



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>

DOUBLE

160692

UNIVERSITÉ Henri Poincaré, NANCY 1

FACULTÉ DE MÉDECINE DE NANCY

2002

N° 35

THÈSE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MÉDECINE

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

Stéphanie CHARPENTIER JELLIMANN

Le 27 septembre 2002

DÉVELOPPEMENTS MORPHOLOGIQUE ET FONCTIONNEL DE LA THYROÏDE FŒTALE HUMAINE GREFFÉE CHEZ LA SOURIS NUDE

Examineurs de la thèse :

Professeur Adrien DUPREZ

Président

Professeur Alain BERTRAND

Professeur Pierre DROUIN

Professeur Marc KLEIN

Docteur Rémy SAPIN

}
}
}
}

Juges

BIBLIOTHEQUE MEDECINE NANCY 1



D

007 209935 4

THÈSE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MÉDECINE

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

Stéphanie CHARPENTIER JELLIMANN

Le 27 septembre 2002



DÉVELOPPEMENTS MORPHOLOGIQUE ET FONCTIONNEL DE LA THYROÏDE FŒTALE HUMAINE GREFFÉE CHEZ LA SOURIS NUDE

Examineurs de la thèse :

Professeur Adrien DUPREZ

Président

Professeur Alain BERTRAND

Professeur Pierre DROUIN

Professeur Marc KLEIN

Docteur Rémy SAPIN

}
}
}
}

Juges

FACULTÉ DE MÉDECINE DE NANCY

Président de l'Université : Professeur Claude BURLET

Doyen de la Faculté de Médecine : Professeur Jacques ROLAND

Vice-Doyen de la Faculté de Médecine : Professeur Hervé VESPIGNANI

Assesseurs

du 1^{er} Cycle :

du 2^{ème} Cycle :

du 3^{ème} Cycle :

de la Vie Facultaire :

Mme le Docteur Chantal KOHLER

Mr le Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI

Mr le Professeur Henry COUDANE

Mr le Professeur Bruno LEHEUP

DOYENS HONORAIRES

Professeur Adrien DUPREZ – Professeur Jean-Bernard DUREUX

Professeur Georges GRIGNON

PROFESSEURS HONORAIRES

Louis PIERQUIN – Etienne LEGAIT – Jean LOCHARD – René HERBEUVAL – Gabriel FAIVRE – Jean-Marie FOLIGUET
Guy RAUBER – Paul SADOUL – Raoul SENAULT – Pierre ARNOULD – Roger BENICHOUX – Marcel RIBON
Jacques LACOSTE – Jean BEUREY – Jean SOMMELET – Pierre HARTEMANN – Emile de LAVERGNE
Augusta TREHEUX – Michel MANCIAUX – Paul GUILLEMIN – Pierre PAYSANT
Jean-Claude BURDIN – Claude CHARDOT – Jean-Bernard DUREUX – Jean DUHEILLE – Jean-Pierre GRILLIAT
Pierre LAMY – Jean-Marie GILGENKRANTZ – Simone GILGENKRANTZ
Pierre ALEXANDRE – Robert FRISCH – Michel PIERSON – Jacques ROBERT
Gérard DEBRY – Georges GRIGNON – Pierre TRIDON – Michel WAYOFF – François CHERRIER – Oliéro GUERCI
Gilbert PERCEBOIS – Claude PERRIN – Jean PREVOT – Pierre BERNADAC – Jean FLOQUET
Alain GAUCHER – Michel LAXENAIRE – Michel BOULANGE – Michel DUC – Claude HURIET – Pierre LANDES
Alain LARCAN – Gérard VAILLANT – Daniel ANTHOINE – Pierre GAUCHER – René-Jean ROYER
Hubert UFFHOLTZ – Jacques LECLERE – Francine NABET – Jacques BORRELLY
Michel RENARD – Jean-Pierre DESCHAMPS – Pierre NABET – Marie-Claire LAXENAIRE – Adrien DUPREZ – Paul VERT

=====
**PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS -
PRATICIENS HOSPITALIERS**

(Disciplines du Conseil National des Universités)

42^{ème} Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{ère} sous-section : (Anatomie)

Professeur Jacques ROLAND – Professeur Gilles GROSDIDIER

Professeur Pierre LASCOMBES – Professeur Marc BRAUN

2^{ème} sous-section : (Cytologie et histologie)

Professeur Bernard FOLIGUET

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

Professeur François PLENAT - Professeur Jean-Michel VIGNAUD – Professeur Eric LABOUYRIE

43^{ème} Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

1^{ère} sous-section : (Biophysique et médecine nucléaire)

Professeur Alain BERTRAND – Professeur Gilles KARCHER – Professeur Pierre-Yves MARIE

2^{ème} sous-section : (Radiologie et imagerie médicale)

Professeur Jean-Claude HOEFFEL – Professeur Luc PICARD – Professeur Denis REGENT

Professeur Michel CLAUDON – Professeur Serge BRACARD – Professeur Alain BLUM

Professeur Jacques FELBLINGER

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

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

Professeur Jean-Pierre NICOLAS

Professeur Jean-Louis GUÉANT – Professeur Jean-Luc OLIVIER

2^{ème} sous-section : (*Physiologie*)

Professeur Jean-Pierre CRANCE – Professeur Jean-Pierre MALLIE

Professeur François MARCHAL – Professeur Philippe HAOUZI

3^{ème} sous-section : (*Biologie cellulaire*)

Professeur Claude BURLET

4^{ème} sous-section : (*Nutrition*)

Professeur Olivier ZIEGLER

45^{ème} Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{ère} sous-section : (*Bactériologie – virologie ; hygiène hospitalière*)

Professeur Alain LE FAOU

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

Professeur Bernard FORTIER

3^{ème} sous-section : (*Maladies infectieuses ; maladies tropicales*)

Professeur Philippe CANTON – Professeur Thierry MAY – Professeur Christian RABAUD

46^{ème} Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{ère} sous-section : (*Épidémiologie, économie de la santé et prévention*)

Professeur Philippe HARTEMANN – Professeur Serge BRIANÇON

Professeur Francis GUILLEMIN – Professeur Denis ZMIROU

2^{ème} sous-section : (*Médecine et santé au travail*)

Professeur Guy PETIET

3^{ème} sous-section : (*Médecine légale et droit de la santé*)

Professeur Henry COUDANE

4^{ème} sous-section : (*Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication*)

Professeur Bernard LEGRAS – Professeur François KOHLER

47^{ème} Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1^{ère} sous-section : (*Hématologie ; transfusion*)

Professeur Christian JANOT – Professeur Thomas LECOMPTE – Professeur Pierre BORDIGONI

Professeur Pierre LEDERLIN – Professeur Jean-François STOLTZ

2^{ème} sous-section : (*Cancérologie ; radiothérapie*)

Professeur François GUILLEMIN – Professeur Thierry CONROY

Professeur Pierre BEY – Professeur Didier PEIFFERT

3^{ème} sous-section : (*Immunologie*)

Professeur Gilbert FAURE – Professeur Marie-Christine BENE

4^{ème} sous-section : (*Génétique*)

Professeur Philippe JONVEAUX – Professeur Bruno LEHEUP

**48^{ème} Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE,
PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE**

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

Professeur Claude MEISTELMAN – Professeur Dan LONGROIS - Professeur Hervé BOUAZIZ – Professeur Paul-Michel MERTEZ

2^{ème} sous-section : (*Réanimation médicale*)

Professeur Henri LAMBERT – Professeur Alain GERARD – Professeur Bruno LÉVY

Professeur Pierre-Edouard BOLLAERT

3^{ème} sous-section : (*Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique*)

Professeur Patrick NETTER – Professeur Pierre GILLET

4^{ème} sous-section : (*Thérapeutique*)

Professeur François PAILLE – Professeur Gérard GAY – Professeur Faiez ZANNAD

49^{ème} Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE, HANDICAP et RÉÉDUCATION

1^{ère} sous-section : (Neurologie)

Professeur Michel WEBER – Professeur Gérard BARROCHE – Professeur Hervé VESPIGNANI

Professeur Xavier DUCROCQ

2^{ème} sous-section : (Neurochirurgie)

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

Professeur Thierry CIVIT

3^{ème} sous-section : (Psychiatrie d'adultes)

Professeur Jean-Pierre KAHN

4^{ème} sous-section : (Pédopsychiatrie)

Professeur Colette VIDAILHET – Professeur Daniel SIBERTIN-BLANC

5^{ème} sous-section : (Médecine physique et de réadaptation)

Professeur Jean-Marie ANDRE

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

1^{ère} sous-section : (Rhumatologie)

Professeur Jacques POUREL – Professeur Isabelle VALCKENAERE

2^{ème} sous-section : (Chirurgie orthopédique et traumatologique)

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

Professeur Didier MAINARD

3^{ème} sous-section : (Dermato-vénéréologie)

Professeur Jean-Luc SCHMUTZ – Professeur Annick BARBAUD

4^{ème} sous-section : (Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique)

Professeur François DAP

51^{ème} Section : PATHOLOGIE CARDIORESPIRATOIRE et VASCULAIRE

1^{ère} sous-section : (Pneumologie)

Professeur Jean-Marie POLU - Professeur Yves MARTINET

Professeur Jean-François CHABOT

2^{ème} sous-section : (Cardiologie)

Professeur Etienne ALIOT – Professeur Yves JUILLIERE – Professeur Nicolas SADOUL –

Professeur Christian de CHILLOU de CHURET

3^{ème} sous-section : (Chirurgie thoracique et cardiovasculaire)

Professeur Pierre MATHIEU – Professeur Jean-Pierre VILLEMOT

Professeur Jean-Pierre CARTEAUX – Professeur Loïc MACE

4^{ème} sous-section : (Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire)

Professeur Gérard FIEVE

52^{ème} Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF et URINAIRE

1^{ère} sous-section : (Gastroentérologie ; hépatologie)

Professeur Marc-André BIGARD

Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI

2^{ème} sous-section : (Chirurgie digestive)

3^{ème} sous-section : (Néphrologie)

Professeur Michèle KESSLER – Professeur Dominique HESTIN (Mme)

4^{ème} sous-section : (Urologie)

Professeur Philippe MANGIN – Professeur Jacques HUBERT

53^{ème} Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE et CHIRURGIE GÉNÉRALE

1^{ère} sous-section : (Médecine interne)

Professeur Gilbert THIBAUT – Professeur Francis PENIN

Professeur Denise MONERET-VAUTRIN – Professeur Denis WAHL

Professeur Jean DE KORWIN KROKOWSKI – Professeur Pierre KAMINSKY – Professeur Athanase BENETOS

Professeur Gisèle KANNY

2^{ème} sous-section : (Chirurgie générale)

Professeur Patrick BOISSEL – Professeur Laurent BRESLER

54^{ème} Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION

1^{ère} sous-section : (Pédiatrie)

Professeur Danièle SOMMELET – Professeur Michel VIDAILHET
Professeur Pierre MONIN – Professeur Jean-Michel HASCOET – Professeur Pascal CHASTAGNER

2^{ème} sous-section : (Chirurgie infantile)

Professeur Michel SCHMITT – Professeur Gilles DAUTEL

3^{ème} sous-section : (Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale)

Professeur Michel SCHWEITZER – Professeur Jean-Louis BOUTROY

Professeur Philippe JUDLIN – Professeur Patricia BARBARINO

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

Professeur Pierre DROUIN – Professeur Georges WERYHA – Professeur Marc KLEIN

5^{ème} sous-section : (Biologie et médecine du développement et de la reproduction)

Professeur Hubert GERARD

55^{ème} Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU

1^{ère} sous-section : (Oto-rhino-laryngologie)

Professeur Claude SIMON – Professeur Roger JANKOWSKI

2^{ème} sous-section : (Ophtalmologie)

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

3^{ème} sous-section : (Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie)

Professeur Michel STRICKER – Professeur Jean-François CHASSAGNE

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

27^{ème} section : INFORMATIQUE

Professeur Jean-Pierre MUSSE

64^{ème} Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Professeur Daniel BURNEL

=====

PROFESSEUR ASSOCIÉ

Épidémiologie, économie de la santé et prévention

Professeur Tan XIAODONG

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

42^{ème} Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{ère} sous-section : (Anatomie)

Docteur Bruno GRIGNON – Docteur Jean-Pascal FYAD

2^{ème} sous-section : (Cytologie et histologie)

Docteur Edouard BARRAT – Docteur Jean-Claude GUEDENET

Docteur Françoise TOUATI – Docteur Chantal KOHLER

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

Docteur Yves GRIGNON – Docteur Béatrice MARIE

Docteur Laurent ANTUNES

43^{ème} Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

1^{ère} sous-section : (*Biophysique et médecine nucléaire*)

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

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

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

Docteur Xavier HERBEUVAL – Docteur Jean STRACZEK
Docteur Sophie FREMONT – Docteur Isabelle GASTIN – Dr Bernard NAMOUR

2^{ème} sous-section : (*Physiologie*)

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

45^{ème} Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{ère} sous-section : (*Bactériologie – Virologie ; hygiène hospitalière*)

Docteur Francine MORY – Docteur Michèle WEBER – Docteur Christine LION
Docteur Michèle DAILLOUX – Docteur Alain LOZNIEWSKI – Docteur Véronique VENARD

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

Docteur Marie-France BIAVA – Docteur Nelly CONTET-AUDONNEAU

46^{ème} Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{ère} sous-section : (*Épidémiologie, économie de la santé et prévention*)

Docteur Mickaël KRAMER – Docteur François ALLA

4^{ème} sous-section : (*Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication (type biologique)*)

Docteur Pierre GILLOIS

47^{ème} Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1^{ère} sous-section : (*Hématologie ; transfusion*)

Docteur Jean-Claude HUMBERT – Docteur François SCHOONEMAN

3^{ème} sous-section : (*Immunologie*)

Docteur Marie-Nathalie SARDA

4^{ème} sous-section : (*Génétique*)

Docteur Christophe PHILIPPE

**48^{ème} Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE,
PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE**

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

Docteur Jacqueline HELMER – Docteur Gérard AUDIBERT

3^{ème} sous-section : (*Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique*)

Docteur Françoise LAPICQUE – Docteur Marie-José ROYER-MORROT

Docteur Damien LOEUILLE

**54^{ème} Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE,
ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION**

5^{ème} sous-section : (*Biologie et médecine du développement et de la reproduction*)

Docteur Jean-Louis CORDONNIER

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

19^{ème} section : SOCIOLOGIE, DÉMOGRAPHIE

Madame Michèle BAUMANN

32^{ème} section : CHIMIE ORGANIQUE, MINÉRALE, INDUSTRIELLE

Monsieur Jean-Claude RAFT

40^{ème} section : SCIENCES DU MÉDICAMENT
Monsieur Jean-Yves JOUZEAU

60^{ème} section : MÉCANIQUE, GÉNIE MÉCANIQUE ET GÉNIE CIVILE
Monsieur Alain DURAND

64^{ème} section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE
Madame Marie-Odile PERRIN – Mademoiselle Marie-Claire LANHERS

65^{ème} section : BIOLOGIE CELLULAIRE
Mademoiselle Françoise DREYFUSS – Monsieur Jean-Louis GELLY – Madame Anne GERARD
Madame Ketsia HESS – Monsieur Pierre TANKOSIC – Monsieur Hervé MEMBRE

67^{ème} section : BIOLOGIE DES POPULATIONS ET ÉCOLOGIE
Madame Nadine MUSSE

68^{ème} section : BIOLOGIE DES ORGANISMES
Madame Tao XU-JIANG

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS

Médecine Générale
Docteur Alain AUBREGE
Docteur Louis FRANCO

=====

PROFESSEURS ÉMÉRITES

Professeur Georges GRIGNON – Professeur Michel PIERSON
Professeur Michel BOULANGE – Professeur Alain LARCAN – Professeur Michel DUC
Professeur Michel WAYOFF – Professeur Daniel ANTHOINE – Professeur Claude HURIET
Professeur Hubert UFFHOLTZ – Professeur René-Jean ROYER
Professeur Pierre GAUCHER – Professeur Claude CHARDOT – Professeur Adrien DUPREZ

=====

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 Maître et Président du jury de thèse

M. le Professeur A. DUPREZ

Professeur Emérite d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques

Doyen honoraire de la Faculté A de Médecine

Chevalier dans l'Ordre National du Mérite

Commandeur dans l'Ordre des Palmes Académiques

Vous nous avez fait l'honneur de nous confier ce travail et de nous accompagner tout au long de sa réalisation avec patience. La richesse et la clarté de vos enseignements scientifiques et philosophiques nous ont guidée et aidée.

Nous vous prions de trouver ici le témoignage de notre admiration, notre respect et notre gratitude.

A nos Juges,

M. le Professeur A. BERTRAND

Professeur de Biophysique et de Traitement de l'image

Vous nous avez accueillie avec bienveillance dans votre service où nous nous sommes initiée à la médecine nucléaire endocrinienne. La collaboration avec votre laboratoire a permis de développer une partie essentielle de ce travail. Nous sommes heureuse que vous ayez accepté de juger cette thèse et vous en sommes très reconnaissante.

M. le Professeur P. DROUIN

Professeur d'Endocrinologie et Maladies Métaboliques

Nous sommes admirative devant l'étendue de vos connaissances et souhaitons bénéficier de votre enseignement rigoureux et de votre grande expérience pour la poursuite de notre formation. Votre présence dans ce jury nous honore. Nous vous prions d'accepter nos remerciements et de croire en notre sincère reconnaissance.

M. le Professeur M. KLEIN

Professeur d'Endocrinologie et Maladies Métaboliques

Vos grandes qualités de clinicien ainsi que votre sens aigu de l'humain sont pour nous des exemples à suivre. Nous apprécions votre rigueur intellectuelle, votre disponibilité et votre accueil toujours chaleureux. Nous vous en sommes particulièrement reconnaissante. Vous nous avez encouragée dans le choix et la réalisation de ce travail et nous vous remercions d'accepter de le juger.

M. le Docteur R. SAPIN

Maître de Conférences de Biophysique et de Médecine Nucléaire

Votre collaboration chaleureuse et efficace avec le professeur Klein était essentielle au développement de notre étude. Nous vous remercions de l'intérêt que vous portez à notre travail en acceptant de le juger. Nous sommes honorée de votre présence en dépit de l'éloignement géographique.

A Madame le Docteur K. ANGIOI
A Madame le Docteur F. BARBE
A Madame R. HATIER
A Madame le Docteur C. PANESCU

que nous remercions de leur aide indispensable à la réalisation de cette thèse.

A Madame N. LUBRANIECKI
A Madame C. MAIRE

que nous remercions de leur aide journalière bienveillante et efficace.

Aux techniciens du Laboratoire de Médecine Nucléaire
Aux techniciennes du Laboratoire de Biochimie

que nous remercions pour leur savoir-faire et leur disponibilité sollicités à maintes reprises.

A Monsieur J-M. VIRION

que nous remercions pour ses conseils statistiques.

A nos Maîtres dans les Hôpitaux

M. le Professeur A. BERTRAND
M. le Professeur P. DROUIN
M. le Docteur L. DUSSELIER
M. le Professeur J. LECLERE
M. le Professeur B. LEHEUP
M. le Docteur J. LOUIS
M. le Docteur J-N. TAMISIER
M. le Professeur M. VIDAILHET
M. le Professeur G. WERYHA

que nous remercions pour leurs enseignements.

Ce travail est dédié tout particulièrement,

A mon cher mari Jean-Marc, et à nos fils, Jean et Pierre-Luc, que j'aime tant,

A mes parents et mes frères, Pierre et Nicolas, avec toute ma tendresse et ma gratitude,

A mes grands-parents, avec qui j'ai la joie de partager ce moment,

A mes beaux-parents, avec toute mon affection,

A ma famille et ma belle-famille,

A mes amis

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 »

AVANT-PROPOS

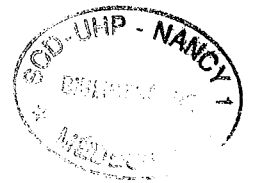
« Science sans conscience n'est que ruine de l'âme. »

Rabelais Pantagruel VIII

RÉFLEXIONS ÉTHIQUES SUR LES GREFFES
DE THYROÏDES EMBRYONNAIRES ET
FŒTALES HUMAINES CHEZ LA SOURIS NUDE

Le travail qui suit montre comment certains aspects du développement de la thyroïde humaine ont pu être étudiés en utilisant une technique de xénotransplantation de thyroïdes embryonnaires chez la souris nude.

L'utilisation de ce modèle impose une réflexion éthique préalable.



Les connaissances actuelles du développement morphologique des cellules et tissus des glandes endocrines embryonnaires humaines reposent essentiellement sur des travaux réalisés à partir d'embryons provenant d'interruptions volontaires ou thérapeutiques de grossesses car les avortements spontanés entraînent très souvent des altérations tissulaires rendant impossibles les études immunohistochimiques et *a fortiori* ultrastructurales. Ces recherches restent toujours nécessairement limitées à des descriptions morphologiques statiques puisque, pour des raisons éthiques évidentes, aucune expérimentation précédant l'avortement, aussi réduite soit-elle, n'est concevable.

Pour ces raisons, nos connaissances du fonctionnement global et cellulaire des glandes endocrines humaines et notamment de la thyroïde au cours de leur développement proviennent nécessairement de transpositions à l'homme des résultats d'expériences *in vivo* réalisées le plus souvent chez le rat. Même dans ces cas, les conditions expérimentales pour réaliser ces recherches et les mécanismes à découvrir sont si complexes que pour réduire les difficultés techniques et le nombre de facteurs impliqués dans le développement des diverses cellules d'une glande, son isolement est souvent indispensable. Les isollements d'organe ont initialement été entrepris chez l'embryon de poulet. Ces expériences ont en particulier montré la très grande faculté de prise et de développement des tissus embryonnaires greffés. Les

isogreffes hétérotopiques d'organes de mammifères ont confirmé la possibilité de prise et de prélèvements tissulaires itératifs grâce à l'accessibilité au greffon, sans risque vital pour l'organe et le porte-greffon, permettant ainsi d'entreprendre des études expérimentales dynamiques *in vivo* alors qu'elles sont impossibles sur l'embryon entier *in utero*.

Monsieur le Professeur Duprez a envisagé alors de greffer des tissus et des organes d'embryons humains morts provenant d'interruptions volontaires de grossesses sur un porte-greffon, en espérant que ces tissus ou ces organes prennent et se développent normalement. Un tel projet, d'un grand intérêt scientifique et médical, nécessitait toutefois d'importantes réflexions éthiques et méthodologiques préalables à toute tentative expérimentale. Puisque notre travail dépend totalement des choix ayant abouti à la mise à notre disposition d'un tel modèle expérimental permettant l'étude du développement *in vivo* de la thyroïde fœtale humaine isolée grâce à sa greffe sur le porte-greffon universel que constitue la souris nude, nous faisons précéder notre travail de ces considérations fondamentales.

Dans ce chapitre nous présentons les réflexions éthiques qui ont conduit le professeur Duprez à estimer qu'une telle recherche n'était pas illégitime et que des essais préliminaires de faisabilité pouvaient être entrepris.

Considérations générales concernant le greffon

L'étude expérimentale *in vivo* des développements morphologique et fonctionnel des organes fœtaux humains c'est-à-dire *in utero* jusqu'à leur état adulte n'est évidemment pas possible, tant pour des raisons morales, médicales que techniques.

Les descriptions des évolutions morphologiques ne peuvent être réalisées qu'à partir de fœtus morts. L'aspect fonctionnel du développement de l'organe ne peut être appréhendé par ce type d'étude et impose des comparaisons avec les constatations faites chez d'autres mammifères. Tant que les mécanismes généraux inter-espèces étaient l'objet d'études, ce mode de raisonnement par comparaison avec le fonctionnement chez des sujets d'une espèce proche, était suffisant. Les progrès de la biologie moléculaire permettent désormais d'accéder à l'information biologique d'espèce et à sa matérialisation morphologique et fonctionnelle que constitue le développement embryonnaire et fœtal. Les explorations doivent donc directement porter sur l'espèce concernée pour permettre d'en tirer des connaissances immédiatement applicables en clinique.

Devant la nécessité d'une objétisation de l'être ou d'une acceptation de limiter l'accès aux connaissances pour préserver l'essence même de l'homme, la recherche d'une solution dépassant cette antinomie s'imposait. L'idée de greffer des organes d'embryons humains morts destinés à la destruction paraissait théoriquement judicieuse et possible compte tenu des immenses progrès de la microchirurgie et des résultats des transplantations en clinique humaine. La légalisation et la médicalisation des interruptions volontaires de grossesse permettaient de penser que les parties d'embryons provenant des avortements pourraient, au lieu d'être détruites, dans des conditions à déterminer, être à l'origine de recherches en ces domaines inaccessibles sans l'utilisation des xénogreffes.

L'aspect éthique des xénogreffes d'organes d'embryons humains devait alors faire l'objet d'une étude théorique minutieuse que nous exposons maintenant.

Considérations éthiques relatives aux greffes d'organes ou de parties d'embryons humains chez l'animal

Les greffes de tissus cancéreux ou normaux les entourant, provenant d'interventions chirurgicales d'exérèse chez des adultes ou même des enfants, n'engendrent que peu d'interrogations morales du fait du caractère néfaste du tissu. En revanche, les greffes de tissus d'embryons humains issus d'IVG posent de très complexes questions éthiques.

Ces expériences doivent donc être précédées d'une importante réflexion philosophique. Cette étude préalable s'impose d'autant plus que les applications d'une telle méthode sont susceptibles d'être très extensives compte tenu des multiples possibilités de recherche que ces greffes peuvent procurer et du nombre d'IVG réalisées quotidiennement dans le monde. Cette nouvelle approche de l'étude de la biologie du développement humain pose des interrogations éthiques nouvelles, jusqu'alors sans objet puisque auparavant la méthode permettant ces expériences n'existait pas. Ces questions ne peuvent être éludées au motif que ces méthodes de xénogreffe constituent un indiscutable progrès par rapport aux pratiques actuelles et auront des applications diagnostiques et thérapeutiques.

L'origine embryonnaire des greffons engendre-t-elle des interdits spécifiques ?

Pour des raisons liées à des convictions morales en relation ou non avec l'IVG elle-même, à des opinions et même à certaines images mythiques de la vie embryonnaire, il n'est pas possible pour un expérimentateur responsable face à sa « propre morale d'espèce » d'entreprendre de xénogreffer, chez un animal, des tissus et organes d'embryons humains sans analyser de façon approfondie les objections qui pourraient être avancées. Cette réflexion philosophique, dans

l'acceptation la plus large du terme, doit se fonder essentiellement sur la signification du développement de l'embryon humain dont les deux caractéristiques fondamentales résident :

- d'une part dans la création par fusion de deux moitiés de génomes indépendants d'un nouvel être humain unique, avec pour les spiritualistes, l'apparition de l'animation de l'être ainsi créé,
- d'autre part dans l'édification progressive d'une morphologie permettant la prise de conscience immédiate de l'essence humaine faisant, par voie de conséquence, émerger la notion de protection morale d'espèce implicite ou explicite attachée à cette reconnaissance.

Cette nouvelle vie humaine transmise doit être protégée dans le sens kantien du terme. Cependant, à la suite d'une décision exclusivement individuelle autorisée par la loi, elle peut être supprimée par une interruption volontaire de grossesse. L'interrogation morale essentielle réside donc dans cette décision et seulement subsidiairement dans le devenir des parties du corps sans vie provenant de l'IVG. En effet, compte tenu des modalités techniques de l'IVG, les organes embryonnaires prélevés proviennent, sans conteste possible, d'un embryon humain mort. Les tissus utilisés sont de même nature biologique ou philosophique que ceux prélevés sur une pièce d'exérèse chirurgicale ou sur un cadavre. Certes, ces organes embryonnaires greffés chez l'animal porte-greffe vont croître et se développer en maintenant ou en faisant même apparaître une forme reconnaissable, mais il ne s'agit en aucun cas de la poursuite d'une organogenèse d'un nouvel être comme serait celle de l'implantation d'un ovule fécondé. La greffe de tissus ou d'organes embryonnaires chez l'animal ne correspond pas à l'organogenèse d'un organisme mais seulement à la poursuite de l'organogenèse d'un organe isolé.

La reconnaissance de la forme humaine est-elle source d'interdits ?

La question résultant de cette constatation est de savoir si la greffe de parties d'embryons humains est de nature différente de celle d'une greffe de tissus adultes.

Un organe embryonnaire se caractérise par une organisation pluritissulaire à développement évolutif pouvant faire apparaître une forme reconnaissable ayant une signification symbolique. Cette aptitude peut être partiellement ou totalement conservée lors des greffes chez l'animal, cette situation mérite donc discussion.

L'apparition d'une forme reconnaissable fait-elle émerger une différence d'essence par rapport à une greffe de tissus ou d'organes informes ?

Biologiquement et philosophiquement, une fonction d'ordre supérieur apparaît entre le tissu et l'organe mais ce dernier n'accède pas à une autre essence par une discontinuité comme lors de l'apparition d'un organisme potentiel en devenir au cours du développement d'un ovule fécondé. Cependant, la reconnaissance d'une forme d'organe humain, à grande charge affective comme la main ou l'œil, peut provoquer une réaction psychologique de type affective pouvant choquer certaines consciences. En réalité, ce n'est pas la forme reconnue qui bouleverse la conscience puisque cette même forme provenant d'un primate non humain ou d'un malade amputé pour des raisons thérapeutiques n'entraîne pas la même réaction. C'est en fait la notion de devenir interrompu qui surgit dans la conscience par la forme reconnue qui est bouleversante. L'absence de discontinuité de nature biologique, philosophique ou éthique entre les organes reconnaissables ou non rend licite ce type d'expériences.

Le mélange de cellules d'espèces différentes est-il licite ?

Le mélange de cellules humaines avec des cellules d'autres mammifères et la poursuite de leur vie dans une structure chimérique sont-ils éthiquement acceptables ?

Dans la mesure où la culture de cellules humaines avec ou sans mélange avec des cellules d'autres espèces est considérée comme licite, ainsi que l'expérimentation sur ces cellules, la greffe en tant que modalité nutritionnelle particulière ne peut être moralement contestée. Certes, la spécificité de l'être réside dans son génome, *primum movens* de son édification, de son devenir et de son maintien, mais situer la discussion éthique à ce niveau moléculaire conduirait à donner au génome la signification d'une « âme matérielle » contraire à toutes les doctrines spiritualistes. Ce n'est que dans cette perspective que toute expérimentation moléculaire pourrait être contestable. Dans la mesure où le génome n'est pas considéré comme l'« âme inviolable », la cohabitation de cellules humaines et animales dans une structure chimérique ne relève pas d'une « indignité espéciste » et la pratique de la greffe de tissus humains normaux, adultes ou embryonnaires, ou tumoraux chez l'animal apparaît licite, comme d'ailleurs les xénogreffes d'organes d'animaux chez des humains malades.

Le respect du corps du défunt

Ainsi, dans le domaine des greffes de tissus et d'organes d'embryons humains morts, la seule question éthique qui se pose réellement est le respect dû au corps, qu'il soit celui d'un adulte, d'un enfant ou d'un embryon. Dans la mesure où la greffe porte seulement sur une partie de l'embryon et que le prélèvement n'altère pas plus

le corps qu'il ne l'était avant le recueil du greffon, le respect ancestral, moral et légal dû à la dépouille mortelle peut être assuré.

Avant toute décision éthique dans ce domaine, il faut en cerner avec précision tous les contours. Les expériences, objet de cette discussion, relèvent, comme le précise le premier avis du Comité Consultatif National d'Ethique (C.C.N.E.) en date du 22 mai 1984, de parties d'embryons humains morts à la suite d'une IVG c'est-à-dire qu'il est hors de propos de s'intéresser à d'éventuelles transplantations chez un animal, d'embryons surnuméraires ou non provenant d'une fécondation *in vitro*.

Existe-t-il une différence entre les prélèvements de tissus ou d'organes provenant d'embryons morts à la suite d'IVG et les prélèvements réalisés au cours d'une autopsie ou sur une pièce opératoire ?

En droit, les embryons et fœtus morts correspondent à des « *res nullus* » c'est-à-dire n'existant pas légalement. La question ne peut donc être abordée que par son aspect philosophique, moral ou éthique. Dans la mesure où l'embryon est défini comme « un être humain en devenir » son corps est de même essence que celle d'un être né, quels que soient leurs âges respectifs. Ainsi, on peut considérer que les prélèvements sur un corps d'embryon humain sont éthiquement de même nature que ceux réalisés sur un corps d'âge différent. Les autopsies qualifiées de scientifiques relèvent d'une réglementation par défaut, c'est-à-dire qu'elles sont de droit sauf opposition exprimée de son vivant par le défunt capable ou pour les incapables par leurs responsables légaux. Dans le cas qui nous préoccupe, cette question relève essentiellement de la mère ou des parents de l'embryon.

Les relations des chercheurs avec la mère ou les parents de l'embryon

Vouloir remplacer la formule de l'avis n°1 du C.C.N.E. en date du 22 mai 1984 :

« Les prélèvements de tissus embryonnaires ou fœtaux à des fins thérapeutiques ou scientifiques peuvent être interdits par la mère ou le père qui disposent de la faculté de s'y opposer » par l'obligation d'obtenir un consentement explicite serait une erreur pour des raisons humaines, scientifiques et juridiques.

Lorsqu'une patiente, en situation de détresse, prend la décision, après une très difficile réflexion, d'interrompre sa grossesse, c'est-à-dire de sacrifier la vie de son enfant en devenir, est-on en droit de lui demander, en plus, si cet être doit, après sa mort voulue par la patiente, subir tel ou tel sort dans ces parties déchiquetées par l'IVG réalisée par aspiration ? A-t-on, au nom de l'éthique, le droit d'obliger une patiente en détresse à une réflexion supplémentaire qu'elle ne veut ou ne peut avoir ?

Il est légitime que la société se prémunisse contre d'éventuels excès qui détourneraient la recherche biomédicale de sa seule vocation : être au service de l'Homme, mais dans ce cas le Comité d'Éthique est en mesure de juger du bien-fondé de la recherche projetée et il n'est donc pas utile d'imposer une décision de ce type à un être en détresse.

Sur un plan scientifique, si un chercheur n'obtient pas une caution morale pour sa recherche, même s'il parvient à l'entreprendre, elle aboutira à un échec parce que sans avenir. A l'inverse, s'il dispose du soutien d'un comité techniquement compétent et éthiquement représentatif de la pluralité des opinions de la société, pourquoi envisager des consentements multiples ? Pour préserver la liberté individuelle de l'embryon représenté par sa mère ou ses parents qui ont décidé de l'IVG ?

Il semble logique qu'à l'occasion de « ce déni de vie » légalement conféré par la société, celle-ci assume pleinement sa législation et ne transfère pas, dans un second temps, une souffrance supplémentaire à celle ou ceux, qu'au nom de cette souffrance, elle a déchargés d'un délit, voire un crime pour certains.

Les assimilations erronées de diverses situations éthiques

Cette situation doit être différenciée de celle rencontrée lors des interruptions médicales de grossesse, des dons de cellules et d'organes et les participations de malades ou de volontaires sains à des essais de recherche biomédicale. Dans le cas des volontaires sains n'escomptant aucun bénéfice personnel, le consentement totalement éclairé et le retrait à tout moment sont les conditions *sine qua non* de ces études. Dans le cas des malades, le retrait à tout moment et le consentement éclairé (sans information pouvant toutefois révéler une évolution spontanée source d'une détresse existentielle ou au pire être un moyen d'obtenir un accord) s'imposent comme le préconise la déontologie médicale. Dans le cas des dons d'organes, de tissus ou de cellules lors des morts cérébrales, que les parents proches donnent l'accord après une information délivrée avec tact et mesure relève de l'évidence dans un pays démocratique. Enfin, dans les cas d'interruptions médicales de grossesse, situation biologique subie par les parents, la mise à disposition de parties du corps de leur enfant, disparu prématurément pour lui éviter le pire est soumise au consentement des parents. Dans cette situation où existe un processus pathologique à l'origine de la décision, la famille, dans un souci de solidarité, est en mesure d'arrêter un choix judicieux. La situation en cas d'IVG est différente et ne doit pas être comparée aux situations précédentes.

Le respect dû à la patiente

L'IVG, d'abord par le respect dû à la mère et ensuite pour que cet acte médical ne change pas de nature, doit se dérouler techniquement sans autre considération que le seul intérêt de la patiente que les fragments de l'embryon mort soient ou non détruits. Les études entreprises à partir de ces fragments, quel que soit leur intérêt scientifique et même clinique, ne peuvent justifier une modification aussi minime soit-elle du déroulement de l'intervention pour obtenir des tissus ou des organes dans de meilleures conditions anatomiques ou physiologiques. La seule différence acceptable avec une IVG suivie d'une destruction de toutes les parties de l'embryon mort, parce qu'elle n'a aucun effet sur la mère et l'embryon, peut résider, sans restriction éthique, dans le recueil des produits d'aspiration. Les fragments de tissus peuvent être conservés dans du sérum glucosé isotonique pour éviter que les cellules ne s'altèrent à l'air libre.

Si le respect dû à la mère (tant dans l'acte médical que la relation psychologique) et au corps de l'embryon, est strictement assuré et que la recherche à entreprendre a un intérêt scientifique et médical certain, il paraît légitime de pouvoir faire des études sur des parties d'embryons humains morts greffées chez des animaux porte-greffe. C'est pourquoi entre l'expérimentation clinique, aux limites heureusement strictes et par là même aux possibilités réduites, et cette méthode de substitution, aux ressources multiples permettant de très nombreuses expérimentations humaines *in vivo* sans impliquer l'homme, le professeur Duprez et le Docteur Angioi n'ont pas hésité à s'engager dans une recherche ayant abouti à la création d'une grande variété de modèles expérimentaux et en particulier celui de la greffe de thyroïdes embryonnaires et fœtales humaines (1).

Techniquement, il est actuellement possible de faire se développer des organes embryonnaires humains hors de leur organisme en les greffant chez la souris nude. Ce modèle permet d'étudier les modalités du développement embryonnaire et fœtal humain et d'obtenir des micro-organes adultes normaux sur lesquels de multiples expériences n'impliquant pas l'homme sont réalisables sans restriction éthique. Ces greffes de tissus ou d'organes d'embryons humains morts provenant d'IVG sont moralement et médicalement licites si elles ne modifient pas le déroulement de l'intervention chez la patiente et si les recherches qu'elles permettent sont scientifiquement source de connaissances dont les résultats sont utiles à la compréhension de la physiologie et de la pathologie humaine et inaccessibles par une expérimentation animale traditionnelle.

Après ce nécessaire préambule, nous pouvons décrire notre travail.

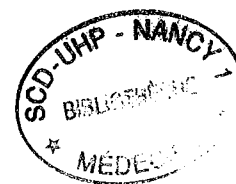


TABLE DES MATIÈRES



DÉDICACES	7
SERMENT	11
AVANT-PROPOS	12
TABLE DES MATIÈRES	27
ABRÉVIATIONS	31
INTRODUCTION	32
1. RAPPEL DES CONNAISSANCES RELATIVES AU DÉVELOPPEMENT THYROÏDIEN EMBRYONNAIRE ET FŒTAL HUMAIN ET AUX GREFFES CHEZ LA SOURIS NUDE	35
1.1. Développement embryologique de la thyroïde humaine	36
1.1.1. Morphogenèse	36
1.1.1.1. De viso	36
1.1.1.2. Échographie	37
1.1.2. Histogenèse	38
1.1.2.1. Microscopie optique	38
1.1.2.2. Microscopie électronique à transmission	39
1.1.3. Aspects fonctionnels	39
1.1.3.1. Captation de l'iode	39
1.1.3.2. Synthèse des hormones thyroïdiennes	40
1.1.3.3. Sécrétion des hormones thyroïdiennes	40
1.2. Maturation de l'axe hypothalamus-hypophyse-thyroïde chez l'embryon et le fœtus	43
1.2.1. Morphogenèse	43
1.2.2. Évolution du taux de TSH plasmatique au cours de la gestation	43
1.2.3. Régulation	45
1.3. Fonction thyroïdienne maternelle pendant la grossesse	46
1.3.1. Les modifications du métabolisme thyroïdien liées à la grossesse	46
1.3.1.1. Les protéines vectrices	47
1.3.1.2. Effet thyroïdienne de l'hormone hCG	47
1.3.1.3. Les modifications du métabolisme de l'iode	48
1.3.2. Les modifications du bilan biologique thyroïdien maternel au cours de la grossesse	48
1.3.2.1. Les hormones totales	48
1.3.2.2. Les hormones libres	49
1.3.2.3. La reverse-T3	49
1.3.3. L'évolution du taux de TSH	49

1.4.	Transferts placentaires	51
1.4.1.	Transfert placentaire de l'iodure	51
1.4.2.	Transfert placentaire de la TSH et de la TRH maternelles	51
1.4.2.1.	La TSH	51
1.4.2.2.	La TRH	51
1.4.3.	Transfert placentaire des hormones thyroïdiennes maternelles	52
1.4.4.	Autres transferts placentaires concernant le métabolisme thyroïdien fœtal	53
1.4.5.	Le placenta : un organe actif influençant le métabolisme thyroïdien fœtal ?	53
1.4.6.	Le liquide amniotique	53
1.5.	Fonction thyroïdienne du nouveau-né à terme	55
1.6.	Fonction thyroïdienne du nouveau-né prématuré	56
1.7.	État des connaissances concernant la xénotransplantation de tissus et d'organes humains chez la souris nude	61
1.7.1.	Les greffes de tissus ou d'organes embryonnaires et fœtaux humains réalisées chez la souris nude (thyroïde exceptée)	61
1.7.2.	Revue de la littérature concernant les greffes de tissu thyroïdien humain réalisées chez la souris nude	63
1.7.2.1.	Tissu thyroïdien humain adulte	63
1.7.2.2.	Les thyroïdes embryonnaires et fœtales humaines	66
2.	MATÉRIEL ET MÉTHODE	69
2.1.	Le greffon : les thyroïdes embryonnaires	70
2.1.1.	Obtention	70
2.1.2.	Caractéristiques	70
2.2.	Le porte-grefe : justification du choix de la souris nude pangénique	71
2.2.1.	La découverte de l'animal	72
2.2.2.	La fonction thyroïdienne de la souris nude	74
2.2.3.	La zootechnie	75
2.2.4.	L'élevage	75
2.2.5.	La souris nude : le porte-grefe idéal	76
2.3.	La greffe : les techniques micro-chirurgicales	77
2.3.1.	L'anesthésie	77
2.3.2.	La préparation de l'animal	78
2.3.3.	Les instruments	78
2.3.4.	L'intervention d'implantation	79
2.3.5.	Le choix du site d'implantation	80
2.3.6.	Les biopsies et les prélèvements des organes greffés	81

2.4.	Les explorations para-cliniques des animaux greffés	81
2.4.1.	Modalités	81
2.4.1.1.	Étude morphologique et fonctionnelle des greffons à évolution spontanée	81
2.4.1.2.	Évolution des greffons après stimulation par la TSH recombinante humaine	82
2.4.2.	Explorations morphologiques	82
2.4.2.1.	Macroscopie	82
2.4.2.2.	Histologie	83
2.4.2.2.1.	Microscopie optique	83
2.4.2.2.2.	Microscopie électronique à transmission	83
2.4.3.	Explorations fonctionnelles	84
2.4.3.1.	La scintigraphie	84
2.4.3.1.1.	Le traceur	85
2.4.3.1.2.	La technique d'administration	85
2.4.3.1.3.	L'imagerie	85
2.4.3.2.	La biologie	87
2.4.3.2.1.	La technique des prélèvements sanguins	87
2.4.3.2.2.	Les techniques de dosage	87
2.5.	Analyse statistique	92
3.	RÉSULTATS	93
3.1.	Explorations morphologiques	94
3.1.1.	Analyse macroscopique	94
	<i>Planche photographique N°1 : aspects macroscopiques</i>	95
3.1.2.	Histologie	96
3.1.2.1.	Analyse en microscopie optique	96
	<i>Planche photographique N°2 : aspects microscopiques</i>	98
3.1.2.2.	Analyse en microscopie électronique	99
	<i>Planche photographique N°3 : aspects ultrastructuraux</i>	101
	<i>Planche photographique N°4 : synthèse des aspects ultrastructuraux</i>	102
3.2.	Explorations fonctionnelles	103
3.2.1.	Scintigraphies	103
3.2.1.1.	Caractéristiques des scintigraphies	103
3.2.1.2.	Évolution de l'activité totale	104
3.2.1.3.	Évolution de l'activité de la thyroïde murine	106
3.2.1.4.	Évolution de l'activité de la thyroïde greffée	108
3.2.1.5.	Comparaison des activités respectives de la thyroïde de la souris et de la thyroïde greffée	112
3.2.1.6.	Cas particulier de 5 souris suivies régulièrement en scintigraphie	117
	<i>Planche photographique N°5 : scintigraphies thyroïdiennes</i>	118
3.2.2.	Biologie	119
3.2.2.1.	Évolution de la TSH murine après la greffe	119
3.2.2.2.	Évolution de la T4 murine après la greffe	121



4.	DISCUSSION	125
4.1.	La prise du greffon	126
4.2.	Le développement morphologique et la différenciation normale des tissus thyroïdiens	127
4.2.1.	Les différenciations épithéliales et vasculaires	128
4.2.1.1.	La différenciation épithéliale thyroïdienne	128
4.2.1.2.	La différenciation vasculaire	129
4.2.1.3.	La différenciation des autres tissus greffés	130
4.2.1.4.	Chimérisme homme-souris	130
4.2.2.	Le développement homothétique du greffon	131
4.2.3.	Le rôle des hormones dans le développement morphologique	132
4.3.	Le développement fonctionnel des thyroïdes greffées	134
4.3.1.	La capture de l'iode	134
4.3.2.	Les preuves de la synthèse et de la sécrétion d'hormones thyroïdiennes	136
4.3.2.1.	Arguments biologiques	137
4.3.2.2.	Arguments scintigraphiques	138
4.3.2.3.	Arguments histologiques	139
4.3.3.	Action de la TSH	141
4.3.3.1.	Sur la capture de l'iode 123	141
4.3.3.1.1.	Après une injection de TSHrh	141
4.3.3.1.2.	Après des injections chroniques de TSHrh	142
4.3.3.2.	Sur la sécrétion d'hormones thyroïdiennes	143
4.3.3.2.1.	Après une injection de TSHrh	143
4.3.3.2.2.	Après des injections chroniques de TSHrh	144
	CONCLUSION	146
	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	149
	ANNEXES	160

ABRÉVIATIONS



ADN	acide désoxyribonucléique
AG	âge gestationnel
CCNE	Comité Consultatif National d'Éthique
cpm	coups par minute
CUB	corps ultimo-branchiaux
FKHL	<i>forkhead-like</i>
hCG	hormone gonadotrophine chorionique
Hox	homéo box
IVG	interruption volontaire de grossesse
Kev	kilo electron volt
KO	<i>knock out</i>
μCi	microcurie
MET	microscopie électronique à transmission
MO	microscopie optique
NIS	<i>sodium iodide symporter</i>
PAS	acide périodique Schiff
Pax 8	<i>paired box</i>
PTU	propylthiouracile
rT3	<i>reverse triiodothyronine</i>
SA	semaine d'aménorrhée
SCID	<i>severe combined immuno deficient</i>
SG	semaine de gestation
T2	diiodotyrosine
T3	triiodothyronine
T3L	triiodothyronine libre
T3T	triiodothyronine totale
T4	thyroxine
T4L	thyroxine libre
T4T	thyroxine totale
TBG	<i>thyroxine binding globulin</i>
Tg	thyroglobuline
TRH	<i>thyrotropin releasing hormone</i>
TSH	<i>thyroid-stimulating hormone</i>
TSHrh	TSH recombinante humaine
TTF	<i>thyroid transcription factor</i>
VEGF	<i>vascular endothelial growth factor</i>

INTRODUCTION



Les études des mécanismes du développement morphologique et fonctionnel de la thyroïde fœtale humaine *in utero* sont nécessairement limitées, pour des raisons éthiques évidentes. L'expérimentation animale, qui a été très utile pour étudier les grands mécanismes communs aux mammifères supérieurs, est désormais notoirement insuffisante pour mettre en évidence les processus spécifiques d'espèce. C'est pourquoi l'analyse des fonctions spécifiques des cellules thyroïdiennes humaines est actuellement réalisée *in vitro* avec des thyrocytes en culture primaire ou des lignées de thyrocytes. Mais l'extrapolation des résultats obtenus *in vitro* au fonctionnement *in vivo* et, *a fortiori* au développement, ne peut se justifier que pour des études extrêmement limitées et en étroites corrélations avec des études chez l'homme. Un modèle d'étude intermédiaire entre une recherche *in vitro*, scientifiquement très limitée, et une expérimentation *in utero*, éthiquement impossible à entreprendre chez l'homme, méritait donc d'être imaginé, puis mis en œuvre pour satisfaire simultanément l'éthique et la pratique.

Cette thèse a comme objectif de montrer comment la xénogreffe d'une thyroïde embryonnaire ou fœtale humaine chez un mammifère athymique congénital permet d'appréhender certains aspects morphologiques et fonctionnels du développement de la glande thyroïde fœtale humaine et de disposer ensuite d'un tissu thyroïdien adulte humain normal sur lequel des expérimentations peuvent être entreprises *in vivo*, sans impliquer l'homme. Avec cette méthode, nous avons étudié les développements morphologique et fonctionnel de quarante quatre glandes thyroïdes embryonnaires et fœtales humaines greffées chez des souris nude.

Après un rappel des connaissances actuelles relatives au développement de la thyroïde embryonnaire et fœtale humaine et aux greffes de tissus humains chez la souris nude, nous décrirons le matériel et la méthode utilisés. Nous rapporterons

ensuite les aspects morphologiques observés et les résultats fonctionnels obtenus, à savoir le captage de l'iode 123, puis la synthèse et la sécrétion des hormones thyroïdiennes à l'état spontané et après stimulation par la TSH recombinante humaine. Enfin, les résultats obtenus feront l'objet d'une discussion les situant notamment par rapport à ceux colligés dans la littérature médicale.

**1. RAPPEL DES CONNAISSANCES RELATIVES
AU DÉVELOPPEMENT THYROÏDIEN
EMBRYONNAIRE ET FŒTAL HUMAIN ET AUX
GREFFES CHEZ LA SOURIS NUDE**

1.1. Développement embryologique de la thyroïde humaine

1.1.1. Morphogenèse

1.1.1.1. De viso

La glande thyroïde est la première glande endocrine qui apparaît au cours du développement des mammifères. Son ébauche est visible dès le 17^{ème} jour de gestation et se forme à partir d'un épaissement endodermique du plancher du pharynx primitif entre les deux premières poches pharyngiennes. Le bourgeon forme ensuite une évagination qui migre vers la future loge thyroïdienne. Il atteint sa position définitive au cours de la 7^{ème} semaine de vie intra-utérine et fusionne entre 8 et 9 semaines de gestation avec les corps ultimo-branchiaux (CUB) qui se sont développés à partir des quatrième et cinquième poches pharyngiennes. Ils proviennent probablement des crêtes neurales et contribuent à la formation des cellules C de la thyroïde.

La différenciation initiale des cellules qui vont former l'ébauche thyroïdienne est sous la régulation des gènes HOX : Hoxa-3, Hoxb-3 et Hoxd-3. Puis, au niveau de l'ébauche thyroïdienne, des facteurs de transcription vont s'exprimer (TTF1, TTF2, PAX8) et permettre la transcription des gènes de la thyroperoxydase, de la thyroglobuline, du récepteur de la TSH présents chez le fœtus dès 10 semaines de vie intra-utérine. Chez les souris KO pour Hoxa-3, il existe une athyréose ou une hypoplasie thyroïdienne (2), chez les souris KO pour TTF1, on constate une athyréose associée à d'autres malformations (3) enfin chez les souris KO pour le récepteur de la TSH (souris hyt/hyt), on découvre une hypoplasie thyroïdienne.

Toutes ces constatations sont en faveur d'une participation importante du gène Hoxa-3, des facteurs de transcription notamment TTF1 et du récepteur de la TSH (souris hyt/hyt) dans la morphogenèse de la thyroïde embryonnaire et fœtale.

Chez l'homme, une mutation homozygote de FKHL 15 (homologue humain de TTF2 de la souris) a été décrite chez deux enfants de la même fratrie atteints d'une agénésie thyroïdienne et d'une atrésie des choanes (4). De la même façon, une mutation de PAX 8 est associée à une hypoplasie thyroïdienne (5). Enfin, certaines mutations du gène du récepteur de la TSH ont récemment été mises en évidence dans des cas d'hypoplasie thyroïdienne, avec hypothyroïdie congénitale et thyroglobuline présente dans le sérum (6) (7) (8). L'exemple de ces mutations du gène du récepteur de la TSH à l'origine d'une hypoplasie thyroïdienne majeure avec toutefois une thyroïde en position normale semble démontrer que la TSH n'intervient pas dans la différenciation et la migration thyroïdienne mais qu'elle joue un rôle majeur pour la croissance et le développement de la fonction thyroïdienne fœtale.

1.1.1.2. Échographie

Pour étudier le développement morphologique de la thyroïde fœtale, quelques équipes ont utilisé l'échographie thyroïdienne fœtale. Ainsi, en 1987, Léger (9) décrit un goitre chez un fœtus âgé de 34 semaines. Un lobe thyroïdien mesure 21x18x13 mm. Il insiste toutefois sur le fait que pour découvrir et surtout mesurer, en échographie intra-utérine, la thyroïde fœtale, il est nécessaire que le fœtus soit dans une bonne position et qu'il présente une voussure de la partie antérieure du cou, c'est à dire que la thyroïde soit suffisamment volumineuse. L'échographie semble dès lors réservée à l'étude de la thyroïde fœtale pathologique : goitre en rapport avec une dysthyroïdie, une carence iodée ou hydramnios par trouble de la déglutition

foetal. Toutefois, les progrès techniques ont permis d'améliorer la résolution des échographies et, en 1998, Achiron (10) effectue une étude échographique thyroïdienne chez 193 fœtus, âgés de 14 à 37 semaines de gestation, sans facteur de risque évident de dysfonction thyroïdienne. Il met en évidence une relation linéaire entre les dimensions de la glande thyroïde et l'âge gestationnel (AG).

1.1.2. Histogenèse

1.1.2.1. Microscopie optique

Les cellules thyroïdiennes, dans un premier temps, s'organisent en cordons, puis les cordons se fragmentent et enfin des follicules plus ou moins matures se mettent en place (11). Entre 7 et 11 semaines de gestation, on découvre des vésicules sans colloïde (stade précolloïde). Vers la 11^{ème} et la 12^{ème} semaines de gestation, la colloïde apparaît et un stade folliculaire typique peut être observé dès la 12^{ème}-13^{ème} semaine de gestation. Au cours du développement de la glande thyroïde, les différents stades peuvent être observés simultanément dans une même glande (asynchronisme de la folliculogenèse). En fonction de la durée de la grossesse, la taille des follicules augmente ainsi que leur réserve de colloïde.

L'aspect histologique de la thyroïde de 27 fœtus humains âgés de 23 à 40 semaines a été étudié par Bocian-Sobkowska en 1997 (12). L'auteur confirme la croissance folliculaire associée à une augmentation de la réserve colloïde entre les 23^{ème} et 29^{ème} semaines de gestation. Après 29 semaines, il décrit une augmentation progressive du rapport épithélium/colloïde et une diminution de la taille moyenne des follicules.

1.1.2.2. Microscopie électronique à transmission

Lorsque la colloïde apparaît entre la 11^{ème} et la 12^{ème} semaines de gestation, l'étude en microscopie électronique met en évidence une dilatation des canalicules provenant du réticulum endoplasmique lisse. Une substance dense aux électrons s'accumule dans les canalicules puis se déverse dans la lumière du follicule. Ce matériel est retenu dans le follicule car les cellules folliculaires, liées entre elles par des complexes de jonction, empêchent toute diffusion hors du follicule.

L'évolution de la thyroïde fœtale est marquée par une augmentation progressive du nombre de lysosomes des cellules folliculaires, lysosomes qui permettent la libération des hormones thyroïdiennes à partir de la thyroglobuline internalisée par les phénomènes d'endocytose (11) (13).

1.1.3. Aspects fonctionnels

1.1.3.1. Captation de l'iode

Grâce à des cultures de thyroïdes fœtales âgées de plus de 74 jours, Shepard décrit dès 1967 une captation de l'iode 125 par ces tissus thyroïdiens maintenus en culture (11).

La même année, Evans a étudié *in vivo* la fixation de l'iode par la thyroïde fœtale humaine juste avant des interruptions de grossesse programmées. Une dose de 100 à 500 µCi d'iode 131 était administrée par voie orale à la mère, 18 à 24 heures avant l'avortement. Aucune fixation d'iode n'était détectée avant 12 semaines d'âge fœtal. Les thyroïdes des fœtus âgés de 12 à 13 semaines fixaient en revanche l'iode 131 (14).

1.1.3.2. Synthèse des hormones thyroïdiennes

La synthèse de la thyroglobuline a été détectée dans la glande thyroïde humaine dès la 5^{ème} semaine de gestation alors que la morphogenèse en était encore à son début (15).

Les iodothyronines, en revanche, n'étaient détectées dans la glande thyroïde que vers la 10^{ème} semaine après la conception.

1.1.3.3. Sécrétion des hormones thyroïdiennes

Comme nous le montrerons plus loin, les hormones thyroïdiennes maternelles ne sont transmises qu'en quantité infime au fœtus par les échanges placentaires. Pour les différentes études que nous avons trouvées dans la littérature et que nous rapportons dans ce chapitre, nous considérerons que les hormones thyroïdiennes dosées dans le sang du fœtus ont été secrétées par sa thyroïde puisque le passage transplacentaire de celles de la mère est infime.

En 1970, Greenberg (16) dose la thyroxine, la TSH et les protéines porteuses des hormones thyroïdiennes dans le sérum de 21 fœtus âgés de 9 à 24 semaines après une interruption médicale de grossesse.

La T4 totale est détectée chez un fœtus âgé de 11 semaines. Dans cette étude, le taux augmente ensuite en fonction de l'âge du fœtus. La T4 libre augmente aussi avec l'âge gestationnel mais atteint déjà, chez les fœtus âgés de 18 à 20 semaines, les valeurs observées à terme. La *thyroxine binding globulin* (TBG) est détectée pour la première fois dans le sang du fœtus âgé de seulement 11 semaines. Son taux augmente avec l'âge du fœtus mais, pour les fœtus les plus jeunes, la T4 est d'avantage liée à l'albumine et à la transthyrétine qu'à la TBG.

La même année, Fisher (17) dose la T4 libre et totale ainsi que la TSH dans le sang du cordon après avortement thérapeutique chez 14 fœtus âgés de 11 à 18 semaines et chez 21 nouveau-nés prématurés entre 22 et 34 semaines. La concentration de T4 totale est faible entre 11 et 18 semaines (2,6 µg/100 ml en moyenne) mais augmente jusqu'au terme (7,2 µg/ 100 ml entre 22 et 34 semaines et 11,2 µg/ 100 ml à terme). Dans cette étude, une augmentation parallèle du taux de T4L est observée jusqu'au terme (1,85 ng/100 ml de 11 à 18 semaines, 2,5 ng/100 ml de 22 à 34 semaines et 2,9 ng/100 ml à terme).

En 1989, Ballabio (18) dose les T4 totale et libre, la TSH et la TBG dans le sérum de 23 fœtus âgés de 18 à 31 semaines de gestation. Le prélèvement sanguin est réalisé par cordocentèse chez le fœtus *in utero*. Il montre que les taux de T4T et de T4L augmentent durant cette période, le taux de T4T restant toutefois toujours inférieur au taux observé chez l'adulte alors que le taux de T4L atteint le niveau de celui découvert chez l'adulte dès la 28^{ème} semaine de gestation. Le taux de TBG augmente aussi durant toute cette période et atteint une valeur comparable à celle de l'adulte à 30 semaines de grossesse.

En 1991, Thorpe-Beeston (19) effectue une étude comparable chez 62 fœtus de 12 à 37 semaines de gestation. La mesure des T3 totale et libre est associée aux mêmes dosages que ceux entrepris précédemment. Les taux de T4T et T4L augmentent pendant cette période, en atteignant la valeur moyenne de celle connue chez l'adulte vers 36 semaines de gestation. La TBG a les mêmes caractéristiques. Une augmentation des T3T et de T3L est aussi mise en évidence pendant cette

période mais les valeurs restent toujours inférieures à celles découvertes chez l'adulte.

Les résultats de ces différentes études sont résumés dans le **tableau 1 (annexe 1)**.

La T4 totale est donc dosable à partir de 11 semaines de gestation et son taux augmente pendant toute la grossesse. Selon ces études, il atteint éventuellement le taux moyen de l'adulte en fin de grossesse ; la T4L est elle-aussi détectée à partir de 11 SG et son taux augmente pendant toute la grossesse en atteignant les taux moyens connus chez l'adulte pendant la grossesse à une date variant de 20 à 36 semaines de gestation selon les études. La TBG est détectée à partir de la 11^{ème} SG et augmente pour atteindre les valeurs du sujet adulte au cours du troisième trimestre.

La T3 semble dosable dès 12 SG puis augmente pendant toute la grossesse, sans atteindre les valeurs du sujet adulte. Pour expliquer ces constatations, deux hypothèses peuvent être avancées : la T4 serait moins convertie en T3 chez le fœtus que chez l'adulte par immaturité de la désiodase de type 1 hépatique fœtale et, en plus, la T3 serait rapidement convertie en T2 par la désiodase placentaire.

La rT3 (reverse T3) est présente en quantité importante dans le sang du fœtus. Son taux semble diminuer à partir de 30 semaines de gestation jusqu'au terme (20) (21), il est en moyenne de 2,81 nmol/l entre 12 et 20 semaines de gestation, et de 1,06 nmol/l entre 36 et 42 semaines de gestation (22).

Chez le fœtus, on retrouve aussi des formes sulfatées de T3, T4 et rT3 car les sulfotransférases ont une activité importante pendant la vie fœtale (23). Ces formes n'ont pas d'activité biologique connue mais elles serviraient de réserve pour les tissus possédant une sulfatase.

1.2. Maturation de l'axe hypothalamus-hypophyse-thyroïde chez l'embryon et le fœtus

1.2.1. Morphogenèse

L'hypothalamus se développe dès la 4^{ème} semaine de gestation à partir du diencéphale. La TRH a été mise en évidence dès 9 semaines de gestation au niveau de l'hypothalamus et sa concentration y reste constante jusqu'à la fin de la grossesse (24). Les neurones hypothalamiques sécrètent la TRH au niveau de l'éminence médiane et le système porte hypothalamo-hypophysaire achemine cette hormone vers l'hypophyse. La date exacte de la maturité du système porte hypothalamo-hypophysaire du fœtus n'est pas connue.

L'hypophyse, qui se développe à partir de la poche de Rathke, invagination de l'ectoderme de la cavité bucco-pharyngée, apparaît au 21^{ème} jour de gestation. Des cellules basophiles, dont font partie les cellules sécrétrices de TSH, sont détectées à partir de 10 semaines de gestation (25) mais des cellules sécrétant de la TSH mise en évidence par une technique immunoréactive ne sont observées qu'à la 13^{ème} semaine de gestation (26).

1.2.2. Évolution du taux de TSH plasmatique au cours de la gestation

Greenberg a détecté de la TSH plasmatique dès la 11^{ème} semaine de gestation et une augmentation de son taux chez tous les fœtus dont le plus âgé avait 24 semaines. Des taux voisins de ceux de l'adulte sont atteints à 16 semaines de gestation (16). En 1981, Fisher dose de la TSH dans le plasma fœtal à partir de 12

semaines de gestation et son taux commence à augmenter entre 18 et 22 semaines de gestation. Un pic est noté au début du troisième trimestre de la grossesse puis le taux évolue peu jusqu'à la fin de la grossesse (27). En 1989, Ballabio étudie le taux de TSH plasmatique fœtale par ponction de sang du cordon chez des fœtus âgés de 18 à 31 SG. Pendant cette période, le taux de TSH augmente et, dès la 18^{ème} semaine, devient supérieur aux taux de l'adulte (4 mU/l à 20 SG et environ 6 mU/l à 30 SG) (18). De la même façon, Thorpe-Beeston décrit une augmentation du taux de TSH chez les fœtus entre 12 et 37 SG et les valeurs sont en moyenne supérieures à celles de l'adulte (4 mU/l environ à 20 SG et entre 7 et 8 mU/l en moyenne à 36 SG) (19).

De ces études, on peut retenir que la TSH est détectable dès 11 semaines de vie fœtale, que son taux s'élève faiblement jusque vers 16-18 semaines de grossesse et que l'augmentation est ensuite plus nette et se poursuit jusqu'à la fin de la grossesse. Des taux comparables aux valeurs de celle de l'adulte sont retrouvés vers la 20^{ème} semaine de gestation.

Les caractéristiques de la maturation de l'axe hypothalamus hypophyse thyroïde sont résumées dans la figure 1.

Figure 1 : Chronologie de la maturation de l'axe hypothalamus hypophyse thyroïde

Age gestationnel	< 4 SG	5 ^e SG	6 ^e SG	7 ^e SG	9 ^e SG	10 ^e SG	11 ^e SG	13 ^e SG	18 ^e SG
Hypothalamus	Ebauche (21 ^e jour)		Noyaux hypothalamiques		TRH hypothalamique				
Hypophyse	Poche de Rathke (21 ^e jour)					Cellules basophiles	TSH dans hypophyse et sérum	Cellules thyroïdées	Elévation franche du taux de TSH
Thyroïde	Ebauche médiane (17 ^e jour)	Thyro-globuline intrathyroïdienne		Fin de migration	Fusion des CUB		Fixation iode. T4, T4L et TBG dans le sérum	Accumulation franche de colloïde dès la 12 ^e SG	

Le **tableau 2 (annexe 1)** récapitule les taux moyens de T4L, T4T et TSH retrouvés chez le fœtus par les auteurs ayant réalisé des ponctions de sang de cordon *in utero*.

1.2.3. Régulation

Le fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysaire du fœtus semble débiter vers les 10^{ème}-12^{ème} semaines de gestation mais reste immature puisque de faibles concentrations de T4 sont associées à de faibles concentrations de TSH pendant la première moitié de la gestation. Entre les 18^{ème} et 22^{ème} SG, le taux de T4 s'élève avec une augmentation parallèle du taux de TSH à la faveur d'une augmentation probable de la sécrétion de TRH par l'hypothalamus et d'une maturation du système porte hypothalamo-hypophysaire. C'est à cette période que semble se mettre en place le feedback négatif hypothalamo-hypophysaire par les hormones périphériques puisque Rakover décrit une diminution du taux plasmatique de TSH chez un fœtus âgé de 20 semaines atteint d'une hyperthyroïdie par passage transplacentaire d'anticorps stimulants les récepteurs de la TSH (28). Le rapport TSH/T4 est toutefois beaucoup plus important que chez l'adulte. Ainsi, ce rapport est à 15 chez le fœtus en milieu de grossesse, à 4,7 chez le nouveau-né à terme et à 0,97 chez l'adulte (29). Cette différence du rapport TSH/T4 observée entre le fœtus et l'adulte peut être expliquée par :

- Une modification du niveau de réglage hypothalamique et hypophysaire du feed-back négatif par la thyroxine (sensibilité moindre).
- Un feed-back réalisé exclusivement par la T3 chez le fœtus, or le taux de T3 fœtal est très faible.

- Une stimulation plus importante par la TRH au niveau hypophysaire chez le fœtus par rapport à l'adulte.
- Une sensibilité moindre de la glande thyroïde à la TSH.

Le rapport entre la TSH et la T4, bien que restant supérieur à celui de l'adulte, décroît progressivement au cours de la deuxième partie de la grossesse. Ballabio confirme cette constatation entre les 18^{ème} et 31^{ème} semaines de gestation (18) et Radunovic entre les 17^{ème} et 36^{ème} semaines de gestation (30). Cette évolution du rapport TSH/T4 semble correspondre à une plus grande sensibilité de la thyroïde à la TSH ou à une modification du niveau de réglage du feed-back négatif au niveau hypothalamo-hypophysaire. Le rôle d'une maturation de la désiodation périphérique des hormones thyroïdiennes peut aussi être évoqué.

Ainsi, après l'étape d'organogenèse, il semble exister, dans un premier temps une maturation hypothalamo-hypophysaire avec, en particulier, une maturation du système porte puis une maturation thyroïdienne.

1.3. Fonction thyroïdienne maternelle pendant la grossesse

1.3.1. Les modifications du métabolisme thyroïdien liées à la grossesse

L'équilibre thyroïdien de la future mère est modifié par trois facteurs principaux :

- L'élévation du taux sérique de la TBG.
- L'effet thyrotrope de l'hormone gonadotrophine chorionique (hCG) produite en quantités massives au cours de la grossesse, en particulier durant le premier trimestre.

- La réduction des quantités d'iodure plasmatique disponibles pour la thyroïde maternelle.

1.3.1.1. Les protéines vectrices

Il existe trois protéines transporteuses des hormones thyroïdiennes : la TBG, l'albumine et la transthyrétine ou *thyroxine binding prealbumin*. La fraction liée aux protéines transporteuses est en équilibre avec la fraction libre qui ne représente qu'une partie minime de l'hormonémie totale.

Au cours de la grossesse, les concentrations d'albumine et de transthyrétine diminuent alors que la concentration de TBG augmente [les valeurs rapportées par Glinier (31) sont reproduites dans le **tableau 3 (annexe 1)**]. La diminution des concentrations d'albumine et de transthyrétine est passivement liée au phénomène d'hémodilution observé pendant la grossesse. Le taux de TBG commence à augmenter entre la 6^{ème} et la 9^{ème} semaines de gestation pour doubler vers la 20^{ème} semaine puis se maintenir en plateau jusqu'à l'accouchement [maximum atteint dès la 14^{ème} semaine pour Burrow (32)]. Cette augmentation résulte d'une synthèse hépatique accrue de la TBG et également d'une diminution de sa clairance hépatique sous l'effet de l'hyperoestrogénie gravidique (33).

Cette modification des protéines vectrices induit une élévation des taux de T4 et T3 totales.

1.3.1.2. Effet thyroïdrotrope de l'hormone hCG

L'hormone hCG, synthétisée et sécrétée par le placenta, est produite au maximum pendant le premier trimestre de la grossesse. Elle est composée de 2 sous-unités, α et β . La sous-unité α est commune avec la TSH. Il existe, de plus, une homologie

moléculaire remarquable entre les sous-unités β de la TSH et de l'hCG qui explique l'activité thyroéstimulante de l'hCG. Au moment du pic d'hCG entre la 8^{ème} et la 14^{ème} semaines on observe une diminution transitoire du taux de TSH en rapport avec l'augmentation modérée et transitoire du taux de T4 libre (qui reste en général dans les limites de la normale), provoquée par la stimulation par l'hCG (figure 2) (34), (35). L'hCG peut donc jouer un rôle dans la goitrigénèse observée en début de grossesse.

1.3.1.3. Les modifications du métabolisme de l'iode

Chez la femme enceinte, la clairance rénale de l'iodure augmente par accroissement de la filtration glomérulaire dès le premier trimestre de la grossesse. Au second trimestre, apparaît, en plus, un transfert d'une partie du pool iodé vers l'unité fœto-placentaire. En situation d'apports iodés satisfaisants, la glande thyroïde augmente sa clairance pour maintenir un apport d'iode suffisant. Toutefois, cette élévation de la clairance thyroïdienne peut ne pas être suffisante s'il existe une carence d'apport d'iode. L'apport d'iode recommandé pendant la grossesse est de 200 $\mu\text{g}/\text{jour}$ en Europe (36).

1.3.2. Les modifications du bilan biologique thyroïdien maternel au cours de la grossesse

1.3.2.1. Les hormones totales

La T4 augmente de façon importante entre la 6^{ème} et la 12^{ème} semaines de gestation et ensuite de façon plus lente pour se stabiliser vers la 20^{ème} semaine. La T3 augmente de façon plus lente et atteint elle-aussi un plateau vers la 20^{ème} semaine. Cette augmentation peut être expliquée par l'élévation du taux de TBG qui entraîne

une diminution transitoire du taux de T4 libre à laquelle la glande thyroïde va répondre par une synthèse d'hormones thyroïdiennes, d'après Glinoeer (31). Pour Burrow, l'augmentation du taux de T4 totale est aussi à mettre en rapport avec une dégradation placentaire de la T4, un transfert de T4 vers le fœtus et une clairance accrue de la T4 maternelle (32). Cette augmentation des besoins se remarque clairement, chez les patientes hypothyroïdiennes enceintes, par l'augmentation de leurs besoins en hormone de substitution (37).

1.3.2.2. Les hormones libres

Le taux de T4 libre s'élève modérément au cours du premier trimestre de la grossesse en restant, en général, dans les limites de la normale. Cette augmentation est probablement en rapport avec l'effet thyrotrope de l'hormone hCG. Le taux de T4 libre diminue ensuite progressivement au cours des deux derniers trimestres de la grossesse tout en restant, là encore, dans les limites de la normale.

Le taux de T3 libre suit une évolution comparable à celui de la T4 libre.

1.3.2.3. La reverse-T3 (rT3)

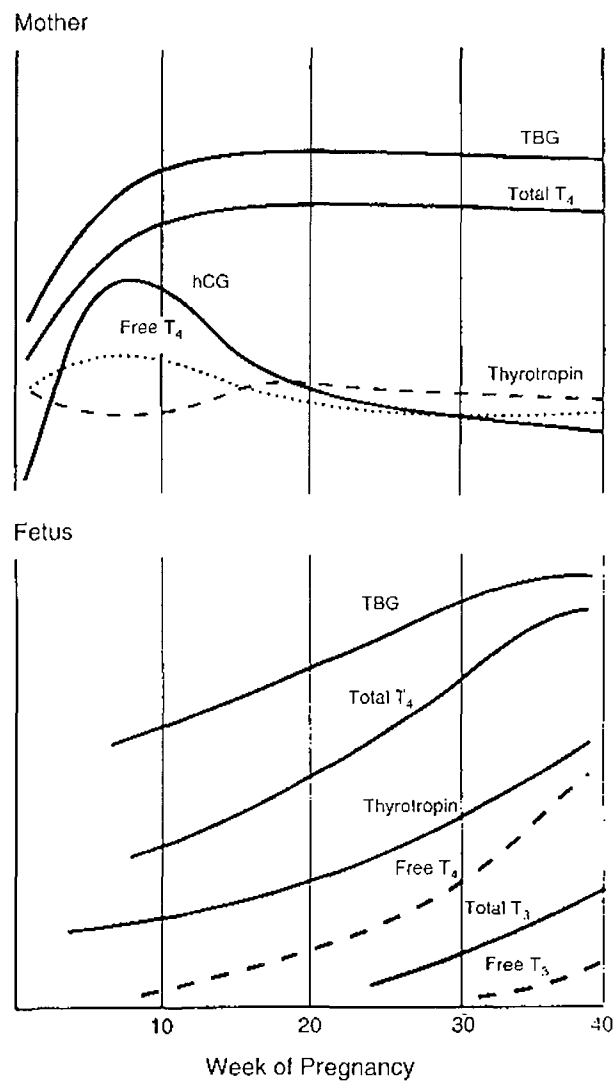
Elle s'élève pendant la grossesse (30) en proportion avec le taux de T4 totale.

1.3.3. L'évolution du taux de TSH

On observe une diminution du taux de TSH maternel au cours du premier trimestre de la grossesse en rapport avec la stimulation thyroïdienne par l'hormone hCG. La réponse de la TSH à la TRH est diminuée à cette période. Le taux revient aux valeurs usuelles vers la 20^{ème} semaine de gestation. D'après Burrow (32) le taux

reste ensuite stable, alors que Glinoer (35) décrit une discrète tendance à l'augmentation du taux de TSH au cours des 2^{ème} et 3^{ème} trimestres de la grossesse. Les modifications de la fonction thyroïdienne maternelle pendant la grossesse sont résumées dans la figure 2.

Figure 2 : Évolution du bilan biologique thyroïdien maternel et fœtal au cours de la grossesse d'après Burrow (32).



1.4. Transferts placentaires

1.4.1. Transfert placentaire de l'iodure

Le transfert placentaire de l'iodure de la mère vers le fœtus est probablement médié par le NIS (sodium iodide symporter) qui a récemment été mis en évidence au niveau du placenta (38). Il augmente nettement au cours de la deuxième partie de la grossesse (39).

1.4.2. Transfert placentaire de la TSH et de la TRH maternelles

1.4.2.1. La TSH

Il semble que la TSH ne franchisse pas la barrière placentaire.

En 1970, Greenberg a montré l'absence de corrélation entre les taux de TSH maternelle et les bilans biologiques réalisés après prélèvement du sang de cordon à la suite des interruptions thérapeutiques de grossesse. Il en concluait à l'absence probable de passage transplacentaire de la TSH maternelle (16). Cette absence de passage transplacentaire de la TSH a été confirmée par Fisher (27).

1.4.2.2. La TRH

En 1991, Moya a publié les résultats d'une étude au cours de laquelle il a injecté chez 12 patientes, 30 minutes à 5 heures avant leur accouchement, 400 µg de TRH. Chez la mère, le taux de TSH au moment de l'accouchement est, en moyenne, multiplié par 2 et le taux de T3 est inchangé. Chez l'enfant, il existe alors une augmentation significative des taux de TSH et de T3 à la naissance (40). Cette étude est donc en faveur d'un passage transplacentaire de la TRH à dose

pharmacologique en fin de grossesse mais n'apporte pas d'argument pour un passage physiologique de la TRH pendant la grossesse de la mère vers son fœtus. Par ailleurs, Thorpe-Beeston décrit une réponse de la TSH du fœtus lorsque de la TRH est administrée à la mère après 25 semaines de gestation (41). Mais, là encore, aucune action physiologique de la TRH maternelle n'est mise en évidence.

1.4.3. Transfert placentaire des hormones thyroïdiennes maternelles

Pendant la plus grande partie du premier trimestre de la grossesse, l'axe thyroïdienne et la thyroïde du fœtus ne sont pas encore fonctionnels et pourtant il est déjà possible de mettre en évidence de la thyroxine dans le liquide amniotique entre la 6^{ème} et la 12^{ème} semaines de gestation (42). A cette période, son origine est maternelle le plus probablement. Par contre, il ne semble pas exister d'étude ayant détecté des hormones thyroïdiennes dans le sang du fœtus. Il est donc peu probable, qu'à cette période, les hormones maternelles soient transmises au fœtus par la circulation placentaire. Mais existe-t-il un moyen pour le fœtus d'utiliser les hormones thyroïdiennes présentes dans le liquide amniotique grâce à une absorption digestive dont la preuve n'a pas été rapportée à cette époque de la vie intra-utérine ? Aux deuxième et troisième trimestres de la grossesse, il existe un gradient important entre les taux de T4 et T3 maternels et fœtaux suggérant l'absence ou le caractère très faible d'un éventuel transfert placentaire de ces hormones. Toutefois, certaines études sont en faveur d'un passage transplacentaire en fin de grossesse. Par exemple, les nouveau-nés atteints d'une agénésie thyroïdienne ou d'un défaut complet de l'hormonogénèse ont une T4 mesurable dans le sang du cordon au moment de l'accouchement (43). Ce taux, plus faible que celui habituellement

retrouvé à terme, est probablement la conséquence d'un passage transplacentaire de T4 de la mère vers le fœtus.

1.4.4. Autres transferts placentaires concernant le métabolisme thyroïdien fœtal

Il existe un transfert transplacentaire des anti-thyroïdiens de synthèse plus important pour le carbimazole que pour le propylthiouracile (PTU).

Les anticorps anti-thyroperoxydases et les anticorps anti-récepteurs de la TSH passent aussi à travers le placenta.

1.4.5. Le placenta : un organe actif influençant le métabolisme thyroïdien fœtal ?

Le placenta contient en effet 2 désiodases : la désiodase de type 2 qui transforme la T4 en T3 et dont l'activité augmente lorsque le taux de T4 disponible pour le tissu diminue et surtout la désiodase de type 3 qui transforme la T4 en rT3 et la T3 en T2 qui permet de maintenir des concentrations basses de T3 pour le fœtus.

1.4.6. Le liquide amniotique

Le liquide amniotique est le reflet à la fois du métabolisme fœtal et du métabolisme maternel, composé par les échanges materno-fœtaux transplacentaires, l'urine et le liquide pulmonaire du fœtus. Il est dégluti par le fœtus. Son contenu en hormones thyroïdiennes est le reflet de la production fœtale et maternelle modifiée par les

activités des désiodases placentaires. La T4 et la rT3 sont les deux principales iodothyronines du liquide amniotique, on retrouve aussi la T3 et la T2 et les formes sulfatées des T4, rT3, T3 et T2. La concentration de la T4 augmente progressivement pendant la grossesse alors que la concentration de la rT3 diminue.

A terme la concentration de la T4 dans le liquide amniotique est très inférieure à celle des sérums maternel et fœtal, celle de la rT3 est environ 3 fois supérieure à la concentration dans le sérum maternel et correspond à environ 1/4 de celle observée dans le sang du fœtus. La concentration de la T3 est faible et celle de la T2 est 3 fois plus élevée que dans le sérum maternel et comparable à celle du sérum fœtal. Le liquide amniotique semble être avant tout le reflet de l'action de la désiodase placentaire qui convertit la T4 en rT3 et la T3 en T2 (32).

Klein a effectué des prélèvements de liquide amniotique au cours de 140 grossesses entre la 10^{ème} et la 43^{ème} semaine de gestation (44). La première moitié de la grossesse est caractérisée par une augmentation du taux de la T4L qui atteint un pic vers la 30^{ème} SG et une augmentation de la rT3 qui atteint un pic vers la 20^{ème} SG, les taux de T3L sont bas et augmentent lentement pendant cette partie de la grossesse. La deuxième moitié de la grossesse est caractérisée par une diminution des taux de la T4L et de la rT3 (45) alors que le taux de T3L continue à augmenter. Concernant le taux de rT3, Roti, en 1979, est en désaccord avec les résultats habituels et décrit une augmentation du taux de rT3 du liquide amniotique tout au long de la grossesse (46).

L'évolution du taux de TSH dans le liquide amniotique reste discutée. Pour Yoshida, il existe une corrélation entre le taux de TSH du liquide amniotique et le taux de TSH fœtal et, en revanche, aucune corrélation entre le taux de TSH du liquide amniotique

et le taux maternel (47). En revanche, Rakover décrit un cas d'hyperthyroïdie fœtale avec hypothyroïdie maternelle associée (maladie de Basedow traitée chez la mère avant la grossesse par irathérapie) à la 20^{ème} SG. Le taux de TSH du liquide amniotique correspond alors au taux de TSH augmenté de la mère alors que le fœtus a une TSH effondrée (28).

1.5. Fonction thyroïdienne du nouveau-né à terme

La naissance marque la fin de l'activité de la désiodase placentaire qui convertissait la T4 en rT3 et la T3 en T2 inactive. Par ailleurs, au moment de la naissance de l'enfant à terme, il existe, dans les premières minutes de vie extra-utérine, une élévation de la TSH avec un pic qui atteint des valeurs 10 à 15 fois supérieures à celles du sang du cordon. Ce pic existe que l'enfant naisse par voie basse ou par césarienne. Ce pic de TSH va stimuler la captation de l'iode et la sécrétion des hormones thyroïdiennes. Le maximum du pic est atteint 30 minutes après la naissance puis la TSH diminue rapidement pendant les 24 premières heures de vie et plus lentement pendant le 2^{ème} et le 3^{ème} jours de vie pour atteindre les taux normaux vers le 4^{ème} jour de vie. La T4 et la T4L atteignent un pic à 24 heures de vie puis diminuent progressivement pendant les premières semaines de vie. Les taux de T3 et T3L sont multipliés par 3 à 6 fois durant les 4 premières heures de vie. Ce pic est en rapport avec l'augmentation de la conversion de la T4 en T3. Le pic de T3 lié au pic de TSH n'apparaît qu'entre la 24^{ème} et la 36^{ème} heures de vie (48). Le taux de rT3 est peu modifié dans les heures suivant la naissance et diminue pendant la 2^{ème} semaine de vie, le dosage de la rT3, réalisé chez des enfants âgés de 8 à 94 jours, montre une décroissance entre le 8^{ème} et le 50^{ème} jours de vie (49).

1.6. Fonction thyroïdienne du nouveau-né prématuré

L'enfant prématuré est caractérisé par :

- une immaturité hypothalamique avec une production et une sécrétion de TRH encore réduites,
- une réponse normale de la TSH après administration de TRH,
- une immaturité thyroïdienne avec une réponse moindre à la TSH,
- une faible conversion de T4 en T3,
- un taux de TBG relativement faible.

En conséquence, le pic de TSH existe mais il est moindre par rapport à l'enfant à terme (immaturité hypothalamique). Il existe un pic de T4 mais, là-encore, il est moindre par rapport à celui du nouveau-né à terme (immaturités hypothalamique et thyroïdienne) et le taux de T4 du prématuré reste moindre pendant les premières semaines de vie par rapport à l'enfant à terme. Le taux de T3 augmente dans les 2 à 4 premières heures de vie puis diminue pour ensuite s'élever jusqu'aux valeurs post-natales d'un nouveau-né à terme. Le taux de rT3 diminue brutalement après l'accouchement jusqu'à un taux comparable à celui des enfants nés à terme puis suit une courbe comparable (48).

Signalons l'étude de Ares (50) : les prématurés de moins de 32 SA ont une balance iodée négative pendant les deux à trois premières semaines de vie extra-utérine. En effet, lorsque l'accouchement est prématuré, le nouveau-né perd l'apport maternel transplacentaire d'iodure, de TRH et d'hormones thyroïdiennes.

La thyroïde du prématuré n'est pas capable d'accumuler l'iode comme la thyroïde du nouveau-né à terme. De plus, les apports en iode du prématuré sont souvent réduits qu'il reçoive du lait de sa mère ou une préparation pour prématuré.

Ainsi, dans cette étude, on met en évidence une diminution du taux de T4L chez le prématuré qui apparaît inférieur de 50 % au taux de T4L des enfants de même âge gestationnel *in utero*. A 30 SA, le taux moyen de T4L des prématurés est de 0,5 ng/dl dans cette étude. Mais, en fait, la méthode utilisée sous-estime le taux de T4L (technique de dosage sans dialyse).

Les études de Thorpe Beeston et Ballabio, lors de prélèvements sanguins fœtaux *in utero* par cordocentèse, ont montré un taux moyen de T4L de 0,9 à 1,4 ng/dl chez les enfants de 30 SA (18), (19). Les mesures comparables, réalisées chez des prématurés de très petit poids de naissance, ont montré des valeurs comprises entre 1 et 1,5 ng/dl (51). Les études de mesure de T4L par technique de dialyse à l'équilibre ont montré *in utero* à 30 SA un taux de T4L de 2,9 ng/dl (27) et chez les prématurés de 1 semaine de vie nés entre 28 et 30 SG le taux moyen de T4L est 2 ng/dl (52).

Chez le prématuré, les taux de T4, T4L et T3 et T3L sont bas mais augmentent progressivement de façon comparable à ce qui existe chez le fœtus *in utero*. L'enfant prématuré peut donc développer une hypothyroïdie transitoire, en particulier dans les deux à trois premières semaines de vie d'autant plus chez le grand prématuré et d'autant plus dans les zones de déficit iodé.

Ainsi on décrit :

- L'hypothyroxinémie physiologique qui existe chez 70 % des prématurés. Sa sévérité est reliée à l'âge gestationnel et à la sévérité des pathologies associées à la prématurité.
- L'hypothyroïdie primitive transitoire qui existe chez 0 à 12 % des nouveau-nés prématurés dont le poids est compris entre 1500 et 2499 g et chez 0 à 41 % des nouveau-nés prématurés dont le poids est inférieur à 1500 g.
- L'hypothyroïdie secondaire ou tertiaire transitoire qui semble exister chez les enfants nés avant 29 SG mais qui est discutée.
- On décrit bien entendu comme chez le nouveau-né à terme :
 - o l'hypothyroïdie congénitale pour 1 sur 4000 naissances
 - o les hypothyroïdies secondaires ou tertiaires définitives pour 1 sur 25000 naissances
 - o le syndrome de basse T3 plus fréquent chez les nouveau-nés de très petit poids de naissance.

Le traitement des enfants atteints d'un trouble définitif ou d'une hypothyroïdie transitoire est nécessaire.

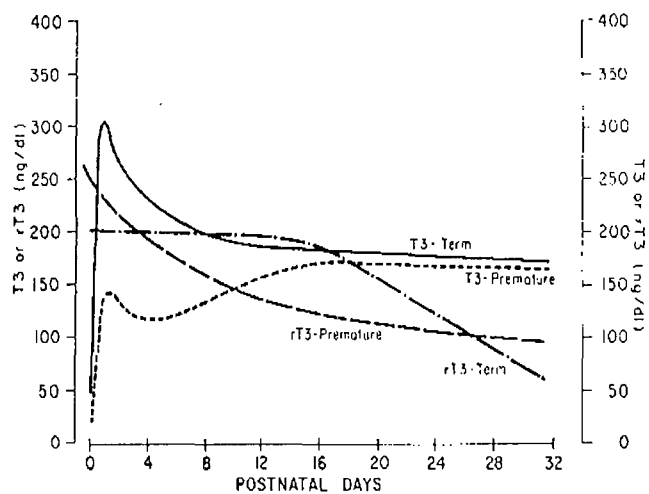
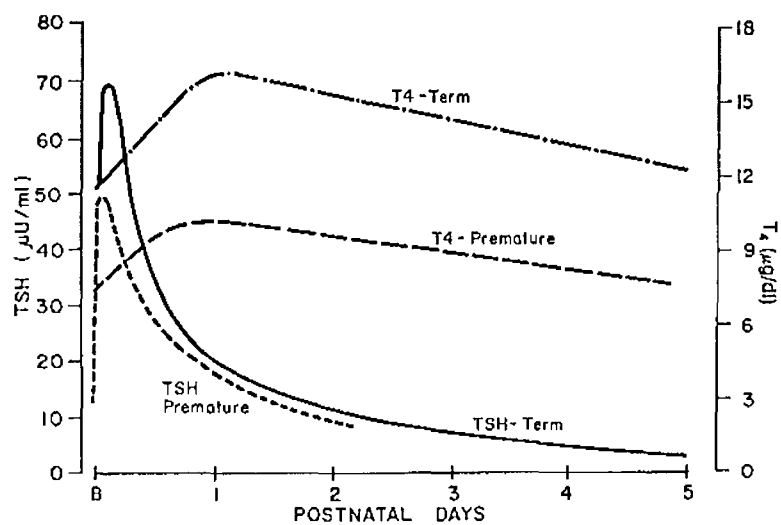
Le traitement des enfants atteints d'une hypothyroxinémie physiologique ou d'une hypothyroïdie transitoire secondaire ou tertiaire est controversé.

L'apport de thyroxine chez des prématurés de plus de 27 SG, avec une hypothyroxinémie physiologique, n'a pas d'effet sur le développement intellectuel évalué à l'âge de 2 ans. Toutefois, dans le sous-groupe des enfants nés entre 25 et 26 SG, le traitement semble améliorer le développement intellectuel par rapport aux enfants traités par placebo (51) (administration de thyroxine 8 µg/kg de poids de

naissance par jour à partir de la 12^{ème} à la 24^{ème} heures de vie pendant 6 semaines + un groupe placebo).

Fisher conseille de traiter les enfants dont la TSH est supérieure à 20 mU/l mais la posologie du traitement n'est pas fixée, 8 µg/kg/j semble une dose trop importante (53).

Figure 3 : Évolution post-natale du bilan biologique thyroïdien de l'enfant né à terme et de l'enfant né prématuré d'après Fischer (48).



1.7. Etat des connaissances concernant la xénotransplantation de tissus et d'organes humains chez la souris nude

1.7.1. Les greffes de tissus ou d'organes embryonnaires et fœtaux humains réalisées chez la souris nude (thyroïde exceptée)

Le développement de la thyroïde embryonnaire n'est pas un cas isolé, d'autres organes et tissus embryonnaires et fœtaux humains se développent après transplantation chez la souris nude.

Ainsi, des fragments de poumons de fœtus âgés de 10 à 14 semaines ont été greffés chez des souris nude. Le tissu se développe et se différencie après la greffe (mitoses dans l'épithélium et le stroma observées après 2 semaines de greffe, cellules ciliées et endocrines présentes 5 semaines après la greffe, puis apparition de la différenciation épithéliale) (54).

Le développement d'un tissu épithélial intestinal de phénotype adulte humain est obtenu après greffe sous-cutanée d'intestin fœtal chez la souris nude (développement de la micro-circulation 4 semaines après la greffe, survie du greffon 6 mois après la transplantation) (55).

La peau de 35 fœtus humains âgés de 8 à 19 semaines a été greffée chez la souris nude, pour une durée variant de 7 à 70 jours. Les auteurs décrivent une maturation et une stratification de l'épiderme ainsi qu'un développement du derme, avec apparition d'un stroma fibro-vasculaire et de tissu adipeux. Ils signalent que le tissu

greffé en position sous-cutanée se développe au même rythme qu'*in utero*, alors que le tissu greffé sur la peau de la souris nude accélère son développement (56).

Les greffes de pancréas embryonnaire et fœtal humain sont décrites par plusieurs équipes. Les techniques de greffe au niveau de la capsule rénale apportent de meilleurs résultats que les greffes sous-cutanées en terme de développement du greffon et de synthèse d'insuline. Une croissance et une différenciation comparables à celles observées chez le fœtus et le nouveau-né humains sont décrites après la greffe (57), (58).

256 estomacs d'embryons et de fœtus humains, âgés de 6 à 10 semaines, ont été greffés chez des souris nude pendant une période de 1 à 273 jours. Les auteurs décrivent une accélération de la différenciation des cellules épithéliales après la greffe en comparaison au développement *in utero*. En effet, la muqueuse gastrique présente un aspect de muqueuse gastrique adulte dès 9 semaines après la greffe (59).

L'expérience des médecins du Laboratoire de Microchirurgie Expérimentale dans ce domaine est importante puisque, avant ce travail, 557 organes (estomacs, intestins, trachées, poumons) de fœtus âgés de 6 à 10 semaines avaient déjà été l'objet de greffes chez la souris nude. Les greffes avaient été maintenues de 1 à 273 jours.

Il apparaît que :

- toutes les greffes ont pris,
- le greffon présente une croissance rapide pendant les 6 à 10 premières semaines suivant la greffe puis la taille de l'organe se stabilise,

- le chimérisme est infime,
- les cellules épithéliales se différencient et deviennent de type adulte en restant normales pendant toute la durée de la greffe,
- le développement est similaire à celui observé *in utero*.

Cette technique de xénotransplantation apparaît donc comme un modèle d'étude du développement de certains organes humains (1).

En revanche, le cœur, le foie, le système nerveux central ne se développent pas complètement après la greffe chez la souris nude.

1.7.2. Revue de la littérature concernant les greffes de tissu thyroïdien humain réalisées chez la souris nude

Les greffes de tissu thyroïdien ont été tentées avec succès par plusieurs équipes. Le tissu thyroïdien greffé est d'origine humaine ou animale. Nous limitons notre revue aux études concernant le tissu thyroïdien humain.

1.7.2.1. Tissu thyroïdien humain adulte

Les différents tissus thyroïdiens étudiés sont :

- le tissu thyroïdien non pathologique (60), (61)
- les pathologies bénignes du tissu thyroïdien
 - maladie de Basedow (62), (63), (60), (64)
 - goitre nodulaire non toxique (63), (65)
 - adénome toxique (63), (60), (64)
 - adénome folliculaire (63)

- les pathologies malignes du tissu thyroïdien (63)

- carcinome papillaire
- carcinome vésiculaire
- carcinome anaplasique
- carcinome médullaire

Vitalité du tissu greffé

Ces études montrent toutes que le tissu thyroïdien garde sa vitalité après la greffe chez la souris nude. Cette vitalité persiste pendant toute la durée de toutes les études. L'étude la plus longue s'est prolongée 16 semaines.

Croissance du tissu greffé

Les tissus thyroïdiens bénins greffés n'ont pas présenté de croissance en terme de volume. Les seules augmentations de volume constatées concernent les carcinomes anaplasiques, dans tous les cas, avec, le plus souvent, envahissement des tissus adjacents et les carcinomes papillaires dans 2 cas sur 7.

Propriétés morphologiques du tissu greffé

Le tissu greffé garde les caractéristiques du tissu thyroïdien dans tous les cas.

Les adénomes toxiques greffés gardent un aspect de tissu hyperfonctionnel.

Les tissus malins greffés gardent leurs caractéristiques et peuvent envahir le tissu adjacent pour les formes peu différenciées.

En revanche, les greffes de tissus de maladie de Basedow et de goitre nodulaire non toxique se différencient après la greffe en tissu thyroïdien normal.

Propriétés fonctionnelles du tissu greffé

L'aspect fonctionnel du greffon est appréhendé de plusieurs façons dans ces différentes études.

Certaines étudient **la cinétique de la captation de l'iode** par le greffon et par la thyroïde de la souris. Smeds (62) décrit une captation iodée retardée puis une fuite iodée ralentie par la thyroïde des souris greffées par rapport à celle des souris témoins, évoquant une suppression partielle du fonctionnement de la thyroïde de la souris par une production hormonale du tissu thyroïdien greffé. De la même façon, il met en évidence qu'après la greffe la $\frac{1}{2}$ vie biologique de l'iode 125 s'allonge dans la thyroïde de la souris alors qu'elle diminue dans le tissu thyroïdien greffé. Ces résultats sont aussi en faveur d'une synthèse et d'une sécrétion hormonales au niveau du greffon (61).

D'autres étudient **les hormones thyroïdiennes circulantes** chez la souris. Dralle (63) met en évidence, 4 mois après la greffe, des taux de T3 et de T4 significativement plus élevés chez les souris greffées avec du tissu thyroïdien bénin que chez les souris témoins. Leclère (60) confirme ces résultats dans le cas de greffes réalisées avec du tissu d'adénome toxique mais pas pour les greffes de tissu thyroïdien de maladie de Basedow.

L'**autohistoradiographie** est aussi utilisée. Elle met en évidence une synthèse protéique au sein du tissu greffé (61).

De ces différentes études il ressort que les thyroïdes greffées restent fonctionnelles. Toutefois, il est intéressant de remarquer que, dans les cas de greffe de tissu Basedowien (de type hyperfonctionnel en début de greffe puis reprenant un aspect de tissu thyroïdien normal), même si le volume du greffon est bien supérieur au

volume de la thyroïde de la souris, l'animal ne présente, à aucun moment, de signe clinique de thyrotoxicose, suggérant qu'une régulation se met en place incluant le tissu greffé.

Cette régulation ne peut exister quand le tissu greffé est un adénome toxique. La souris présente alors une hyperthyroïdie clinique et biologique et une atrophie de sa thyroïde.

La structure et la fonction du greffon peuvent-elles être modifiées après la greffe ?

C'est le cas pour les tissus de maladie de Basedow et de goitres nodulaires non toxiques qui après la greffe redeviennent du tissu thyroïdien normal, du fait de la disparition des facteurs stimulants circulants chez le sujet présentant une maladie de Basedow ou un goitre nodulaire. L'injection de ces facteurs à la souris greffée restaure les caractéristiques du tissu avant la greffe (64).

1.7.2.2. Les thyroïdes embryonnaires et fœtales humaines

1^{ère} étude : (66)

Les auteurs décrivent l'absence d'altération de la thyroïde fœtale après conservation par congélation. La thyroïde fœtale, greffée en position sous-cutanée chez la souris nude pendant 6 à 8 semaines, se développe et se différencie avec une croissance des follicules et une accumulation de colloïde. Elle acquiert la capacité d'accumuler et d'organifier l'iode (étude par autoradiographie).

2^{ème} étude : (67)

Cette étude a été réalisée par la même équipe.

- Matériel et méthode :

Les thyroïdes de 6 embryons humains, âgés de 8 à 10 semaines, ont été recueillies après IVG, puis cryopréservées pendant 2 à 12 mois. Les thyroïdes sont ensuite greffées en région sous-cutanée chez des souris nude (1 lobe greffé chez chaque souris). Elles sont laissées en place pendant 8 semaines sans traitement particulier.

Un prélèvement est effectué au niveau de chaque lobe thyroïdien avant la greffe.

2 lobes thyroïdiens sont prélevés après 8 semaines pour des études histologiques et autoradiographiques.

Les 10 souris restant sont réparties en 2 groupes : un groupe recevant de la L-Thyroxine pendant 17 jours et l'autre groupe un antithyroïdien pendant 15 jours. L'incorporation de la thymidine tritiée et de l'iode 131 sont étudiées ensuite.

- Résultats :

- Histologie :

- Avant la greffe : les follicules sont minces, bordés par des cellules cuboïdes avec une colloïde intra-luminale peu marquée par le PAS.
- Après la greffe : tissu bien vascularisé sans nécrose, développement d'une structure principalement folliculaire avec une colloïde fortement PAS positive. Les follicules les plus grands sont observés en périphérie du greffon.

- Aspect fonctionnel :

- Souris non traitées : les autoradiographies montrent une accumulation et une organification de l'iode dans la colloïde.

- Souris traitées par L-Thyroxine (TSH freinée) : la fixation de l'iode 131 est faible, en revanche l'incorporation de la thymidine tritiée n'est pas altérée.
- Souris traitées par antithyroïdien (TSH augmentée) : la fixation de l'iode 131 est augmentée ainsi que l'incorporation de la thymidine tritiée.

Il existe une sensibilité du tissu thyroïdien greffé à la TSH de la souris. La freination de la sécrétion de la TSH murine par l'administration à la souris de L-Thyroxine conduit à la diminution de la captation d'iode 131 et à une diminution moindre de la captation de la thymidine tritiée par la greffe thyroïdienne (cette sensibilité à la TSH paraît avoir des conséquences plus importantes pour l'évolution fonctionnelle que structurale du tissu greffé).

- Conclusion

La thyroïde embryonnaire se développe morphologiquement après la greffe même lorsque la TSH est freinée, après 8 semaines de greffe, suggérant l'existence d'autres facteurs de croissance à cette période (sa croissance est beaucoup plus importante que celle observée pour du tissu thyroïdien adulte dans les mêmes conditions). Toutefois, l'élévation de la TSH, après 8 semaines de greffe, accélère encore la croissance de la thyroïde greffée.

De plus, le tissu se différencie après la greffe en acquérant, en particulier, la capacité d'accumuler et d'organifier l'iode. Ces aspects fonctionnels apparaissent dépendants de la TSH.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODE

2.1. Le greffon : les thyroïdes embryonnaires

2.1.1. Obtention

Les interruptions volontaires de grossesse sont réalisées par la méthode d'aspiration, après dilatation à minima du col de l'utérus. Il est donc nécessaire d'utiliser des sondes d'aspiration de faible calibre, ce qui entraîne de très importantes fragmentations du corps de l'embryon. Ces fragments, très altérés, sont recueillis dans un flacon d'aspiration contenant du sérum glucosé isotonique pour éviter que les tissus ne soient projetés sur la paroi de verre et ne se déshydratent. Les fragments contenus dans le liquide sont transportés dans un flacon stérile, puis examinés sous un microscope opératoire pour rechercher la thyroïde parmi les parties de l'embryon et les caillots. Chaque embryon est placé dans un flacon différent et son âge est exprimé en semaines d'aménorrhée (SA), soit deux de plus qu'en semaine de gestation (SG).

La glande thyroïde n'est retrouvée que dans 10 à 20 % des IVG et toujours en continuité avec une partie du larynx et de la trachée. Elle est alors soigneusement disséquée puis séparée de ces organes et enfin conservée dans du sérum glucosé isotonique à 4 °C jusqu'à la greffe, c'est-à-dire au maximum 3 à 4 heures.

2.1.2. Caractéristiques

Quarante quatre glandes thyroïdes ont ainsi été recueillies et greffées chacune dans une poche pré-péritonéale d'une souris nude différente (cf infra). Les caractéristiques des greffons ont été résumées dans les **tableaux 4 et 5 (annexe 2)**.

La durée moyenne de greffe est de 240 jours avec une durée maximum de 511 jours.

2.2. Le porte-greffe : justification du choix de la souris nude pangénique

Pour qu'une xénogreffe prenne puis ne soit pas rejetée, la suppression des lymphocytes T du receveur doit être complète. Mais, avec une immunosuppression quasi-totale, la durée de vie des animaux est toujours courte et les tissus du greffon sont soumis aux effets des drogues qui modifient la cinétique de production cellulaire. Pour des tissus embryonnaires, cette inhibition médicamenteuse peut considérablement altérer leur développement en agissant sur la division et la différenciation cellulaires, ce qui retire tout intérêt scientifique à de tels modèles. L'animal doit donc nécessairement être spontanément dépourvu de possibilités de rejet des greffes pour éviter que son organisme n'ait à être soumis à un traitement susceptible de modifier gravement le développement et le fonctionnement du greffon. Seuls les animaux congénitalement sans activité lymphocytaire T satisfont à cette exigence.

Actuellement, parmi les animaux de laboratoire, il n'existe que deux espèces de mammifères dont certaines lignées sont atteintes d'une mutation entraînant une disparition de l'activité lymphocytaire T par absence ou non-différenciation de leurs lymphocytes T : les souris et les rats. Les rats athymiques congénitaux ou rats nude s'étant avérés être de médiocres porte-greffes par leurs faibles taux de prise, seules les souris mutantes dépourvues de fonctions lymphocytaires T sont utilisées. La petite taille de l'animal a toutefois rendu indispensable la création d'une ultramicrochirurgie permettant de transformer cette souris de 25 grammes en un

porte-greffe universel chez qui presque toutes les interventions chirurgicales humaines sont réalisables.

Parmi les souris alymphocytaires T, par athymie congénitale (souris nude) ou anomalie fonctionnelle des lymphocytes (souris SCID : Severe Combined Immuno Deficient), toutes deux également incapables de rejeter les xénogreffes, nous avons choisi les souris nude parce que l'absence de poil rend les interventions micro-chirurgicales et la surveillance clinique des greffons beaucoup plus faciles. De plus, les souris nude pangéniques sont beaucoup plus résistantes que les consanguines et peuvent subir plusieurs interventions chirurgicales avec un pourcentage de mortalité presque nul. C'est pourquoi elles sont utilisées depuis 20 ans au Laboratoire de Microchirurgie Expérimentale pour toutes les xénogreffes de parties d'embryons humains. Les greffes de thyroïdes embryonnaires ont toutes été réalisées sur des souris nude.

2.2.1. La découverte de l'animal

En 1962, Grist découvre, dans une portée d'un élevage de souris non consanguines du laboratoire de Virologie de l'Hôpital Ruchill de Glasgow, quelques animaux sans poil. Ce n'est qu'après les avoir croisés entre eux plusieurs fois, pour établir une lignée, que des études anatomiques seront réalisées et montreront l'absence de thymus.

A la naissance, la souris nude est comparable à une souris normale. La seule différence est une absence de moustache qui permet de la reconnaître rapidement. Ainsi, au sein d'une portée, les souris à moustache (non mutées) seront éliminées rapidement pour permettre la survie des souris mutantes, plus fragiles.

A l'âge adulte, la souris nude reste sans poil en dehors de quelques îlots de poils répartis de façon aléatoire sur toute la surface cutanée (cette caractéristique lui a d'ailleurs valu le nom de « *nude mouse* » incomplètement traduit en français dans l'appellation classique de « souris nude » alors qu'une traduction complète aurait été « souris nue »). La peau de l'animal est « froissée » comme si elle était trop grande par rapport au corps qu'elle recouvre. La croissance et la prise pondérale sont réduites par rapport aux animaux de la même lignée possédant un thymus. Le poids moyen d'une souris adulte est environ 30 % inférieur à celui des souris normales et varie entre 20 et 30 grammes alors que la taille est, comme pour les autres, entre 5 et 6 centimètres.

En 1964, Flanagan (68) remarque que les souris nude ont une durée de vie plus courte que celle des animaux non mutés et ne survivent pas au-delà de 25 semaines, sans qu'une anomalie patente explique le décès.

Ce n'est qu'en 1968 que Pantelouris (69) découvre que les souris nude sont dépourvues de thymus ou possède un minuscule résidu thymique sans lymphocyte T à l'examen histologique.

Cette athymie congénitale, non létale, procure à la souris nude l'aptitude à être un « porte-greffe universel » pour toutes les xénogreffes. L'athymie congénitale est constamment associée à l'absence de poil, en revanche, la réciproque n'est pas vraie puisqu'il existe des souris sans poils (*hairless*) qui possèdent un thymus normal.

La mutation est attribuée à la transformation du gène qualifié de « nu ». La transmission de cette anomalie est de type autosomique récessive et ne s'exprime donc que chez les souris homozygotes (nu/nu) et pas chez les souris hétérozygotes (nu/+) qui ont un phénotype strictement normal.

2.2.2. La fonction thyroïdienne de la souris nude

Avant de pouvoir utiliser la souris nude comme porte-greffe de thyroïdes embryonnaires humaines, il était indispensable de connaître le statut hormonal thyroïdien de cet animal par une étude de la littérature.

En 1972, Pierpaoli décrit une hypotrophie de la glande thyroïde de la souris nu/nu par rapport à la souris nu/+ et un taux circulant moindre d'hormones thyroïdiennes chez la souris nu/nu par rapport à la souris nu/+ (70). En 1977, Ruitenberg effectue une étude similaire et découvre que, sur le plan histologique, les follicules thyroïdiens apparaissent plus petits mais que les cellules épithéliales sont cubiques et vacuolisées (71). En 1996, Inomata étudie la thyroïde de la souris nude à la période fœtale et la compare à celle des souris hétérozygotes. Il constate que la hauteur des cellules et le diamètre des follicules sont moindres ainsi que le volume et le poids de la glande thyroïde. Trois ans plus tard, il complète ces résultats par une étude en microscopie électronique. Les mitochondries apparaissent moins développées mais il n'existe pas de différence statistiquement significative, en revanche, le cytoplasme est statistiquement moins développé mais il n'existe pas de différence significative concernant la surface des noyaux (72), (73). Il est donc nécessaire de s'interroger sur l'existence d'un facteur qui pourrait entraver le développement thyroïdien de la souris nude et ainsi interférer avec le développement des thyroïdes embryonnaires humaines greffées. Ces anomalies sont-elles liées au développement du tissu thyroïdien ou à des anomalies de régulation, notamment d'encéphalo-hypophysaires ?

Dès 1977, Ochi a montré un effet moins stimulant de la TSH bovine chez la souris nu/nu que chez la souris nu/+ (toutefois les récepteurs de la TSH semblent présents

dans la même proportion chez les deux lignées de souris). On peut donc penser que l'hyposensibilité est liée à l'hypotrophie primitive de la thyroïde, donc que sa stimulation par la TSH est moins productrice d'hormones thyroïdiennes (74). Signalons, toutefois, qu'en 1974 Ohsawa a découvert des taux normaux de thyroxine chez la souris nude (75).

2.2.3. La zootechnie

Les souris nude femelles ont une fécondité et une gestation normales mais ont des portées réduites à quatre ou six souriceaux au maximum et comme la montée laiteuse est faible, le nombre de souriceaux survivant au moment du sevrage dépasse rarement trois. Le croisement de femelles nu/+ et de mâles nu/nu donne naissance à 7 à 10 souriceaux dont 4 à 5 nude. Les souriceaux normaux sont sacrifiés à la naissance pour permettre aux mutants plus faibles de survivre. Ainsi, quatre souriceaux en moyenne parviennent au sevrage. Des études hématologiques d'immuno-phénotypage et l'expérience des xénogreffes ont montré que la stimulation thymique maternelle pendant la grossesse ne modifiait pas les caractéristiques des souris homozygotes. Les éleveurs utilisent donc l'une ou l'autre de ces méthodes. Les souris nude pangéniques utilisées au laboratoire proviennent du centre d'élevage Iffa-Credo à Lyon.

2.2.4. L'élevage

A leur arrivée au laboratoire, les souris femelles sont placées dans de grandes cages collectives en plastique, non stérilisées, avec une litière normale alors que les mâles

sont immédiatement mis dans des cages individuelles pour éviter des combats fréquents dès la dixième semaine, aboutissant souvent à des mutilations importantes. La nourriture et l'eau ne sont pas stérilisées et les souris nude ne sont jamais élevées sous flux laminaire. La durée de vie moyenne de toutes les souris nude utilisées au Laboratoire de Microchirurgie Expérimentale de la Faculté de Médecine de Nancy est de l'ordre de 400 à 450 jours. Ces longévités sont obtenues sans aucune autre précaution qu'une excellente hygiène et des interventions chirurgicales stériles, en ayant toutefois soin de ne pas élever, dans les mêmes locaux, d'autres animaux et tout particulièrement d'autres souris susceptibles de transmettre des affections virales murines, toujours fatales chez la souris nude. Les infections bactériennes sont faciles à juguler par une antibiothérapie de quelques jours. L'animalerie et la salle d'opérations sont nettoyées quotidiennement. Après l'intervention, l'animal est placé dans une cage individuelle en plastique et nourri de la même façon que précédemment.

2.2.5. La souris nude : le porte-greffe idéal

Comme la souris nude ne dispose pas des cellules lymphoïdes nécessaires à la reconnaissance et à la destruction des cellules étrangères à son organisme, elle tolère parfaitement toutes les greffes. Le taux de prise est voisin de 100 % dans la mesure où l'implantation est réalisée stérilement sur un axe vasculaire, à l'aide d'une technique micro-chirurgicale minutieuse. Les très rares échecs sont liés à une mauvaise revascularisation, une infection ou le plus souvent à une technique d'implantation défectueuse, mais jamais à une cause immunologique.

La petite taille de l'animal oblige à limiter le volume des greffons mais cette restriction n'est pas intervenue pour notre travail, compte tenu du petit volume de la thyroïde à implanter. Rappelons enfin que les interventions impliquant l'ouverture de la plèvre ne peuvent pas être réalisées car, chez la souris, les cavités droite et gauche de cette séreuse communiquent et son ouverture aboutit à un pneumothorax bilatéral mortel.

2.3. La greffe : les techniques micro-chirurgicales

2.3.1. L'anesthésie

Toutes les interventions sont entreprises sous anesthésie générale. Celle-ci doit être profonde, tout en permettant un taux de réveil proche de 100 %. Cette anesthésie, indépendamment de l'absence de douleur infligée à l'animal, permet d'éviter des réactions neuroendocriniennes biologiques et comportementales à la souffrance qui pourraient perturber l'expérimentation. Enfin, il est nécessaire que l'animal soit strictement immobile afin de garantir la précision des gestes micro-chirurgicaux.

Une anesthésie profonde, d'une durée de 40 à 50 minutes, est obtenue une à deux minutes après l'injection par voie intra-péritonéale de 0,01 mg de kétamine par gramme de poids corporel de l'animal à endormir. Cette anesthésie peut être prolongée 2 à 3 fois de 30 minutes environ par l'injection de la moitié de la dose initiale, 5 à 10 minutes avant le réveil de l'animal. L'injection d'une dose supérieure à celle préconisée entraîne 2 fois sur 3 le décès de l'animal par dépression cardio-respiratoire irréversible.

Lors de la phase d'endormissement, la souris est souvent très agitée, avec apparition de mouvements désordonnés soulevant la sciure servant de litière. Ainsi, avant de remettre la souris dans sa cage après l'injection de kétamine, il est indispensable de recouvrir la litière d'une feuille de papier de type « essuie-mains » pour éviter l'inhalation de poussière de bois à l'origine de troubles respiratoires, souvent mortels. Le réveil peut s'accompagner, lui-aussi, d'une phase d'agitation qui sera alors de durée et d'intensité moindres. Dans la demi-heure, voire l'heure, qui suit la fin de l'intervention, l'animal se déplace, mange et boit normalement.

2.3.2. La préparation de l'animal

Une fois endormi, l'animal est posé en décubitus dorsal sur une planchette en plastique désinfectée, puis amarré par 5 petits morceaux de ruban adhésif collés sur l'extrémité des 4 pattes et la racine de la queue, en ayant soin de ne pas trop comprimer les membres pour éviter une ischémie conduisant à l'autoamputation de leur extrémité dans les jours suivant l'anesthésie. De même, une fixation en trop grande extension des membres antérieurs ou une fixation asymétrique sont à l'origine d'une hypoventilation entraînant des morts post-opératoires, probablement par troubles hypoxiques cérébraux. Après avoir été fixée la souris est désinfectée avec une solution d'éosine à 1 % (p/v) dans de l'alcool à 60° (v/v).

2.3.3. Les instruments

Toutes les interventions sont réalisées à l'aide d'un microscope opératoire Zeiss (Le Pecq, France), à mise au point et à zoom commandés au pied. Une caméra [Sony

CDC (Tokyo, Japon) couleur, PAL] est incorporée au microscope, permettant d'enregistrer toutes les phases importantes des opérations sur un magnétoscope Umatic ¾ de pouce, commandé à distance.

Les instruments de cette microchirurgie sont ceux habituellement utilisés en microchirurgie vasculaire et nerveuse humaine et en ophtalmologie. Des miniaturisations du matériel ont toutefois dû être réalisées, notamment pour les clamps, les micro-pinces ou les pointes des ciseaux dont la taille a été artisanalement réduite. L'hémostase est obtenue par des électrocoagulations bipolaires réalisées avec une micro-pince et un très faible courant. Les fils de petit calibre [5(0) à 9(0)] utilisés en chirurgie humaine servent pour les sutures.

2.3.4. L'intervention d'implantation (planche N°1, fig. 1A et 1B)

Le greffon doit être déposé sur un pédicule vasculaire afin d'assurer très rapidement une oxygénation et une nutrition suffisantes et de permettre ensuite une néo-angiogenèse précoce. De plus, la petite taille du greffon conduit à envisager des implantations sans suture, pour éviter de léser les tissus mais le greffon doit, malgré tout, être fixé par rapport aux vaisseaux.

C'est pourquoi, il est mis en place dans une poche pré-péritonéale centrée sur les vaisseaux épigastriques. A cet effet, la peau de l'abdomen est incisée par voie xypho-pubienne, les vaisseaux épigastriques situés contre le bord interne des muscles droits de l'abdomen sont disséqués. Une petite cavité, formée, en avant par les muscles, en arrière par le péritoine et les vaisseaux épigastriques, est créée dans la partie droite de l'abdomen de la souris. La thyroïde embryonnaire est posée sur les vaisseaux puis la poche est refermée par deux points 8(0). Ainsi le muscle droit

de la souris plaque le greffon thyroïdien sur les vaisseaux épigastriques et le péritoine.

2.3.5. Le choix du site d'implantation

La revascularisation rapide du greffon est essentielle. De plus, en attendant le fonctionnement normal, une bonne nutrition temporaire de la xénogreffe par une efficace diffusion de l'oxygène et des molécules à fonctions métaboliques à partir de l'hôte doit être assurée pour assurer la survie des cellules, notamment souches, de tous les tissus composant l'organe en développement. Une fois constaté que les tissus greffés produisent assez de molécules à fonctions angioformatrices pour entraîner chez l'hôte une prolifération des vaisseaux nécessaires au développement de l'organe transplanté, l'évolution du greffon vers la prise dépend exclusivement de la richesse de la vascularisation des sites receveurs de l'animal. C'est à partir de cette conception que de nouveaux sites d'implantation ont été recherchés. La meilleure solution réside dans la possibilité de disposer d'un pédicule artério-veineux aisément isolable, facilement accessible et non indispensable à la survie de l'animal, pour le fixer en très étroit contact avec une des faces de l'organe à greffer. Si, en plus de cette vascularisation principale, des apports capillaires et une contention très étroite avec un minimum de sutures peuvent être obtenus, les chances de développement sont presque de 100 %. A partir de tous ces critères d'optimisation des conditions de prise, le pédicule épigastrique, maintenu sur le péritoine mais isolé de la face postérieure des muscles droits de l'abdomen, a été choisi. La délicate dissection des vaisseaux permet de créer une vaste cavité dont la paroi musculaire antérieure peut être appliquée étroitement sur la face antérieure du greffon alors que

la face postérieure est au contact des vaisseaux épigastriques et du péritoine, excellente surface d'échanges métaboliques. Cette technique permet, de plus, une implantation sans suture sur l'organe, tout en assurant son immobilité complète par la fermeture du plan musculaire antérieur. La finesse du péritoine permet, enfin, une excellente extensibilité de la cavité au cours de la croissance de l'organe, sans contrainte mécanique pouvant perturber son développement.

Les vaisseaux du tube digestif constituent un autre excellent site de greffe mais l'obligation de sutures nombreuses avec du fil très fin 10(0) ainsi que l'absence de possibilité de suivi de la croissance sans laparotomies exploratrices itératives et le risque vital pour l'animal lors d'interventions sur le greffon sont des handicaps. Ce site n'est donc utilisé que pour des expériences particulières.

2.3.6. Les biopsies et les prélèvements des organes greffés

Sous anesthésie générale, on accède à la poche pré-péritonéale après incision des plans cutanés aponévrotiques et musculaires. Un fragment ou la totalité de la glande greffée est prélevé.

2.4. Les explorations para-cliniques des animaux greffés

2.4.1. Modalités

2.4.1.1. Étude morphologique et fonctionnelle des greffons à évolution spontanée

Alors que la souris n'a reçu aucun traitement, les examens sont réalisés à des temps variables après les greffes et des souris non greffées servent de témoins.

2.4.1.2. Évolution des greffons après stimulation par la TSH recombinante humaine

La TSH recombinante humaine, Thyrogen[®] (Laboratoire Genzyme France) est habituellement administrée par voie intra-musculaire chez l'homme à la dose de 0,9 mg par injection. Après l'injection, le pic principal est atteint en 13 +/- 8 heures. La période d'élimination est de 22 +/- 9 heures chez l'homme [étude pharmacocinétique rapportée par Incerti (76)].

Des reliquats de Thyrogen[®] ayant servi à des traitements en clinique ont été utilisés pour ces expérimentations.

1^{ère} modalité : injection intra-péritonéale quotidienne prolongée de TSHrh

1,35 µg de thyrogen sont injectés quotidiennement aux souris soit environ 0,04 µg par gramme de souris. Cette dose correspond à environ 3 fois la dose utilisée en clinique humaine.

2^{ème} modalité : injection intra-péritonéale unique de TSHrh

Dans ce cas, une dose unique de 0,1 µg par gramme de poids de souris est injectée. Ceci correspond à environ 8 fois la dose utilisée en clinique humaine.

2.4.2. Explorations morphologiques

2.4.2.1. Macroscopie

L'aspect macroscopique du greffon est apprécié avant la greffe et lors de son ablation. Cette étude porte essentiellement sur les dimensions du greffon et sur l'aspect du tissu (homogénéité, vascularisation, limite avec les tissus de souris...).

2.4.2.2. Histologie

2.4.2.2.1. Microscopie optique

- Fixation, inclusion et coupes

Pour les études morphologiques en microscopie optique, les biopsies ont été fixées au formol à 10 % (p/v) dans le tampon phosphate, pendant 18 heures, à température ambiante puis incluses en paraffine. Des coupes de 5 µm sont confectionnées à l'aide d'un microtome Reichert Jung (Leica, Rueil Malmaison, France). Les coupes sont ensuite étalées sur des lames dans l'eau distillée.

- Coloration histologique

La coloration à l'hématoxyline éosine safran est réalisée dans un automate de coloration. Ensuite les lames sont couvertes d'une lamelle collée par une résine (Eukitt). Après séchage, les lames sont analysées au microscope optique (Zeiss).

2.4.2.2.2. Microscopie électronique à transmission

- Fixation

Elle est effectuée dans du glutaraldéhyde à 2.5 % (TAAB) puis dans une solution de tampon cacodylate 0,1M (pH 7,4) à 4°C pendant 2 heures. Les fragments thyroïdiens sont ensuite rincés et conservés une nuit dans le tampon à 4°C. Le lendemain, les fragments sont post-fixés dans de l'acide osmique à 1 % dans une solution de cacodylate à 4°C pendant 2 heures. Après un nouveau rinçage, les prélèvements sont déshydratés durant chaque fois 10 minutes dans des bains successifs d'alcool à respectivement 30°, 50°, 70°, 80° et 90° puis par 3 bains de 15 minutes dans de

l'alcool absolu. Les tissus sont alors soumis à une pré-imprégnation dans un mélange d'épon alcool absolu (v/v) et coulés dans les tubes pendant une heure à température ambiante. Ce mélange est ensuite remplacé par de l'épon pur pendant une nuit à température ambiante. Le lendemain, les tissus sont immergés dans de l'épon frais et gardés à température ambiante une journée. Le soir, ils sont placés à l'étuve à une température de 60°C afin d'achever la polymérisation pendant 2 à 3 jours.

• Technique

Les blocs de résine ainsi obtenus sont taillés en tronc de pyramide à l'aide d'une fraiseuse. Des coupes semi-fines (1 µm d'épaisseur) sont étalées sur une lame en verre puis séchées avant d'être colorées au bleu azur II. Les coupes ultrafines sont réalisées avec un ultramicrotome Reichert OMU3 et recueillies sur des grilles de cuivre 200 mesh et contrastées à l'obscurité avec de l'acétate d'uranyle à 4 % pendant 30 minutes à 39°C et avec de la solution de Reynolds, également en chambre obscure durant 20 minutes.

Les observations sont effectuées au microscope électronique à transmission Philips CM12.

2.4.3. Explorations fonctionnelles

2.4.3.1. La scintigraphie

Une étude scintigraphique préalable a été réalisée sur une pré-série de 11 souris afin de fixer les meilleures conditions de réalisation des scintigraphies. Ainsi, une fixation au niveau de l'estomac de la souris a été mise en évidence, nous conduisant à

réaliser toutes les injections d'iode radioactif dans la partie gauche de l'abdomen et à implanter toutes les greffes dans la partie droite de l'abdomen de la souris afin de limiter « les contaminations » en regard de la thyroïde greffée (à droite) par la fixation au niveau du résidu du point d'injection et la fixation de l'estomac (à gauche).

2.4.3.1.1. Le traceur

L'iode 123 a été choisi car son émission gamma n'est que de 159 Kev, c'est-à-dire proche de celle du technétium 99m (140 Kev) et sa période physique est courte (13 heures). Il permet de réaliser plusieurs scintigraphies chez le même animal, sans léser la thyroïde greffée ni la thyroïde de la souris dans lesquelles il se fixe et peut être transformé en iode organique. Cet isotope irradie beaucoup moins le tissu thyroïdien que l'iode 131. L'imagerie doit être réalisée 6 heures après l'administration du traceur.

2.4.3.1.2. La technique d'administration

L'iode 123 a été administré par voie intra-péritonéale aux souris 6 à 12 heures avant la scintigraphie. Chaque souris reçoit 100 μ Ci d'iode 123 dans 0,4 ml de sérum physiologique. L'injection est réalisée dans la partie gauche de l'abdomen.

2.4.3.1.3. L'imagerie

- Le matériel

Les scintigraphies sont réalisées dans le laboratoire de Médecine Nucléaire du CHU de Nancy (Monsieur le Professeur Bertrand) à l'aide d'une gamma-caméra à scintillation. Cet appareil se compose d'un collimateur qui permet de sélectionner la

zone du rayonnement étudié, d'un cristal d'iodure de sodium, de tubes photomultiplicateurs qui amplifient la réponse reçue par le cristal et d'un système informatique qui digitalise les informations. Un collimateur *pinhole* a été utilisé afin d'améliorer la qualité de l'examen. Le temps d'acquisition des images est de 15 minutes. Cette durée, relativement longue, permet d'améliorer la statistique de comptage puisque la fixation du traceur est faible. Les souris sont anesthésiées à la kétamine aux mêmes doses que celles utilisées pour les interventions chirurgicales (cf supra) pour obtenir une immobilité parfaite de l'animal.

- Modalités de présentation des résultats

Le résultat brut de la scintigraphie ou nombre de coups total correspond au bruit de fond et aux activités de la thyroïde de la souris, de la thyroïde greffée, de l'estomac de la souris et du point d'injection. Ce résultat permet d'apprécier notamment la répartition approximative du traceur entre la thyroïde de la souris et la thyroïde greffée. Ces images et comptages ont été stockés puis traités de manière à déterminer, avec plus de précision, le nombre de coups accumulés dans chaque aire thyroïdienne en soustrayant le bruit de fond. Pour cela, nous avons utilisé la méthode habituellement consacrée à l'interprétation des néphrogrammes isotopiques. Nous avons, dans un deuxième temps, exprimé les résultats des scintigraphies en calculant les proportions respectives des activités de la thyroïde murine et de la thyroïde greffée dans l'activité totale. Pour cette partie de l'étude isotopique, nous n'avons pas tenu compte de l'activité du point d'injection et de l'estomac de la souris car, comme nous le montrerons dans les résultats de l'étude, le fait de masquer ou non les fixations de ces deux zones ne semble modifier que de façon minime le calcul de la répartition du traceur entre les deux aires thyroïdiennes.

2.4.3.2. *La biologie*

2.4.3.2.1. La technique des prélèvements sanguins

Une injection de 2 unités d'héparine dans 0,2 ml de sérum glucosé est réalisée par voie intra-péritonéale. Environ ¼ d'heure après l'injection d'héparine, la partie la plus distale possible de la queue de la souris est sectionnée. Le sang s'écoulant du moignon est recueilli dans un micro-tube ou dans un tube capillaire en verre. Lorsque le prélèvement est terminé, l'extrémité de la queue de la souris est coagulée avec une pince bipolaire.

Le prélèvement sanguin est centrifugé et le sérum congelé jusqu'à la réalisation des dosages biologiques.

2.4.3.2.2. Les techniques de dosage

La TSH et la T4 totale ont été dosées dans le Laboratoire de l'Institut de Physique Biologique de la Faculté de Médecine de Strasbourg. Une technique de dosage spécifique de la TSH murine a été mise au point, pour ce travail, par les Docteurs Sapin et Klein.

- Technique de dosage de la TSH

Une technique de dosage adaptée d'après la technique de Refetoff a été utilisée. Cette technique utilise habituellement de la TSH de rat et des anticorps anti-TSH de rat (77). Dans cette étude, le dosage de TSH murine a pu être réalisé avec un anti-sérum anti-TSH de souris.

Matériels et méthodes

Réactifs

Anticorps de cobaye anti-TSH de souris.

L'anticorps de cobaye anti-TSH de souris nous a généreusement été prodigué par le docteur A.F. Parlow du National Health Pituitary Program (réf AFP 98991 - 1 ml dilué au 1/50^{ème} dans du PBS). Il est utilisé à la dilution du 1/150000^{ème} dans le tampon de dosage.

Anticorps de chèvre anti-cobaye

Le second anticorps est une IgG de chèvre anti-cobaye (LINCO, réf 2020, St Charles, Mi, USA)

Entraîneur d'IgG de cobaye

L'entraîneur d'IgG de cobaye (LINCO, réf 3020, St Charles, Mi, USA) est utilisé pour augmenter l'action de l'IgG de chèvre anti-cobaye.

Préparation de référence TSH/LH pour standard

La préparation de référence TSH/LH pour standard de TSH de souris nous a été prodiguée par le Docteur A.F. Parlow du National Health Pituitary Program (réf AFP 51718 MP - 1 ampoule de 100 µg à solubiliser dans SAB 1% dans du PBS pour aboutir à une solution finale de 10 µg/ml).

Il s'agit d'un standard qui n'est en aucun cas de la TSH de souris purifiée. Tous les dosages ont néanmoins été effectués avec la même préparation de référence.

TSH de rat marquée à l'iode 125

RTSH-I¹²⁵ Amersham Pharmacia Biotech (Little Chalfont, UK, trousse RPA 554)

Tampons

Tampon de dosage

Tampon phosphate 0,025M ; pH 7,4 ; azide de sodium 0,1M ; Amersham Pharmacia Biotech (Little Chalfont, UK, trousse RPA 554)

Tampon PBS

Tampon phosphate 0,025 M ; pH 7,5 ; azide de sodium 0,1M (Sigma P 4417, St Louis, MO, USA)

SAB dans Tampon PBS (Sigma P 3688, St Louis, MO, USA)

Méthodologie

Il s'agit d'un dosage radio-immunologique sensibilisé grâce à une pré-incubation froide.

La réaction de dosage est effectuée dans des tubes à essai en verre. La gamme étalon est réalisée en double avec le standard de référence utilisé pur à la concentration de 10 000 ng/ml puis des dilutions de moitié successives jusqu'à une concentration de 9,5 ng/ml.

La prise d'essai des sérums est de 50 µl.

Le tampon de dosage est distribué par volume de 50 µl et l'anticorps anti-TSH de souris par volume de 100 µl. L'incubation de 16 heures s'effectue à température ambiante.

Le lendemain, 100 µl de TSH de rat marquée à l'iode 125 sont rajoutés pour une incubation de 4 heures à température ambiante ; puis, 100 µl. de l'entraîneur d'IgG de cobaye et 100 µl du second anticorps (IgG de chèvre anti-cobaye) pour une incubation de 2 heures à 4°C. Les tubes sont centrifugés à 4000 tours/minute à 4°C

pendant 30 minutes, puis le surnageant est éliminé par aspiration. La radioactivité résiduelle est mesurée par le compteur et directement convertie en concentration de TSH en fonction des résultats de la gamme étalon.

Sensibilité

La limite de détection par détermination du $B/B_0 = 95\%$ est de 20 ng/ml.

Reproductibilité

intrasérie : le CV est de 4 % pour une valeur de 137,5 ng/ml avec un écart type de 5,4

intersérie : le CV est de 7,4 % pour une valeur de 124,5 ng/ml avec un écart type de 9,2

Exactitude

Pour déterminer le coefficient moyen de récupération nous avons déterminé les concentrations de TSH murine au cours de dilutions successives de sérums de souris hypothyroïdiennes. Le coefficient moyen de récupération est de 91% pour des valeurs inférieures à 700 ng/ml.

Spécificité

Pour exprimer le pourcentage de réaction croisée interespèce nous avons déterminé le rapport B/B_0 à 50%.

Ainsi, la réaction croisée de la TSH de rat dans le dosage de TSH de souris est de 400% exprimé selon Abraham.

Ce mauvais résultat s'explique d'une part par la reconnaissance de la TSH de rat par l'anticorps anti-TSH de souris du dosage (défaut de spécificité), mais aussi certainement par la moindre pureté du standard utilisé dans le dosage de TSH de souris, d'autant plus que le système de dosage que nous avons développé est un système hétérologue.

Il existe également une réaction croisée avec la TSH humaine. Celle-ci est toutefois faible, car des valeurs de TSH d'hypothyroïdiens (8,1 mU/L) se retrouvent à peine dans les concentrations basses, voire dans les limites de détection par le dosage de TSH murine (23 ng/ml).

- Technique de dosage de la T4 totale

20 µl de sang de la souris sont prélevés afin de réaliser un dosage radio-immunologique de la T4 totale (Antony, France, Gamma coat T4 totale CA 1535M). La T4 humaine et la T4 murine sont identiques.

Concernant les prélèvements après administration de TSH recombinante, après revue de la littérature, nous avons choisi d'effectuer les prélèvements sanguins chez la souris environ 6 heures après l'administration de la TSH recombinante par voie intra-péritonéale. En effet, d'après l'étude de Colzani (78), l'administration de 0,1 µg/g de poids de la souris par voie intra-péritonéale est suivie d'une augmentation significative des taux de T3 et T4 dosés 6 heures après l'injection. Un dosage de T4

totale a été réalisé, ainsi qu'un dosage de TSH, afin de vérifier qu'une stimulation thyroïdienne maximale était assurée.

Les différentes explorations para-cliniques réalisées au cours de cette étude sont résumées dans les **tableaux 6, 7, 8 (annexe 2)**.

2.5. Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée grâce au logiciel SAS System for Windows, version 8.02 Copyright 1999 2001 by SAS Institute, Inc, Cary, NC, USA. Les mesures effectuées chez la même souris à des temps différents ont été considérées comme indépendantes. Pour les comparaisons, le test non paramétrique de Kruskal-Wallis a été utilisé compte-tenu des petits effectifs de notre étude. Les corrélations ont été étudiées grâce au coefficient de corrélation de Pearson.

3. RÉSULTATS

3.1. Explorations morphologiques

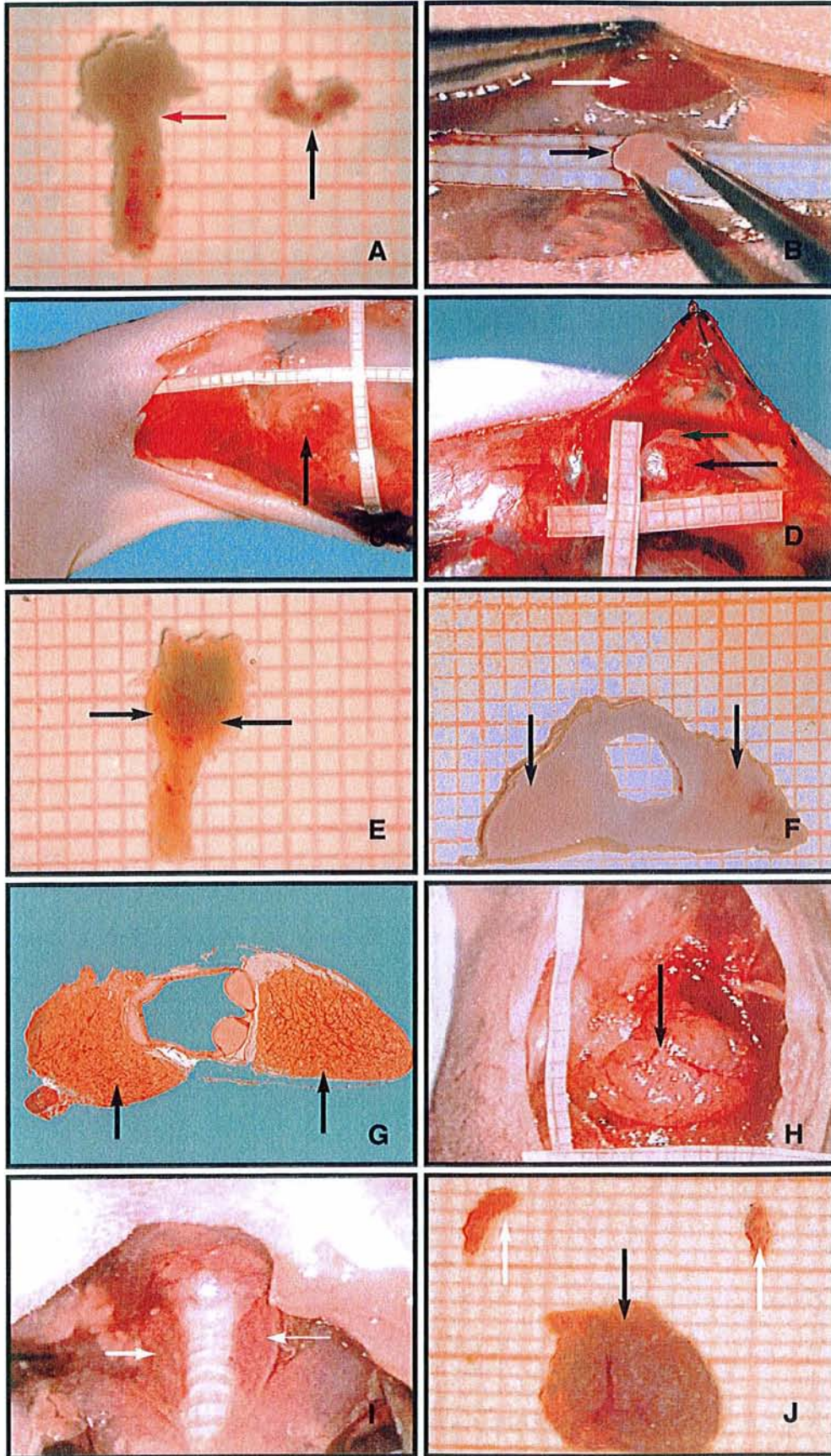
3.1.1. Analyse macroscopique (planche photographique N°1 page 95)

Les thyroïdes embryo-fœtales, mesurant 1 à 3 mm de côté sur une épaisseur de 1 mm environ lors de leur greffe dans les poches pré-péritonéales, se développent régulièrement, sans toutefois jamais dépasser 8 à 10 mm de côté sur 5 mm d'épaisseur, même après plus de 420 jours de greffe. Après 100 jours environ, le greffon a acquis sa taille définitive et son volume ne varie plus, que l'animal soit ou non stimulé de façon chronique par de la TSHrh (Fig.1 J). La glande humaine et le tissu musculo-conjonctif murin péri glandulaire sont toujours très bien vascularisés et les greffes toujours charnues, parfaitement homogènes sans aucune nécrose. Tout au plus découvre-t-on quelques petites zones de fibrose ne mutilant pas la glande, dont la lobulation est alors simplement augmentée à la coupe.

Lorsque la thyroïde est greffée en bloc avec le larynx ou le larynx et la trachée (Fig.1 E), elle se développe selon les mêmes modalités que précédemment (Fig.1 F & G). Les organes sont alors reliés par des structures anatomiques semblables à celles existantes lors du développement normal *in utero*. Le larynx et la trachée, eux aussi, se développent normalement, mais leurs tailles respectives restent stables après environ le centième jour de greffe. Dans ces cas, on retrouve très souvent une ou plusieurs parathyroïdes bien visibles (Fig.1 D).

Lors de l'ablation de la thyroïde seule ou associée au larynx et à la trachée, ces organes se clivent parfaitement par rapport au tissu musculo-conjonctif murin entourant les organes humains, sauf au niveau des pédicules vasculaires de l'hôte pénétrant dans le greffon. Il n'existe macroscopiquement aucune interpénétration réciproque des tissus des deux espèces.

Planche N° 1 : aspects macroscopiques



3.1.2. Histologie

3.1.2.1. Analyse en microscopie optique (planche photographique N°2 page 98)

14 prélèvements ont été réalisés en l'absence de stimulation par la TSHrh, 2 après stimulation unique par la TSHrh, 7 après stimulation répétée par la TSHrh.

Afin de rendre la description histologique plus complète, celle qui suit repose sur les observations rapportées dans cette thèse mais aussi sur l'analyse d'autres greffons utilisés pour un travail réalisé antérieurement dans le laboratoire.

- Les témoins

Les greffons témoins de 6 et 7 semaines de gestation sont formés d'un tissu mésenchymateux contenant des travées ou petits massifs épithéliaux pleins. Ceux de 8 à 10 semaines possèdent quelques follicules thyroïdiens qui commencent à apparaître (planche n°2, fig. 2A) ainsi qu'un peu de colloïde.

- Les greffons non stimulés par de la TSH recombinante humaine

Après 12 à 15 jours de greffe, les thyroïdes de 8 à 10 semaines de gestation sont très bien vascularisées, sans aucune plage de nécrose. Le tissu épithélial est constitué de quelques travées, massifs et nombreux petits follicules contenant, pour certains, un peu de colloïde. Ces follicules unistratifiés, à cellules cubiques, ne comportent pas de cellules C histologiquement reconnaissables. Le tissu conjonctif, très peu abondant, contient de nombreux vaisseaux dont la lumière, parfaitement perméable, est occupée par de petites hématies de la taille de celles de souris. Il n'existe aucune réaction inflammatoire.

Jusqu'à environ 60 à 80 jours après la greffe, le nombre et la taille des follicules s'accroissent régulièrement puis le parenchyme est essentiellement constitué de follicules, à colloïde de densité variable selon les endroits, mais sans aucune systématisation. Certains follicules possèdent une colloïde moins dense et à bords frangés.

Par la suite et jusqu'à environ 400 à 450 jours après la greffe, l'aspect histologique ne change plus tant au niveau du tissu glandulaire et conjonctif de la thyroïde que du larynx et de la trachée lorsqu'ils ont été greffés simultanément. Ces organes, toutefois, contiennent une grande quantité de mucus dense sous pression. Les thyroïdes greffées seules et celles implantées avec du larynx et de la trachée ont toujours le même aspect histologique. En revanche, le volume total de la thyroïde est plus important lorsque celle-ci a été greffée seule.

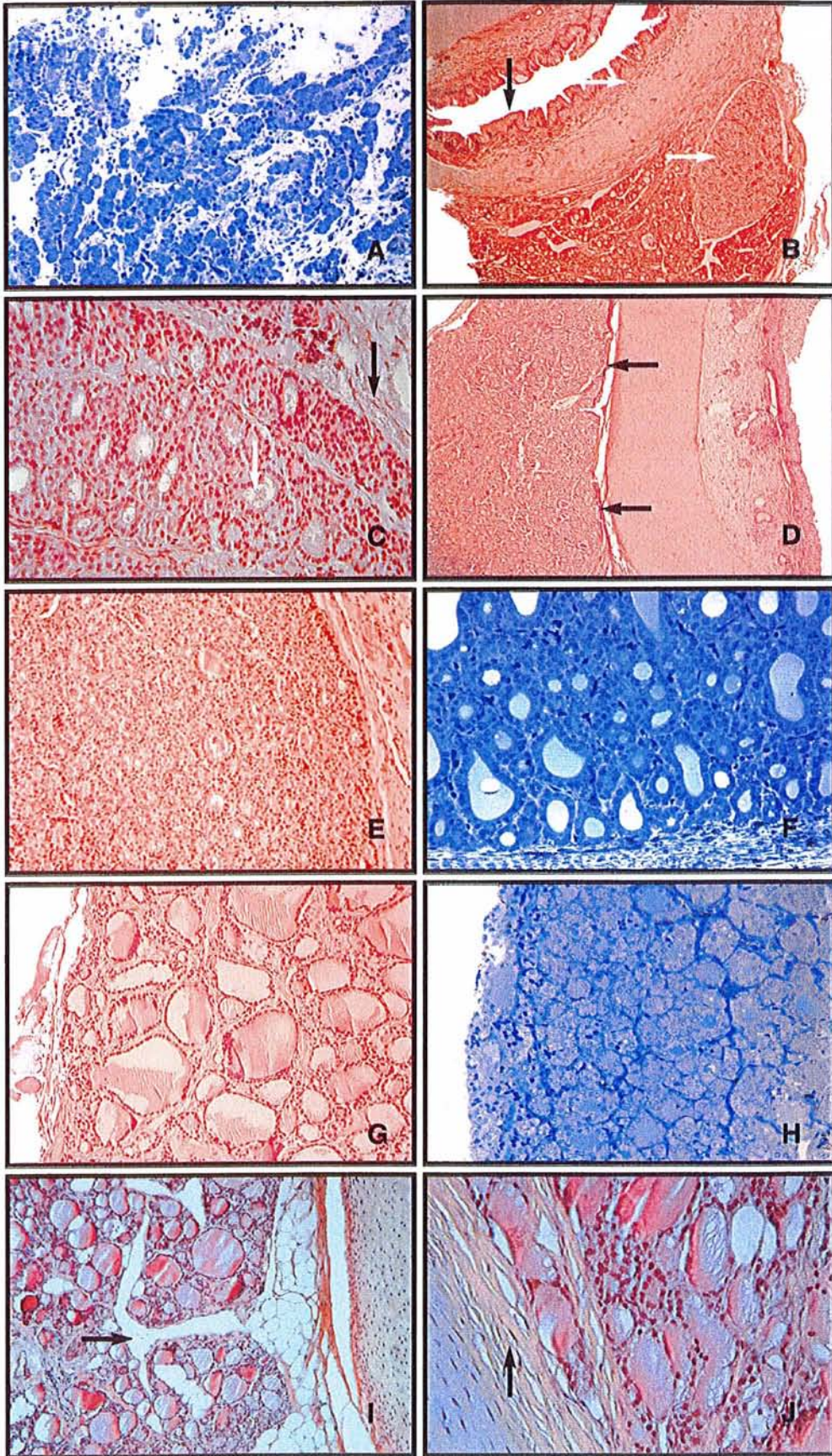
- Les greffons stimulés une fois par de la TSH recombinante humaine

La thyroïde stimulée une fois a un aspect histologique semblable aux thyroïdes non stimulées mais le faible nombre de cas étudiés (N = 2) et le court laps de temps entre l'injection de TSHrh et le prélèvement (6 heures) ne permettent pas d'attribuer une valeur certaine à cette constatation.

- Les greffons stimulés de façon chronique par de la TSH recombinante humaine

Les thyroïdes stimulées quotidiennement et de façon chronique par de la TSHrh possèdent beaucoup de follicules à colloïde peu abondante et peu dense, à bords très frangés au contact de l'épithélium. En revanche, il n'existe pas d'autres particularités par rapport aux thyroïdes non stimulées. Tout au plus le tissu conjonctif est-il peut-être un peu moins abondant.

Planche N° 2 : aspects microscopiques



3.1.2.2. *Analyse en microscopie électronique (planches N° 3 et 4 pages 101 et 102)*

7 prélèvements ont été réalisés en l'absence de stimulation par la TSHrh, 1 après stimulation unique par la TSHrh, 6 après stimulation répétée par la TSHrh.

- Les témoins

Le greffon témoin de 8 semaines est constitué de nombreuses travées et de quelques follicules dont les cellules sont cubiques. Leur pôle apical est hérissé de quelques courtes microvillosités pénétrant dans une petite cavité folliculaire ne contenant pas de colloïde. Le cytoplasme possède plusieurs grosses vacuoles de glycogène et seulement de rares organites. Les complexes de jonction ne sont pas visibles et aucun signe morphologique de sécrétion n'est apparu. Le greffon témoin de 9 semaines comporte davantage de follicules à cellules plus hautes et à microvillosités plus longues avec, à leur pourtour, un peu de substance rappelant l'aspect de la colloïde. Les organites sont plus nombreux et quelques complexes de jonction sont apparus.

- Les greffons non stimulés par de la TSH recombinante humaine

Les thyroïdes examinées après 10 semaines de greffe possèdent des cellules folliculaires cylindriques à leur pôle apical, hérissées de nombreuses microvillosités pénétrant dans de la colloïde assez dense. Le réticulum endoblastique est bien développé et ses citernes sont distendues par une substance amorphe. L'appareil de Golgi est bien visible et les mitochondries nombreuses. Quelques lysosomes, ainsi que quelques vésicules de micropinocytose, sont retrouvés au pôle apical. Ces aspects ultrastructuraux se maintiennent, même après des durées de greffe de plus de 400 jours. La constatation de signes morphologiques modérés mais indiscutables

de sécrétion s'explique probablement en partie par une stimulation liée à la production de TSH murine par le porte-greffe.

- Les greffons stimulés une fois par de la TSH recombinante humaine

Les greffons stimulés une seule fois par de la TSH recombinante humaine ont des aspects ultrastructuraux sensiblement les mêmes que ceux non soumis à une stimulation médicamenteuse. Tout au plus existe-t-il une très discrète accentuation des signes de production de colloïde.

- Les greffons stimulés de façon chronique par de la TSH recombinante humaine

Après stimulation intense et de longue durée par de la TSHrh, on constate une endocytose de colloïde, de type macrocytose, par extension de volumineux pseudopodes de la membrane plasmique et formation de vésicules intracytoplasmiques entrant ultérieurement en contact avec des lysosomes qui sont nombreux dans la partie apicale des thyrocytes. L'appareil de Golgi est très développé et les citernes du réticulum endoplasmique très dilatées. Tous ces signes attestent d'une importante accentuation de la production et de la résorption de la colloïde (planche n°4).

Planche N° 3 : aspects ultrastructuraux

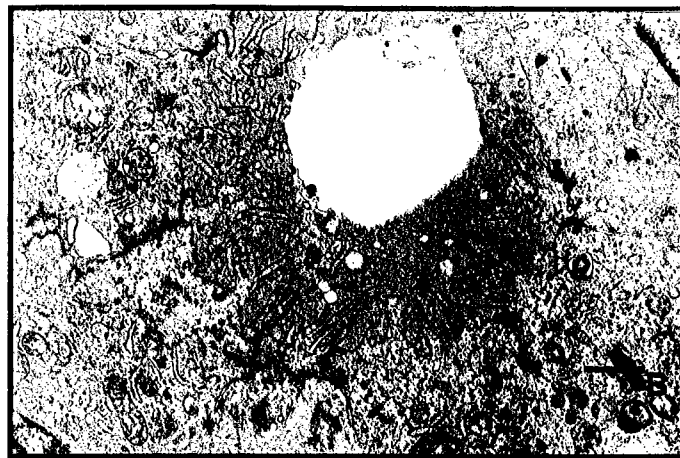
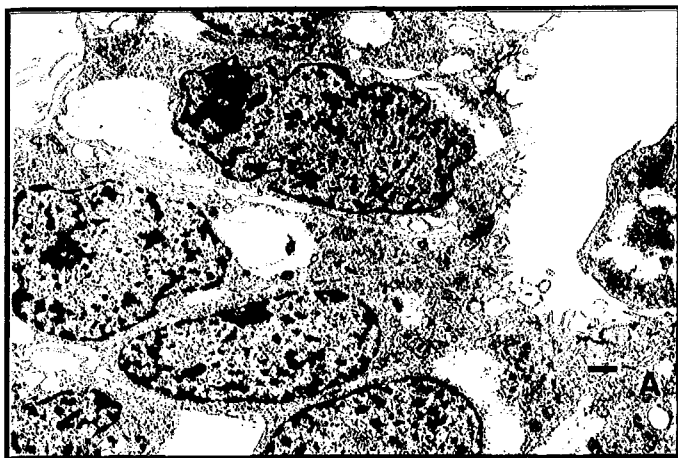
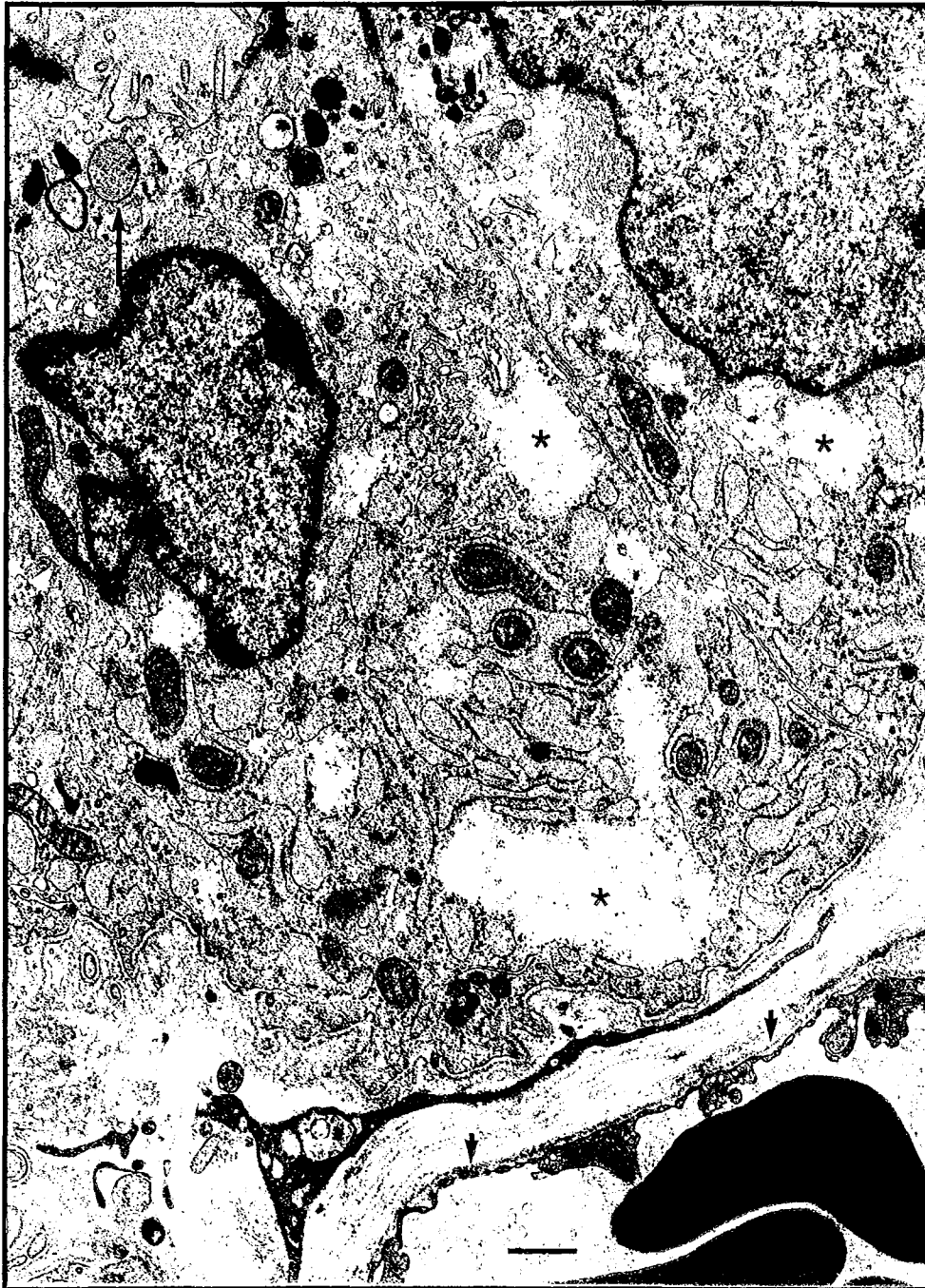


Planche N° 4 : synthèse des aspects ultrastructuraux



Thyroïde d'un embryon de 10 semaines, greffée 30 jours. Stimulation chronique par de la TSHrh. Cellules vésiculaires unies par des complexes de jonction. L'une possède un pôle apical avec d'assez nombreuses microvillosités plongeant dans de la colloïde et une vésicule de captation de colloïde (flèche noire), des lysosomes. Autour du noyau, on découvre des plages de glycogène résiduel (étoile), de nombreux ribosomes, des citernes ergastoplasmiques dont certaines sont dilatées et des mitochondries. Le pôle basal, limité par une membrane, est au contact d'un capillaire fenêtré (tête de flèche).

3.2. Explorations fonctionnelles

3.2.1. Scintigraphies (planche N°5 page 118)

63 scintigraphies ont été réalisées, 52 d'entre elles sans stimulation s'échelonnent de 9 à 400 jours après la greffe, 1 d'entre elles après une injection de TSHrh et 10 après des injections itératives de TSHrh, dans un intervalle de 12 à 181 jours après la greffe.

*3.2.1.1. Caractéristiques des scintigraphies (cf **tableau 9 annexe 3**)*

- Les scintigraphies sans stimulation par la TSHrh

Elles ont été réalisées entre le 9^{ème} et le 400^{ème} jours après la greffe, 31 d'entre elles dans les 100 premiers jours ayant suivi la greffe, 15 entre 100 et 200 jours après la greffe et 6 après 200 jours de greffe.

- La scintigraphie avec une seule stimulation par de la TSHrh

Elle a été réalisée chez 1 souris greffée depuis 198 jours. La souris a été son propre témoin, avec une scintigraphie réalisée 22 jours plus tôt.

- Les scintigraphies avec une stimulation chronique par de la TSHrh

Elles ont été réalisées entre le 12^{ème} et le 181^{ème} jours après la greffe alors que la souris avait reçu, depuis la greffe, une injection quotidienne de TSHrh jusqu'au jour de l'examen. Huit scintigraphies ont été faites au cours des 33 premiers jours ayant suivi la greffe, deux 145 et 181 jours après la greffe.

Parmi les 31 scintigraphies réalisées dans les 100 jours suivant la greffe sans stimulation par la TSHrh, 4 n'ont pas bénéficié de la quantification de l'activité totale et des activités respectives de la thyroïde murine et de la thyroïde greffée. Elles ont toutefois été retenues pour la comparaison de fixation entre les deux thyroïdes car il est évident sur la cartographie, réalisée pour chacune d'entre elles, que la fixation est nulle au niveau de la thyroïde greffée et donc de 100 % au niveau de la thyroïde de la souris.

3.2.1.2. Évolution de l'activité totale

Les 59 scintigraphies interprétées ont été utilisées. L'activité totale a été calculée en déduisant l'activité du bruit de fond.

- Sans stimulation par la TSHrh (cf **tableau 10 annexe 3**)

L'activité totale moyenne jusqu'à 36 jours de greffe est de 12094 cpm ; avant 100 jours de greffe, elle est de 21957 cpm ; entre 100 et 200 jours suivant la greffe, elle est de 40853 cpm, enfin après 200 jours de greffe, elle est de 31411 cpm.

Signalons que l'activité totale comptée chez 2 souris témoin non greffées est respectivement de 15128 et de 16521 cpm.

L'activité totale augmente significativement pendant toute la durée de la greffe (coefficient de corrélation = 0,35 et $p = 0,0136$).

- Après une seule injection de TSHrh (cf **tableau 11 annexe 3**)

L'activité totale est de 72349 cpm (198 jours de greffe) alors que chez la même souris non stimulée, 22 jours plus tôt, elle est de 30693 cpm (176 jours de greffe).

Pour une durée de greffe égale, après une seule injection de TSHrh, le résultat est supérieur à celui observé lors des scintigraphies sans injection de TSHrh mais un seul résultat ne permet pas de tirer une conclusion sur ce sujet.

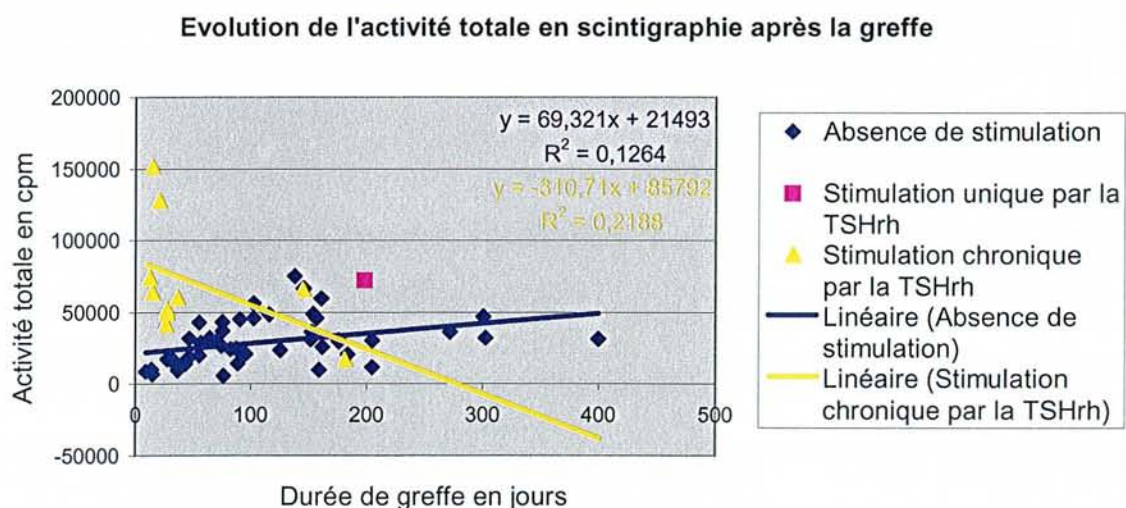
- Après des injections chroniques de TSHrh (cf **tableau 12 annexe 3**)

L'activité totale au cours des 36 jours suivant la greffe est de 77422 cpm, après 100 jours de greffe, elle est de 41 281 cpm.

La taille de l'échantillon étant faible, on ne met pas en évidence de variation significative de l'activité totale en fonction du temps de greffe chez les souris stimulées de façon chronique (coefficient de corrélation = -0,47 et $p = 0,17$).

L'activité totale au cours des 36 premiers jours de greffe est significativement augmentée par les injections chroniques de TSHrh ($p = 0,0039$).

L'ensemble des résultats est représenté sur la figure suivante :

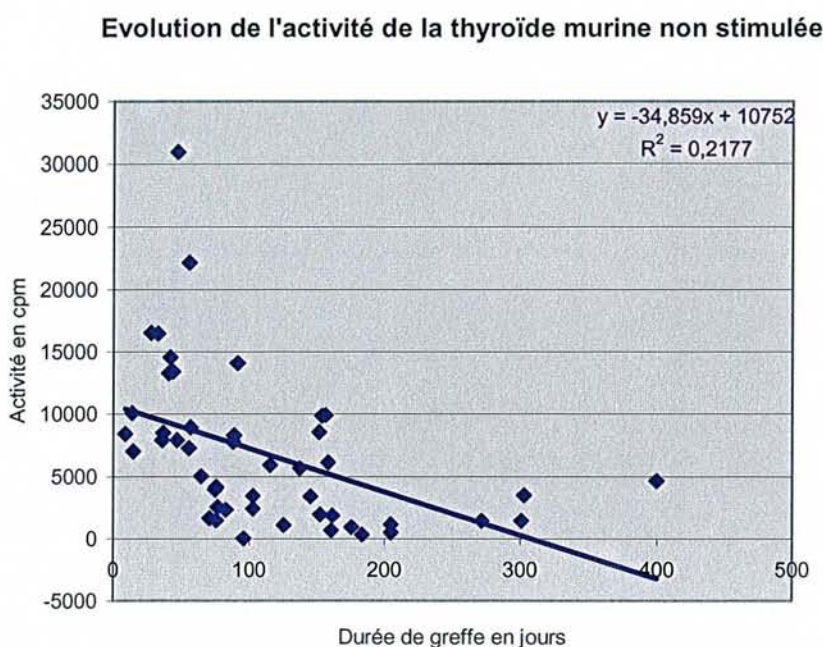


Dans les chapitres suivants, nous étudierons, de la même façon, l'évolution de l'activité de la thyroïde murine et de la thyroïde greffée.

3.2.1.3. Évolution de l'activité de la thyroïde murine

- Sans stimulation par de la TSHrh (cf **tableau 13 annexe 3**)

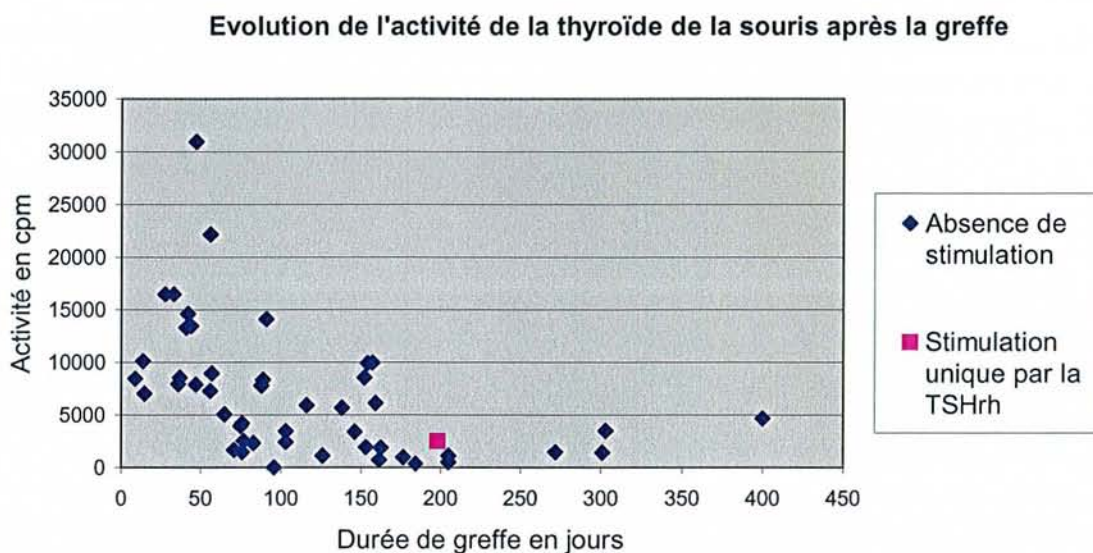
L'activité moyenne de la thyroïde de la souris, dans les 36 premiers jours suivant la greffe, est de 11076 cpm ; dans les 100 premiers jours suivant la greffe, elle est de 9419 cpm ; entre 100 et 200 jours de greffe, elle est de 4147 cpm, enfin après 200 jours de greffe, elle est de 2103 cpm.



Il existe une corrélation négative statistiquement significative entre l'activité de la thyroïde murine et la durée de greffe (coefficient de corrélation = -0,47 et $p = 0,0009$). Toutefois, cette fixation ne devient jamais nulle.

- Après une seule injection de TSHrh (cf **tableau 14 annexe 3**)

L'activité de la thyroïde murine s'élève de 944 cpm à 2525 cpm après une injection de TSHrh.



Il semble que cette injection unique de TSHrh réalisée avant la scintigraphie majore l'activité de la thyroïde de la souris par rapport aux activités observées lors de scintigraphies sans stimulation préalable.

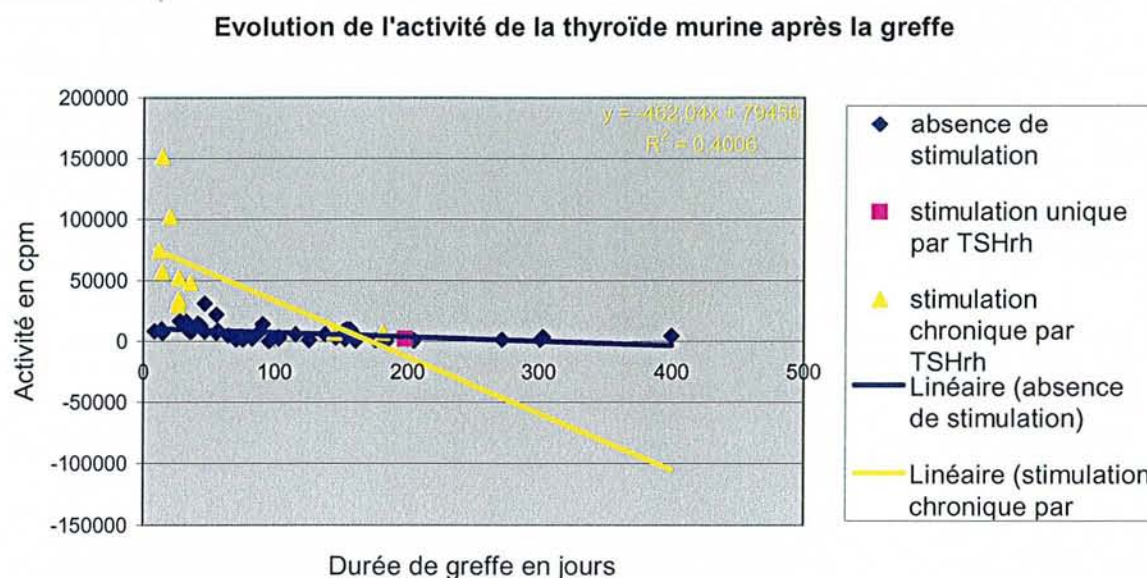
- Après des injections chroniques de TSHrh (cf **tableau 15 annexe 3**)

L'activité moyenne au sein de la thyroïde murine dans les 36 jours suivant la greffe est de 68532 cpm, elle est de 7179 cpm après 100 jours de greffe.

L'activité de la thyroïde murine est significativement augmentée chez les souris stimulées de façon chronique par rapport aux souris non stimulées au cours des 36 premiers jours de greffe ($p = 0,0039$).

Après 150 jours, l'activité stimulée reste à un niveau faible et pratiquement comparable à celui observé sans stimulation mais il n'est pas possible de tirer de conclusion compte-tenu du faible nombre de cas.

- Évolution de l'activité de la thyroïde murine après la greffe : récapitulatif



3.2.1.4. Évolution de l'activité de la thyroïde greffée

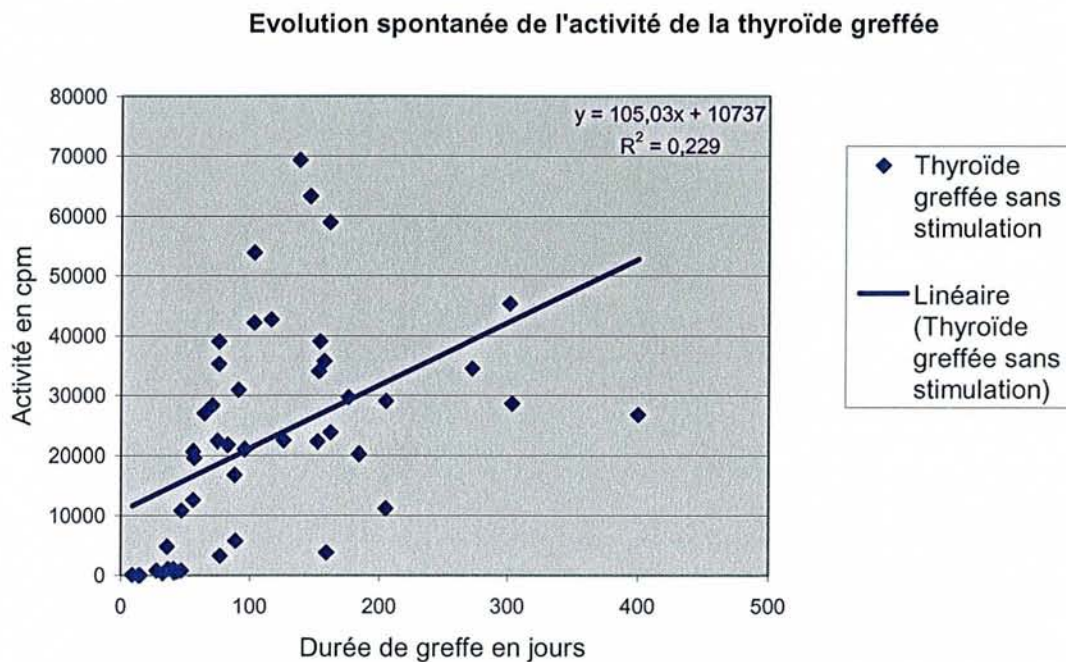
- Sans stimulation par de la TSHrh (cf **tableau 16 annexe 3**)

Il existe une très faible fixation au niveau de la thyroïde greffée pour la scintigraphie réalisée 9 jours après la greffe mais on peut suspecter une contamination compte-tenu de l'absence de fixation pour toutes les autres scintigraphies très précoces. Une fixation est retrouvée systématiquement après 28 jours de greffe.

L'activité moyenne de la thyroïde greffée dans l'intervalle de 9 à 36 jours suivant la greffe est de 1018 cpm ; dans l'intervalle de 9 à 50 jours suivant la greffe, elle est de 1743 cpm ; dans l'intervalle de 50 à 100 jours suivant la greffe, elle est de 21791

cpm ; dans l'intervalle de 100 à 200 jours suivant la greffe, elle est de 37473 cpm, enfin après 200 jours de greffe, elle est de 29308 cpm.

Il existe une corrélation positive statistiquement significative entre l'activité de la thyroïde greffée et la durée de greffe (coefficient de corrélation = 0,48 et $p = 0,0007$).



- Après une seule injection de TSHrh (cf **tableau 17 annexe 3**)

L'activité de la thyroïde greffée s'élève de 29749 cpm avant stimulation à 69824 cpm après stimulation unique par la TSHrh.

- Après des injections chroniques de TSHrh (cf **tableau 18 annexe 3**)

Il faut signaler ici que la thyroïde greffée chez la souris D787 a présenté un très faible développement en volume à l'origine de l'absence de fixation observée en scintigraphie.

En excluant les résultats concernant la souris D787, on observe une fixation systématique de l'iode 123 dès 14 jours de greffe.

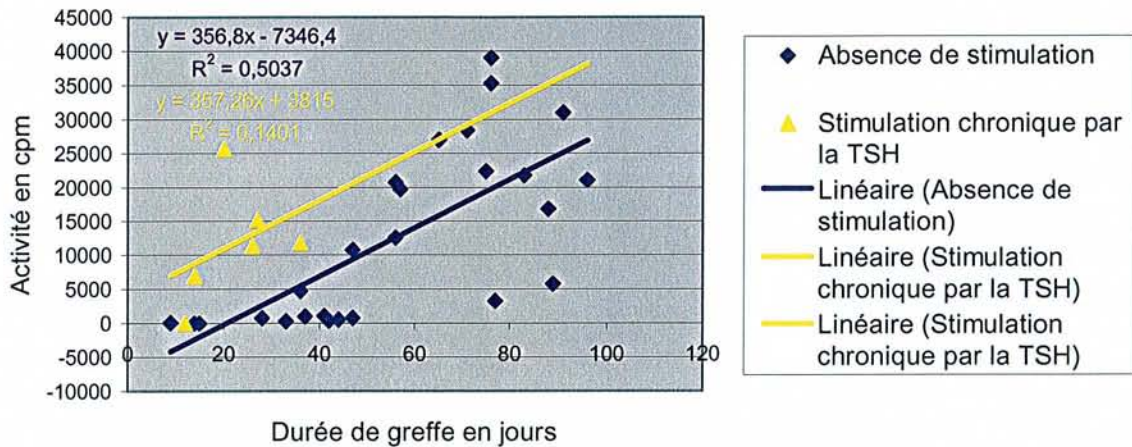
L'activité moyenne au sein du greffon dans l'intervalle de 12 à 36 jours suivant la greffe est de 11853 cpm (souris D 787 exclue) ; dans l'intervalle de 145 à 171 jours suivant la greffe, elle est de 34102 cpm.

En excluant les résultats de la souris D787, la capture de l'iode 123 au niveau de la thyroïde greffée est significativement augmentée par les injections chroniques de TSHrh au cours des 36 premiers jours de greffe, par rapport aux souris non stimulées ($p = 0,036$).

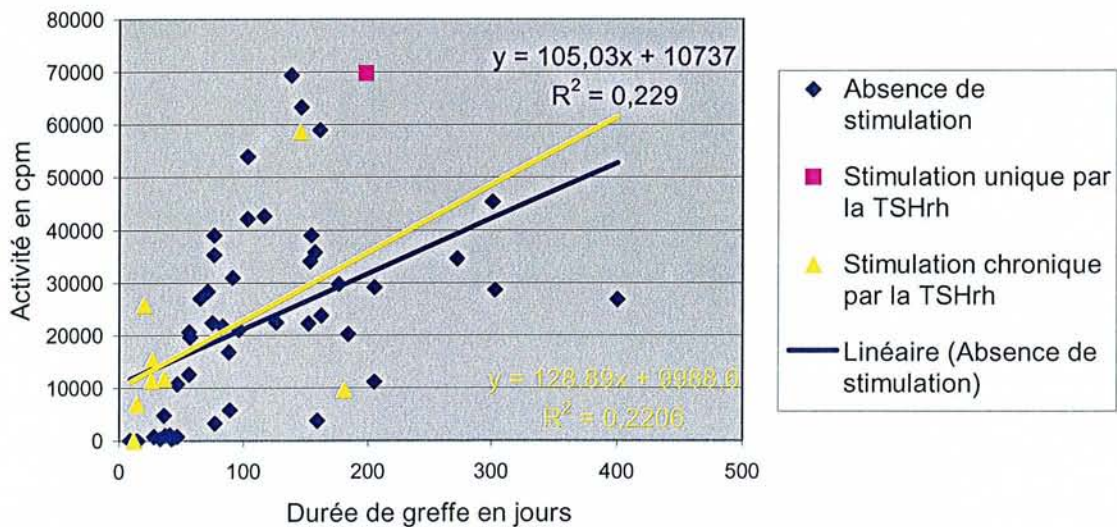
La capacité de fixer l'iode semble apparaître plus précocement au niveau du greffon, lors de la stimulation chronique. Pour les deux scintigraphies réalisées après 100 jours de greffe, les résultats sont trop différents pour leur attribuer une signification. Toutefois, on remarque qu'à l'inverse de l'activité totale, l'activité de la thyroïde greffée a tendance à augmenter avec le temps de greffe (à confirmer par une étude ultérieure).

- Évolution de l'activité de la thyroïde greffée : récapitulatif

Evolution de l'activité de la thyroïde greffée au cours des 100 premiers jours suivant la greffe



Evolution de l'activité de la thyroïde greffée après la greffe



3.2.1.5. Comparaison des activités respectives de la thyroïde de la souris et de la thyroïde greffée

Dans ce chapitre, l'activité de la thyroïde de la souris et celle de la thyroïde greffée sont exprimées en pourcentage par rapport à l'activité totale qui représente la somme de ces deux activités.

Une scintigraphie de la pré-série a été réalisée en masquant, avec un manteau de plomb, la partie gauche de l'abdomen de la souris (estomac et point d'injection masqués).

Souris	Date scintigraphie	Durée de greffe en jours	Activité totale en cpm	Activité de la thyroïde murine en cpm	% thyroïde souris dans l'activité totale	Activité de la thyroïde greffée en cpm	% thyroïde greffée dans l'activité totale
D493	07/09/00	176	30693	944	3	29749	97
D493Pb	07/09/00	176	29335	911	3.5	28424	96.5

On constate que le fait de masquer la fixation de l'estomac et du point d'injection ne modifie pas de façon majeure les résultats de la scintigraphie lorsqu'il s'agit de comparer l'activité de la thyroïde greffée et celle de la thyroïde murine. Les activités observées au niveau du point d'injection ou de l'estomac ont été négligées ensuite afin de simplifier l'analyse de la part respective de chaque thyroïde dans l'activité totale.

- Sans stimulation par de la TSHrh (cf **tableau 19 annexe 3**)

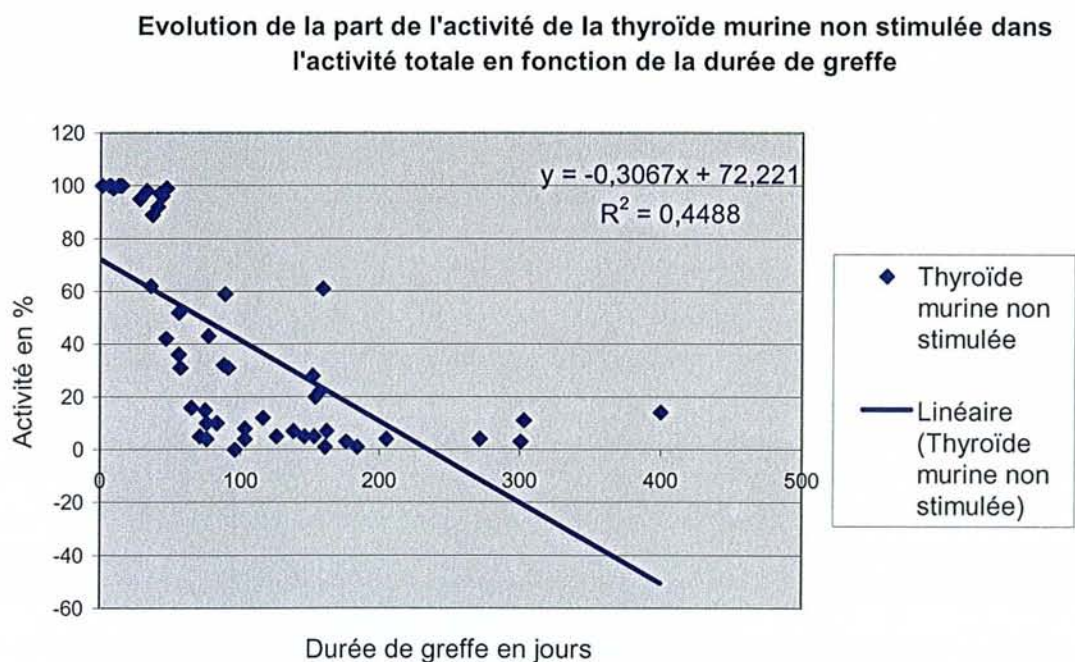
En moyenne, entre 1 et 100 jours de greffe, la part représentée par la thyroïde greffée dans l'activité totale est de 39,5 % ; entre 1 et 36 jours de greffe, elle est de

4.6 % ; entre 37 et 100 jours de greffe, elle est de 57 % ; entre 100 et 200 jours de greffe, elle est de 89 % et enfin après 200 jours de greffe, elle est de 93 %.

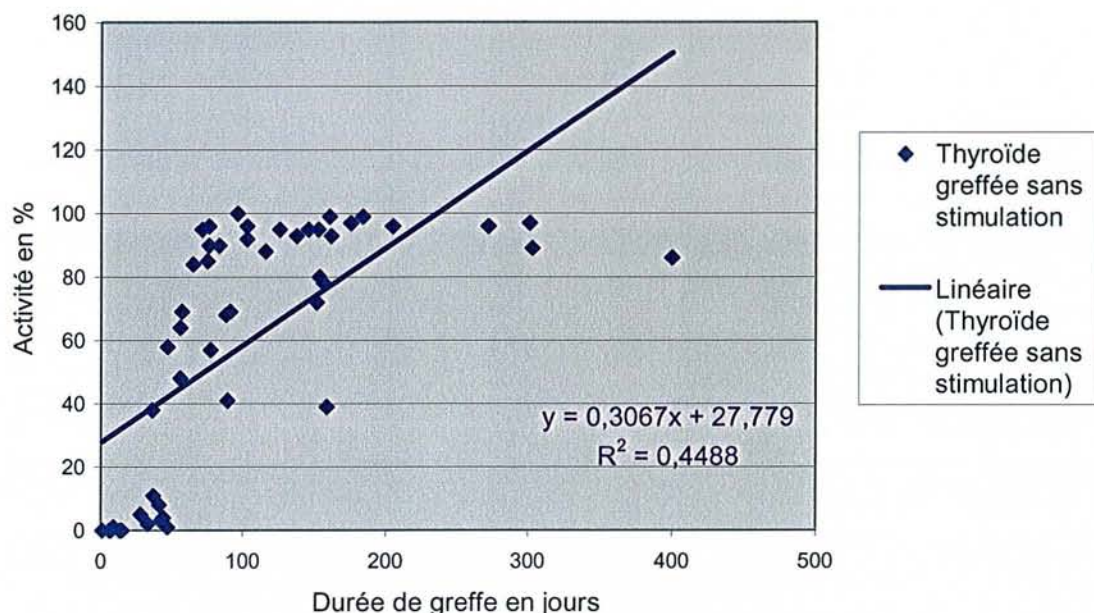
L'augmentation de la part de l'activité de la thyroïde greffée dans l'activité totale ainsi que la diminution de la part de l'activité de la thyroïde murine dans l'activité totale sont statistiquement significatives tout au long de la durée de greffe.

En effet, la diminution de l'activité de la thyroïde murine est statistiquement significative pendant toute la durée de greffe puisque l'étude des coefficients de corrélation montre une relation inverse entre l'activité de la thyroïde murine et la durée de greffe avec un coefficient de $-0,67$ ($p < 0,0001$).

L'étude statistique (coefficient de corrélation de Pearson) montre une corrélation statistiquement significative entre la durée de greffe et l'activité du greffon avec un coefficient de corrélation de $0,67$ ($p < 0,0001$).



Part de l'activité de la thyroïde greffée dans l'activité totale



- Après une seule injection de TSHrh (cf **tableau 20 annexe 3**)

Il apparaît que l'injection unique de TSHrh ne modifie pas la répartition de l'activité entre la thyroïde greffée et la thyroïde de la souris, même si elle majore l'activité de la thyroïde de la souris et de la thyroïde greffée, comme nous l'avons vu précédemment. Cette majoration semble se faire dans les mêmes proportions.

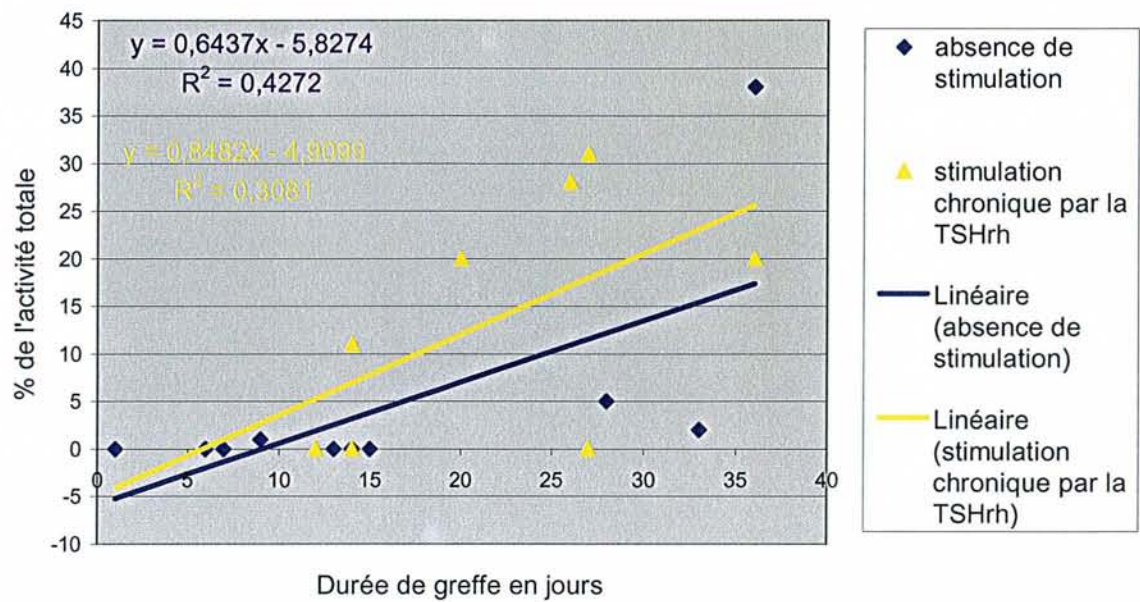
- Après des injections chroniques de TSHrh (cf **tableau 21 annexe 3**)

En moyenne, entre 12 et 36 jours de greffe, la part représentée par la thyroïde greffée dans l'activité totale est de 14 % (18 % si la souris D787 est exclue).

En moyenne, entre 100 et 200 jours de greffe, la part représentée par la thyroïde greffée dans l'activité totale est de 73 %.

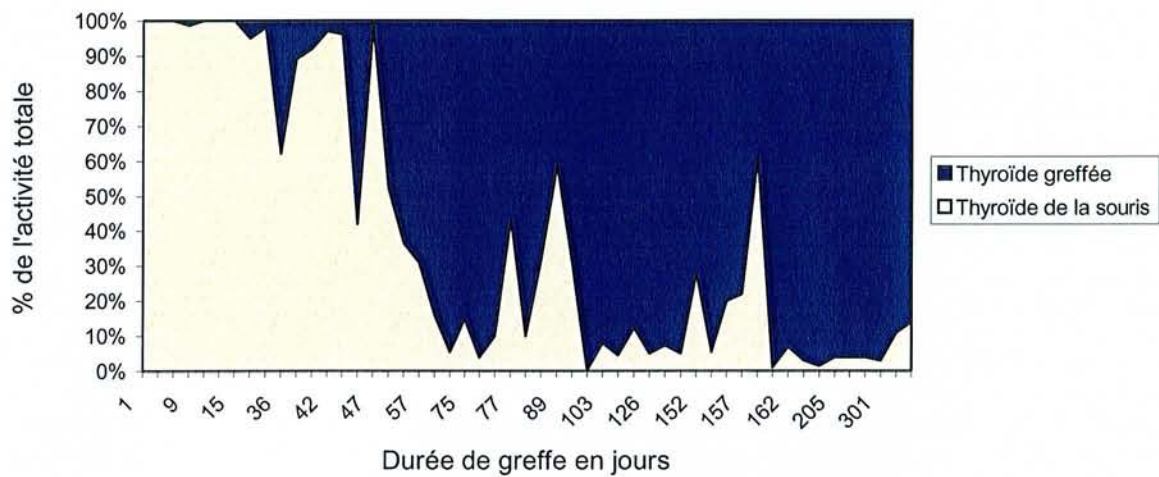
Pendant les 36 premiers jours de greffe, la part de la thyroïde greffée dans l'activité totale est significativement augmentée pour les souris stimulées de façon chronique par rapport aux souris non stimulées ($p = 0,0414$).

Evolution de la part de la thyroïde greffée dans l'activité totale en fonction de la stimulation par la TSHrh au cours des 36 premiers jours de greffe

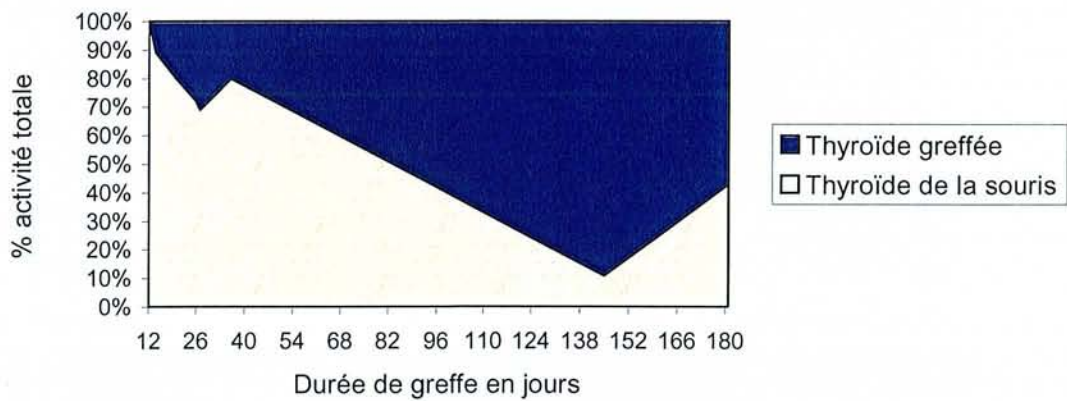


- Synthèse de l'évolution des activités respectives des thyroïdes murines et greffées en fonction de la durée de greffe et de la stimulation par la TSHrh

Parts de la thyroïde de la souris et de la thyroïde greffée dans l'activité totale en scintigraphie en l'absence de stimulation



Parts respectives de la thyroïde de la souris et de la thyroïde greffée dans l'activité totale en scintigraphie après stimulation chronique par la TSHrh



3.2.1.6. Cas particulier de 5 souris suivies régulièrement en scintigraphie

(cf tableau 22 annexe 3)

Une augmentation de la part de l'activité de la thyroïde greffée dans l'activité totale est notée chez les 5 souris. Cette évolution semble se faire à un rythme assez comparable pour chaque souris. Toutefois, les deux greffons de 9 SG (D 630 et D 643) semblent présenter un accroissement plus précoce et plus intense de leur activité que les greffons de 7 SG (D 621, D 623 et D 625).

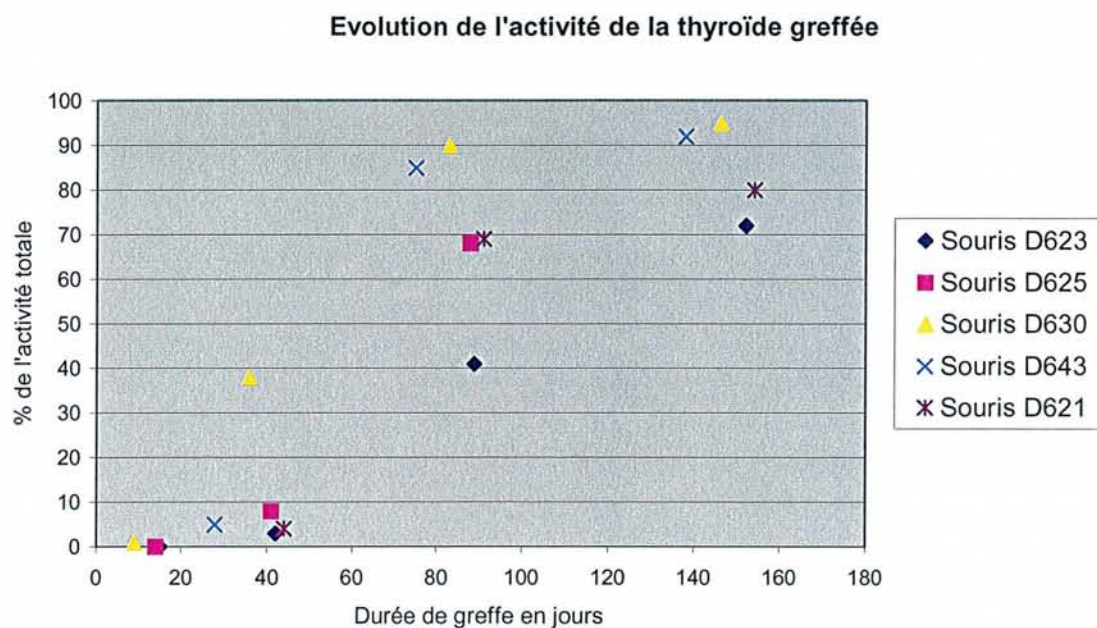
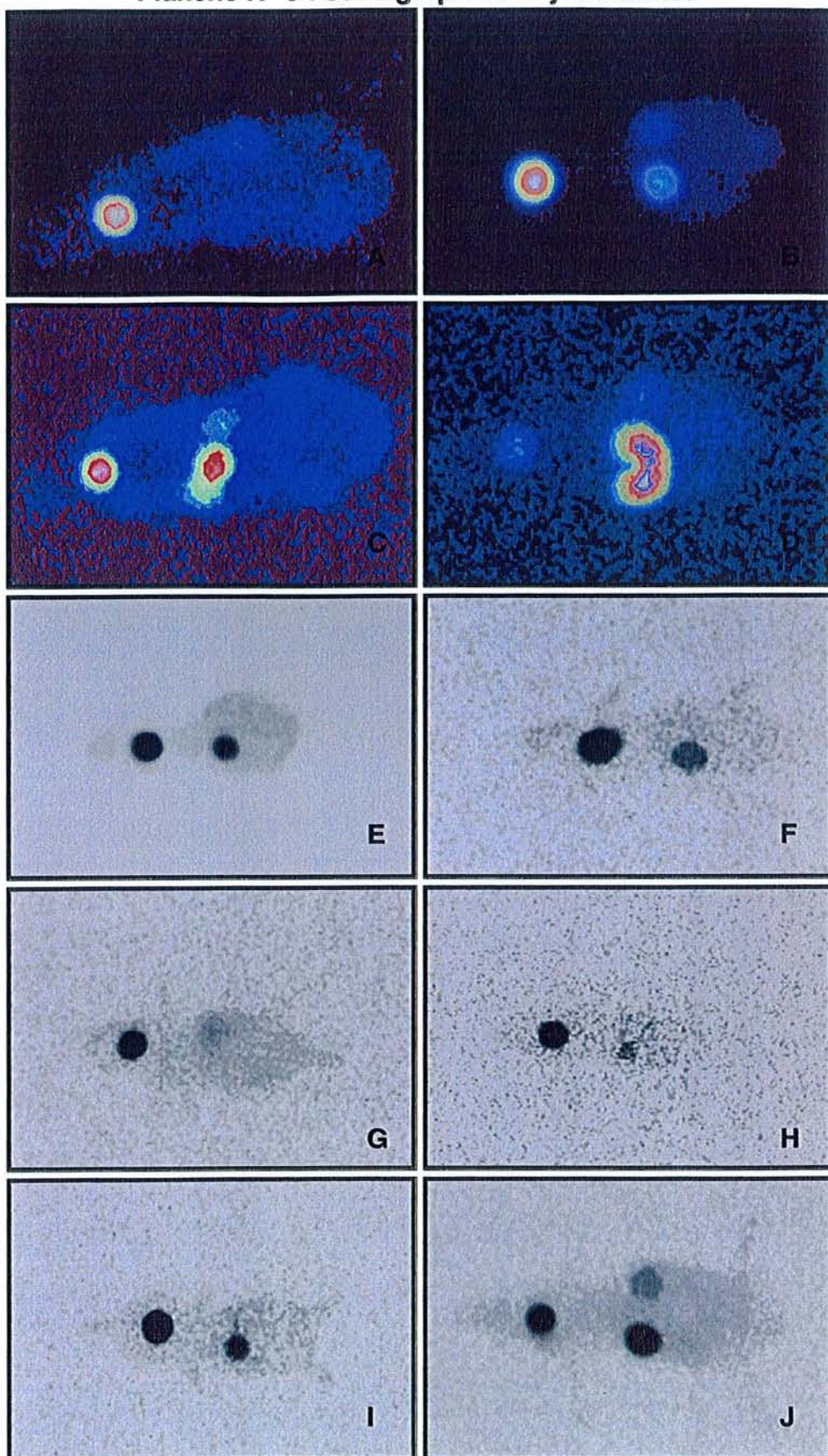


Planche N° 5 : scintigraphies thyroïdiennes



3.2.2. Biologie (cf tableau 23 annexe 4)

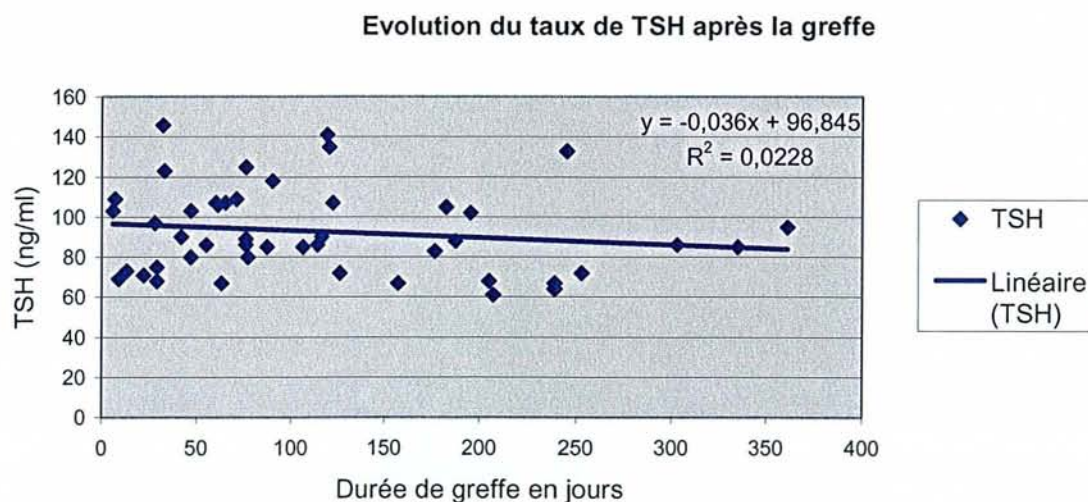
3.2.2.1. Évolution de la TSH murine après la greffe (cf tableau 24 annexe 4)

- Sans stimulation par de la TSHrh (cf tableau 25 annexe 4)

46 dosages de TSH murine ont été réalisés dans un délai de 6 à 361 jours après la greffe et la TSH murine a été dosée chez 11 souris témoins. Le taux moyen de TSH chez les souris greffées est de 92 ng/ml.

13 dosages ont été réalisés dans l'intervalle 6-47 jours, avec un taux moyen de TSH de 93 ng/ml ; 12 dosages dans l'intervalle 55-90 jours, avec un taux moyen de TSH de 95 ng/ml ; 12 dosages dans l'intervalle 106-195 jours, avec un taux moyen de TSH de 100 ng/ml ; 9 dosages dans l'intervalle 205-361 jours, avec un taux moyen de TSH de 81 ng/ml.

Il n'existe pas de corrélation statistiquement significative entre l'évolution du taux de TSH et la durée de greffe (coefficient = 0,049 et $p = 0,77$), au cours des 200 premiers jours de greffe.



11 dosages ont été réalisés chez des souris nude sans greffe thyroïdienne. Le taux moyen de TSH est alors de 79,5 ng/ml.

- Après une seule injection de TSHrh (cf **tableaux 26 et 27 annexe 4**)

Le taux moyen de TSH est de 84 ng/ml.

La modification du taux de TSH après une injection de TSHrh n'est pas significative ($p = 0,73$).

Le taux de TSH est peu modifié chez la souris témoin par l'injection unique de TSHrh.

Cette augmentation, non significative du taux de TSH après injection ponctuelle de TSHrh, est peut-être liée à la technique de dosage (interférence minime mais existante de la TSH humaine) ou à la réalisation trop prématurée du dosage après l'injection de TSHrh, la TSH murine n'ayant pas encore eu le temps de s'abaisser consécutivement à l'augmentation de la T4.

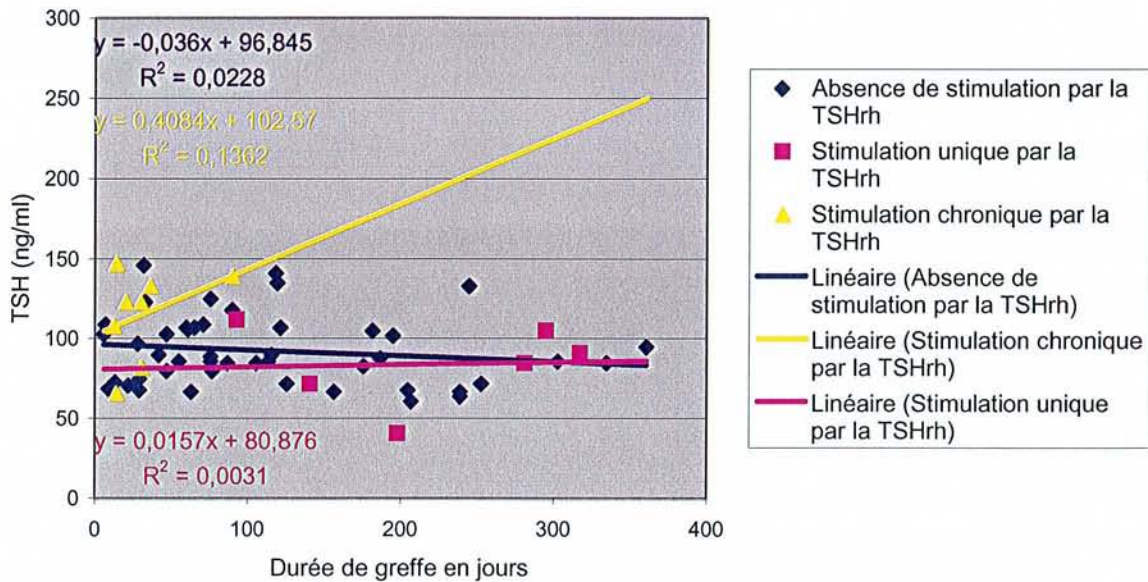
- Après des injections chroniques de TSHrh (cf **tableau 28 annexe 4**)

Le taux moyen de TSH après stimulation chronique par la TSHrh est de 115 ng/ml.

Le taux moyen de TSH après stimulation chronique par la TSHrh entre 12 et 36 jours de greffe est de 112 ng/ml et 90 jours après la greffe, il est de 139 ng/ml.

Pendant les 36 premiers jours suivant la greffe, ces valeurs sont significativement plus élevées que celles observées chez les souris greffées non stimulées ($p = 0.041$).

Evolution du taux de TSH murine après la greffe



3.2.2.2. Évolution de la T4 murine après la greffe (cf **tableau 29 annexe 4**)

- Sans stimulation par de la TSHrh (cf **tableau 30 annexe 4**)

- 36 dosages de T4 totale ont été réalisés dans un délai de 9 à 335 jours après la greffe chez des souris non stimulées.

Le taux de T4 totale moyen est de 29 nmol/l.

Entre 9 et 33 jours de greffe, le taux moyen de T4T est 19 nmol/l.

10 dans l'intervalle 9-47 jours. Le taux de T4T moyen est 22 nmol/l.

11 dans l'intervalle 55-90 jours. Le taux de T4T moyen est 28 nmol/l.

10 dans l'intervalle 106-195 jours. Le taux de T4T moyen est 36 nmol/l.

5 dans l'intervalle 205-335 jours. Le taux de T4T moyen est 28 nmol/l.

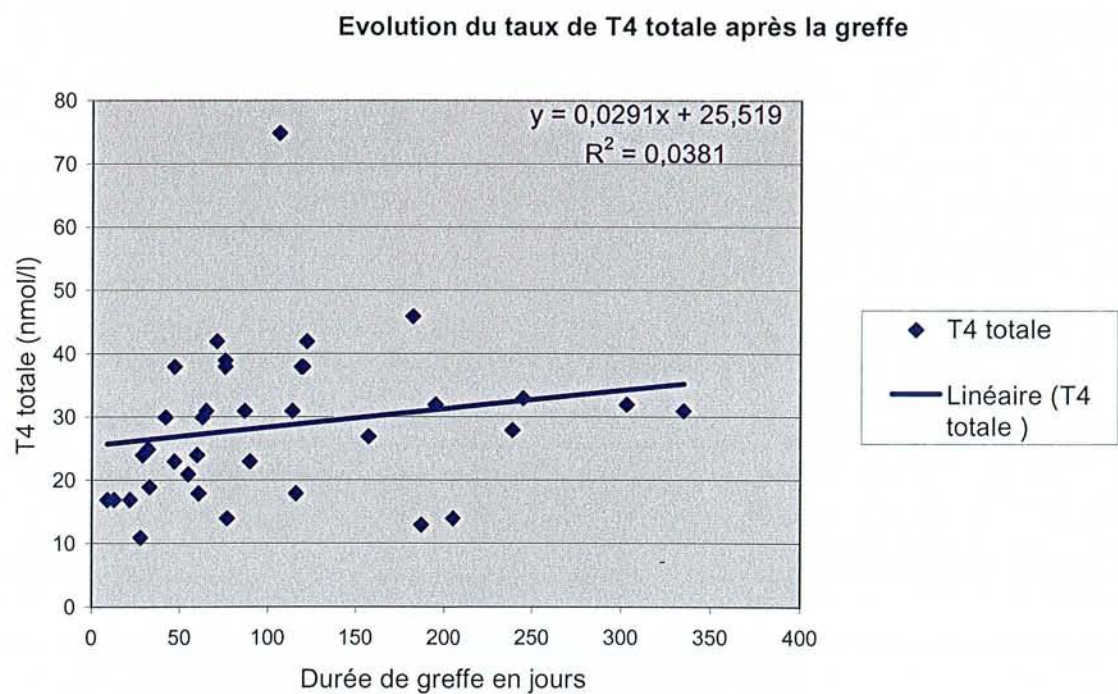
- 8 dosages ont été réalisés chez des souris témoins non greffées. Le taux de T4T moyen est 22 nmol/l.

Au cours des 200 premiers jours de greffe, il existe une corrélation positive entre la durée de greffe et le taux de T4T, à la limite de la significativité (coefficient de corrélation=0,34 et p=0,06).

Si l'étude est élargie à toute la durée de greffe, alors la corrélation n'est plus du tout significative (coefficient de corrélation=0,19 et p=0,25).

La comparaison entre les taux de T4T observés chez les souris greffées sans stimulation, avant et après 100 jours de greffe, montre une différence à la limite de la significativité avec p=0.06.

En revanche, la comparaison des taux de T4T des souris greffées sans stimulation après 100 jours de greffe et des taux de T4T des souris témoins montre une différence significative avec p = 0,02.



- Après une seule injection de TSHrh (cf **tableaux 31 et 32 annexe 4**)

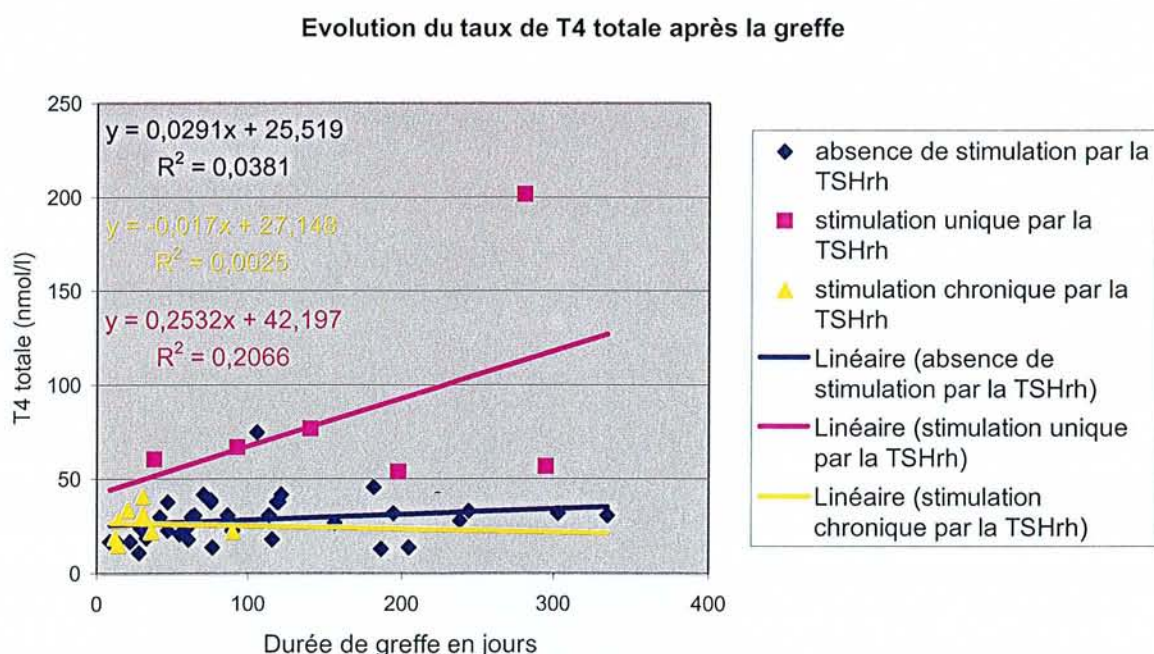
7 dosages de T4T ont été réalisés environ 6 heures après une injection intrapéritonéale de TSHrh dont l'un chez une souris non greffée. Les souris étaient greffées depuis 38 à 295 jours. Le taux de T4 totale moyen est de 86 nmol/l.

Cette augmentation du taux de T4T des souris greffées et stimulées une fois par la TSHrh est significative par rapport aux taux de T4T observés chez les souris greffées non stimulées ($p = 0.0002$).

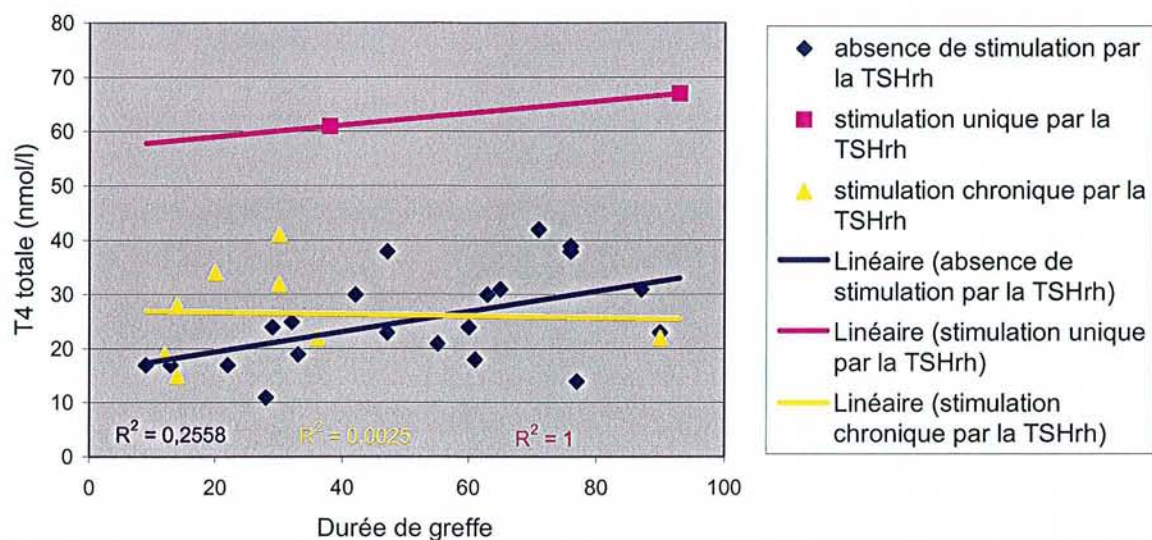
- Après des injections chroniques de TSHrh (cf **tableau 33 annexe 4**)

8 dosages de T4 totale ont été réalisés après des injections quotidiennes de TSHrh à partir du jour de greffe. Les dosages ont été réalisés 12 à 90 jours après la greffe. Le taux de T4 totale moyen est de 27 nmol/l. Le taux de T4 totale moyen 12 à 36 jours après la greffe est de 27 nmol/l et 90 jours après la greffe, il est de 22 nmol/l.

Il n'existe pas de différence significative entre les taux de T4T observés sans stimulation et ceux observés lors de la stimulation chronique ($p = 0,84$).



Evolution du taux de T4 totale au cours des 100 premiers jours de greffe



L'ensemble des résultats des examens complémentaires figure sur les **tableaux 34, 35, 36 (annexe 5)**

4. DISCUSSION

4.1. La prise du greffon

Le développement thyroïdien de la glande xénogreffée se poursuit malgré l'ischémie provoquée par l'interruption de la vascularisation lors de l'IVG et l'impossibilité de rétablir microchirurgicalement la continuité artérielle et veineuse entre le greffon et l'hôte au moment de la greffe. Que la thyroïde soit séparée ou maintenue au contact du larynx et de la trachée et quel que soit l'âge gestationnel du greffon, toutes les greffes que nous avons réalisées ont pris. A terme, le volume des thyroïdes isolées était toutefois plus important que celui des glandes associées au larynx et à la trachée. Ceci peut s'expliquer par une meilleure vascularisation, liée à l'absence «d'encombrements anatomiques» des faces postérieure et latérales des greffons uniquement glandulaires. Le rôle anti-angiogène du cartilage ne peut toutefois être totalement exclu. Cette hypothèse est cependant extrêmement peu probable au vu des développements très importants et strictement normaux de tous les tissus du larynx et de la trachée greffés.

Le choix d'un site receveur, bien vascularisé, possédant de plus, une vaste zone d'échanges transpéritonéaux et la petite taille des greffons permet une nutrition relais par la diffusion interstitielle de l'oxygène et des molécules énergétiques évitant ainsi les nécroses induites par l'ischémie « chaude ». Si ces conditions sont nécessaires et bien démontrées par de nombreux travaux du laboratoire (59), (1), elles ne sont toutefois pas suffisantes comme le prouvent les échecs constants des greffes de système nerveux central, entreprises au laboratoire depuis des années. Une revascularisation rapide du greffon par une vasculogenèse et une néoangiogenèse à partir du mésenchyme de la greffe, puis le raccordement de ces néovaisseaux au réseau vasculaire de l'hôte sont indispensables pour permettre une reprise rapide

des divisions et différenciations cellulaires. Ces processus sont sous la dépendance de très nombreux facteurs de croissance produits par les tissus du greffon. Quelques-uns seulement de ces facteurs commencent à être bien connus, tel le *vascular endothelial growth factor* (VEGF) sécrété par les cellules en ischémie relative comme cela a été démontré dans un autre travail du laboratoire (79). L'expression du VEGF est augmentée immédiatement après la greffe dans les greffons de tissus thyroïdiens adultes. Mais, trois semaines après la greffe, son expression redevient identique à celle observée dans une thyroïde normale. Dans le tissu thyroïdien embryonnaire greffé, l'expression du VEGF est plus importante que dans le tissu thyroïdien adulte, ce qui explique l'excellente vasculogénèse constatée. Enfin, l'athymie de l'hôte évite les rejets suraigus, aigus et chroniques. Cette absence de rejet, de nécrose ischémique et de réaction inflammatoire explique l'absence quasi-complète de fibrose des greffons, même après des périodes de greffe supérieures à un an.

4.2. Le développement morphologique et la différenciation normale des tissus thyroïdiens

Le tissu thyroïdien fœtal humain greffé a un développement morphologique et une différenciation normale en dépit des anomalies du développement thyroïdien observées par certains auteurs chez la souris nude. En effet, certains auteurs rapportent une hypotrophie de la glande thyroïde chez la souris nude (70), (72). Cette anomalie serait présente dès la période fœtale. Quoi qu'il en soit de ces anomalies, elles n'inter-réagissent pas avec le développement du greffon humain.

4.2.1. Les différenciations épithéliales et vasculaires

La croissance macroscopique correspond essentiellement au développement de l'épithélium thyroïdien qui a un aspect histologique normal, tant à l'échelle tissulaire que cellulaire. Initialement, l'épithélium est de type fœtal, puis adulte. Cet aspect normal se maintient pendant toute la durée de la greffe, dépassant, pour certaines de nos observations, un an et demi, et aboutit à la constitution d'un micro-organe formé de tissu épithélial, conjonctif et vasculaire de type adulte.

En effet, en plus du développement épithélial, un réseau vasculaire à capillaires fenêtrés, spécifique notamment des glandes endocrines et en particulier de la thyroïde, apparaît dans la glande greffée.

De même, les glandes parathyroïdes, la trachée et le larynx greffés en même temps que la thyroïde ont, eux aussi, un développement histologiquement normal. Ces tissus, de plus, ne modifient pas l'aspect histologique du tissu thyroïdien. Paradoxalement, aucune cellule C n'a été observée, tant en microscopie optique qu'électronique. Une étude complémentaire immunohistochimique mériterait donc d'être envisagée pour découvrir ou non l'existence de cellules précurseurs des cellules C.

4.2.1.1. La différenciation épithéliale thyroïdienne

La description en microscopie optique et électronique du tissu thyroïdien examiné avant la greffe correspond à la description classique (11), toutefois, l'examen en microscopie électronique met en évidence la présence de colloïde à un stade plus précoce de la gestation, puisque de la colloïde est observée dès 9 semaines de

gestation dans notre étude alors qu'elle apparaît habituellement vers la 10^{ème} semaine.

Après des durées variables de greffe, les examens en MO et MET, mettent en évidence un développement de l'épithélium thyroïdien comparable à celui décrit chez l'embryon et le fœtus humain *in utero* par Shepard (11) et par Chan (13). La taille des follicules thyroïdiens et la quantité de colloïde qu'ils contiennent sont semblables à celles connues chez le fœtus normal.

La synthèse de colloïde se produit apparemment normalement au niveau des greffons, mais les signes morphologiques de résorption sont, bien qu'indiscutables, moins patents que chez le fœtus normal. Ces signes de synthèse sont retrouvés pendant toute la durée de greffe, y compris pour les greffes dont la durée dépasse un an.

4.2.1.2. La différenciation vasculaire

Dès le troisième jour de greffe, comme pour les autres organes embryonnaires et fœtaux humains qui ont été microchirurgicalement greffés au laboratoire chez des souris nude, on observe, au niveau du tissu conjonctif des greffons, de nombreux vaisseaux avec une lumière perméable occupée par des hématies de la taille de celles de souris. Les examens ultérieurs en microscopie électronique à transmission montrent la présence de capillaires fenêtrés, caractéristiques notamment de la glande thyroïde. Ainsi, l'organe greffé est le siège d'une différenciation spécifique des vaisseaux le vascularisant. Ceci démontre que les régulations épithélio-mésenchymateuses de la glande greffée sont préservées. Cette constatation avait déjà été faite par Molne (80) à l'occasion de greffes de tissu thyroïdien adulte chez la souris nude. Il a, en effet, décrit l'apparition de capillaires fenêtrés dès 4 semaines

après la greffe et leur augmentation pendant le temps de maintien de la greffe (8 semaines supplémentaires).

L'hypervascularisation des greffons de tissu thyroïdien embryonnaire et fœtal par rapport au tissu adulte (81) est peut-être en rapport avec une expression plus importante du VEGF constatée au sein des thyroïdes embryonnaires greffées.

4.2.1.3. La différenciation des autres tissus greffés

Les glandes parathyroïdes, le larynx et la trachée greffés avec la glande thyroïde ont une différenciation histologique normale alors que, paradoxalement, la recherche de cellules C a toujours été négative avec les techniques histologiques standards. Pour les greffons d'âge gestationnel inférieur à 9 semaines, l'absence de cellules C peut être expliquée par une absence de fusion des corps ultimo-branchiaux, origine des cellules précurseurs des cellules C, avec le corps thyroïde. Mais cette explication ne peut être retenue pour les nombreux greffons de plus de 9 semaines de gestation. Une recherche par immunomarquage avec des anticorps spécifiques des précurseurs des cellules C mériterait d'être réalisée pour savoir si ces cellules existent et ne se différencient pas malgré une très longue période de greffe ou si elles étaient absentes lors de la greffe.

4.2.1.4. Chimérisme homme-souris

Dans les nombreux organes embryonnaires et fœtaux humains qui ont été greffés au laboratoire chez des souris nude, l'étude par hybridation *in situ* des oligosondes complémentaires des ADN humain et murin a permis de montrer que tous les tissus caractéristiques de la physiologie des greffons sont d'origine humaine et que seules quelques cellules endothéliales de certains vaisseaux, après de longues périodes de

greffe, et une petite quantité de myofibroblastes sont murins (1). Bien que cette étude n'ait pas été entreprise sur les glandes thyroïdes que nous avons étudiées, le chimérisme homme-souris semble, au vu des aspects histologiques, extrêmement réduit.

4.2.2. Le développement homothétique du greffon

Les greffons de tissu thyroïdien adulte normal implantés chez la souris nude ne se développent pas, bien qu'ils prennent. Il n'existe donc pas, dans ce cas, d'accroissement de leur volume après la greffe. Parmi les tissus thyroïdiens cancéreux greffés, seuls les plus indifférenciés ont une croissance.

A l'inverse, les tissus thyroïdiens humains embryonnaires et fœtaux greffés ont une croissance pendant plusieurs semaines après leur greffe chez la souris nude.

Ensuite, quelle que soit la durée de la greffe, la taille du greffon reste stable, comme si elle demeurait proportionnelle à celle de son hôte. Cette constatation n'est pas propre à la thyroïde puisque tous les organes embryonnaires et fœtaux humains greffés chez la souris nude, au laboratoire, ont eu la même évolution.

Le développement embryonnaire et fœtal est caractérisé par une capacité de régulation permettant un développement harmonieux de chaque organe assurant un état d'équilibre à l'organisme entier. Après sa greffe, l'organe pourrait rester soumis à un système de régulation comparable mais cette fois à l'échelle de l'organisme de la souris, ce qui expliquerait un développement en deux phases : une phase initiale de promotion de l'organe, puis une phase d'équilibre avec le reste de l'organisme.

4.2.3. Le rôle des hormones dans le développement morphologique

In utero, la glande thyroïde embryonnaire puis fœtale n'est soumise à une régulation par l'axe hypothalamo-hypophysaire fœtal qu'à partir de la deuxième moitié de la grossesse. On peut donc se demander si, avant cette période, une régulation des développements de la thyroïde est effectuée par l'axe hypothalamo-hypophysaire maternel, ce qui impliquerait un passage transplacentaire de facteurs de régulation. L'étude de la littérature montre qu'il n'existe pas de passage transplacentaire de la TSH maternelle (27), (16) mais que la TRH peut traverser le placenta à dose pharmacologique (40), (41). Toutefois, le taux circulant de TRH est physiologiquement faible, son passage transplacentaire peut donc être considéré sans effet patent. Le rôle de la TRH extra hypothalamique et de l'hCG reste à préciser. De plus, la diminution du rapport TSH/T4 avec l'évolution de la grossesse est en faveur d'une sensibilité moindre de la thyroïde fœtale à la TSH en début de grossesse. Pour toutes ces raisons, il semble exister, *in utero*, une première phase de développement thyroïdien indépendante de la TSH et de la TRH maternelles et fœtales, puis une mise en place progressive de la régulation hypothalamo-hypophysaire fœtale.

Comme la greffe de la thyroïde fœtale humaine est réalisée à une période où elle n'est classiquement pas ou très peu stimulée par la TSH fœtale, il convient de se demander si les hormones produites par l'axe hypothalamo-hypophysaire de la souris ne modifient pas le développement et la différenciation de cette glande. Pour tenter de répondre à cette question, Peter a étudié l'incorporation de thymidine tritiée par les cellules thyroïdiennes embryonnaires humaines greffées chez des souris

nude en fonction de variations du taux de TSH de la souris-hôte (67). Lorsqu'il greffe des thyroïdes embryonnaires humaines âgées de 8 à 10 semaines, il montre, qu'après 8 semaines de greffe, le développement morphologique de la glande greffée se poursuit malgré la freination de la TSH murine. L'incorporation de thymidine tritiée n'est que peu diminuée lorsque la TSH murine s'abaisse. Toutefois, à cette période, il constate une augmentation de l'incorporation de thymidine tritiée lorsque le taux de TSH de la souris s'élève. Le rôle de la TSH murine n'est donc pas indispensable à la croissance de la thyroïde fœtale humaine greffée, mais, à cette période, son action peut se manifester lorsqu'elle est en excès.

De cette étude, il ressort donc que le développement morphologique du greffon thyroïdien est peu sensible à l'action de la TSH de la souris 8 semaines après la greffe, excepté lorsque sa concentration est excessive. Mais à des temps de greffe plus précoces, le tissu thyroïdien est-il plus ou moins sensible à des taux élevés de TSH et en particulier à la TSH humaine ?

Pour répondre à cette question, nous avons administré, de façon chronique et immédiatement après l'implantation, de la TSHrh à des souris greffées.

L'administration quotidienne prolongée de TSHrh, dès le lendemain de la greffe, ne modifie pas, même après de longues périodes de stimulation, le volume global de la glande et l'aspect histologique du tissu, tout au plus le stroma conjonctif est-il un peu moins abondant. Comme nous n'avons réalisé, à la période initiale de greffe, que quelques examens macroscopiques suivis de prélèvements pour une étude histologique, nous ne pouvons affirmer avec certitude que la TSH est sans effet sur la croissance des thyroïdes fœtales humaines greffées chez la souris nude. Si toutefois cette action existe, elle n'est que de faible intensité.

Il serait donc intéressant de compléter ce travail par une étude morphologique comparée des greffons stimulés et des greffons non stimulés en période initiale de greffe pour savoir s'il existe, à cette période, une sensibilité du greffon thyroïdien à la TSH. De toute façon, une réponse à une dose pharmacologique de TSHrh ne serait pas synonyme d'une réponse à un taux physiologique de TSH murine. Il serait utile de rechercher, par immunomarquage, la présence du récepteur de la TSH sur les cellules thyroïdiennes, et surtout de mettre en évidence le moment de son apparition. Ceci permettrait peut-être de comprendre si l'apparente insensibilité à la TSHrh du tissu thyroïdien fœtal (concernant son développement morphologique), en période initiale de greffe, est liée à l'absence de récepteur spécifique ou plutôt à l'existence de facteurs de croissance plus puissants, minimisant le rôle de la TSH.

4.3. Le développement fonctionnel des thyroïdes greffées

4.3.1. La capture de l'iode

Dès 1967, Evans (14) a prouvé que de l'iode 131, administré à la mère, était fixé par la thyroïde de son fœtus après 12 semaines de gestation et Smeds a montré que le tissu thyroïdien adulte greffé chez des souris nude gardait la capacité de fixer l'iode radioactif (62). Enfin, dans la même étude que celle citée antérieurement, Peter a mis en évidence que, 8 semaines après la greffe, des thyroïdes fœtales de 8 à 10 semaines de grossesse fixaient l'iode 131.

Toutes les scintigraphies que nous avons réalisées après 28 jours de greffe ont montré une fixation de l'iode 123 au niveau du greffon et ceci quel que soit l'âge gestationnel du greffon au moment de la greffe. Comme la part de la fixation de la

thyroïde greffée dans la fixation totale augmente significativement en fonction de la durée de la greffe alors que le volume du greffon cesse de s'accroître après environ 100 jours de greffe, l'augmentation constante de la capture de l'iode 123 par le greffon ne peut être attribuée qu'à l'augmentation de son volume. Cet accroissement de la capture est donc très probablement en relation avec une maturation fonctionnelle du tissu thyroïdien et notamment des transporteurs transmembranaires. Enfin, à l'inverse, la part de la fixation de la thyroïde murine dans la fixation totale décroît significativement en fonction de la durée de greffe. Bien que le volume de la thyroïde de souris soit, après 3 mois de greffe, environ le dixième de celui de la thyroïde greffée, son activité ne devient jamais nulle, même pour les greffes maintenues pendant un an environ, ce qui pourrait s'expliquer soit par un feed-back hypophysaire incomplet, soit, plus probablement, par une diffusion ionique de l'iode 123, sans signification hormonale.

En ce qui concerne l'influence de l'âge du greffon au moment de la greffe sur la capture de l'iode 123, nos constatations corroborent celles rapportées par Evans *in utero* (14). En effet, pour les thyroïdes greffées à 7 SG, la fixation est certaine après 42 jours de greffe, la thyroïde greffée est alors âgée d'environ 12 à 13 semaines. Les thyroïdes greffées à 9 SG ont une fixation certaine après 28 jours de greffe, c'est-à-dire des glandes âgées elles aussi d'environ 13 semaines.

De ces résultats, on peut conclure que la capture de l'iode par les thyroïdes embryonnaires et fœtales humaines greffées chez la souris nude n'apparaît pas plus tardivement qu'*in utero*. L'IVG, puis la prise de la greffe, ne semblent donc pas modifier cet aspect fonctionnel du développement de la thyroïde embryonnaire et fœtale.

L'accroissement constant de la capture de l'iode 123 en fonction de la durée de greffe, sans augmentation proportionnelle du volume du tissu thyroïdien, démontre une différenciation fonctionnelle de la glande, probablement en rapport avec une maturation des différents processus biochimiques permettant l'hormonosynthèse. Avec un tel modèle, des études biochimiques fines du développement fonctionnel de la thyroïde fœtale humaine deviennent possibles et permettraient de mieux comprendre le processus de régulation thyroïdienne entre la mère et son fœtus, le placenta et le fœtus et enfin la thyroïde et ses interactions avec les sécrétions diencephalo-hypophysaires.

Enfin, l'absence de disparition complète de capture de l'iode 123 par la thyroïde de souris alors que la thyroïde humaine synthétise des hormones thyroïdiennes (CF infra) peut relever d'un mécanisme hormonal ou de diffusions ioniques qui nécessiteraient des études très complexes pour un résultat aux conséquences modestes.

4.3.2. Les preuves de la synthèse et de la sécrétion d'hormones thyroïdiennes

In utero, la thyroglobuline est détectée dans la glande thyroïde de l'embryon humain dès la cinquième semaine de gestation, alors que les iodothyronines sont seulement découvertes dans le parenchyme thyroïdien vers la dixième semaine de gestation. Enfin, la T4T et la T4L sériques sont dosables à partir de 11 semaines de gestation et leurs taux augmentent pendant toute la durée de la grossesse. En revanche, les études concernant la sécrétion d'hormones thyroïdiennes par du tissu thyroïdien adulte greffé chez la souris nude sont contradictoires. En effet, Leclère (60) ne montre pas de modification des taux de T4 et T3 chez les souris greffées avec du

tissu thyroïdien de maladie de Basedow, qui d'ailleurs reprend l'aspect du tissu thyroïdien normal après la greffe en l'absence de stimulation humorale, et ne découvre d'augmentations des taux de T3 et T4 que lors des greffes d'adénomes toxiques. A l'inverse, Dralle (63) met en évidence une augmentation significative des taux de T3 et T4 chez des souris greffées depuis 4 mois avec du tissu thyroïdien adulte bénin, qu'il s'agisse de tissu de maladie de Basedow, de thyrotoxicose induite par l'iode, et même de goitre non toxique.

La démonstration certaine de la sécrétion régulée ou non d'hormones thyroïdiennes par le greffon humain est difficile à apporter et ne peut résulter que d'un ensemble de signes complémentaires, à savoir des dosages d'hormones dans le sang, des valeurs de fixation de l'iode 123 et d'aspects histologiques de sécrétion.

4.3.2.1. Arguments biologiques

Chez les souris greffées et témoin, nous avons dosé la T4T sanguine par une technique standard, ne permettant probablement pas de différencier la T4T humaine de la T4T murine. En revanche, les dosages de la TSH sont spécifiques de la TSH murine.

Le taux de T4T des souris non greffées est, en moyenne, de 22 nmol/l, celui des souris greffées de 29 nmol/l. Il existe une corrélation à la limite de la significativité entre l'évolution du taux de T4T et la durée de greffe au cours des 200 premiers jours de greffe ($p=0,06$). Le taux de T4T des souris greffées depuis 100 à 200 jours est significativement plus élevé que celui des souris témoins ($p=0,02$). Après 200 jours de greffe, le taux de T4T diminue sans toutefois revenir à un taux comparable à celui des souris témoins. Ces taux de T4T après la greffe sont très en faveur d'une sécrétion d'hormones thyroïdiennes par le greffon thyroïdien humain. Cette

augmentation significative du taux de T4T n'est paradoxalement pas associée à une baisse du taux de TSH de la souris. En effet, le taux de TSH moyen des souris témoins est 79,5 ng/ml alors que celui après la greffe est de 92 ng/ml. On note que les taux de TSH ont tendance à s'élever jusqu'à 200 jours de greffe (taux moyen de TSH entre 100 et 200 jours de greffe à 100 ng/ml) puis redeviennent semblables à ceux des souris témoins après le 200^{ème} jour de greffe.

Cette augmentation du taux de T4T, sans diminution significative du taux de TSH entre le 50 et le 200^{ème} jour de greffe, tendrait à prouver que la T4T sécrétée par la thyroïde humaine n'est que partiellement reconnue par l'hypophyse de souris. Comme nous n'avons pas retrouvé, dans la littérature médicale, d'étude semblable à la nôtre, il est difficile de se prononcer sur le mécanisme susceptible d'expliquer ces résultats. Des études complémentaires mériteraient d'être envisagées.

4.3.2.2. Arguments scintigraphiques

Les scintigraphies mettent en évidence une réduction de la fixation de l'iode par la thyroïde de la souris alors que la fixation s'accroît au niveau de la thyroïde greffée tout au long de la greffe.

Cette fixation croissante au niveau de la thyroïde greffée ne peut être rapportée qu'à une augmentation de son volume puisque celui-ci se stabilise après environ 100 jours de greffe.

Si on admet que l'iode fixé est organifié pour permettre la synthèse hormonale fortement suggérée par les constatations histologiques, ceci serait en faveur d'une diminution de la synthèse, voire de la sécrétion des hormones thyroïdiennes, par la thyroïde de la souris, avec une augmentation simultanée de ces processus au niveau

de la thyroïde greffée. Ces résultats sont en accord avec ceux de Smeds (62) qui décrit, au niveau des thyroïdes des souris nude greffées, une captation iodée retardée, puis une fuite iodée ralentie par rapport aux souris témoins. Il évoque alors une suppression partielle du fonctionnement de la thyroïde murine par une production hormonale du tissu thyroïdien greffé. Une telle interprétation, sans variation du taux de TSH comme nous l'avons rappelé, impliquerait une sensibilité insuffisante de l'axe diencephalo-hypophysaire à l'action de la T4T humaine.

4.3.2.3. Arguments histologiques

L'étude en microscopie électronique à transmission de thyroïdes greffées depuis 10 semaines montre des aspects morphologiques indiscutables en faveur d'une synthèse de colloïde, associés à des signes de résorption de celle-ci, ce qui conforte les résultats des dosages de T4T et les aspects scintigraphiques.

Les constatations histologiques, biologiques et isotopiques que nous rapportons sont donc en faveur d'une synthèse d'hormones thyroïdiennes par des thyroïdes fœtales humaines greffées chez la souris nude.

Compte-tenu de l'absence de variation du taux de TSH, malgré la sécrétion extrêmement probable de T4T et des résultats des scintigraphies, il est nécessaire de s'interroger sur le système de régulation de l'organisme de l'hôte.

En ce domaine, au vu des résultats acquis lors de notre étude, seules quelques hypothèses qui mériteraient des recherches complémentaires peuvent être avancées.

Puisque l'augmentation du taux de T4T chez les souris greffées de 50 à 200 jours n'entraîne pas une diminution du taux de TSH de la souris, et qu'au mieux, après 200 jours de greffe, le taux est proche des souris témoins, il est possible que la sensibilité du rétrocontrôle négatif hypophysaire murin soit faible par rapport à la T4T humaine et, qu'en conséquence, le taux de TSH ne varie que très peu, quelle que soit la quantité de T4T humaine.

Une autre hypothèse paraît toutefois beaucoup plus vraisemblable. En effet, comme seules les formes libres des hormones thyroïdiennes sont à l'origine de la rétroaction hypophysaire et que les dosages réalisés correspondent à la T4 totale, on peut imaginer que l'hormone dosée est essentiellement la T4 liée et, qu'en conséquence, le feed-back n'est pas sollicité. Cette hypothèse expliquerait l'ensemble des constatations que nous avons pu faire.

Malgré un taux relativement élevé de TSH d'origine murine, on constate qu'à mesure que la thyroïde humaine fixe davantage l'iode 123, celle de la souris devient de moins en moins fixante. La seule hypothèse vraisemblable pour expliquer cette évolution pourrait résider dans une capture préférentielle de la TSH par la thyroïde humaine grâce à son volume dix fois plus élevé que celui de la souris. Cette interprétation aurait l'avantage d'être aussi conforme à une maturation progressive de la thyroïde humaine dont la quantité de récepteurs à la TSH augmente du fait de sa maturation avec le temps.

Pour tenter de préciser cette hypothèse, nous avons étudié la réponse de la thyroïde greffée à la TSH recombinante injectée à la souris en sachant qu'une réponse à une dose pharmacologique de TSH n'est pas synonyme de réponse à la TSH murine à dose physiologique.

4.3.3. Action de la TSH

In utero, la sensibilité de la glande thyroïde fœtale à la TSH s'accroît durant toute la grossesse comme le prouve la diminution du rapport TSH/T4 mais le moment à partir duquel la glande thyroïde est sensible à la TSH est difficile à établir car il dépend dans un premier temps de la maturation hypothalamo-hypophysaire et donc de la sécrétion de TSH. Dans le cas des greffes, il est possible d'évaluer la sensibilité à la TSH de la thyroïde indépendamment du système hypothalamo-hypophysaire du fœtus.

4.3.3.1. Sur la capture de l'iode 123

Lors de son étude sur les thyroïdes embryonnaires greffées chez les souris nude, Peter (67) a montré, à l'aide d'autoradiographies, que les thyroïdes greffées étaient capables d'accumuler et d'organifier l'iode. L'accumulation de l'iode 131 était nettement moindre en cas de freinage de la TSH de la souris et nettement majorée en cas d'augmentation de la TSH de la souris par un traitement anti-thyroïdien de synthèse. Pour ces thyroïdes greffées depuis 8 semaines, il existe donc une forte sensibilité au niveau de TSH en ce qui concerne la capture de l'iode.

4.3.3.1.1. Après une seule injection de TSHrh

Parmi les 7 souris greffées ayant été stimulées par une injection unique de TSHrh, une seule scintigraphie a pu être réalisée. Elle a été comparée à une scintigraphie récente de la même souris non stimulée.

Les deux scintigraphies ont été réalisées entre 150 et 200 jours de greffe. L'activité totale lorsque la souris est stimulée est 2,36 fois supérieure à celle de la

scintigraphie témoin, celle de la thyroïde de la souris est 2,67 fois plus importante, enfin celle de la thyroïde greffée est 2,35 fois plus intense. Les parts respectives de la thyroïde greffée et de la thyroïde murine dans l'activité totale sont sensiblement les mêmes, que la scintigraphie soit réalisée avec stimulation ou non, ce qui incite à penser que la TSHrh a une action similaire sur la thyroïde humaine et murine.

Ces résultats sont en accord avec ceux de Peter (67) et ceux de Torrès (82) qui ont montré que l'administration de TSHrh à des sujets adultes sains augmente la capacité de fixation de l'iode radioactif.

4.3.3.1.2. Après des injections chroniques de TSHrh

Après des injections quotidiennes de TSHrh, l'activité totale de l'iode 123 fixé par les thyroïdes des souris stimulées pendant la période initiale de greffe (0 à 36 jours) est significativement plus importante que celle des souris greffées non stimulées. Les activités de la thyroïde murine et de la thyroïde greffée sont elles aussi augmentées significativement chez les souris greffées et stimulées, par rapport aux souris greffées non stimulées pendant cette période.

Mais la thyroïde greffée est davantage sensible à la stimulation chronique par la TSHrh que la thyroïde murine, puisque sa part dans l'activité totale, pendant la même période, est de 18 % alors qu'elle est de 4,6 % sans stimulation. L'augmentation de l'activité de la thyroïde greffée est donc proportionnellement plus importante que celle de la thyroïde murine. Cette fixation préférentielle traduit une activité fonctionnelle plus importante du greffon lors de la stimulation, mais probablement aussi une augmentation plus rapide de son volume. On peut donc affirmer que la thyroïde greffée est, dès les 36 premiers jours suivant la greffe, stimulée par la TSH humaine, ce qui implique que les récepteurs spécifiques de la

TSH soient déjà présents à cette période, contrairement à ce que laissait présager l'évolution morphologique du greffon après stimulation par la TSHrh.

De plus, il apparaît que la capacité de fixer l'iode 123 est plus précoce lorsque la thyroïde humaine est stimulée par de la TSHrh. En effet, en l'absence de stimulation chronique, nous avons vu que la thyroïde greffée fixait l'iode après 28 jours de greffe. Dans le cas des thyroïdes stimulées quotidiennement, la fixation de l'iode est patente dès le 14^{ème} jour de greffe.

La sensibilité du greffon à la TSH, se traduisant par un accroissement important de la capture de l'iode 123, est donc très précoce puisque son effet est indiscutable dès le 14^{ème} jour après la greffe d'une thyroïde d'un fœtus de 10 SG.

4.3.3.2. Sur la sécrétion d'hormones thyroïdiennes

4.3.3.2.1. Après une seule injection de TSHrh

L'action d'une injection unique de TSHrh augmente significativement la quantité de T4T dosée par rapport aux souris greffées non stimulées (86 nmol/l versus 29 nmol/l).

Cette augmentation peut provenir de la production de la thyroïde humaine mais aussi de la thyroïde murine. Toutefois, une stimulation unique identique par la TSHrh a été réalisée chez une souris non greffée, le taux de T4T reste alors bas (19 nmol/l). Bien qu'il ne soit pas possible de tirer de conclusion à partir d'un cas, cela suggère que la stimulation est active essentiellement au niveau de la thyroïde greffée.

Cette interprétation paraît très probable puisque Colzani a montré une sensibilité moindre de la thyroïde murine à la TSHrh (efficacité chez l'homme normal pour une

dose de 0.001 µg/g de poids alors que chez la souris la dose efficace est de 0,1 µg/g de poids) (78).

Chez l'homme sain, une injection de 0.1 mg de TSHrh par voie intra-musculaire entraîne une élévation significative du taux de T3, quatre heures après l'injection et du taux de T4, huit heures après l'injection. La T3 augmente au maximum de 89 % de sa valeur initiale et la T4 de 54 %. Toutes les valeurs reviennent à la normale 3 semaines après l'injection (83).

Une injection ponctuelle de TSHrh ne modifie pas significativement le taux de TSH murine.

4.4.3.2.2. Après des injections chroniques de TSHrh

Sous stimulation chronique par la TSHrh, le taux de T4T moyen augmente modestement et non significativement puisque les mesures effectuées entre 12 et 36 jours de greffe montrent un taux moyen de T4T de 27 nmol/l, alors que chez les souris greffées non stimulées entre 9 et 47 jours de greffe il est de 22 nmol/l.

Si on admet que la dose de TSHrh administrée (0,04 µg/g de poids de souris) est suffisante, trois hypothèses peuvent être discutées :

- La répétition de la stimulation pourrait conduire, comme l'a démontré Gafni lors d'injections de TSH chez la souris (84), à une adaptation du métabolisme thyroïdien qui augmente globalement la production d'hormones thyroïdiennes, tout en ne modifiant que modérément les taux circulants, en privilégiant un accroissement de la durée de sécrétion.
- Une augmentation du catabolisme périphérique des hormones thyroïdiennes lors de la stimulation répétée par la TSHrh, comme l'a décrit Chiu chez la souris (85), pourrait expliquer nos résultats. Cet auteur a montré que l'administration répétée de

TSH, toutes les 12 heures pendant 5 jours chez la souris, entraîne une élévation des taux de T4 et T3 sériques après la 1^{ère} injection de TSH, puis une réponse moindre à chaque injection conduisant à des taux normaux à partir du 3^{ème} jour. En revanche, la fixation et l'incorporation d'iode 125 restent élevées pendant les 5 jours. L'auteur évoque donc une augmentation périphérique de la dégradation des hormones thyroïdiennes plutôt qu'une diminution de leur synthèse.

- La réalisation des prélèvements entre le 12^{ème} et le 36^{ème} jours de greffe correspond à une période où la capacité de sécrétion de la glande thyroïde greffée reste encore limitée et ne peut donc augmenter significativement.

Le taux de TSH augmente significativement après les injections répétées de TSHrh mais, dans ce cas, une interférence de dosage entre la TSH humaine et la TSH de souris ne peut être exclue.

La stimulation par la TSHrh entraîne une production d'hormones thyroïdiennes par la thyroïde greffée. Une augmentation de la sécrétion de T4 est nettement mise en évidence par une injection unique de TSHrh pour des thyroïdes greffées depuis 38 à 295 jours.

Les injections chroniques ont un effet certain sur la production et la résorption des hormones thyroïdiennes, comme l'ont mis en évidence les examens histologiques mais cet effet ne peut pas être démontré par notre étude biologique.



CONCLUSION



Cette recherche nous a permis de montrer que les glandes thyroïdes embryonnaires et fœtales humaines greffées chez la souris nude ont un développement morphologique normal auquel s'associe un développement fonctionnel dont nous avons pu étudier quelques aspects. Comme le chimérisme homme-souris de la thyroïde greffée est minime, même au niveau de son réseau vasculaire, cette méthode permet d'étudier une glande complètement humaine, nourrie par un organisme de mammifère. Les relations de régulation entre l'hôte et le tissu greffé sont toutefois à l'origine d'une croissance limitée de l'organe humain.

Quelle que soit la durée de la greffe, l'organe a un épithélium thyroïdien normal au sein duquel la vascularisation par des vaisseaux humains est rapidement mise en place et assure ainsi la survie du greffon. Par la suite, les capillaires, grâce, probablement, à des interactions épithélio-mésenchymateuses, se différencient en capillaires fenêtrés caractéristiques de la glande thyroïde.

Spontanément, la capacité de fixer l'iode est acquise dans les délais observés *in utero* et conservée pendant toute la durée de la greffe. L'organification de l'iode fixé est suggérée par les signes histologiques et biologiques rapportés, témoignant d'une synthèse et d'une sécrétion d'hormones thyroïdiennes. L'inclusion de la thyroïde greffée dans une boucle de régulation de l'hôte ne peut être affirmée avec certitude. La spécificité de la technique de dosage de la TSH murine utilisée n'est pas complète.

L'administration de TSH recombinante humaine n'a pas d'effet déterminant sur le développement morphologique de l'organe. En revanche, les paramètres du fonctionnement de la thyroïde greffée que nous avons étudiés sont influencés par cette stimulation. La fixation plus intense, voire plus précoce, de l'iode 123 au cours du développement et une majoration de la synthèse et de la sécrétion des hormones

thyroïdiennes ont pu être démontrés. La réponse de la thyroïde greffée à l'administration de TSH recombinante humaine n'est qu'un cas particulier des multiples possibilités offertes par ce modèle d'étude. Des expérimentations pharmacologiques sur l'organe en développement, mais aussi sur le tissu thyroïdien devenu adulte, pourraient notamment être aisément entreprises.

Enfin, les possibilités d'études fondamentales du développement morphologique et fonctionnel fœtal, puis du fonctionnement de la glande devenue adulte, ne se limitent pas à la seule thyroïde humaine. En effet, comme le prouvent le développement morphologique normal de glandes parathyroïdes brièvement rapporté dans ce travail et celui de glandes surrénales et de pancréas de fœtus humain observés lors d'autres travaux réalisés dans le laboratoire, la méthode utilisée pour cette thèse est applicable à beaucoup d'autres glandes endocrines. Cette méthode procure donc un outil pour mettre en œuvre une endocrinologie expérimentale humaine *in vivo* sans impliquer l'homme.



BIBLIOGRAPHIE

1. Angioi K, Hatier R, Merle M, Duprez A. Xenografted human whole embryonic and fetal entoblastic organs develop and become fonctionnal adult-like micro-organs. J Surg Res 2002;102:85-94.
2. Manley N, Capecchi M. The role of HOXA-3 in mouse thymus and thyroid development. Development 1995;121:1989-2003.
3. Kimura S, Hara Y, Pineau T, Fernandez-Salguero P, Fox C, Ward J, et al. The T/ebp null mouse: thyroid specific enhancer-binding protein is essential for the organogenesis of the thyroid, lung, ventral forebrain, and pituitary. Genes and development 1996;10:60-9.
4. Clifton-Bligh R, Wentworth J, Heinz P, Crisp M, John R, Lazarus J, et al. Mutation of the gene encoding human TTF-2 associated with thyroid agenesis, cleft palate and choanal atresia. Nat Genet 1998;19:399-401.
5. Vilain C, Rydlewski C, Duprez L, Heinrichs C, Abramowicz M, Malvaux P, et al. Autosomal dominant transmission of congenital thyroid hypoplasia due to loss-of-function mutation of PAX8. J Clin Endocrinol Metab 2001;86:234-8.
6. Bretones P, Duprez L, Parma J, David M, Vassart G, Rodien P. A familial case of congenital hypothyroidism caused by a homozygous mutation of the thyrotropin receptor gene. Thyroid 2001;11:977-80.
7. Abramowicz M, Duprez L, Parma J, Vassart G, Heinrichs C. Familial congenital hypothyroidism due to inactivating mutation of the thyrotropin receptor causing profound hypoplasia of the thyroid gland. J Clin Invest 1997;99:3018-24.
8. Biebermann H, Schoneberg T, Krude H, Schultz G, Gudermann T, Gruters A. Mutations of the human thyrotropin receptor gene causing thyroid hypoplasia and persistent congenital hypothyroidism. J Clin Endocrinol Metab 1997;82:3471-80.

9. Leger J, Le Guern H, Plouhinec C, Brauner R, Czernichow P. Antenatal diagnosis of goiter by ultrasonography. *Presse Med* 1987;16:1521-26.
10. Achiron R, Rotstein Z, Lipitz S, Karasik A, Seidman DS. The development of the foetal thyroid : in utero ultrasonographic measurements. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1998;48:259-64.
11. Shepard TH. Onset of function in the human fetal thyroid: biochemical and radioautographic studies from organ culture. *J Clin Endocrinol Metab* 1967;27(7):945-58.
12. Bocian-Sobkowska J, Wozniak W, Malendowicz LK. Morphometric studies on the development of the human thyroid gland. II. The late fetal life. *Histol Histopathol* 1997;12(1):79-84.
13. Chan AS. Ultrastructural observations on the formation of follicles in the human fetal thyroid. *Cell Tissue Res* 1983;233(3):693-8.
14. Evans TC, Kretzschmar RM, Hodges RE, Song CW. Radioiodine uptake studies of the human fetal thyroid. *J Nucl Med* 1967;8(3):157-65.
15. Gitlin D, Biasucci A. Ontogenesis of immunoreactive thyroglobulin in the human conceptus. *J Clin Endocrinol Metab* 1969;29:849.
16. Greenberg AH, Czernichow P, Reba RC, Tyson J, Blizzard RM. Observations on the maturation of thyroid function in early fetal life. *J Clin Invest* 1970;49(10):1790-803.
17. Fisher DA, Hobel CJ, Garza R, Pierce CA. Thyroid function in the preterm fetus. *Pediatrics* 1970;46(2):208-16.
18. Ballabio M, Nicolini U, Jowett T, Ruiz De Elvira M, Ekins R, Rodeck C. Maturation of thyroid function in normal human foetuses. *Clinical Endocrinology* 1989;31:565-71.

19. Thorpe-Beeston JG, Nicolaides KH, Felton CV, Butler J, McGregor AM. Maturation of the secretion of thyroid hormone and thyroid-stimulating hormone in the fetus. *N Engl J Med* 1991;324(8):532-6.
20. Isaac RM, Hayek A, Standefer JC, Eaton RP. Reverse tri-iodothyronine to tri-iodothyronine ratio and gestational age. *J Pediatr* 1979;94(3):477-9.
21. Santini F, Chiovato L, Ghirri P, Lapi P, Mammoli C, Montanelli L, et al. Serum iodothyronines in the human fetus and the newborn: evidence for an important role of placenta in fetal thyroid hormone homeostasis. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84(2):493-8.
22. Meinhold H, Dudenhausen JW, Wenzel KW, Saling E. Amniotic fluid concentrations of 3,3',5'-tri-iodothyronine (reverse T3), 3,3'-di-iodothyronine, 3,5,3'-tri-iodothyronine (T3) and thyroxine (T4) in normal and complicated pregnancy. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1979;10(4):355-65.
23. Richard K, Hume R, Kaptein E, Stanley EL, Visser TJ, Coughtrie MW. Sulfation of thyroid hormone and dopamine during human development: ontogeny of phenol sulfotransferases and arylsulfatase in liver, lung, and brain. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(6):2734-42.
24. Winters AJ, Eskay RL, Porter JC. Concentration and distribution of TRH and LRH in the human fetal brain. *J Clin Endocrinol Metab* 1974;39:960.
25. Rosen F, Ezrin C. Embryology of the thyrotroph. *J Clin Endocrinol Metab* 1966;26:1343.
26. Baker BL, Jaffe RB. The genesis of cell types in the adenohypophysis of the human fetus as observed with immunocytochemistry. *Am J Anat* 1974;143:137.

27. Fisher DA, Dussault JH, J. S, Chopra IJ. Ontogenesis of hypothalamic-pituitary-thyroid function and metabolism in man, sheep, and rat. *Recent Prog Horm Res* 1977;33:59-116.
28. Rakover Y, Weiner E, Mosh N, Shalev E. Fetal pituitary negative feedback at early gestational age. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1999;50(6):809-14.
29. Fisher DA, Nelson JC, Carlton EI, Wilcox RB. Maturation of human hypothalamic-pituitary-thyroid function and control. *Thyroid* 2000;10(3):229-34.
30. Radunovic N, Dumez Y, Nastic D, Mandelbrot L, Dommergues M. Thyroid function in fetus and mother during the second half of normal pregnancy. *Biol Neonate* 1991;59(3):139-48.
31. Glinoe D, de Nayer P, Delange F. Fonction thyroïdienne et grossesse. In : *La Thyroïde*
Paris : ELSEVIER, 1992.-p. 455-64.
32. Burrow GN, Fisher DA, Larsen PR. Maternal and fetal thyroid function. *N Engl J Med* 1994;331(16):1072-8.
33. Ain K, Mori Y, Refetoff S. Reduced clearance rate of thyroxine-binding globulin (TBG) with increased sialylation: a mechanism for estrogen-induced elevation of serum TBG concentration. *J Clin Endocrinol Metab* 1987;65:689-96.
34. Ballabio M, Poshyachinda M, Ekins R. Pregnancy-induced changes in thyroid function : role of human chorionic gonadotropin as putative regulator of maternal thyroid. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;73:824-31.
35. Glinoe D, De Nayer P., Bourdoux P., Lemone M., Robyn C., Van Steirteghem A., Kinthaert J., Lejeune B. Regulation of maternal thyroid during pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:276-87.

36. Glinoe D. What happens to the normal thyroid during pregnancy? *Thyroid* 1999;9(7):631-5.
37. Brent GA. Maternal hypothyroidism : recognition and management. *Thyroid* 1999;9:661-5.
38. Mitchell AM, Manley SW, Morris JC, Powell KA, Bergert ER, Mortimer RH. Sodium iodide symporter (NIS) gene expression in human placenta. *Placenta* 2001;22(2-3):256-8.
39. Fisher DA. Maternal-fetal thyroid function in pregnancy. *Clin Perinatol* 1983;10(3):615-26.
40. Moya F, Mena P, Foradori A, Becerra M, Inzunza A, Germain A. Effect of maternal administration of thyrotropin releasing hormone on the preterm fetal pituitary-thyroid axis. *J Pediatr* 1991;119(6):966-71.
41. Thorpe-Beeston JG, Nicolaides KH, McGregor AM. Fetal thyroid function. *Thyroid* 1992;2(3):207-17.
42. Contempre B, Jauniaux E, Calvo R, Jurkovic D, Campbell S, de Escobar GM. Detection of thyroid hormones in human embryonic cavities during the first trimester of pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;77(6):1719-22.
43. Vulsma T, Gons MH, de Vijlder JJ. Maternal-fetal transfer of thyroxine in congenital hypothyroidism due to a total organification defect or thyroid agenesis. *N Engl J Med* 1989;321(1):13-6.
44. Klein AH, Murphy BE, Artal R, Oddie TH, Fisher DA. Amniotic fluid thyroid hormone concentrations during human gestation. *Am J Obstet Gynecol* 1980;136(5):626-30.
45. Hufner M, Grussendorf M, Lorenz U, Knpfle M. 3, 3', 5'-Triiodothyronine (Reverse T3) in amniotic fluid and cord serum. *Eur J Pediatr* 1977;125:213-7.

46. Roti E, Malavasi F, Bandini P, Robuschi G, Benassi L, Gnudi A. 3, 3', 5'-Triiodothyronine concentrations in amniotic fluid at different stages of pregnancy. *J Endocrinol Invest* 1979;2:213-6.
47. Yoshida K, Sakurada T, Takahashi T, Furuhashi N, Kaise K, Yoshinaga K. Measurement of TSH in human amniotic fluid: diagnosis of fetal thyroid abnormality in utero. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1986;25(3):313-8.
48. Fisher DA, Klein A.H. Thyroid development and disorders of thyroid function in the newborn. *N Engl J Med* 1981;304:702-12.
49. Oddie TH, Bernard B., Klein A.H., Fisher D.A. Comparison of T4, T3, rT3 and TSH concentrations in cord blood and serum of infants up to 3 months of age. *Early Hum Dev* 1979;3:239-44.
50. Ares S, Escobar-Morreale HF, Quero J, Duran S, Presas MJ, Herruzo R, et al. Neonatal hypothyroxinemia: effects of iodine intake and premature birth. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82(6):1704-12.
51. Van Wassenae AG, Kok J.H., De Vijlder J.J.M., Briët J.M., Smit B.J., Tamminga P., Van Baar A., Dekker F.W., Vulsma T. Effects of thyroxine supplementation on neurologic development in infants born at less than 30 weeks' gestation. *N Engl J Med* 1997;336:21-6.
52. Adams LM, Emery JR, Clark SJ, Carlton EL, Nelson JC. Reference ranges for newer thyroid function tests in premature infants. *J Pediatr* 1995;126:122-7.
53. Fisher DA. The hypothyroxinemia of prematurity. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:1701-3.
54. Groscurth P, Tondury G. Cytodifferentiation of human fetal lung tissue following transplantation into "nude" mice. *Anat Embryol* 1982;165:291-302.

55. Winter HS, Hendren RB, Fox CH, Russell GJ, Perz-Atayde A, Bhan AK, et al. Human intestine matures as nude mouse xenograft. *Gastroenterology* 1991;100:89-98.
56. Lane AT, Scott GA, Day KH. Development of human fetal skin transplanted to the nude mouse. *J Invest Dermatol* 1989;93:787-91.
57. Tuch BE, Ng AB, Jones A, Turtle JR. Histologic differentiation of human fetal pancreatic explants transplanted into nude mice. *Diabetes* 1984;33:1180-7.
58. Tuch BE, Grigoriou S, Turtle JR. Growth and hormonal content of human fetal pancreas passaged in athymic mice. *Diabetes* 1986;35:464-9.
59. Angioi K, Hatier R, Muhale F, Plenat F, Duprez A. Morphologic and functional development of whole human fetal stomachs grafted into nude mice. *Dev Growth Differ* 2001;43:425-35.
60. Leclere J, Bene MC, Duprez A, Faure G, Thomas JL, Vignaud JM, et al. Behaviour of thyroid tissue from patients with Graves'disease in nude mice. *J Clin Endocrinol Metab* 1984;59:175-7.
61. Smeds S, Jörtsö E, Anderberg B, Boeryd B, Ericson LE, Mölne J, et al. Ultrastructural morphology and evidence of iodide uptake and protein synthesis in normal human thyroid transplants in nude mice. *J Endocrinol Invest* 1984;7:569-78.
62. Smeds S, Anderberg B, Boeryd B, Ericson LE, Gillquist J, Persliden J. The nude mouse. A possible experimental model for investigation of human thyroid tissue. *J Endocrinol Invest* 1981;4(1):11-15.
63. Dralle H, Bocker W, Dohler KD, Schroder S, Haindl H, Geerlings H, et al. Growth and function of thirty-four human benign and malignant thyroid xenografts in untreated nude mice. *Cancer Res* 1985;45(3):1239-45.

64. Schumm-Draeger PM, Wenisch HJ, Usadel KH. In vivo effects of TSH receptor antibodies in xenotransplanted human thyroid tissue. *Exp Clin Endocrinol* 1992;100:41-44.
65. Hoang-Vu C, Dralle H. In vivo models in thyroid research. The limitations of the athymic nude mice model for studies on goiter benign disease. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1996;104(Suppl 3):59-60.
66. Groscurth P, Erni M, Balzer M, Peter HJ, Haselbacher G. Cryopreservation of human fetal organs. *Anat Embryol* 1986;174(1):105-13.
67. Peter HJ, Studer H, Groscurth P. Autonomous growth, but not autonomous function, in embryonic human thyroids: a clue to understanding autonomous goiter growth? *J Clin Endocrinol Metab* 1988;66(5):968-73.
68. Flanagan SP. "nude", a new hairless gene with pleiotropic effects in the mouse. *Genet. Res.* 1966;8:295-309.
69. Pantelouris EM. Observations on the immunobiology of "nude" mice. *Immunobiology* 1971;20:247-52.
70. Pierpaoli W, Sorkin E. Alterations of adrenal cortex and thyroid in mice with congenital absence of thymus. *Nature new biology* 1972;238:282.
71. Ruitenberg EJ, Berkvens JM. The morphology of the endocrine system in congenitally athymic (nude) mice. *J Pathol* 1977;121:225-31.
72. Inomata T, Ninomiya H, Kawakami S, Sakaguchi K, Sakita K, Aoyama S, et al. Morphometric study on the fetal thyroid gland in the nude mouse. *Exp Anim* 1996;45:385-8.
73. Sakita K, Hoshi S, Ninomiya H, Inomata T. Underdevelopment of fetal thyroid follicular cells in athymic nude mouse (BALB/cAnNCrj-nu/nu) observed by electron microscopic morphometry. *Exp Anim* 1999;48:47-50.

74. Ochi Y, Hachiya T, Miyazaki T, Kajita Y, Yoshimura M. Effects of LATS, TSH and cholera toxin on the thyroid gland in nude mice. *Endocrinol Jpn* 1977;24:277-9.
75. Ohsawa N, Matsuzaki F, Esaki K, Nomura T. Endocrine functions of the nude mouse. *Proc. Of the First International Workshop on Nude Mouse* 1974:221.
76. Inceri C. Recombinant human thyroid-stimulating hormone (rhTSH) : clinical development. *J Endocrinol Invest* 1999;22 (11 Suppl):8-16.
77. Pohlenz J, Maqueem A, Cua K, Weiss R, Van Sande J, Refetoff S. Improved radioimmunoassay for measurement of mouse thyrotropin in serum : strain differences in thyrotropin concentration and thyrotroph sensitivity to thyroid hormone. *Thyroid* 1999;9:1265-71.
78. Colzani RM, Aex S, Fang SL, Braverman LE, Emerson CH. The effect of recombinant human thyrotropin on thyroid function in mice and rats. *Thyroid* 1998;8:797-801.
79. Klein M, Picard E, Vignaud J-M, Marie B, Bresler L, Toussaint B, et al. Vascular endothelial growth factor gene and protein : strong expression in thyroiditis and thyroid carcinoma. *Journal of Endocrinology* 1999;161:41-9.
80. Molne J, Jortso E, Smeds S, Ericson LE. Vascularization of normal human thyroid tissue transplanted to nude mice. *Exp Cell Biol* 1987;55(2):104-14.
81. Vignaud J, Duprez A, Bene M, Leclère J, Faure G, Danchin N, et al. Transplantation of human hyperthyroid tissue to the nude mouse. An experimental model. *Am J Pathol* 1984;117:355-9.
82. Torres MS, Ramirez L, Simkin PH, Braverman LE, Emerson CH. Effect of various doses of recombinant human thyrotropin on the thyroid radioactive iodine uptake and serum levels of thyroid hormones and thyroglobulin in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1660-4.

83. Ramirez L, Braverman LE, White B, Emerson CH. Recombinant human thyrotropin is a potent stimulator of thyroid function in normal subjects. J Clin Endocrinol Metab 1997;82:2836-9.
84. Gafni M, Saddok C, Sirkis N, Gross J. The mechanism of damping of the serum thyroxine and triiodothyronine levels caused by increasing thyrotropin dosage in mice. Endocrinology 1977;100:1186-91.
85. Chiu SC, Kubota K, Kuzuya N, Ikeda H, Uchimura H, Nagataki S. Effects of prolonged administration of thyrotropin on serum concentration, release and synthesis of thyroid hormones in mice. Acta Endocrinol (Copenh) 1983;103:68-75.



ANNEXES

ANNEXE 1
RAPPEL DES CONNAISSANCES RELATIVES AU DÉVELOPPEMENT
THYROÏDIEN EMBRYONNAIRE ET FŒTAL HUMAIN ET AUX GREFFES CHEZ
LA SOURIS NUDE
TABLEAUX

Tableau 1 : Dosages des hormones thyroïdiennes et de la TBG fœtales, revue de la littérature

	Greenberg	Fisher	Ballabio	Thorpe-Beeston
Ages fœtus	9 à 24 semaines	11 à 34 semaines	18 à 31 semaines	12 à 37 semaines
T4T	Est détectable dès la 11 ^{ème} semaine et augmente jusqu'au terme	Augmente de la 11 ^{ème} semaine (2,6 µg/100 ml) jusqu'au terme (11,2 µg/ 100 ml)	Augmente durant cette période mais reste toujours inférieure au taux connu chez l'adulte	Augmente pendant cette période et atteint le taux moyen découvert chez l'adulte vers la 36 ^{ème} semaine
T4L	Est détectable dès la 11 ^{ème} semaine et augmente jusqu'au terme en atteignant les valeurs moyennes connues chez l'adulte dès les 18 ^{ème} -20 ^{ème} semaines	Augmente de la 11 ^{ème} semaine (1,85 ng/100 ml) jusqu'au terme (2,9 ng/100 ml)	Augmente durant cette période, T4L atteint le niveau connu chez l'adulte vers la 28 ^{ème} semaine	Augmente pendant cette période et atteint le taux moyen connu chez l'adulte vers la 36 ^{ème} semaine
T3T et T3L	Non mesurée	Non mesurée	Non mesurée	Augmentation pendant cette période mais valeurs toujours inférieures à celles mesurées chez l'adulte
TBG	Détectable dès la 11 ^{ème} semaine et augmente jusqu'au terme	Non mesurée	Augmente durant toute cette période et atteint une valeur comparable à celle connue chez l'adulte à la 30 ^{ème} semaine	Augmente pendant cette période en atteignant la valeur moyenne connue chez l'adulte vers la 36 ^{ème} semaine de gestation

Tableau 2 : Taux moyens de T4L, T4T et TSH dans le sang du cordon, revue de la littérature.

Age gestationnel	T4	TSH	article
18 SG	T4L = 8 pmol/l	TSH = 3 mU/l	Rakover 1999
20 SG	T4L = entre 9 et 10 pmol/l T4T = entre 20 et 30 nmol/l	TSH = environ 4 mU/l	Ballabio 1989
20 SG	T4L = entre 4 et 5 pmol/l T4T = entre 30 et 40 nmol/l	TSH = entre 4 et 5 mU/l	Thorpe Beeston 1991
30 SG	T4L = entre 15 et 20 pmol/l T4T = entre 80 et 100 nmol/l	TSH = environ 6 mU/l	Ballabio 1989
36 SG	T4L = environ 17,5 pmol/l T4T = 110 nmol/l	TSH = environ 7 mU/l	Thorpe Beeston 1991
36 SG	T4L = 17 pmol/l	TSH = 6,5 mU/l	Rakover 1999

Tableau 3 : Évolution des concentrations des protéines transporteuses des hormones thyroïdiennes maternelles au cours de la grossesse d'après Glinioer (31)

	Valeurs normales chez la femme non enceinte	Valeur moyenne durant le 1 ^{er} trimestre de la grossesse	Valeur moyenne durant le 2 ^{ème} trimestre de la grossesse	Valeur moyenne durant le 3 ^{ème} trimestre de la grossesse
Albumine	30 à 50 g/l	41	36	35
Transthyrétine	160 à 350 mg/l	226	212	200
TBG	11 à 21 mg/l	21	29	32
Saturation de la TBG	28 à 60 %	39	31	28

ANNEXE 2 MATÉRIEL ET MÉTHODE TABLEAUX

Tableaux 4 et 5 : Caractéristiques des thyroïdes greffées

Tableau 4

Age théorique de la thyroïde en SG	Nombre
6	1
7	7
8	9
9	13
9,5	3
10	11

Tableau 5

Numéro de la souris	Caractéristiques de la greffe	Age, en jours, estimé du greffon au moment de la greffe	Durée, en jours, de la greffe	Age théorique, en jours, du greffon en fin de greffe
D 403	Thyroïde 9 SG 1 lobe à gauche, 1 lobe à droite	63	417	480
D 411	Thyroïde 9,5 SG 1 lobe à gauche, 1 lobe à droite	66	299	365
D 421	Thyroïde 10 SG 2 lobes à gauche	70	281	351
D 435	Thyroïde 9,5 SG	66	189	255
D 467	Thyroïde 10 SG 2 lobes à droite	70	359	429
D 486	Thyroïde 7 SG	49	195	244
D 493	Thyroïde 9 SG 2 lobes à droite	63	314	377
D 510	Thyroïde 10 SG 2 lobes à droite	70	157	227
D 524	Thyroïde 10 SG 2 lobes à droite	70	141	211
D 542	Thyroïde 9 SG : 2 lobes à droite	63	372	435

D 555	Thyroïde 9 SG 2 lobes à droite	63	83	146
D 558	Thyroïde 8 SG 1 lobe à droite	56	495	551
D 564	Thyroïde 10 SG 2 lobes à droite	70	195	265
D 579	Thyroïde 10 SG 2 lobes à droite	70	195	265
D 621	Thyroïde 7 SG 1 lobe à droite	49	234	283
D 623	Thyroïde 7 SG 2 lobes à droite	49	290	339
D 625	Thyroïde 7 SG 2 lobes à droite	49	130	179
D 630	Thyroïde 9 SG 1 lobe à droite, 1 lobe à gauche	63	511	574
D 631	Thyroïde 9 SG 2 lobes à droite	63	37	100
D 643	Thyroïde 9 SG 2 lobes à droite	63	167	230
D 709	Thyroïde 7 SG 2 lobes à droite	49	76	125
D 710	Thyroïde 8 SG 2 lobes à droite	56	194	250
D 711	Thyroïde 7 SG 2 lobes à droite	49	370	419
D 712	Thyroïde 8 SG 2 lobes à droite	56	171	227
D 730	Thyroïde 8 SG 1 lobe à droite	56	15	71
D 732	Thyroïde 8 SG 2 lobes à droite	56	125	181
D 736	Thyroïde 9 SG 2 lobes à droite	63	210	273
D 747	Thyroïde 8 SG 2 lobes à droite	56	133	189
D 785	Thyroïde 10 SG 2 lobes à droite	70	200	270
D 786	Thyroïde 10 SG 2 lobes à droite	70	128	198
D 787	Thyroïde 6 SG	42	491	533
D 790	Thyroïde 9 SG à droite	63	179	242
D 812	Thyroïde 9 SG 2 lobes à droite	63	295	358
D 817	Thyroïde 8 SG 2 lobes à droite	56	332	388
D 820	Thyroïde 8 SG 2 lobes à droite	56	185	241
D 851	Thyroïde 8 SG 1 lobe à droite	56	164	220
D 877	Thyroïde 10 SG 2 lobes à droite	70	346	416

D 899	Thyroïde 10 SG 2 lobes à droite	70	124	194
D 900	Thyroïde 9 SG 2 lobes à droite	63	420	483
D 901	Thyroïde 7 SG 2 lobes à droite	49	278	327
D 916	Thyroïde 10 SG 2 lobes à droite	70	210	280
D 967	Thyroïde 9,5 SG 2 lobes à droite	66	324	390
D 973	Thyroïde 9 SG : 2 lobes à droite	63	372	435
D 990	Thyroïde 9 SG 2 lobes à droite	63	154	217

Tableaux 6, 7, 8 : Explorations para-cliniques réalisées au cours de cette étude

NB : 2 souris n'ont bénéficié d'aucun examen.

Tableau 6. Explorations lors de l'évolution spontanée

N°souris	Age du greffon en semaines de gestation	Délai par rapport à la greffe en jours	Age estimé du greffon en jours en fin de greffe	MO	MET	TSH	T4 totale	Scintigraphie
D 403	9	303	366					
		400	463					
		417	480					
D 411	9,5	253	319					
D 421	10	239	309					
D 435	9,5	184	250					
D 467	10	205	275					
		301	371					
		335	405					
D 493	9	176	239					
		272	335					
		314	377					
D 510	10	157	227					
D 524	10	126	196					

D 542	9	116	179					
		205	268					
		239	302					
		361	424					
D 558	8	77	133					
		207	263					
D 564	10	65	135					
		161	231					
		195	265					
D 579	10	29	99					
		153	223					
		187	257					
D 621	7	29	78					
		44	93					
		63	112					
		91	140					
		122	171					
		154	203					
D 623	7	6	55					
		15	64					
		42	91					
		61	110					
		89	138					
		120	169					
		152	201					
		245	294					
D 625	7	5	54					
		14	63					
		41	90					
		60	109					
		88	137					
		119	168					
		130	179					
D 630	9	1	64					
		9	72					
		36	99					
		55	118					
		83	146					
		114	177					
		146	209					

D 631	9	22	85					
		37	100					
D 643	9	13	76					
		28	91					
		47	110					
		75	138					
		106	169					
		138	201					
D 709	7	76	125					
D 710	8	76	132					
D 711	7	76	125					
		182	231					
D 712	8	71	127					
		171	227					
D 730	8	15	71					
D 732	8	47	103					
D 736	9	42	105					
		56	119					
D 747	8	33	89					
		47	103					
		133	189					
D 812	9	90	153					
D 817	8	87	143					
		162	218					
D 820	8	159	215					
D 851	8	0	56					
D 877	10	32	102					
D 899	10	124	194					
D 900	9	28	91					
		103	166					
		420	483					
D 901	7	103	152					
D 916	10	96	166					
D 967	9,5	65	131					
D 973	9	57	120					
		372	435					
D 990	9	56	119					

Tableau 7 : Explorations après une injection unique de TSHrh

N°souris	Age du greffon en semaines de gestation	Délai par rapport à la greffe en jours	Age estimé du greffon en jours en fin de greffe	MO	MET	TSH	T4 totale	Scintigraphie
D 403	9	317	380					
D 411	9,5	295	361					
D 421	10	281	351					
D 493	9	198	261					
D 524	10	141	211					
D 817	8	93	149					
D 877	10	38	108					

Tableau 8 : Explorations après injections répétées de TSHrh

N°souris	Age du greffon en SG	Délai par rapport à la greffe en jours	Age estimé du greffon en jours en fin de greffe	MO	MET	TSH	T4 totale	Scintigraphie
D 785 (injections quotidiennes du 2 ^{ème} au 200 ^{ème} jours de greffe)	10	20	90					
		36	106					
		119	189					
		181	251					
		200	270			-		
D 786 (injections quotidiennes du 2 ^{ème} au 113 ^{ème} jours de greffe)	10	14	84					
		27	97					
		30	100					
		113	183					

D 787 (injections quotidiennes du 2 ^{ème} au 36 ^{ème} jours de greffe)	6	14	56					
		27	69					
		30	72					
		491	533					
D 790 (injections quotidiennes du 2 ^{ème} au 28 ^{ème} jours de greffe)	9	12	75					
		26	92					
D 851 (Témoin histologique avant greffe) (injections quotidiennes du 2 ^{ème} au 164 ^{ème} jours de greffe)	8	83	139					
		90	146					
		145	201					
		164	220					

Légende :

Les zones colorées représentent les examens réalisés. Par exemple, la souris D 403 a eu un bilan biologique (TSH et T4 totale) ainsi qu'une scintigraphie 303 jours après la greffe, elle n'a pas eu de prélèvement histologique à ce moment. Un prélèvement histologique pour étude en microscopie optique a été réalisé 417 jours après la greffe.

ANNEXE 3 RÉSULTATS DES EXAMENS ISOTOPIQUES

Tableau 9 : Caractéristiques des scintigraphies

	Sans stimulation			1 injection de TSHrh			Multiples injections de TSHrh			Total
Durée de greffe en jours	<100	100 à 200	>200	<100	100 à 200	>200	<100	100 à 200	>200	
Nombre de scintigraphies	31	15	6	0	1	0	8	2	0	63

Tableaux 10, 11, 12 : Évolution de l'activité totale

Tableau 10 : Sans stimulation

Souris	Durée de greffe en jours	Activité totale en coups par minute (cpm)
Témoin		16521
Témoin		15128
D630	9	8535
D625	14	10087
D623	15	7011
D643	28	17332
D747	33	16861
D630	36	12738
D631	37	9561
D625	41	14371
D623	42	15006
D621	44	14022
D732	47	18748
D747	47	31746
D736	56	42895
D990	56	19922
D973	57	28628
D967	65	32044
D712	71	30039
D643	75	26378
D710	76	36776
D711	76	43217
D558	77	5874
D630	83	24121
D625	88	24641
D623	89	14141
D621	91	45095
D916	96	21106

D900	103	45670
D901	103	56345
D542	116	48597
D524	126	23598
D643	138	75067
D630	146	66779
D623	152	30892
D579	153	36021
D621	154	48931
D510	157	45732
D820	159	9976
D564	161	59677
D817	162	25688
D493	176	30693
D493Pb*	176	29335
D435	184	20652
D467	205	11698
D542	205	30276
D493	272	36025
D467	301	46843
D403	303	32166
D403	400	31461

*Pb : la scintigraphie a été réalisée avec un manteau de plomb sur la partie gauche de l'abdomen

Tableau 11 : Après une injection de TSHrh

Souris	Durée de greffe en jours	Activité totale en cpm
D493 + TSHrh	198	72349
D493	176	30693

Tableau 12 : Après injections chroniques de TSHrh

Souris	Durée de greffe en jours	Activité totale en cpm
D790	12	74100
D786	14	63777
D787	14	151451
D785	20	127666
D790	26	41163
D786	27	49334
D787	27	51870
D785	36	60017
D851	145	65664
D785	181	16898

Tableaux 13, 14, 15 : Évolution de l'activité de la thyroïde murine

Tableau 13 : Sans stimulation

Souris	Durée de greffe en jours	Activité thyroïde murine en cpm	Activité totale en cpm
D630	9	8412	8535
D625	14	10087	10087
D623	15	7011	7011
D643	28	16525	17332
D747	33	16499	16861
D630	36	7924	12738
D631	37	8516	9561
D625	41	13282	14371
D623	42	14576	15006
D621	44	13432	14022
D747	47	30935	31746
D732	47	7904	18748
D736	56	22164	42895
D990	56	7273	19922
D973	57	8928	28628
D967	65	5036	32044
D712	71	1653	30039
D643	75	3960	26378
D710	76	1488	36776
D711	76	4184	43217
D558	77	2547	5874
D630	83	2332	24121
D625	88	7802	24641
D623	89	8314	14141
D621	91	14098	45095
D916	96	21	21106
D900	103	3457	45670
D901	103	2417	56345
D542	116	5905	48597
D524	126	1103	23598
D643	138	5665	75067
D630	146	3389	66779
D623	152	8552	30892
D579	153	1942	36021
D621	154	9901	48931
D510	157	9941	45732
D820	159	6130	9976
D564	161	684	59677
D817	162	1855	25688
D493	176	944	30693
D435	184	331	20652
D467	205	480	11698
D542	205	1134	30276
D493	272	1460	36025
D467	301	1432	46843
D403	303	3481	32166
D403	400	4634	31461

Tableau 14 : Après une injection de TSHrh

Souris	Durée de greffe en jours	Activité thyroïde murine en cpm	Activité totale en cpm
D493 + TSHrh	198	2525	72349
D493	176	944	30693

Tableau 15 : Après injections chroniques de TSHrh

Souris	Durée de greffe en jours	Activité thyroïde murine en cpm	Activité totale en cpm
D790	12	74100	74100
D786	14	56772	63777
D787	14	151451	151451
D785	20	101954	127666
D790	26	29794	49334
D786	27	34137	51870
D787	27	51870	51870
D785	36	48180	60017
D851	145	7081	65664
D785	181	7276	16898

Tableaux 16, 17, 18 : Évolution de l'activité de la thyroïde greffée

Tableau 16 : Sans stimulation

Souris	Durée de greffe en jours	Activité thyroïde greffée en cpm	Activité totale en cpm
D630	9	123	8535
D625	14	0	10087
D623	15	0	7011
D643	28	807	17332
D747	33	362	16861
D630	36	4814	12738
D631	37	1045	9561
D625	41	1089	14371
D623	42	430	15006
D621	44	590	14022
D732	47	10844	18748
D747	47	811	31746
D736	56	20731	42895
D990	56	12649	19922
D973	57	19700	28628
D967	65	27008	32044
D712	71	28386	30039
D643	75	22418	26378
D710	76	35288	36776
D711	76	39033	43217
D558	77	3327	5874
D630	83	21789	24121
D625	88	16839	24641
D623	89	5827	14141
D621	91	30997	45095
D916	96	21085	21106
D900	103	42213	45670
D901	103	53928	56345
D542	116	42692	48597
D524	126	22495	23598
D643	138	69402	75067
D630	146	63390	66779
D623	152	22340	30892
D579	153	34079	36021
D621	154	39030	48931
D510	157	35791	45732
D820	159	3846	9976
D564	161	58993	59677
D817	162	23833	25688
D493	176	29749	30693
D435	184	20321	20652
D467	205	11218	11698
D542	205	29142	30276
D493	272	34565	36025
D467	301	45411	46843
D403	303	28685	32166
D403	400	26827	31461

Tableau 17 : Après une injection de TSHrh

Souris	Durée de greffe en jours	Activité de la thyroïde greffée en cpm	Activité totale en cpm
D493 + TSHrh	198	69824	72349
D493	176	29749	30693

Tableau 18 : Après injections chroniques de TSHrh

Souris	Durée de greffe en jours	Activité de la thyroïde greffée en cpm	Activité totale en cpm
D790	12	0	74100
D786	14	7005	63777
D787	14	0	151451
D785	20	25712	127666
D790	26	11369	41163
D786	27	15197	49334
D787	27	0	51870
D785	36	11837	60017
D851	145	58583	65664
D785	181	9622	16898

Tableaux 19, 20, 21 : Comparaison des activités respectives de la thyroïde de la souris et de la thyroïde greffée

Tableau 19 : Sans stimulation

Dans ce tableau, nous faisons apparaître les résultats des 4 scintigraphies non interprétées mais où il est évident qu'il n'existe aucune fixation en regard de la greffe.

La part de la thyroïde greffée est donc de 0 %, celle de la thyroïde de la souris de 100 %.

Souris	Durée de greffe en jours	Part de la thyroïde de la souris dans l'activité totale en %	Part de la thyroïde greffée dans l'activité totale en %
D630*	1	100	0
D625*	6	100	0
D623*	7	100	0
D630	9	98,6	1,4
D643*	13	100	0
D625	14	100	0
D623	15	100	0
D643	28	95	5
D747	33	98	2
D630	36	62	38
D631	37	89	11
D625	41	92	8
D623	42	97	3
D621	44	96	4
D732	47	42	58
D747	47	99	1
D736	56	52	48
D990	56	36,5	63,5
D973	57	31	69
D967	65	16	84
D712	71	5,5	94,5
D643	75	15	85
D710	76	4	96
D711	76	10	90
D558	77	43,5	56,5
D630	83	10	90
D625	88	32	68
D623	89	59	41
D621	91	31	69
D916	96	0,3	99,7
D900	103	8	92
D901	103	4,5	95,5
D542	116	12,5	87,5
D524	126	5	95

D643	138	7,5	92,5
D630	146	5	95
D623	152	28	72
D579	153	5,5	94,5
D621	154	20	80
D510	157	22	78
D820	159	61,5	38,5
D564	161	1	99
D817	162	7	93
D493	176	3	97
D435	184	1,5	98,5
D467	205	4	96
D542	205	4	96
D493	272	4	96
D467	301	3	97
D403	303	11	89
D403	400	14	86

Tableau 20 : Après une injection unique de TSHrh

Souris	Durée de greffe en jours	Part de la thyroïde de la souris dans l'activité totale (%)	Part de la thyroïde greffée dans l'activité totale (%)
D493 + TSHrh	198	3,5	96,5
D493	176	3	97

Tableau 21 : Après injections chroniques de TSHrh

Souris	Durée de greffe	Part de la thyroïde de la souris dans l'activité totale (%)	Part de la thyroïde greffée dans l'activité totale (%)
D790	12	100	0
D786	14	89	11
D787	14	100	0
D785	20	80	20
D790	26	72	28
D786	27	69	31
D787	27	100	0
D785	36	80	20
D851	145	11	89
D785	181	43	57

Tableau 22 : Évolution de la part de l'activité de la thyroïde greffée dans l'activité totale chez 5 souris suivies régulièrement en scintigraphie

Souris	Durée de greffe en jours	Activité totale en coups par minute (cpm)	Activité de la thyroïde greffée en cpm	Part de la thyroïde greffée dans l'activité totale en %
D623	15	7011	0	0
D623	42	15006	430	3
D623	89	14141	5827	41
D623	152	30892	22340	72
D625	14	10087	0	0
D625	41	14371	1089	8
D625	88	24641	16839	68
D630	9	8535	123	1.4
D630	36	12738	4814	38
D630	83	24121	21789	90
D630	146	66779	63390	95
D643	28	17332	807	5
D643	75	26378	22418	85
D643	138	75067	69402	92.5
D621	44	14022	590	4
D621	91	45095	30997	69
D621	154	48931	39030	80

ANNEXE 4

RÉSULTATS DES EXAMENS BIOLOGIQUES

Tableau 23 : Récapitulatif des résultats des examens biologiques

N°souris	Age du greffon en semaine de gestation	Délai par rapport à la greffe en jours	TSH (ng/ml)	T4 totale (nmol/l)
D 403	9	303	86	32
		317	91	
D 411	9,5	253	72	
		295	105	57
D 421	10	239	64	28
		281	85	202
D 467	10	205	68	14
		335	85	31
D 493	9	176	83	
		198	41	54
D 510	10	157	67	27
D 524	10	126	72	
		141	72	77
D 542	9	116	90	18
		239	67	
		361	95	
D 558	8	77	80	14
		207	61	
D 564	10	65	107	31
		195	102	32
D 579	10	29	68	24
		187	88	13
D 621	7	29	75	
		63	67	30
		122	107	42
D 623	7	7	109	
		61	106	18
		120	135	38
		245	133	33

D 625	7	6	103	
		60	107	24
		119	141	38
D 630	9	9	69	17
		55	86	21
		114	86	31
D 631	9	22	71	17
D 643	9	13	73	17
		47	80	23
		106	85	75
D 709	7	76	89	
D 710	8	76	125	38
D 711	7	76	86	39
		182	105	46
D 712	8	71	109	41
D 732	8	47	103	38
D 736	9	42	90	30
D 747	8	33	123	19
D 785	10	20	123	34
		36	133	22
D 786	10	14	147	28
		30	123	32
D 787	6	14	66	15
		30	82	41
D 790	9	12	108	19
D 812	9	90	118	23
D 817	8	87	85	31
		93	112	67
D 851	8	90	139	22
D 877	10	32	146	25
		38		61
D 900	9	28	97	11
Témoin D 811			100	
Témoin D 811			104	19
Témoin			61	
Témoin			69	
Témoin			79	24
Témoin			68	22

Témoin			89	15
Témoin			101	26
Témoin			67	23
Témoin			76	18
Témoin			93	31
Témoin			72	18

Tableau 24 : Évolution de la TSH murine après la greffe

N°souris	Age du greffon en semaine de gestation	Délai par rapport à la greffe en jours	TSH (ng/ml)
D 403	9	303	86
		317	91
D 411	9,5	253	72
		295	105
D 421	10	239	64
		281	85
D 467	10	205	68
		335	85
D 493	9	176	83
		198	41
D 510	10	157	67
D 524	10	126	72
		141	72
D 542	9	116	90
		239	67
		361	95
D 558	8	77	80
		207	61
D 564	10	65	107
		195	102
D 579	10	29	68
		187	88
D 621	7	29	75
		63	67
		122	107

D 623	7	7	109
		61	106
		120	135
		245	133
D 625	7	6	103
		60	107
		119	141
D 630	9	9	69
		55	86
		114	86
D 631	9	22	71
D 643	9	13	73
		47	80
		106	85
D 709	7	76	89
D 710	8	76	125
D 711	7	76	86
		182	105
D 712	8	71	109
D 732	8	47	103
D 736	9	42	90
D 747	8	33	123
D 785	10	20	123
		36	133
D 786	10	14	147
		30	123
D 787	6	14	66
		30	82
D 790	9	12	108
D 812	9	90	118
D 817	8	87	85
		93	112
D 851	8	90	139
D 877	10	32	146
D 900	9	28	97
Témoïn D 811			100
Témoïn D 811			104
Témoïn			61
Témoïn			69

Témoin			79
Témoin			68
Témoin			89
Témoin			101
Témoin			67
Témoin			76
Témoin			93
Témoin			72

Tableau 25 : Sans stimulation

N°souris	Age du greffon en semaine de gestation	Délai par rapport à la greffe en jours	TSH (ng/ml)
D 403	9	303	86
D 411	9,5	253	72
D 421	10	239	64
D 467	10	205	68
		335	85
D 493	9	176	83
D 510	10	157	67
D 524	10	126	72
D 542	9	116	90
		239	67
		361	95
D 558	8	77	80
		207	61
D 564	10	65	107
		195	102
D 579	10	29	68
		187	88
D 621	7	29	75
		63	67
		122	107

D 623	7	7	109
		61	106
		120	135
		245	133
D 625	7	6	103
		60	107
		119	141
D 630	9	9	69
		55	86
		114	86
D 631	9	22	71
D 643	9	13	73
		47	80
		106	85
D 709	7	76	89
D 710	8	76	125
D 711	7	76	86
		182	105
D 712	8	71	109
D 732	8	47	103
D 736	9	42	90
D 747	8	33	123
D 812	9	90	118
D 817	8	87	85
D 877	10	32	146
D 900	9	28	97
Témoins D 811			100
Témoins			61
Témoins			69
Témoins			79
Témoins			68
Témoins			89
Témoins			101
Témoins			67
Témoins			76
Témoins			93
Témoins			72

Tableaux 26 et 27 : Après une injection unique de TSHrh

Tableau 26

N°souris	Age du greffon en semaines de gestation	Délai par rapport à la greffe en jours	TSH (ng/ml)
Témoin D 811			104
D 817	8	93	112
D 524	10	141	72
D 493	9	198	41
D 421	10	281	85
D 411	9,5	295	105
D 403	9	317	91

Tableau 27 : Évolution de la TSH après une injection de TSHrh : comparaison des résultats avant et après l'injection

N°souris	Age du greffon en semaines de gestation	Délai par rapport à la greffe en jours	TSH (ng/ml)
Témoin D 811	Avant TSHrh Après TSHrh		100
			104
D 817	8	87	85
		93	112
D 524	10	126	72
		141	72
D 493	9	176	83
		198	41
D 421	10	239	64
		281	85
D 411	9,5	253	72
		295	105
D 403	9	303	86
		317	91

Tableau 28 : Après injections chroniques de TSHrh

N°souris	Age du greffon en semaines de gestation	Délai par rapport à la greffe en jours	TSH (ng/ml)
D 785	10	20	123
		36	133
D 786	10	14	147
		30	123
D 787	6	14	66
		30	82
D 790	9	12	108
D 851	8	90	139

Tableau 29 : Évolution de la T4 murine après la greffe

N°souris	Age du greffon en semaines de gestation	Délai par rapport à la greffe en jours	T4 totale (nmol/l)
D 403	9	303	32
D 411	9,5	295	57
D 421	10	239	28
		281	202
D 467	10	205	14
		335	31
D 493	9	198	54
D 510	10	157	27
D 524	10	141	77
D 542	9	116	18
D 558	8	77	14
D 564	10	65	31
		195	32
D 579	10	29	24
		187	13
D 621	7	63	30
		122	42
D 623	7	61	18
		120	38
		245	33
D 625	7	60	24
		119	38
D 630	9	9	17
		55	21
		114	31
D 631	9	22	17
D 643	9	13	17
		47	23
		106	75
D 710	8	76	38
D 711	7	76	39
		182	46
D 712	8	71	42

D 732	8	47	38
D 736	9	42	30
D 747	8	33	19
D 785	10	20	34
		36	22
D 786	10	14	28
		30	32
D 787	6	14	15
		30	41
D 790	9	12	19
D 812	9	90	23
D 817	8	87	31
		93	67
D 851	8	90	22
D 877	10	32	25
		38	61
D 900	9	28	11
Témoin D 811			19
Témoin			24
Témoin			22
Témoin			15
Témoin			26
Témoin			23
Témoin			18
Témoin			31
Témoin			18

Tableau 30 : Sans stimulation

N°souris	Age du greffon en semaine de gestation	Délai par rapport à la greffe en jours	T4 totale (nmol/l)
D 630	9	9	17
D 643	9	13	17
D 631	9	22	17
D 900	9	28	11
D 579	10	29	24

D 877	10	32	25
D 747	8	33	19
D 736	9	42	30
D 643	9	47	23
D 732	8	47	38
D 630	9	55	21
D 625	7	60	24
D 623	7	61	18
D 621	7	63	30
D 564	10	65	31
D 712	8	71	42
D 710	8	76	38
D 711	7	76	39
D 558	8	77	14
D 817	8	87	31
D 812	9	90	23
D 643	9	106	75
D 630	9	114	31
D 542	9	116	18
D 625	7	119	38
D 623	7	120	38
D 621	7	122	42
D 510	10	157	27
D 711	7	182	46
D 579	10	187	13
D 564	10	195	32
D 467	10	205	14
D 421	10	239	28
D 623	7	245	33
D 403	9	303	32
D 467	10	335	31
Témoïn			24
Témoïn			22
Témoïn			15
Témoïn			26
Témoïn			23
Témoïn			18
Témoïn			31
Témoïn			18

Tableaux 31 et 32 : Après une injection unique de TSHrh

Tableau 31

N°souris	Age du greffon en semaine de gestation	Délai par rapport à la greffe en jours	T4 totale (nmol/l)
Témoin D 811			19
D 877	10	38	61
D 817	8	93	67
D 524	10	141	77
D 493	9	198	54
D 421	10	281	202
D 411	9,5	295	57

Tableau 32

Souris	Age du greffon en semaine de gestation	Délai par rapport à la greffe en jours	T4 totale (nmol/l)
D 877	10	32	25
D 877	10	38	61
D 817	8	87	31
D 817	8	93	67
D 421	10	239	28
D 421	10	281	202

Tableau 33 : Après injections chroniques de TSHrh

N°souris	Age du greffon en semaine de gestation	Délai par rapport à la greffe en jours	T4 totale (nmol/l)
D 790	9	12	19
D 786	10	14	28
D 787	6	14	15
D 785	10	20	34
D 786	10	30	32
D 787	6	30	41
D 785	10	36	22
D 851	8	90	22

ANNEXE 5
RÉCAPITULATIF DES RÉSULTATS DES DIFFÉRENTS EXAMENS
COMPLÉMENTAIRES

Tableau 34 : Sans stimulation

N°souris	Age du greffon en jours	Délai par rapport à la greffe en jours	Age estimé du greffon en jours en fin de greffe	MO	MET	TSH (ng/ml)	T4 totale (nmol/l)	Scintigraphie
D 403	63	303	366			86	32	TS=11% TG=89%
		400	463					TS=14% TG=86%
		417	480					
D 411	66	253	319			72		
D 421	70	239	309			64	28	
D 435	66	184	250					TS=1,5% TG=43+55,5%
D 467	70	205	275			68	14	TS=4% TG=96%
		301	371					TS=3% TG=97%
		335	405			85	31	
D 493	63	176	239			83		TS=3% TG=97%
		272	335					TS=4% TG=96%
		314	377					
D 510	70	157	227			67	27	TS=22% TG=78%
D 524	70	126	196			72		TS=5% TG=95%
D 542	63	116	179			90	18	TS=12,5% TG=87,5%
		205	268					TS=4% TG=96%
		239	302			67		
		361	424			95		
D 558	56	77	133			80	14	TS=43,5% TG=56,5%
		207	263			61		

D 564	70	65	135			107	31	
		161	231					TS=1% TG=99%
		195	265			102	32	
D 579	70	29	99			68	24	
		153	223					TS=5,5% TG=94,5%
		187	257			88	13	
D 621	49	29	78			75		
		44	93					TS=96% TG=4%
		63	112			67	30	
		91	140					TS=31% TG=69%
		122	171			107	42	
		154	203					TS=20% TG=80%
D 623	49	6	55			109		TS=100% TG=0%
		15	64					TS=100% TG=0%
		42	91					TS=97% TG=3%
		61	110			106	18	
		89	138					TS=59% TG=41%
		120	169			135	38	
		152	201					TS=28% TG=72%
		245	294			133	33	
D 625	49	5	54			103		TS=100% TG=0%
		14	63					TS=100% TG=0%
		41	90					TS=92% TG=8%
		60	109			107	24	
		88	137					TS=32% TG=68%
		119	168			141	38	
		130	179					
D 630	63	1	64					TS=100% TG=0%
		9	72			69	17	TS=98,6% TG=1,4%
		36	99					TS=62% TG=38%
		55	118			86	21	

		83	146					TS=10% TG=90%
		114	177			86	31	
		146	209					TS=5% TG=95%
D 631	63	22	85			71	17	
		37	100					TS=89% TG=11%
D 643	63	13	76			73	17	TS=100% TG=0%
		28	91					TS=95% TG=5%
		47	110			80	23	
		75	138					TS=15% TG=85%
		106	169			85	75	
		138	201					TS=7,5% TG=92,5%
D 709	49	76	125			89		
D 710	56	76	132			125	38	TS=4% TG=96%
D 711	49	76	125			86	39	TS=10% TG=90%
		182	231			105	46	
D 712	56	71	127			109	41	TS=5,5% TG=94,5%
		171	227					
D 730	56	15	71					
D 732	56	47	103			103	38	TS=42% TG=58%
D 736	63	42	105			90	30	
		56	119					TS=52% TG=48%
D 747	56	33	89			123	19	TS=98% TG=2%
		47	103					TS=99,3% TG=0,7%
		133	189					
D 812	63	90	153			118	23	
D 817	56	87	143			85	31	
		162	218					TS=7% TG=93%
D 820	56	159	215					TS=61,5% TG=38,5%
D 851	56	0	56					
D 877	70	32	102			146	25	

D 899	70	124	194					
D 900	63	28	91			97	11	
		103	166					TS=8% TG=92%
		420	483					
D 901	49	103	152					TS=4,5% TG=95,5%
D 916	70	96	166					TS=0,3% TG=99,7%
D 967	66	65	131					TS=16% TG=84%
D 973	63	57	120					TS=31% TG=69%
		372	435					
D 990	63	56	119					TS=36,5% TG=63,5%

Tableau 35 : Après une injection de TSHrh

N°souris	Age du greffon en jours	Délai par rapport à la greffe en jours	Age estimé du greffon en jours en fin de greffe	MO	MET	TSH (ng/ml)	T4 totale (nmol/l)	Scintigraphie
D 403	63	317	380			91		
D 411	66	295	361			105	57	
D 421	70	281	351			85	202	
D 493	63	198	261			41	54	TS=3,5% TG=96,5%
D 524	70	141	211			72	77	
D 817	56	93	149			112	67	
D 877	70	38	108				61	

Tableau 36 : Après injections chroniques de TSHrh

N°souris	Age du greffon en jours	Délai par rapport à la greffe en jours	Age estimé du greffon en jours en fin de greffe	MO	MET	TSH (ng/ml)	T4 totale (nmol/l)	Scintigraphie
D 785	70	20	90			123	34	TS=80% TG=20%
		36	106			133	22	TS=80% TG=20%
		119	189					
		181	251					TS=43% TG=57%
		200	270					
D 786	70	14	84			147	28	TS=89% TG=11%
		27	97					TS=69% TG=31%
		30	100			123	32	
		113	183					
D 787	6	14	56			66	15	TS=100% TG=0%
		27	69					TS=100% TG=0%
		30	72			82	41	
		491	533					
D 790	63	12	75			108	19	TS=100% TG=0%
		26	92					TS=72,5% TG=27,5%
D 851 (Témoin histologique avant greffe)	56	83	139					
		90	146			139	22	
		145	201					TS=11% TG=89%
		164	220					

VU

NANCY, le 16 juillet 2002
Le Président de Thèse

NANCY, le 17 juillet 2002
Le Doyen de la Faculté de Médecine

Professeur A. DUPREZ

Professeur J. ROLAND

AUTORISE À SOUTENIR ET À IMPRIMER LA THÈSE

NANCY, le 23 juillet 2002

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ DE NANCY 1

Professeur C. BURLET

RÉSUMÉ DE LA THÈSE

Chez des souris nude, les greffes micro-chirurgicales de thyroïdes embryonnaires ou fœtales humaines provenant d'IVG se développent grâce à leur rapide revascularisation qui assure la survie du greffon puis sa différenciation. Quelle que soit la durée de la greffe, le mini-organe a un épithélium thyroïdien et des capillaires fenêtrés normaux. La relation entre l'hôte nourricier et le greffon se réduit à un chimérisme tissulaire homme-souris minime, sans conséquence sur la glande. Spontanément, la capacité de fixer l'iode est acquise dans les délais observés *in utero* et conservée pendant toute la durée de greffe. L'organification de l'iode fixé est suggérée par des signes histologiques et biologiques, témoignant d'une synthèse et d'une sécrétion d'hormones thyroïdiennes. L'inclusion de la thyroïde greffée dans une boucle de régulation murine ne peut toutefois être affirmée avec certitude. L'administration de TSH recombinante humaine n'a pas d'effet déterminant sur le développement morphologique de l'organe. En revanche, les aspects fonctionnels étudiés sont influencés par cette stimulation avec un captage plus intense, voire plus précoce, de l'iode au cours du développement et une majoration de la synthèse et de la sécrétion des hormones thyroïdiennes. Ces résultats sont ensuite confrontés à ceux colligés dans la littérature. Enfin, au-delà des résultats présentés, la méthode, qui est applicable aux autres glandes endocrines, procure un outil pour mettre en œuvre une endocrinologie expérimentale humaine *in vivo* sans impliquer l'homme.

TITRE EN ANGLAIS:

Morphological and functional developments of human foetal thyroid grafted into nude mouse.

THÈSE DE MÉDECINE SPÉCIALISÉE - ANNÉE 2002
DISCIPLINE : ENDOCRINOLOGIE ET MÉTABOLISMES

MOTS CLÉS : Thyroïde fœtale, xénogreffe, souris nude, développement morphologique, captage iode 123, hormones thyroïdiennes

INTITULÉ ET ADRESSE DE L'U.F.R. :

Faculté de Médecine de Nancy
9, avenue de la Forêt de Haye
54505 VANDŒUVRE LÈS NANCY CEDEX