évolutivité des tumeurs des cellules de la granulosa (131, 132).

Chez le foetus féminin, le taux d'AMH sérique est toujours indétectable, les cellules de la granulosa ne synthétisant pas l'hormone avant la naissance. En post-natal, ce taux est quelque fois détectable mais il ne dépasse jamais 3-5 ng/ml. En ce qui concerne cette étude, le dosage de l'AMH a été effectué en période pubertaire.

2212 - Méthode (127) :

25 µl de sérum est incubé à température ambiante pendant 2 heures avec 1 ml d'anticorps monoclonal anti-AMH purifié. Un deuxième anticorps couplé à 370 µg de biotine est ajouté, ainsi que le complexe peroxydase-streptavidine 1:1000. La réaction est stoppée par addition de 50 µl de NaOH, 1N. Une réaction colorée est mise en évidence et quantifiée par spectrophotométrie à 405 nm. La limite de

sensibilité est de 0,1 ng/ml

222 - Analyse de gènes candidats par la technique des microsatellites

2221 - Principe :

Cette technique permet de valider ou d'invalider des gènes candidats pour une pathologie donnée.

Le principe de l'analyse de liaison consiste à distinguer le chromosome porteur d'un gène morbide de son homologue normal par l'étude des polymorphismes voisins du gène servant de marqueurs.

Les microsatellites de type (CA)_n sont de courtes séquences répétées de quelques nucléotides utilisés pour l'analyse de liaison en raison de leur caractère très polymorphe et informatif. Ils sont uniformément répartis sur tout le génome. Leur polymorphisme consiste en une série d'allèles dont la taille est comprise entre 24 et 80 paires de base.

Le microsatellite choisi est amplifié par la technique de PCR (Polymerase Chain Reaction) en utilisant des amorces flanquantes spécifiques. L'analyse du produit d'amplification se fait par électrophorèse sur gel de polyacrylamide dénaturant ce qui permet de distinguer des variations alléliques minimales de 2 bases. La révélation s'effectue à l'aide d'une sonde d'hybridation correspondant à une séquence (GT)_n complémentaire du microsatellite et marquée par un procédé non radioactif.

2222 - Gènes candidats et marqueurs :

- AMH (15) : marqueurs D19S209 et D19S894, distants de 3,7 cM.
- AMH-RII (24) : marqueurs D12S1635, D12S1618, D12S368 et D12S96.
- ALK-2 : marqueurs D2S151, D2S141, D2S156 et D2S382.
- ALK-5 (133) : marqueurs D9S1786, D9S176 et D9S1690.
- TGFBRI : marqueurs D9S1872, D9S282.
- BMPRI-B ou ALK-6 (134-136) : marqueurs D4S414, D4S1578.
- Smad-2 (137, 138) : marqueurs D18S460, D18S1118.
- Pax2 (26) : marqueurs D10S543, AC1 (microsatellite intragénique) et D10S1750.
- Wnt-7a (139) : marqueurs D3S1263, D3S1286.

2223 - Technique :

- Amplification de l'ADN génomique par PCR :

La réaction de polymérisation en chaîne consiste à amplifier un fragment d'ADN à l'aide de deux amorces oligonucléotidiques s'hybridant spécifiquement en 3' de chaque brin de la région à amplifier. Après dénaturation, chaque brin est copié à partir de son amorce par une ADN polymérase thermostable. Chaque cycle de PCR constitué de trois étapes (dénaturation, hybridation, élongation) et répété n fois, induit une amplification théorique exponentielle de 2^n de l'ADN. Le produit d'amplification obtenu est contrôlé sur gel d'agarose à 2% en bromure d'éthidium visualisé sous ultra-violet.

- Migration des produits de PCR sur gel de polyacrylamide dénaturant fonction de

la taille des fragments obtenus.

- Transfert :

Une fois la migration terminée, le gel est démoulé et transféré sur une membrane de nylon chargée HYBOND N⁺ préalablement imprégnée de tampon TBE 1X. La membrane est recouverte de papier Wattman 3 MM et d'une plaque métallique en guise de poids. Le transfert dure 45 mn.

On effectue ensuite un lavage de la membrane à la soude et au 2 SSC.

- Hybridation :

La sonde (GT) d'hybridation est d'abord allongée par ajout de dinucléotides. Cet allongement est nécessaire pour permettre un bon marquage de la sonde. En effet, la peroxydase, agent de marquage froid, ne se fixe que toutes les 20 bases. L'allongement de la sonde est estimé par mesure de densité optique et doit être approximativement de 10 fois pour obtenir une bonne lecture.

Le marquage de la sonde à la peroxydase se fait dans une unité de volume telle que la sonde soit à 10 ng/μl, avec 30 μl d'eau, 30 μl de peroxydase, et 30 μl de glutaraldéhyde.

La membrane est disposée dans un tube à hybrider, mélangée au tampon d'hybridation contenant la sonde qui a été préalablement chauffé.

L'hybridation dans un four à 42°C dure toute une nuit (au moins six heures).

- Lavage de la membrane et détection :

On effectue trois lavages successifs au 2SSC à 42°C.

La membrane est ensuite égouttée et disposée sur une feuille de plastique sur

laquelle on verse la solution de détection, ECLTM, RPN 2105 Amersham.

Puis, on récupère la membrane que l'on autoradiographie.

3 - Résultats

31 - Dosage de l'AMH par technique ELISA

Les dosages d'AMH par la technique ELISA chez les patientes atteintes de MRKHS de façon sporadique ont été effectués lors de l'établissement du diagnostic, en période pubertaire ou post-pubertaire, les jeunes filles consultant pour aménorrhée primaire.

Les résultats ont été obtenus sans difficulté technique. Ils sont exprimés en ng/ml dans le tableau suivant. Ils sont tous dans les limites de la normale (3 à 5 ng/ml), voire à des valeurs quasi-indétectables.

Patiente	Tableau clinique	AMH (ng/ml)
Sandrine	MRKHS	0,91
Magali	MRKHS	1,67
Sabine	MRKHS avec agénésie rénale	2,95
Natacha	MRKHS	1,6
Clotilde	MRKHS	3,42
Géraldine	MRKHS	0,54
Anne	MRKHS	2,46
Sandrine	MRKHS	1,44
Virginie	MRKHS	3,44
Sandrine	MRKHS	2,06
Laetitia	MRKHS	4,84
Agnès	MRKHS	1,48
Laurence	Agénésie vaginale	0,29
Solène	MRKHS	4,45
Gonul	MRKHS	0,58
Véronique	MRKHS	2,94

32 - Analyse de gènes candidats

L'analyse de liaison de gènes candidats par marqueurs microsatellites a été effectuée sur une grande famille où quatre personnes sont symptomatiques, avec une expressivité variable.

Dans l'hypothèse où le MRKHS est un syndrome héréditaire, la première possibilité de transmission à envisager est autosomique dominante et monogénique avec une pénétrance variable. Les grands-parents de la famille représentée étant indemnes de toute pathologie, une mutation a pu survenir de novo chez l'un d'eux, expliquant la pathologie présentée chez l'un de leur fille. Cependant, à la deuxième génération, trois filles ne sont pas atteintes alors qu'elles donnent naissance chacune à des enfants symptomatiques. Ceci ne peut être expliqué que s'il existe une pénétrance incomplète du syndrome. Ce phénomène peut rendre compte de l'action de gènes modificateurs : quand le gène morbide est transmis, en fonction des gènes modificateurs l'accompagnant, la pénétrance est différente. L'allèle normal conditionne la pénétrance de la maladie. Dans ce cas, la ressemblance entre germains est supérieure à la ressemblance parents-enfants, ce qui est le cas dans la famille représentée où deux cousines germaines ont le même phénotype.

Étant donné l'incidence relativement faible de la forme familiale de ce syndrome, la probabilité d'avoir une atteinte multigénique est d'autant plus rare.

Cette hypothèse sous-entend une transmission à expressivité variable, donnant selon le type de mutation génétique, un MRKHS plus ou moins complet, une agénésie rénale, ou l'association des deux. Ceci permet d'expliquer les quatre cas décrits dans la famille étudiée.

Les haplotypes des cas index sont établis à partir de l'analyse des haplotypes parentaux et grands-parentaux, ce qui permet de construire la phase entre les allèles. Il existe une liaison génétique entre la maladie et le gène candidat si les sujets atteints ont hérité du même haplotype ancestral pour ce gène.

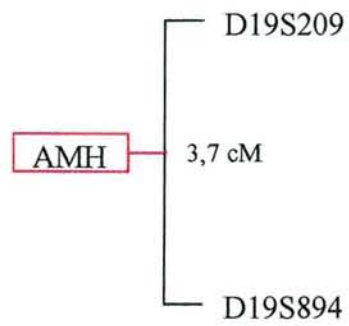
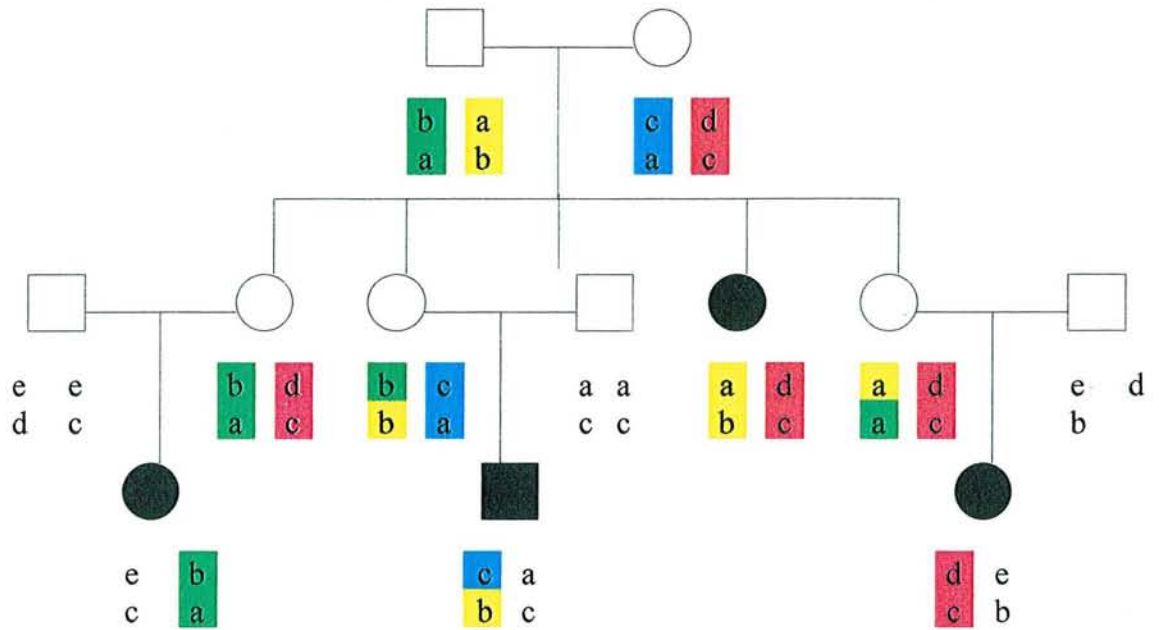
Les résultats des haplotypes obtenus pour chaque gène candidat sont représentés sur les arbres généalogiques suivants. La localisation schématique des marqueurs est représentée sous chaque arbre ainsi que leur position génétique exprimée en centimorgan (cM) par rapport au gène candidat testé. Chaque allèle obtenu est noté par une lettre différente. Une couleur différente est utilisée pour chacun des haplotypes ancestraux afin de faciliter la lecture des résultats.

Le gène de l'AMH a été étudié malgré les résultats des dosages hormonaux effectués dans la première de ce travail pour plusieurs raisons :

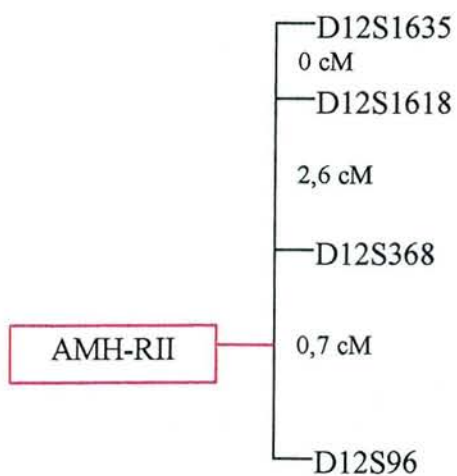
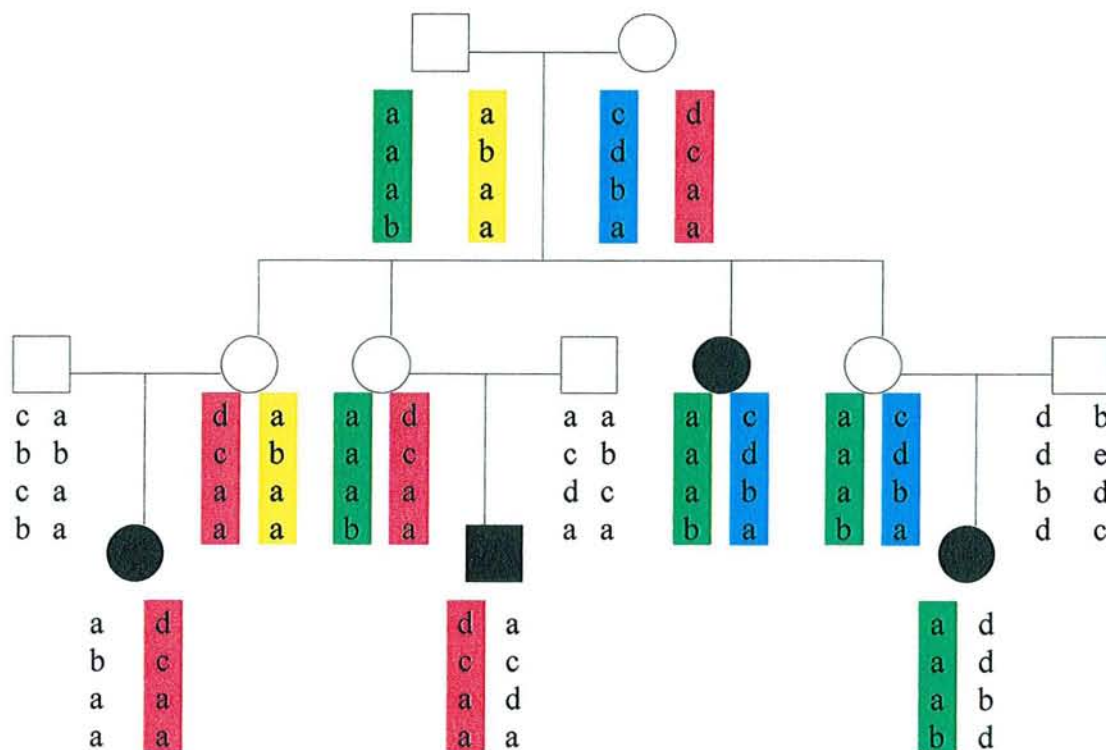
Tout d'abord, le dosage de l'AMH a été effectué en période pubertaire, ce qui n'exclue pas une anomalie dans le profil d'expression de l'AMH durant l'embryogenèse.

Ensuite, le MRKHS se présentant sous deux formes cliniques différentes, sporadique ou familiale, il est possible que ces deux formes correspondent à deux étiologies différentes.

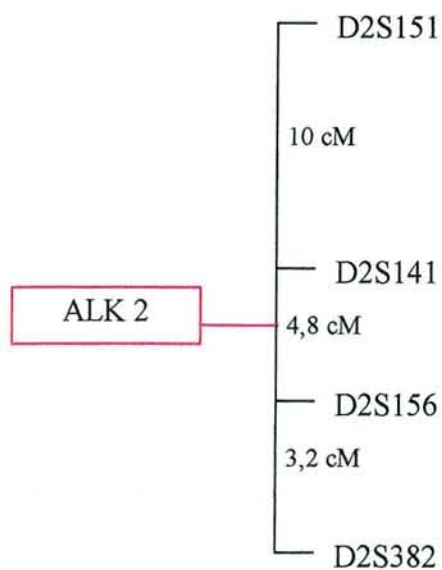
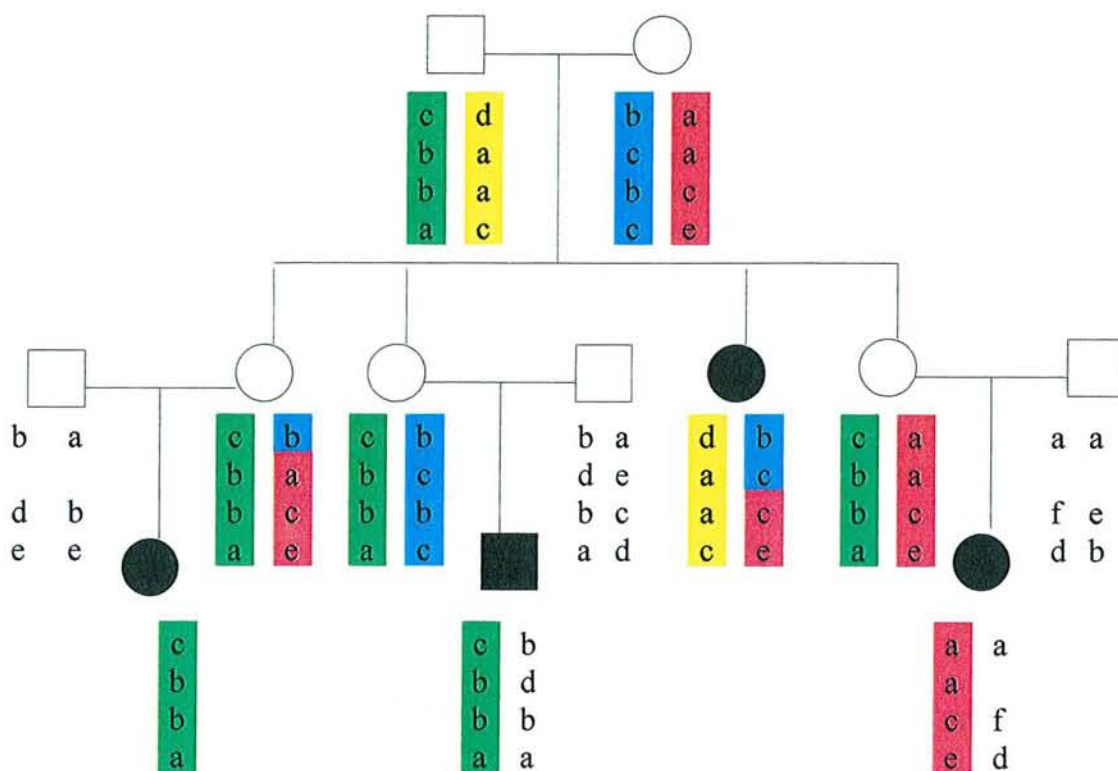
CHROMOSOME 19 (AMH)



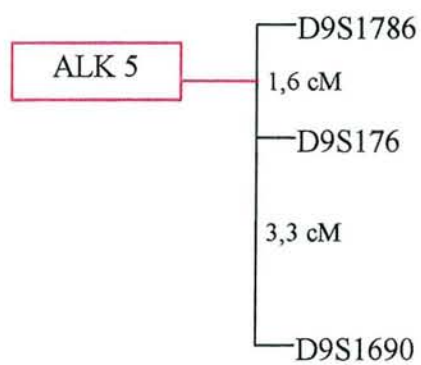
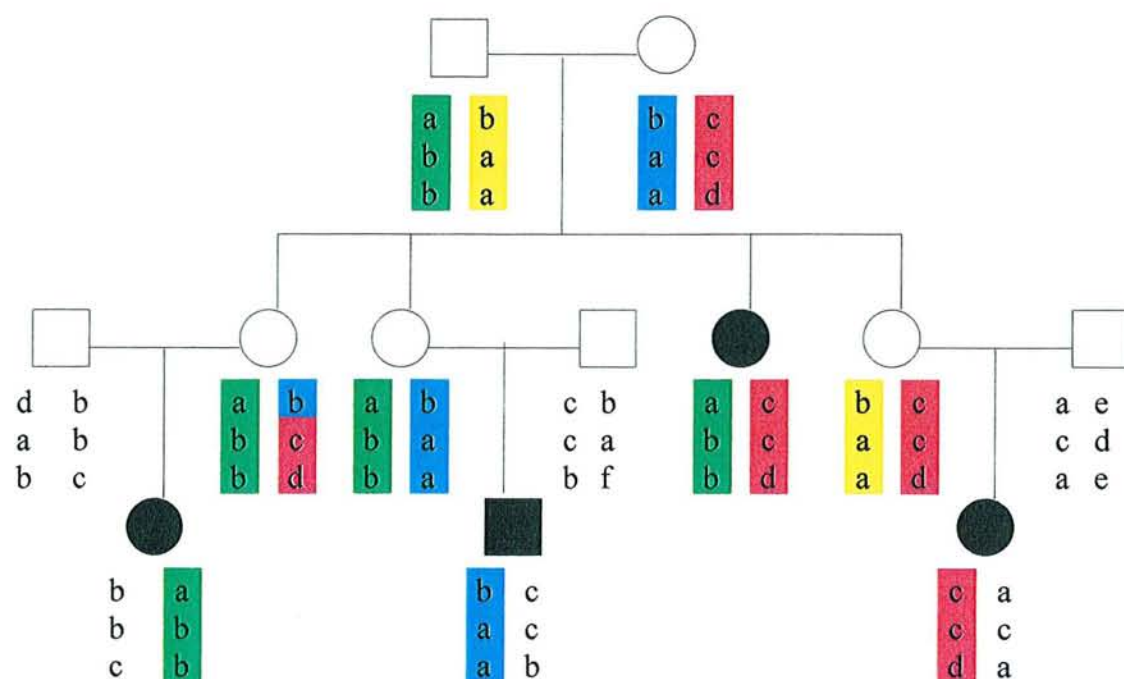
CHROMOSOME 12 (AMH-R11)



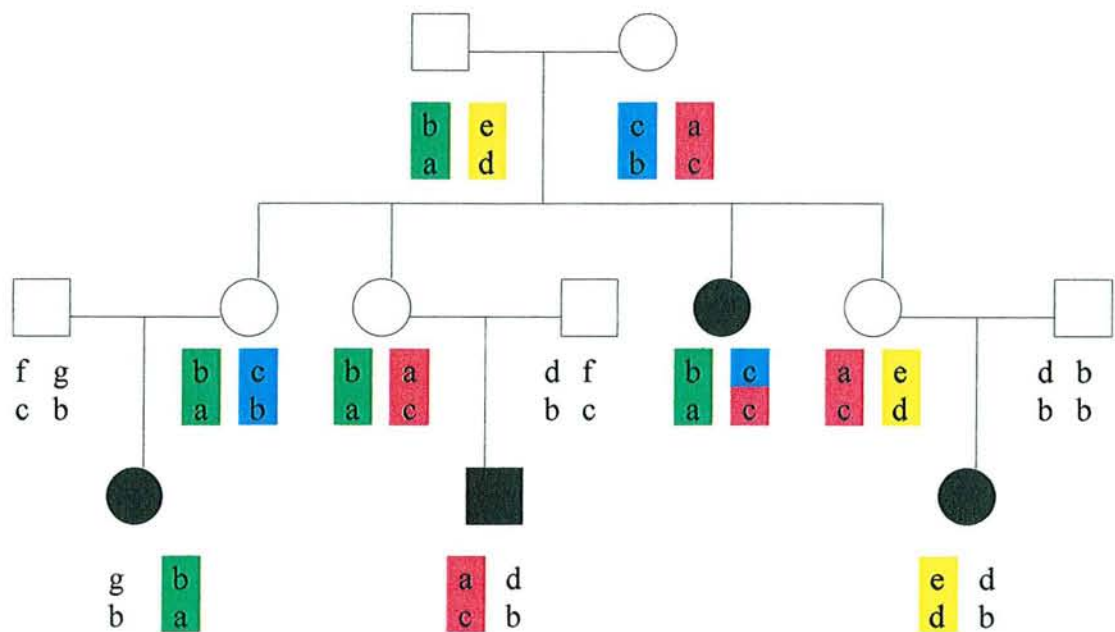
CHROMOSOME 2 (ALK 2)



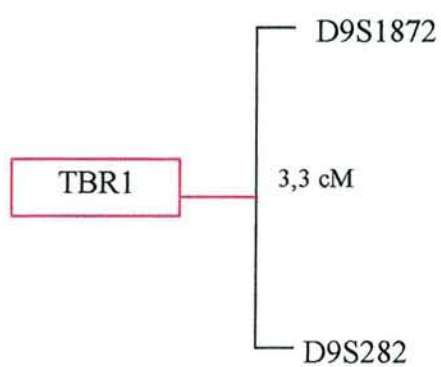
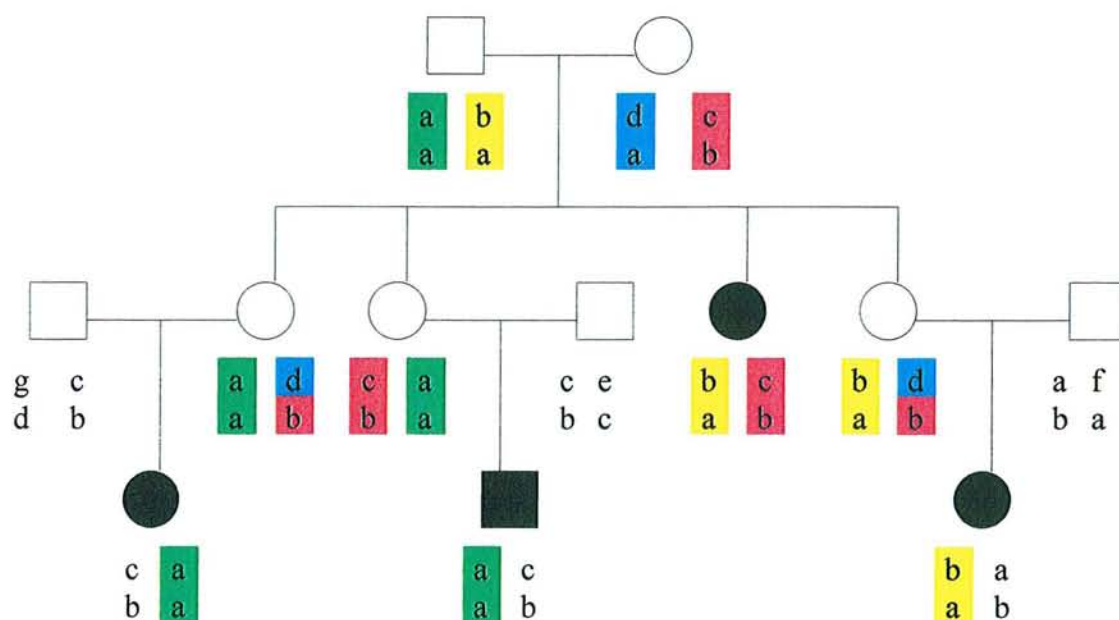
CHROMOSOME 9 (ALK 5)



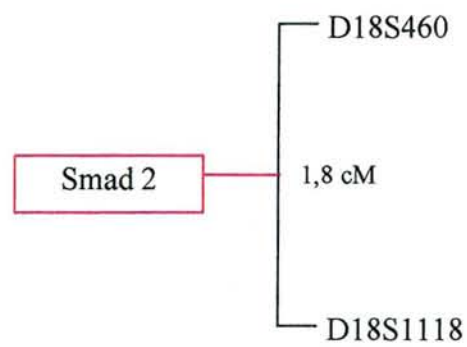
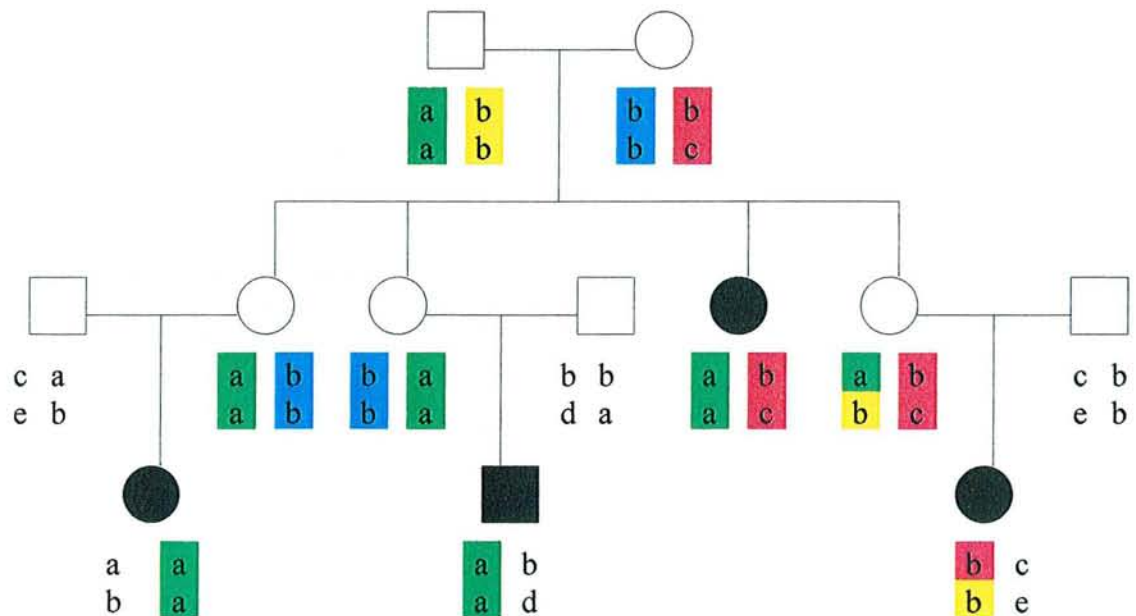
CHROMOSOME 4 (BMPR1-B)



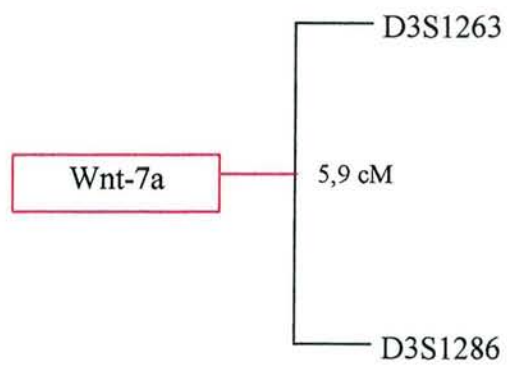
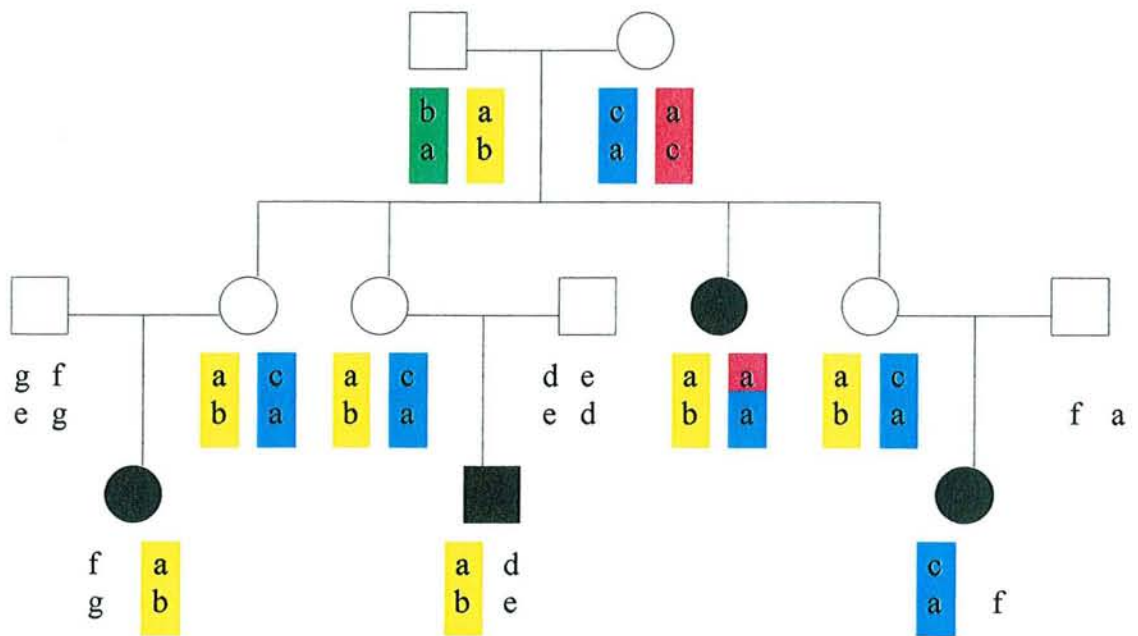
CHROMOSOME 9 (TBR1)



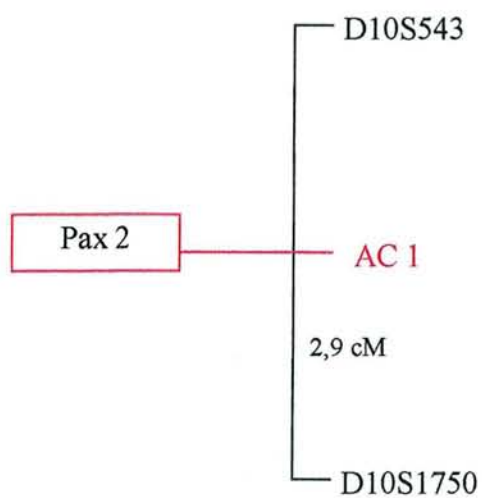
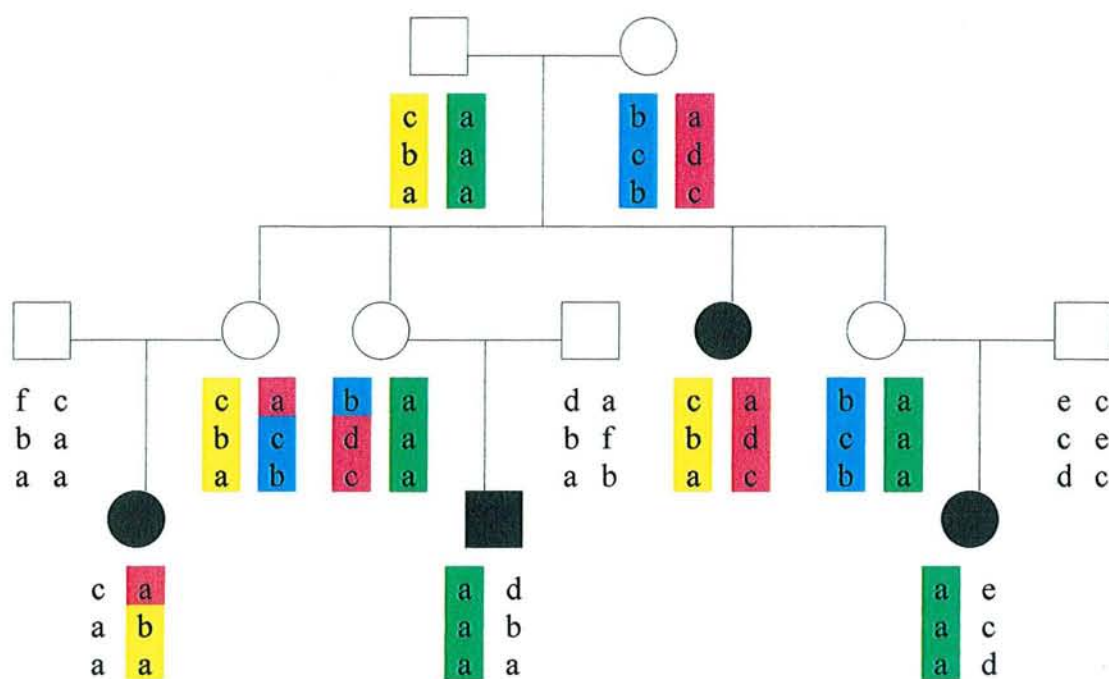
CHROMOSOME 18 (Smad 2)



CHROMOSOME 3 (Wnt-7a)



CHROMOSOME 10 (Pax 2)



Discussion

La transformation embryonnaire du mésoderme intermédiaire, origine des voies génitales internes, fait appel à des phénomènes d'induction réciproque entre épithélium et mésenchyme, qui apparaissent indispensables pour le développement et la bonne différenciation du tractus génital interne féminin.

Le développement et la différenciation des canaux de Müller sont contrôlés par plusieurs gènes qui interagissent entre eux. D'après les études effectuées chez la souris, les gènes Pax2, Wnt, Hox, mais aussi Emx2, Msx1 et HNF-1 β s'expriment principalement à la jonction épithélium / mésenchyme, soit sur le versant épithélial (Pax2, Wnt-7a, Emx2, Msx1) soit sur le versant mésenchymateux (Wnt-4, gènes Hox) des canaux de Müller. Le contrôle du développement des voies génitales internes paraît déjà plus complexe, puisqu'une dizaine de gènes sont actuellement impliqués. Ces derniers appartiennent à des familles de gènes différents par leur structure, leur profil d'expression, leur voie de signalisation, et leur régulation. Cependant, lorsque l'on étudie les souris sur lesquelles on a invalidé un de ces gènes, on observe souvent les même types d'anomalies, à savoir une agénésie partielle ou complète et plus ou moins étendue, avec parfois une mauvaise cytodifférenciation des dérivés des canaux de Müller. Il semble donc probable que ces gènes interviennent sur les canaux de Müller par un phénomène commun, peut-être par l'intermédiaire de la production de signaux d'induction du mésoderme qui agiraient régionalement sur les canaux de Müller quand ceux-ci sont encore cytologiquement indifférenciés. Cette hypothèse peut expliquer que des anomalies du tractus urinaire soient souvent associées aux anomalies

müllériennes : tous les dérivés du mésoderme intermédiaire dont le développement fait appel à des phénomènes d'induction sont concernés. En cas d'anomalie de ces facteurs d'induction, la différenciation des canaux de Müller est incomplète voir absente, sans que l'on observe d'autres malformations embryonnaires, ce qui pourrait être le cas si l'on envisage une mutation génétique avec perte de fonction d'un gène impliqué dans le développement du tractus génital interne féminin. Les anomalies isolées du tractus génital interne féminin peuvent donc résulter d'un défaut dans les signaux d'induction entre épithélium et mésenchyme. Cette hypothèse est également compatible avec le mode de transmission du MRKHS familial, qui est de pénétrance et d'expressivité variable. Un deuxième mécanisme d'action envisagé est d'origine endocrinien.

La première hormone impliquée est l'AMH. Secrétée par les cellules de Sertoli immatures, elle est responsable de la régression des canaux de Müller chez l'homme. Son absence entraîne un PMDS. On peut supposer qu'une sécrétion ectopique d'AMH au stade embryonnaire où les canaux de Müller sont sensibles à son action entraîne chez des jeunes filles une régression des canaux de Müller. Cependant, sur l'échantillon de patientes chez lesquelles a été dosé l'AMH, tous les taux hormonaux sont normaux. Par ailleurs, comme nous l'avons vu, l'AMH a une action virilisante sur l'ovaire fœtal. Or, les patientes atteintes de MRKHS ont une histologie ovarienne parfaitement normale. Même s'il y avait eu sécrétion inappropriée d'AMH durant l'embryogenèse, on comprend mal comment cette sécrétion se serait tarie à l'âge pubertaire. Peut-être par le biais d'une

augmentation du taux d'œstrogènes.

Les gènes Wnt sont impliqués dans la régulation de la voie de signalisation de l'AMH et sont nécessaires pour son action au niveau du mésenchyme müllérien. Il existe de plus au cours du développement embryonnaire des récepteurs aux œstrogènes localisés sur les canaux de Müller. En cas de stimulation, ils agissent sur la régulation de gènes tel que Wnt-7a ou Wnt 4. On peut alors supposer qu'en cas de mutation activatrice de ces récepteurs, l'expression de gènes intervenant dans le développement du tractus génital interne féminin est perturbée, aboutissant à des malformations des dérivés des canaux de Müller.

Si l'étiologie du MRKHS est génétique, un des meilleurs moyens d'évaluer la responsabilité d'un ou de plusieurs gènes est d'effectuer une recherche par analyse de liaison sur des familles rares où plusieurs cas index sont constatés.

Cette analyse est présentée dans la deuxième partie de ce travail. Sur la famille étudiée, deux patientes présentent un MRKHS et deux autres une agénésie rénale unilatérale isolée. Le nombre de méiose informative est suffisant statistiquement pour effectuer une analyse de liaison. Elle n'a pas permis de mettre en cause les gènes testés. Ces derniers peuvent donc être exclus du diagnostic étiologique dans cette famille. Neuf gènes seulement ont été choisis, et il serait intéressant de reprendre cette recherche avec les autres gènes possiblement impliqués une fois qu'ils seront génétiquement localisés. Cependant, on peut critiquer le choix des gènes étudiés.

En ce qui concerne l'AMH, impliquée dans environ 44% des cas de PMDS, elle intervient dans la voie de l'enzyme aromatasase qui convertit l'œstradiol en oestrone et la déhydrotestostérone en testostérone. En cas de mutation du gène de l'AMH, on devrait donc constater chez les jeunes filles des signes de virilisation, tant au niveau clinique qu'au niveau de l'histologie gonadique, ce qui n'est pas le cas des patientes atteintes de MRKHS. De plus, l'AMH n'a pas d'influence sur le développement du sinus-uro-génital. En cas d'absence de cette hormone, on ne peut donc pas expliquer la présence d'un vagin rudimentaire (140). Cependant, une absence de clivage de l'hormone la rendant inactive sur les canaux de Müller peut être en cause.

Pour ce qui est du gène Smad 2, il code pour une protéine essentielle pour la formation du mésoderme intermédiaire et la mise en place de la polarité antéro-postérieure de l'embryon (141). Intervenant dans plusieurs voies de signalisation, on s'attend donc à observer un spectre syndromique plus large que celui représenté dans le MRKHS. D'autres protéines Smad peuvent également être impliquées dans le MRKHS, comme la protéine Smad 7 qui inhibe la liaison de Smad 2 au récepteur (21).

Les autres gènes testés s'associent, en cas d'invalidation chez la souris, à des anomalies de cytodifférenciation des dérivés müllériens. Or, dans le MRKHS, la différenciation endométriale et myométriale de l'utérus est normale.

Concernant le mode de transmission du MRKHS - autosomique dominant à pénétrance variable -, il semble possible que des gènes modificateurs

interviennent. Ces gènes modifient le phénotype d'une maladie mais ne sont pas pathogènes en soi. Ils peuvent être proches du gène morbide ou indépendants de ce gène. Leur action, même minime, est difficile à mettre en évidence. Elle est supposée lorsque l'on observe dans une famille des phénotypes variables pour une pathologie dominante selon la transmission de l'allèle non morbide : les phénotypes sont d'autant plus concordants que l'allèle transmis est le même.

L'étude génétique du MRKHS est importante pour le diagnostic anténatal et la prise en charge familiale.

Le pronostic du MRKHS dépend essentiellement des malformations rénales et vertébrales associées. La découverte précoce de ces malformations permettrait une meilleure prise en charge et une meilleure prévention des complications éventuelles de ces anomalies (pyélonéphrite chronique, complications orthopédiques notamment vertébrales). Devant la découverte d'une agénésie rénale en période anténatale, il est important de pouvoir l'attribuer à un MRKHS. En effet, dans ce cas, on peut être rassurant quant à la fonction rénale qui est conservée et quant au devenir évolutif de cette malformation qui est stable.

Concernant les anomalies génitales, étant donné les possibilités thérapeutiques et les conséquences sur la procréation, le problème est différent. La prise en charge thérapeutique des agénésies müllériennes est actuellement possible avec de bons résultats à court et à long terme. Ceci permet une vie tout à fait normale aux jeunes filles. Persiste alors le problème d'une grossesse, qui bien prise en charge, peut aboutir. Cependant, les résultats sont pour l'instant très décevants et les

chances d'avoir une naissance vivante à terme très faibles.

Il n'est cependant pas exclu que l'origine du MRKHS soit multifactorielle. En effet, ce syndrome se présente sous plusieurs formes cliniques et des modes de transmission différente apparaissent possibles.

Ainsi, l'origine tératogène de ce syndrome a été souvent évoquée. Dans ce travail, nous avons analysé l'effet du DES sur le développement du tractus uro-génital. Cet oestrogène de synthèse altère l'interaction entre l'épithélium et le mésenchyme des canaux de Müller. Il supprime l'action de l'AMH au niveau du mésenchyme, régule négativement les gènes Wnt-7a et Hoxa10 et son action aboutit à une absence de différenciation épithéliale et mésenchymateuse. Son mécanisme d'action s'effectue donc à plusieurs niveaux de contrôle du développement des voies génitales internes féminines. Cet effet tératogène peut être reproduit par une hypersécrétion d'oestrogènes endogènes. Ceci pourrait expliquer les cas sporadiques de MRKHS.

Nous avons également abordé dans ce travail les anomalies transversales syndromiques du vagin. Celles-ci, essentiellement représentées par le syndrome de McKusick-Kaufman, semblent dues à une mutation d'une protéine de type chaperon. Cette protéine est retrouvée mutée dans ce syndrome. On ne connaît pas la fonction exacte de cette protéine ubiquitaire. Deux mécanismes d'action peuvent être envisagés :

S'agissant d'une protéine appartenant à la famille des chaperons, elle intervient en cas de stress cellulaire. La première hypothèse est qu'elle protège certaines molécules qui se sont dépliées suite à un stress. En cas de mutation annulant sa fonction, elle n'est plus capable de limiter le dépliement et les molécules étendues vont avoir tendance à s'agréger empêchant ainsi toute communication cellulaire normale. Ceci aboutit notamment à un défaut dans les voies de signalisation. Survenant pendant le développement embryonnaire, les conséquences peuvent être des malformations par défaut d'induction si les stress cellulaires n'ont pu être compensés. Un autre mécanisme d'action permettant d'expliquer les malformations observées serait l'expression de protéines mutées qui ne s'expriment pas normalement si elles sont masquées par la protéine chaperon

La deuxième hypothèse serait que la protéine chaperon intervient directement pendant l'embryogenèse et ce en l'absence de stress. Elle agirait sur les molécules permettant la division cellulaire. En cas de mutation de la protéine chaperon, on peut penser que les processus de division cellulaires sont interrompus. Ceci aboutirait à des dysplasies plus ou moins étendues plus qu'à des malformations. Cela pourrait correspondre aux cas rares de syndrome de McKusick-Kaufman où il existe une atrésie vaginale.

Conclusion

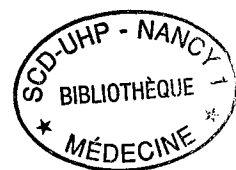
Pendant longtemps, les scientifiques considéraient que la différenciation des voies génitales internes était sous le contrôle hormonal testiculaire et que l'on devenait femme à défaut d'être un homme. Cette hypothèse, formulée pour la première fois en 1947 par Jost (9), fut vérifiée dans les cas de Free-martins, où l'on assiste à une virilisation prénatale des organes génitaux internes d'une brebis sous l'influence des hormones mâles secrétées par son jumeaux. La découverte de l'AMH et sa responsabilité dans les cas de PMDS ont permis de mieux comprendre les voies de signalisation aboutissant au développement et à la différenciation des canaux de Müller. Cependant, beaucoup d'anomalies müllériennes ne sont pas encore élucidées.

Le MRKHS est un syndrome qui s'exprime le plus souvent de façon sporadique mais qui peut rarement prendre des formes familiales avec une transmission à pénétrance et expressivité variables. Bien que d'incidence non négligeable, le MRKHS reste pour l'instant sans étiologie. Son origine génétique peut tout à fait être envisagée dans certains cas, mais étant donné le grand nombre de gènes impliqués dans le développement des canaux de Müller, et le spectre syndromique du MRKHS, celle-ci apparaît alors probablement multigénétique. L'étude des cas familiaux permettra sans doute de vérifier cette hypothèse étiologique.

Par ailleurs, l'analyse des voies de signalisation et des mécanismes d'action des gènes impliqués dans le développement des canaux de Müller permettra sans doute de mettre en évidence des signaux d'induction du mésoderme. Ces signaux semblent jouer un rôle primordial dans la différenciation du tractus génital interne

féminin.

Face à ces anomalies transversales hautes du système génital interne féminin, la découverte récente d'une protéine de type chaperon impliquée dans les anomalies transversales du vagin ouvre une nouvelle voie de recherche. Le syndrome de McKusick-Kaufman semble être le résultat d'un défaut dans les mécanismes de détoxification cellulaire. Il n'y aurait donc pas d'atteinte des gènes intervenant dans le développement proprement dit des voies génitales internes basses, mais une altération des phénomènes de défense de la cellule au cours d'une étape sensible qu'est l'embryogenèse. Dans ce cas, on peut comprendre qu'il y ait des transmissions à pénétrance et expressivité variable en fonction de la capacité d'un embryon à répondre à une agression. Ce mécanisme d'action peut s'appliquer aux cas sporadiques du syndrome de Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser.





Bibliographie

1 - Ludwig KS. The development of the caudal ligaments of the mesonephros and of the gonads : a contribution to the development of the human gubernaculum (Hunteri). *Anat Embryol* 1993; 188 : 571-577.

2 - Josso N, Lamarre I, Picard JY, *et al.* Anti-Müllerian hormone in early human development. *Early Hum Dev* 1993; 33 : 91-99.

3 - Münsterberg A, Lovell-Badge R. Expression of the mouse anti-müllerian hormone gene suggests a role in both male and female sex differentiation. *Development* 1991; 11 : 613-624.

4 - Trelstad RL, Hayashi A, Hayashi K, Donahoe PK. The epithelial mesenchymal interface of the male rat müllerian duct : loss of basement membrane integrity and ductal regression. *Dev Biol* 1984; 106 : 394-398

5 - Mac Laughlin D, Levin R, Catlin E, Taylor L, Preffer F, Donahoe P. Identification of müllerian inhibiting substance specific binding in human cell lines. *Horm Metab Res* 1992; 24 : 570-5.

6 - Jirsova Z, Vernerova Z. The differentiation and involution of the mullerian duct in the rat. *Functional & Developmental Morphology*. 1993; 3 (2) : 105-109.

7 - Rey R, Al-Attar L, Louis F *et al* (1996). Testicular dysgenesis does not affect expression of anti-Müllerian hormone by Sertoli cells in pre-meiotic seminiferous tubules. *Am J of Pathology* 148 : 1689-1698.

8 - Glenister TW. The development of the utricle and of the so-called "middle" or "median" lobe of the human prostate. *J Anat* 1962; 96 : 443-455.

9 - Jost A. Recherches sur la différenciation sexuelle de l'embryon de lapin. III. Rôle des gonades foetales dans la différenciation sexuelle somatique. *Arch Anat Microsc Morphol Exp* 1947; 36 : 271-315.

10 - Josso N, Picard JY, Tran D. The anti-müllerian hormone. *Recent Prog Horm Res* 1977; 33 : 117-160.

11 - O'Rahilly R. The development of the vagina in the human. In: Blandau RJ, Bergsma D, eds. *Morphogenesis and malformation of the genital system*. New York : Alan Liss, 1977; 123-136.

12 - Saxen L. *Organogenesis of the kidney*. Cambridge University Press, Cambridge 1987, pp 1-34.

13 - Massagué J. The transforming growth factor- β family. *Ann Rev Cell Biol* 1990; 6 : 597-641.

14 - Cate R.L., Mattaliano R.J., Hession C., Tizard R., Farber N.M., *et al.*
Isolation of the bovine and human genes for müllerian inhibiting substance and expression of the human gene in animal cells. *Cell* 1986; 45 : 685-698.

15 - Cohen-Haguenauer O, Picard JY, Mattei MG, Serero S, Nguyen V, *et al.*
Mapping of the gene for anti-Müllerian hormone to the short arm of human chromosome 19. *Cytogenet Cell Genet* 1987; 44 : 2-6.

16 - Josso N, Cate RL, Picard JY *et al.* Anti-Müllerian hormone, the Jost factor. *Recent Prog Horm Res* 1993; 48 : 1-59.

17 - Cate RL, Donahoe PK, Mac Laughlin DT. 1990. In *handbook of Experimental Pharmacology*, Vol. 95/II (Sporn MB, and Roberts AB, edited by), pp. 179-210, Springer-Verlag, Berlin.

18 - Di Clemente N, Ghaffari S, Pepinsky RB *et al.* A quantitative and interspecific test for biological activity of anti-Müllerian hormone : the fetal ovary aromatase assay. *Development* 1992, 114 : 721-727

19 - Vigier B, Watrin F, Magre S *et al.* Purified bovine AMH induces a characteristic freemartin effect in fetal rat prospective ovaries exposed to it in vitro. Development 1987, 100 : 43-55

20 - Attisano L, Carcamo J, Ventura F, Weis FM, Massagué J, Wrana JL. Identification of human activin and TGF-beta type I receptors that form heteromeric kinase complexes with type II receptors. Cell 1993; 75 : 671-680.

21 - Lebrun JJ, Takabe K, Chen Y, Vale W. Roles of pathway-specific and inhibitory Smads in activin receptor signaling. Mol Endoc 1999; 13 : 15-23.

22 - Massagué J, Hata A, Liu F. TGF- β signalling through the Smad pathway. Trends in Cell Biol 1997; 7 : 187-192

23 - Massagué J. TGF- β signaling : receptors, transducers, and Mad proteins. Cell 1996; 85 : 947-950

24 - Di Clemente N, Wilson CA, Faure E, Boussin L, Carmillo P *et al.* Cloning, expression and alternative splicing of the receptor for anti-Müllerian hormone. Mol Endocrinol 1994

- 25** - Nakao A, Imamura T, Souchelnytskyi S, Kawabata M, Ishisaki A *et al.* TGF- β receptor-mediated signalling through Smad 2, Smad 3 and Smad 4. EMBO J 1997; 16 : 5353-5362.
- 26** - Baker JC, Harland RM. From receptor to nucleus : the Smad pathway. Curr Opin Genet Dev 1997; 7 : 467-473
- 27**- Mansouri A, Hallonet M, Gruss P. Pax genes and their roles in cell differentiation and development. Curr Opin Cell Biol 1996; 8 : 851-857.
- 28**- Noll M. Evolution and role of Pax genes. Curr Opin Gen Dev 1993; 3 : 595-605.
- 29** - Gerard M, Abitbol M, Delezoide AL, Dufier JL, Mallet J & Vekemans M. PAX-genes expression during human embryonic development, a preliminary report. C.R. Acad Sci Paris 1995; 318 : 57-66.
- 30** - Narahara K, Baker E, Ito S, Yokoyama Y, Yu S *et al.* Localization of a 10q breakpoint within the PAX2 gene in a patient with a de novo t(10;13) translocation and optic nerve coloboma-renal disease. J Med Genet 1997; 34 : 213-216

31 - Terzic J, Muller C, Gajovic S & Saraga-Babic M. Expression of PAX2 gene during human development. J Dev Biol 1998; 42 : 701-707.

32 - Dressler GR, Deutsch U, Chowdhury K, Nornes HO, Gruss P. Pax 2, a new murine paired-box-containing gene and its expression in the developing excretory system. Development 1990; 109 : 787-795.

33 - Torres M, Gomez-Pardo E, Dressler GR, Gruss P. Pax-2 controls multiple steps of urogenital development. Development 1995; 121 : 4057-4065.

34 - Keller SA, Jones JM, Boyle A, Barrow LL, Killen PD *et al.* Kidney and retinal defects (Krd), a transgene-induced mutation with a deletion of mouse chromosome 19 that includes the Pax2 locus. Genomics 1994; 23 : 309-320.

35 - Favor J, Sandulache R, Neuhauser-Klaus A, Pretsch W, Chatterjee B, *et al.* The mouse Pax 2 1Neu mutation is identical to a human PAX 2 mutation and results in development defects of the brain, ear, eye, and kidney. Proc Natl Acad Sci USA. 1996; 93 : 13870-13875.

36 - Sanyanusin P *et al.* Mutations of the PAX 2 gene in a family with optic nerve colobomas, renal anomalies and vesicoureteral reflux. Nat Genet 1995; 9 : 358-363.

- 37 - Eccles MR. The role of PAX 2 in normal and abnormal development of the urinary tract. *Pediatr Nephrol* 1998; 12 : 712-720.
- 38 - Baker NE. Molecular cloning of sequences from wingless, a segment polarity gene in *Drosophila* : the spatial distribution of a transcript in embryos. *EMBO J* 1987; 6 : 1765-1773.
- 39 - Nusse R, Varmus HE. WNT genes. *Cell* 1992; 69 : 1073-1087.
- 40 - Gavin BJ, Mc Mahon JA, Mc Mahon AP. Expression of multiple novel *Wnt-1/int-1*-related genes during fetal and adult mouse development. *Genes Dev* 1990; 4 (12B) : 2319-2332.
- 41 - Parr BA, Shea MJ, Vassileva G, Mc Mahon AP. Mouse *Wnt* genes exhibit discrete domains of expression in the early embryonic CNS and limb buds. *Development* 119 (1) : 247-261.
- 42 - Pavlova A, Boutin E, Cunha G, Sassoon D. *Msx 1* (Hox-7.1) in the adult mouse uterus : cellular interactions underlying regulation of expression. *Development* 1994; 120 : 335-346.

- 43 - Moon RT, Brown JB, Torres MT. *Wnts* modulate cell fate and behavior during vertebrate development. Trends Genet 1997; 13 (4) : 157-162.
- 44 - Cunha GR. Stromal induction and specification of morphogenesis and cytodifferentiation of the epithelia of the Müllerian ducts and urogenital sinus during development of the uterus and vagina in mice. J Exp Zool 1976; 196 : 361-370.
- 45 - Cunha GR. Epithelial-stromal interactions in development of the urogenital tract. Int Rev Cytol 1976; 47 : 137-194.
- 46 - Boutin EL, Battle E, Cunha GR. The germ layer origin of mouse vaginal epithelium restricts its responsiveness to mesenchymal inductors : uterine induction. Differentiation 1992; 49 (2) : 101-107.
- 47 - Stark K, Vainio S, Vassileva G & Mc Mahon AP. Epithelial transformation of metanephric mesenchyme in the developing kidney regulated by Wnt-4. Nature 1994; 372 : 679-683.
- 48 - Miller C, Pavlova A, Sassoon DA. Differential expression patterns of Wnt genes in the murine female reproductive tract during development and the estrous cycle. Mec of Dev 1998; 76 : 91-99.

- 49** - Vainio S, Heikkila M, Kispert A, Chin N, Mc Mahon AP. Female development in mammals is regulated by Wnt-4 signalling. *Nature* 1999; 397 : 405-409.
- 50** - Parr BA, Mc Mahon AP. Dorsalizing signal Wnt-7a required for normal polarity of D-V and A-P axes of mouse limb. *Nature* 1995; 374 : 350-353.
- 51** - Sassoon D. Wnt genes and endocrine disruption of the female reproductive tract : a genetic approach. *Mol Cell Endo* 1999; 158 : 1-5.
- 52** - Miller C, Degenhardt K, Sassoon DA. Fetal exposure to DES results in de-regulation of Wnt-7a during a critical period of uterine morphogenesis. *Nature Genet* 1998; 20 : 228-230.
- 53** - Igushi T, Takasugi N. Postnatal development of uterine abnormalities in mice exposed to DES in utero. *Biol Neonate* 1987; 52 : 97-103.
- 54** - Igushi T, Takase M, Takasugi N. Development of vaginal adenosis-like lesions and uterine epithelial stratification in mice exposed perinatally to diethylstilbestrol. *Proc Soc Exp Biol Med* 1986; 181 : 59-65.

55 - Anderson C, Forsberg JG. Induction of estrogen receptor, peroxidase activity, and epithelial abnormalities in the mouse uterovaginal epithelium after neonatal treatment with diethylstilbestrol. *Terat Carcinog Mutag* 1988; 8 : 347-361.

56 - Miller C, Sassoon DA. Wnt-7a maintains appropriate uterine patterning during the development of the mouse female reproductive tract. *Development* 1998; 125 : 3201-3211.

57 - Krumlauf R. Hox genes in vertebrates development. *Cell* 1994; 78 : 191-201.

58 - Mc Ginnis W & Krumlauf R. Homeobox genes and axial patterning. *Cell* 1992; 68 : 283-302.

59 - Taylor HS, Vanden Heuvel GB & Igarashi P. A conserved Hox axis in the mouse and human female reproductive system : late establishment and persistent adult expression of the Hoxa cluster genes. *Biol of Reprod* 1997; 57 : 1338-1345.

60 - Benson GV, Lim H, Paria BC, Satokata I, Dey SK & Maas RL. Mechanisms of reduced fertility in Hoxa-10 mutant mice : uterine homeosis and loss of maternal Hoxa-10 expression. *Development* 1996; 122 : 2687-2696.

61 - Hsieh-Li HM, Witt DP, Weinstein M, Branford W, Li H, Small K & Potter SS. Hoxa 11 structure, extensive antisense transcription, and function in male and female fertility. *Development* 1995; 121 : 1373-1385.

62 - Mortlock DP, Innis JW. Mutation of HOXA 13 in hand-foot-genital syndrome. *Nat Genet* 1997; 15 (2) : 179-180.

63 - Warot X, Fromental-Ramain C, Fraulob V, Chambon P & Dollé P. Gene dosage-dependent effects of the Hoxa-13 and Hoxd-13 mutations on morphogenesis of the terminal parts of the digestive and urogenital tracts. *Development* 1997; 124 : 4781-4791.

64 - Simeone A, Gulisano M, Acampora D, Stornaiuolo A, Rambaldi M & Boncinelli E. Two vertebrate homeobox genes related to the *drosophila empty spiracles* gene are expressed in the embryonic cerebral cortex. *EMBO J* 1992; 11 : 2541-2550.

65 - Pellegrini M, Pantano S, Lucchini F, Fumi M & Forabosco A. Emx2 developmental expression in the primordia of the reproductive and excretory systems. *Anat Embryol* 1997; 196 : 427-433.

- 66 - Miyamoto N, Yoshida M, Kuratami S, Matsuo I & Aizawa S. Defects of urogenital development in mice lacking *Emx2*. *Development* 1997; 124 : 1653-1664.
- 67 - Pavlova A, Boutin E, Cunha G & Sassoon D. *Msx1* (*Hox-7.1*) in the adult mouse uterus : cellular interactions underlying regulation of expression. *Development* 1994; 120 : 335-346.
- 68 - Lindner TH, Njolstad PR, Horikawa Y, Bostad L, Bell GI & Sovik O. A novel syndrome of diabetes mellitus, renal dysfunction and genital malformation associated with a partial deletion of the pseudo-POU domain of hepatocyte nuclear factor-1 β . *Hum Molec Genet* 1999; 8, 11 : 2001-2008.
- 69 - Vignali R, Poggi L, Madeddu F & Barsacchi G. HNF1 β is required for mesoderm induction in the *Xenopus* embryo. *Development* 2000; 127 : 1455-1465.
- 70 - Kaufman RH, Adm E, Binder GL & Gerthoffer E. Upper genital tract changes and pregnancy outcome in offspring exposed in utero to diethylstilbestrol. *Am J Obstet Gynecol* 1980; 137 : 299-308.

71 - Newbold RR, Suzuki Y, Mc Lachlan JA. Müllerian duct maintenance in heterotypic organ culture after in vivo exposure to diethylstilbestrol. *Endoc* 1984; 115 : 1863-1868.

72 - Ma L, Benson GV, Lim H, Dey SK & Maas RL. Abdominal B (AbdB) Hoxa genes : Regulation in adult uterus by estrogen and progesterone and repression in Müllerian duct by the synthetic estrogen diethylstilbestrol (DES). *Dev Biol* 1998; 197 : 141-154.

73- Guerrier D, Tran D, Vanderwinden JM, Hideux S, Van Outryve L, *et al.* The persistent Müllerian duct syndrome : a molecular approach. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 3 : 125-31

74 - Imbeaud S, Belville C, Messika-Zeitoun L, Rey R *et al.* A 27 base-pair deletion of the anti-Müllerian type II receptor gene is the most common cause of the persistent Müllerian duct syndrome. *Hum Mol Genet* 1996.

75 - Schmidt-Tannwald I, Hauser GA. Syndromes of testicular feminization and Mayer-Rokitansky-Kuster : a comparaison. *Geburtschilfe Frauenhik* 1973; 33 : 194-198.

76 - Evans PN, Poland NL, Boving RL. Vaginal malformations. Am J Obstet Gynecol 1981; 141 : 910-920.

77 - Mayer CAJ. Über verdoppelungen des Uterus und ihre Arten, nebst Bemerkungen über Hasenscharte und Wolfsrachen. J Chir Augenheilkd 1829; 13 : 525-564

78 - Küster H. Uterus bipartitus solidus rudimentarius cum vagina solida. Z Geburtshilfe Gynakol 1910; 67 : 692-718

79 - Hauser GA, Schreiner WE. Das Mayer-Rokitansky-Küster-Syndrom. Uterus bipartitus solidus rudimentarius cum vagina solida. Schweiz Med Wochenschr 1961; 91 : 381-384.

80 - Rokitansky C. Über die sogenannten Verdoppelungen des Uterus. Med Jb Österreich Staates 1838; 26 : 39-77

81 - Philippe E, Charpin C. Pathologie gynécologique et obstétricale. Masson 1992, 342.

82 - Ludwig KS. The Mayer-Rokitansky-Küster syndrome. An analysis of its morphology and embryology. Part I : morphology. Arch Gynecol Obstet 1998; 262 : 1-26.

83 - Ludwig KS. The Mayer-Rokitansky-Küster syndrome. An analysis of its morphology and embryology. Part II : embryology. Arch Gynecol Obstet 1998; 262 : 27-42.

84 - Didier E. Le canal de Wolff induit la formation de l'ostium müllérien : détermination expérimentale chez l'embryon de poulet. J Embryol Exp Morphol 1971; 25 : 115-129.

85 - Fore SR, Hammond CB, Parker RT. Urological and genital anomalies in patients with congenital absence of the vagina. Obstet Gynecol 1975; 46 : 410-416

86 - Baired PA, Lowry RB. Absent vagina and the Klippel-Feil anomaly. Am J Obstet Gynecol 1974; 118 : 290-291

87 - Carranza-Lira S, Forbin K, Martinez-chequer JC. Rokitansky syndrome and MURCS association- clinical features and basis for iagnosis. Int Fertil, 1999, 44 (5) : 250-255.

- 88** - Lang IM, Babyn P, Oliver GD. MR imaging of paediatric uterovaginal anomalies. *Pediatr Radiol* 1999; 29 : 163-170.
- 89** - Master WH, Johnson VE. The artificial vagina : anatomic, physiologic and psychosexual function. *West J Surg* 1961; 69 : 192-212.
- 90** - Vecchietti G. Neovagina nella sindrome di Rokitansky-Küster-Hauser. *Attual Ostet Ginecol* 1965; 11 : 131-47
- 91** - Giacalone PL, Laffargue F, Faure JM, Deschamps F. Ultrasound-assisted laparoscopic creation of a neovagina by modification of Vecchietti's operation. *Obstet Gynecol* 1999; 93, n°3 : 446-448
- 92** - Borruto F. Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome : Vecchietti's personal series. *Clin Exp Obstet Gynecol* 1992; 199 : 273-275
- 93** - Hensle TW, Chang DT. Vaginal reconstruction. *Urologic Clinics of North America* 1999, 26(1) : 39-47.
- 94** - Wood EG, Batzer FR & Corson SL. Ovarian response to gonadotrophins, optimal method for oocyte retrieval and pregnancy outcome in patients with vaginal agenesis. *Hum Reprod* 1999; 14, 5 : 1178-1181.

- 95** - Ben-Rafael Z, Bar-Hava I, Levy T & Orvieto R. Simplifying ovulation induction for surrogacy in women with Myer-Rokitansky-Kuster-Hauser Syndrome. Hum Reprod 1998; 13, 6 : 1470-1471.
- 96** - Raga F, Bauset C, Remohi J, Bonilla-Musoles F, Simon C & Pellicer A. Reproductive impact of congenital Müllerian anomalies. Hum Reprod 1997; 12, 10 : 2277-2281.
- 97** - Ravasia DJ, Brain PH, Pollard JK. Incidence of uterine rupture among women with müllerian duct anomalies who attempt vaginal birth after cesarean delivery. Am J Obstet Gynecol 1999; 181, 4 : 877-881.
- 98** - Nahra-Lynch M, Toffle RC. Multiple gestation in a unicornuate uterus. A case report. J Reprod Med 1997; 42, 7 : 451-454.
- 99** - Nahum GTG. Rudimentary uterine horn pregnancy. A case report of surviving twins delivered eight days apart. J Reprod Med 1997; 42, 8 : 525-532.
- 100** - Wenof M, Reniak JV, Novendstern J, Castedot MJ. Transverse vaginal septum. Obstet Gynecol 1979; 54 : 60-64.

- 101** - Moor KL & Persand TVN. The developing human : clinically oriented embryology. 5th edn. WB. Saunders and Company, Philadelphia, PA, 1993.
- 102** - Cantani A, Tacconi ML, Benincori N *et al.* Rares syndromes. The Kaufman-McKusick syndrome. A review of the 44 cases reported in the literature. Ann Genet 1987; 30 : 70-4.
- 103** - Lurie IW, Wulfsberg EA. The McKusick-Kaufman syndrome : phenotypic variation observed in familial cases as a clue for the evaluation of sporadic cases. Genet Couns 1994; 5 : 275-81.
- 104** - Mc Kusick VA, Weilbaecher RG, Gragg GW. Recessive inheritance of a congenital malformation syndrome. J Am Med Assoc 1968; 204 : 113-118.
- 105** - Kaufman RL, Hartmann AF, Mc Alister WH. Family studies in congenital heart disease. II. A syndrome of hydrometrocolpos, postaxial polydactyly and congenital heart disease. Birth Defects 1972; 8 : 85-87.
- 106** - Simpson JL. Vaginal septum, transverse. In Buyse ML, ed. Birth Defects Encyclopedia. Cambridge : Blackwell Scientific Publications; 1990 : 1741-1742.

107 - Chitayat D, Hahm SY, Marion RW, Sachs GS, Goldman D *et al.* Further delineation of the McKusick-Kaufman hydrometrocolpos-polydactyly syndrome. Am J Dis Child 1987; 141 : 1133-1136.

108 - David A, Bitoun P, Lacombe D, Lambert JC, Nivelon A *et al.* Hydrometrocolpos and polydactyly : a common neonatal presentation of Bardet-Biedl and McKusick-Kayfman syndromes. J Med Genet 1999; 36 : 599-603.

109 - Unsinn KM, Neu N, Krejci A *et al.* Pallister-Hall syndrome and McKusick-Kaufman syndrome : one entity. J Med Genet 1995; 32 : 125-8.

110 - Yapar EG, Ekici E, Aydogdu T, Senses E, Gökmen O. Diagnostic problems in a case with mucometrocolpos, polydactyly, congenital heart disease, and skeletal dysplasia. Am J Med Genet 1996; 66 : 343-6.

111 - Meinecke P, Hayek H. Orofaciodigital syndrome type IV (Mohr-Majewski syndrome) with severe expression expanding the known spectrum of anomalies. J Med Genet 1990; 27 : 200-2.

112 - Stone DL, Agarwala R, Schäffer AA, Weber JL, Vaske D *et al.* Genetic and physical mapping of the McKusick-Kaufman syndrome. Hum Molec Genet 1998; 7, 3 : 475-481.

- 113** - Stone DL, Slavotinek A, Bouffard GG, Banerjee-Basu S, Baxevanis AD *et al.* Mutation of a gene encoding a putative chaperonin causes McKusick-Kaufman syndrome. Nat Genet 2000; 25 : 79-82.
- 114** - Larsen Cn & Duguet M. Bioessays 1995; 17 : 639-650.
- 115** - Boisvert DC, Wang J, Otwinowski Z, Horwich AL & Sigler PB. The 2.4A crystal structure of the bacterial chaperonin GroEL complexed with ATP gamma S. Nat Struct Biol 1996; 3 : 170-177.
- 116** - Fenton WA & Horwich AL. GroEL-mediated protein folding. Protein Sci 1997; 6 : 743-760.
- 117** - Rutherford SL, Lindquist S. Hsp90 as a capacitor for morphological evolution. Nature 1998; 26, 396 : 336-342.
- 118** - Anger D, Hemet J, Ensel J. Forme familiale du syndrome de Rokitansky-Kuster-Hauser. Bull Fed Gynec Obstet Franc. 1966; 18 : 229-234
- 119** - Winter JSD *et al.* A familial syndrome of renal, genital and middle ear anomalies. J Pediatr 1968; 72 : 88

- 120** - Battin J, Lacombe D. Hereditary renal adysplasia with Müllerian anomalies : a family case report. Am J Hum Genet 1991; suppl 49, n°4
- 121** - Biedel CW, Pagon RA, Zapata JO. Müllerian anomalies and renal agenesis : autosomal dominant urogenital adysplasia. J of Pediatrics 1984; 104 : 861-64
- 122** - Schimke RN, King CR. Hereditary urgenital adysplasia. Clin Genet 1980; 18 : 417.
- 123** - Buchta RM, Viseskul C, Gilbert EF, Sarto GE, Opitz JM. Familial bilateral renal agenesis and hereditary renal adysplasia. Zschr Kinderhkl 1973; 115 : 111-129
- 124** - Battin J, Lacombe D, Leng JJ. Familial occurrence of hereditary renal adysplasia with Müllerian anomalies. Clin Genet 1993; 43 : 23-24
- 125** - Opitz JM. Vaginal atresia (von Mayer-Rokitansky-Küster or MRK anomaly) in hereditary renal adysplasia (HRA). Am J of Medical Genetics 1987; 26 : 873-876
- 126** - Lindenman E, Shepard MK, Pescovitz OH. Müllerian agenesis : an update. Obstet Gynecol 1997; 90 : 307-12.

- 127** - Carré-Eusebe D, Imbeaud I, Harbison M, New MI, Josso N, Picard JY.
Variants of the anti-Müllerian hormone gene in a compound heterozygote with
the persistent Müllerian duct syndrome and his family. *Hum Genet* 1992; 90 :
389-94.
- 128** - Rey R, Lordereau-Richard I, Carel JC *et al.* Anti-Müllerian hormone and
testosterone serum levels are inversely related during normal and precocious
pubertal development. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77 : 1220-6
- 129** - Josso N, Legeai L, Forest MG, Chaussain JL, Brauner R. An enzyme linked
immunoassay for Anti-Müllerian Hormone : a new tool for the evaluation of
testicular function in infants and children. *J Clin Endoc and Metab* 1990; 70, n°1 :
23-27.
- 130** - Rey R, Mebarki F, Forest MG *et al.* Anti-Müllerian hormone in children
with androgen insensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79 : 960-4
- 131** - Gustafson ML, Lee MM, Scully RE *et al.* Müllerian inhibiting substance as
a marker for ovarian sex-cord tumor. *N Engl J Med* 1992; 326 : 466-71

132 - Rey R, Lhommé C, Marcillac I *et al.* Anti-Müllerian hormone as a serum marker of granulosa-cell tumors of the ovary : comparative study with serum alpha-inhibin and estradiol. Am J Obstet Gynecol 1996; 174 : 958-65.

133 - Bloom BB, Humphries DE, Kung PP, Fina A, Goldstein RH. Structure and expression of the promoter for the R4/ALK5 human type I transforming growth factor-beta receptor : regulation by TGF-beta. Biochim Biophys Acta 1996; 24; 1312 (3) : 243-248.

134 - ten Dijke P, Yamashita H, Ichijo H, Franzen P, Laiho M *et al.* Characterization of type I receptors for transforming growth factor-beta and activin. Science 1994; 264 : 101-104.

135 - Ide H, Saito-Ohara F, Ohnami S, Osada Y *et al.* Assignment of the BMPR1A and BMPR1B genes to human chromosome 10q22.3 and 4q23-q24 by in situ hybridization and radiation hybrid mapping. Cytogenet Cell Genet 1998; 81 : 285-286.

136 - Strom AK, Jin D, Imamura T, Roijer E, Rosenzweig B *et al.* Chromosomal localisation of three human genes encoding bone morphogenic protein receptors. Mamm Genome 1999; 10 (3) : 299-302.

137 - Takenoshita S, Mogi A, Nagashima M, Yang K, Yagi K *et al.*

Characterization of the MADH2/Smad2 gene, a human mad homolog responsible for the transforming growth factor-beta and activin signal transduction pathway.

Genomics 1998; 48 : 1-11.

138 - Riggins GJ, Thiagalingam S, Rozenblum E, Weinstein CL, Kern SE, et al.

Mad-related genes in the human. Nature Genet 1996; 13 : 347-349.

139 - Ikegawa S, Kumano Y, Okui K, Fujiwara T, Takahashi E & Nakamura Y.

Isolation, characterization and chromosomal assignment of the human WNT7A gene. Cytogenet Cell Genet 1996; 74 : 149-152.

140 - Behringer RR, Cate RL, Froelick GJ, Palmiter RD, Brinster RL. Abnormal

sexual development in transgenic mice chronically expressing Müllerian inhibiting substance. Nature 1990; 345 : 167-170.

141 - Masatoshi N, En LI. Smad2 role in mesoderm formation, left-right

patterning and craniofacial development. J Dev Biol 1998; 42 : 701-707.





VU

NANCY, le **20 SEPTEMBRE 2000**

Le Président de Thèse

NANCY, le **20 SEPTEMBRE 2000**

Le Doyen de la Faculté de Médecine

M le Professeur **B. LEHEUP**

Professeur **J. ROLAND**

AUTORISE À SOUTENIR ET À IMPRIMER LA THÈSE

NANCY, le **25 SEPTEMBRE 2000**

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ DE NANCY 1

Professeur **C. BURLET**

RESUME :

Le développement des voies génitales internes est contrôlé par plusieurs gènes qui interviennent à différents niveaux du tractus urogénital et semblent interagir entre eux. Le syndrome de Mayer-Rokitansky-Kuster et le syndrome de McKusick-Kaufman sont les deux principales entités comportant des anomalies transversales de l'utérus et du vagin. Une protéine de type chaperone vient d'être mise en cause dans le syndrome de McKusick-Kaufman. Par contre, aucune étiologie génétique n'a pour l'instant été mise en évidence dans le syndrome de Mayer-Rokitansky-Kuster. Les gènes impliqués dans la voie de signalisation de l'hormone anti-müllérienne et incriminés dans le syndrome de persistance des dérivés müllériens, qui peut être considéré comme le contre-type du syndrome de Mayer-Rokitansky-Kuster, sont de bons candidats pour ce dernier. Dans cette hypothèse, une analyse de liaison de ces gènes candidats pour le syndrome de Mayer-Rokitansky-Kuster a été effectuée. Cette analyse et l'étude des gènes impliqués dans le développement des voies génitales internes permettent une mise au point du contrôle génétique de l'embryogenèse du tractus urogénital féminin et une orientation quant à l'étiologie du syndrome de Mayer-Rokitansky-Kuster.

TITRE : Transversal utero-vaginal anomalies. Review of genetic development and personal approach for the Mayer-Rokitansky-Kuster syndrom.

THESE : MEDECINE SPECIALISEE - ANNEE 2000

MOTS CLEFS : Différenciation sexuelle - Génétique - Utérus malformation -
Vagin malformation.

Faculté de Médecine de Nancy

9, avenue de la Forêt de Haye

54505 - VANDOEUVRE LES NANCY Cédex
