



**HAL**  
open science

## Tératogénicité de l'isotrétinoïne, roaccutane

Valérie Lévêque, Catherine Coli

► **To cite this version:**

Valérie Lévêque, Catherine Coli. Tératogénicité de l'isotrétinoïne, roaccutane. Sciences pharmaceutiques. 1995. dumas-01817660

**HAL Id: dumas-01817660**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01817660>**

Submitted on 18 Jun 2018

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## 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 n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

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 au SID de Grenoble :  
[bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr](mailto:bump-theses@univ-grenoble-alpes.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/juridique/droit-auteur>

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

1<sup>er</sup> exemplaire



D 115 017105 2

UNIVERSITE Joseph FOURIER - GRENOBLE I  
Sciences Technologie Médecine

U . F . R . de PHARMACIE

Domaine de la Merci - LA TRONCHE

ANNEE : 1995

N° d'Ordre : 7055

**TERATOGENICITE DE L'ISOTRETINOINE,  
ROACCUTANE.**

**THESE**

Présentée à l'Université Joseph FOURIER - GRENOBLE I  
pour obtenir le grade de : DOCTEUR EN PHARMACIE

Par :

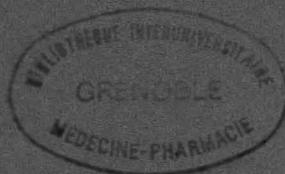
**Valérie Lévêque**

[Données à caractère personnel]

et

**Catherine Coli**

[Données à caractère personnel]



defendue publiquement le 14 Décembre 1995

le Professeur J. ROCHAT, Président du Jury  
le Professeur P. BERNARD  
le Médecin M. BOITARD  
le Pharmacien E. FANET

**UNIVERSITE Joseph FOURIER - GRENOBLE I**  
**Sciences Technologie Médecine**

**U . F . R . de PHARMACIE**

**Domaine de la Merci - LA TRONCHE**

**ANNEE : 1995**

**N° d'Ordre : 7055**

**TERATOGENICITE DE L'ISOTRETINOINE,  
ROACCUTANE.**

**T H E S E**

**Présentée à l'Université Joseph FOURIER - GRENOBLE I**  
**pour obtenir le grade de : DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Par :**

**Valérie Lévêque**

[Données à caractère personnel]

**et**

**Catherine Coli**

[Données à caractère personnel]



**Cette thèse sera soutenue publiquement le 14 Décembre 1995**

**Devant : - Monsieur le Professeur J. ROCHAT, Président du Jury**  
**- Monsieur le Professeur P. BERNARD**  
**- Madame le Médecin M. BOITARD**  
**- Madame le Pharmacien E. FANET**

A NOTRE PRESIDENT DU JURY,

**Monsieur le Professeur J. ROCHAT**

Nous avons pu tout au long de nos études apprécier son  
enthousiasme et ses compétences.

Il nous fait l'honneur d'accepter d'être le Président de notre jury.

Nous lui exprimons tout notre respect et toute notre gratitude.

**A Monsieur le Professeur P. BERNARD**

qui est à l'origine de ce travail au sein de son service.

Il nous fait l'honneur d'accepter de juger ce travail.

Qu'il nous permette d'exprimer ici le témoignage de notre  
profonde gratitude.

**A Madame le Docteur M. BOITARD**

qui a suivi et dirigé ce travail.

Nous tenons à la remercier tout particulièrement  
pour la gentillesse et la grande disponibilité dont  
elle fit preuve.

**A Madame le Pharmacien E. FANET**

Nous sommes très touchées de l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail en tant que pharmacien d'officine.

Veillez trouver ici le témoignage de nos sincères remerciements.

*A mes parents pour leur aide précieuse tout  
au long de mes études.*

*A Vincent (alias Bibou)*

*A mes grands-parents Sauret et Lévêque*

*A mes amis et amies.*

*A mes parents qui m'ont permis d'accomplir mes études  
en toute liberté et m'ont apporté leur précieux soutien.*

*A Doubou et à nos projets à venir*

*A Paul*

*A mes grands-parents Coli, Chazel et Lanfranchi*

*A tous mes amis.*

## PLAN

	Pages
<b>INTRODUCTION</b>	10
<b>Ière PARTIE</b>	11
<b>I - GENERALITES SUR ROACCUTANE®</b>	12
<b>I 1 - Historique</b>	12
<b>I 2 - Rôle biologique de la Vitamine A et des Rétinoïdes</b>	13
<b>I 2 1 - Les besoins en Vitamine A</b>	13
<b>I 2 2 - Les carences en Vitamine A</b>	13
<b>I 2 3 - Les dérivés de la Vitamine A</b>	13
<b>I 3 - Physicochimie</b>	14
<b>I 4 - Roaccutane® et acné</b>	15
<b>I 4 1 - Indications : Vidal 1995</b>	15
<b>I 4 2 - Rappel sur l'acné</b>	15
<b>I 4 2 1 - Rappel physiologique</b>	
<b>I 4 2 2 - Pathologie acnéïque</b>	
<b>I 4 2 2 1 - Hypersécrétion sébacée (hyperséborrhée)</b>	
<b>I 4 2 2 2 - Hyperkératinisation</b>	
<b>I 4 2 2 3 - Inflammation due à une prolifération bactérienne</b>	
<b>I 4 2 3 - Aspects cliniques</b>	
<b>I 4 3 - Mécanisme d'action du Roaccutane® sur les différentes composantes de l'acné</b>	18
<b>I 4 4 - Posologie - Durée du traitement</b>	19
<b>I 4 5 - Pharmacocinétique</b>	20
<b>I 4 6 - Mode d'action</b>	21
<b>I 4 6 1 - Identification du récepteur de l'Acide Rétinoïque</b>	
<b>I 4 7 - Précautions d'emploi</b>	22
<b>I 4 8 - Effets indésirables</b>	23

I 4 8 1 - Effets cutanéomuqueux	
I 4 8 2 - Effet sur l'appareil locomoteur	
I 4 8 3 - Effets métaboliques	
I 4 8 4 - Effets ophtalmiques	
I 4 8 5 - Effets neuropsychiques	
I 4 8 6 - Effets gastro-intestinaux	
I 4 8 7 - Effet tératogène	
I 4 9 - Contre-Indications	24
I 4 10 - Interactions médicamenteuses	24
I 4 11 - Résultats - Appréciations des différents phénomènes observés	25
I 5 - Toxicité	25
I 5 1 - Toxicité aiguë	25
I 5 2 - Toxicité chronique	26
I 5 3 - Mutagenèse	26
I 5 4 - Carcinogenèse	26
I 5 5 - Spermatogenèse	26
I 5 6 - Tératogenèse	27
<b>II - PHARMACOLOGIE DE LA GROSSESSE</b>	<b>29</b>
II 1 - Introduction	29
II 2 - Pharmacologie maternelle	29
II 2 1 - Résorption gastro-intestinale	29
II 2 2 - Distribution des médicaments	30
II 2 3 - Métabolisme	30
II 2 4 - Excrétion rénale	31
II 3 - Placenta et passage transplacentaire	31
II 3 1 - Formation du placenta	31
II 3 2 - Fonctions du placenta	32
II 3 2 1 - Le placenta : lieu d'échange	

II 3 2 2 - Le placenta : glande endocrine	
II 3 2 3 - Le placenta : lieu de métabolisation	
II 3 3 - Le passage transplacentaire	32
II 3 3 1 - La diffusion passive	
II 3 3 2 - Le transport actif	
II 3 3 3 - La diffusion facilitée	
II 3 3 4 - La pinocytose	
II 3 3 5 - L'ultrafiltration	
II 3 3 6 - Conclusion	
II 4 - Paramètres foetaux	35
II 5 - Rappel sur les périodes embryologique et foetale	36
II 5 1 - Rappel d'embryologie	36
II 5 1 1 - Première semaine	
II 5 1 2 - Deuxième semaine	
II 5 1 3 - De la troisième à la huitième semaine	
II 5 2 - Période embryonnaire	39
II 5 3 - Période foetale	41
II 6 - Risques encourus selon la période d'administration du médicament	41
II 6 1 - Période de pré-implantation (blastopathies)	41
II 6 2 - La période d'organogenèse (embryopathies)	41
II 6 3 - Période foetale (foetopathies)	42
II 6 4 - Période prénatale	43
III - MISE EN EVIDENCE DE LA TERATOGENICITE	44
III 1 - Méthodes expérimentales	44
III 1 1 - Méthodes in vivo	45
III 1 1 1 - Choix des espèces	
III 1 1 2 - Choix des doses	
III 1 1 3 - Voie d'administration	

<b>III 1 1 4 - Examens pratiques dans les études de tératogénicité</b>	
<b>III 1 1 4 1 - Pendant l'épreuve</b>	
<b>III 1 1 4 2 - Observations de la césarienne</b>	
<b>III 1 1 4 3 - Examen des fœtus</b>	
<b>III 1 1 5 - Interprétation et valeur de ces tests</b>	
<b>III 1 1 6 - Tests de remplacement</b>	
<b>III 1 1 6 1 - Tests sur les mammifères</b>	
<b>III 1 1 6 1 1 - Emploi des études de recherche de gamme de doses</b>	
<b>III 1 1 6 1 2 - Tests limites</b>	
<b>III 1 1 6 2 - Tests sur les non mammifères utilisant des embryons vivants libres</b>	
<b>III 1 2 - Méthodes in vitro</b>	<b>50</b>
<b>III 1 2 1 - Définition des tests in vitro</b>	
<b>III 1 2 2 - Test sur cellule d'embryon entier</b>	
<b>III 1 2 2 1 - Embryons de préimplantation</b>	
<b>III 1 2 2 2 - Embryons de postimplantations (premier stade de l'organogenèse)</b>	
<b>III 1 2 3 - Tests sur cultures d'organes entiers d'embryons</b>	
<b>III 1 2 4 - Tests sur des cultures de tissus et de cellules embryonnaires</b>	
<b>III 1 3 - Conclusion</b>	<b>52</b>
<b>III 2 - Méthodes épidémiologiques</b>	<b>53</b>
<b>III 2 1 - Méthodes descriptives</b>	<b>53</b>
<b>III 2 1 1 - Pharmacotérovigilance extensive</b>	
<b>III 2 1 2 - Pharmacotérovigilance intensive</b>	
<b>III 2 2 - Méthodes analytiques</b>	<b>54</b>
<b>III 2 2 1 - Enquêtes de type : exposés - non exposés</b>	
<b>III 2 2 2 - Les enquêtes de type cas-témoins</b>	
<b>III 2 3 - Difficultés méthodologiques</b>	<b>55</b>

<b>2ème PARTIE : TERATOGENICITE DE L'ISOTRETINOÏNE</b>	<b>56</b>
<b>I - INTRODUCTION</b>	<b>57</b>
<b>II - GENERALITES SUR LES MALFORMATIONS INDUITES PAR L'ISOTRETINOÏNE ET SES DERIVES</b>	<b>58</b>
<b>II 1 - Anomalies cranofaciales</b>	<b>58</b>
<b>II 2 - Anomalies du système nerveux central</b>	<b>58</b>
<b>II 3 - Anomalies cardiaques</b>	<b>59</b>
<b>II 4 - Anomalies du thymus</b>	<b>59</b>
<b>II 5 - Anomalies diverses</b>	<b>59</b>
<b>III - TERATOGENICITE CHEZ L'ANIMAL</b>	<b>60</b>
<b>III 1 - Etude réalisée chez le poussin</b>	<b>60</b>
<b>III 2 - Etude réalisée chez la souris</b>	<b>60</b>
<b>III 2 1 - Malformations de l'oreille induites par l'Isotrétinoïne chez l'embryon de souris</b>	<b>60</b>
<b>III 2 1 1 - Méthodes</b>	
<b>III 2 1 2 - Résultats</b>	
<b>III 2 1 3 - Discussion</b>	
<b>III 2 2 - Effet de l'Isotrétinoïne sur le développement du squelette de la souris in vitro et in vivo</b>	<b>62</b>
<b>III 2 2 1 - Etude in vivo</b>	
<b>III 2 2 1 1 - Matériel et méthodes</b>	
<b>III 2 2 1 2 - Résultats</b>	
<b>III 2 2 2 - Etude in vitro</b>	
<b>III 2 2 3 - Discussion</b>	
<b>III 3 - Etude réalisée chez le rat</b>	<b>64</b>
<b>III 3 1 - Matériel et méthodes</b>	<b>64</b>
<b>III 3 2 - Résultats</b>	<b>64</b>
<b>III 3 3 - Discussion</b>	<b>65</b>

<b>III 4 - Etudes réalisées chez le singe</b>	<b>65</b>
<b>III 4 1 - Effet temps : importance de l'exposition précoce pour la tératogénicité</b>	<b>65</b>
<b>III 4 1 1 - Matériel et méthodes</b>	
<b>III 4 1 2 - Résultats</b>	
<b>III 4 1 3 - Discussion</b>	
<b>III 4 2 - Autre étude, pharmacocinétique</b>	<b>67</b>
<b>III 4 2 1 - Matériel et méthodes</b>	
<b>III 4 2 2 - Résultats</b>	
<b>III 4 2 3 - Discussion</b>	
<b>IV - EXTRAPOLATION DES RESULTATS A L'HOMME ET VARIABILITE DES ESPECES</b>	<b>69</b>
<b>IV 1 - Rongeurs et homme</b>	<b>69</b>
<b>IV 2 - Singes et homme</b>	<b>70</b>
<b>V - TERATOGENICITE CHEZ L'HOMME</b>	<b>72</b>
<b>V 1 - Etude n° 1</b>	<b>72</b>
<b>V 2 - Etude n° 2</b>	<b>73</b>
<b>V 3 - Autres observations</b>	<b>75</b>
<b>V 4 - Sensibilité, spécificité et valeur prédictive de l'exposition à l'Isotrétinoïne</b>	<b>76</b>
<b>V 4 1 - Méthodes</b>	<b>76</b>
<b>V 4 2 - Définition</b>	<b>76</b>
<b>V 4 3 - Résultats</b>	<b>77</b>
<b>V 4 4 - Discussion</b>	<b>78</b>
<b>V 5 - Etude sur le bon déroulement d'une grossesse après l'arrêt de l'Isotrétinoïne</b>	<b>79</b>
<b>V 5 1 - Méthodes</b>	<b>79</b>
<b>V 5 2 - Résultats</b>	<b>80</b>
<b>V 5 3 - Commentaires</b>	<b>81</b>
<b>V 5 4 - Conclusion</b>	<b>82</b>
<b>V 6 - Cas cliniques</b>	<b>82</b>
<b>V 6 1 - Cas n° 1</b>	<b>82</b>

<b>V 6 2 - Cas n° 2</b>	<b>83</b>
<b>V 6 3 - Cas n° 3</b>	<b>83</b>
<b>V 6 4 - Cas n° 4</b>	<b>84</b>
<b>V 6 5 - Cas n° 5</b>	<b>84</b>
<b>V 6 6 - Cas n° 6</b>	<b>86</b>
<b>V 6 7 - Cas n° 7</b>	<b>86</b>
<b>V 6 8 - Cas n° 8</b>	<b>87</b>
<b>V 7 - Anomalies comportementales induites par l'Isotrétinoïne</b>	<b>88</b>
<b>V 8 - L'isotrétinoïne absorbée chez le sujet masculin et conséquences sur la reproduction</b>	<b>89</b>
<b>V 9 - L'acide rétinoïque en application cutanée</b>	<b>92</b>
<b>VI - MECANISME D'ACTION TERATOGENE DE L'ISOTRETINOINE</b>	<b>94</b>
<b>VI 1 - Relation Structure - Activité</b>	<b>94</b>
<b>VI 2 - Etude de l'action de l'Isotrétinoïne sur les crêtes neurales</b>	<b>94</b>
<b>VI 2 1 - Etude n° 1 : in vivo</b>	<b>94</b>
<b>VI 2 2 - Etude n° 2 : in vitro</b>	<b>96</b>
<b>VI 3 - Action de l'Isotrétinoïne au niveau des gènes</b>	<b>98</b>
<b>VI 3 1 - Identification du récepteur cytoplasmique de l'Isotrétinoïne</b>	<b>98</b>
<b>VI 3 2 - Identification du récepteur nucléaire de l'Isotrétinoïne</b>	<b>99</b>
<b>VI 3 3 - Le gène Homeobox</b>	<b>102</b>
<b>VI 4 - Autres modes d'actions possible de l'Isotrétinoïne</b>	<b>102</b>

<b>TROISIEME PARTIE</b>	<b>103</b>
<b>I - BONNE PRACTIQUE DE PRESCRIPTION DE L'ISOTRETINOINE CHEZ LA FEMME EN AGE DE PROCREER</b>	<b>104</b>
<b>I 1 - Premières séries de mesures mises en place</b>	<b>104</b>
<b>I 2 - Dernières recommandations (1991-94)</b>	<b>106</b>
<b>I 3 - Différentes pratiques suivant les pays</b>	<b>107</b>
<b>II - ASPECT LEGAL SUR L'INTERRUPTION DE GROSSESSE</b>	<b>109</b>
<b>II 1 - Rappel légal</b>	<b>109</b>
<b>II 2 - Risques des explorations fœtales</b>	<b>111</b>
<b>II 3 - Risques médicolégaux dans la pratique de l'interruption médicale de grossesse</b>	<b>111</b>
<b>II 4 - Contrôle a posteriori de l'interruption médicale de grossesse</b>	<b>111</b>
<b>II 5 - Problèmes médicojuridiques</b>	<b>112</b>
<b>III - ENQUETE AMERICAINE ET QUESTIONNAIRE A 23 DERMATOLOGUES</b>	<b>115</b>
<b>III 1 - Enquête américaine</b>	<b>115</b>
<b>III 1 1 - Méthodes</b>	<b>115</b>
<b>III 1 2 - Résultats</b>	<b>115</b>
<b>III 2 - Questionnaire proposé à 23 dermatologues</b>	<b>117</b>
<b>III 2 1 - Résultats</b>	<b>117</b>
<b>III 2 2 - Discussion</b>	<b>123</b>
<b>CONCLUSION</b>	<b>127</b>
<b>LEXIQUE</b>	<b>130</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>132</b>

## **INTRODUCTION**

De tout temps, les malformations congénitales ont été un sujet d'étonnement et de spéculation. (32)

Le terme de *tératologie* désigne au sens strict l'étude des monstruosité.

Depuis l'affaire du Thalidomide dans les années 60, on sait qu'un fœtus n'est pas à l'abri dans le ventre de sa mère et que des médicaments administrés au cours de la grossesse peuvent entraîner des anomalies congénitales qui comprennent des anomalies morphologiques, fonctionnelles, et comportementales.

Découverte au début du siècle, la vitamine A est reconnue comme tératogène chez le rat par Colhan en 1953. (17, 24, 53)

*L'Isotrétinoïne*, *Roaccutane*®, synthétisé en 1955 et commercialisé en France depuis 1986, est un rétinoïde, de structure chimique dérivée de la vitamine A. Ce médicament utilisé en dermatologie dans le traitement des acnés sévères est classé comme tératogène dès sa mise sur le marché aux USA (*Accutane*®) en 1982.

Malgré la connaissance des malformations fœtales observées dans l'expérimentation animale, dès 1983, des enfants de mère ayant consommé de l'Isotrétinoïne pendant leur grossesse, naissent avec des malformations. Aujourd'hui encore, malgré des séries de mesures préventives et informatives, on observe toujours des grossesses exposées à l'Isotrétinoïne.

Ce travail repose sur une étude bibliographique et un questionnaire proposé à 23 dermatologues.

Nous décrivons d'abord le médicament, ses caractéristiques et son utilité en thérapeutique dermatologique.

Puis grâce à la bonne connaissance des étapes du développement embryonnaire, nous décrivons précisément le syndrome malformatif de l'embryopathie à l'Isotrétinoïne au travers de l'expérimentation animale jusqu'à l'extrapolation et aux observations effectuées chez l'homme.

Ensuite, nous évoquons le délicat problème posé par l'interruption de grossesse, quelquefois à un stade avancé, des femmes enceintes traitées par le *Roaccutane*®.

Dans une dernière partie, nous débattons à travers notre enquête, de la bonne pratique de prescription du médicament et de sa délivrance en officine.

**PREMIERE PARTIE**

## I - GENERALITES SUR ROACCUTANE®

### I 1 - Historique (32, 53)

L'Isotrétinoïne, Roaccutane®, est un dérivé de la vitamine A (ou Rétinol).

La vitamine A fut découverte en 1909, c'est une vitamine liposoluble, isolée du jaune d'oeuf. Elle n'est pas synthétisée par l'organisme et doit être apportée par l'alimentation, soit sous forme de vitamine A, soit sous forme de provitamine A : le bêta carotène (d'origine végétale) scindé dans l'intestin pour donner de la vitamine A.

Tableau 1 : Principales sources de Vitamine A

Sources	Vitamine A-UI/g	Carotène UI/g
Huile de foie de flétan	20000-40000	
Huile de foie de morue	600	
Foie de poisson	100-10000	
Foie de porc	200	
Foie de veau	200	
Lait	1-4	
Beurre	15-40	
Oeuf	10-20	
Carotte		5-20
Cresson-épinard		4-19
Abricot		2-7

La vitamine A, synthétisée par les laboratoires Roche en 1947 et employée en thérapeutique à dose élevée, fut abandonnée en raison de ses effets secondaires importants.

Depuis, des dérivés de la vitamine A ont été synthétisés et parmi eux, il faut retenir la vitamine A acide ou acide tout trans rétinolique à partir de laquelle de nombreuses molécules de Rétinoïdes ont été expérimentées. Une d'entre elles est particulièrement intéressante sur le plan de la thérapeutique dermatologique : il s'agit de l'acide 13 cis rétinolique ou Isotrétinoïne.

En 1983, l'Isotrétinoïne a obtenu son AMM en Grande Bretagne, aux Etats-Unis et en Allemagne.

En mai 1986, il est commercialisé en France sous le nom de Roaccutane®.

## **I 2 - Rôle biologique de la vitamine A et des Rétinoïdes. (17, 32)**

La vitamine A joue en rôle essentiel dans la prolifération et la différenciation des tissus épithéliaux, la reproduction, la vision et la croissance.

### **I 2 1 - Les besoins en vitamine A**

Les apports recommandés doivent être considérés comme des valeurs moyennes, exprimées pour la vitamine A en équivalent rétinol à fournir par personne et par 24 heures, nécessaires à satisfaire les besoins d'une population et favoriser un bon état nutritionnel en cette vitamine.

Les apports recommandés sont exprimés en unité internationale UI ; une UI correspond à l'activité de 0,344 µg d'acétate de rétinol pur et cristallisé.

Les besoins quotidiens sont :

- 3 000 UI chez l'adulte.
- 1 400 à 3 000 UI chez l'enfant et l'adolescent.
- 1 400 UI chez le nourrisson.
- 2 000 UI et ne pas dépasser 6 000 UI, apports alimentaires inclus, chez la femme enceinte (effets tératogènes à doses  $\geq$  25 000 UI en prise prolongée voire en une prise plus courte à forte dose).

### **I 2 2 - Les carences en vitamine A**

La carence en vitamine A se traduit par une hyperkératose cutanée ; les troubles de la kératinisation étant à l'origine de certaines dermatoses : acné, psoriasis, ichtyose, lésions pré- néoplasiques.

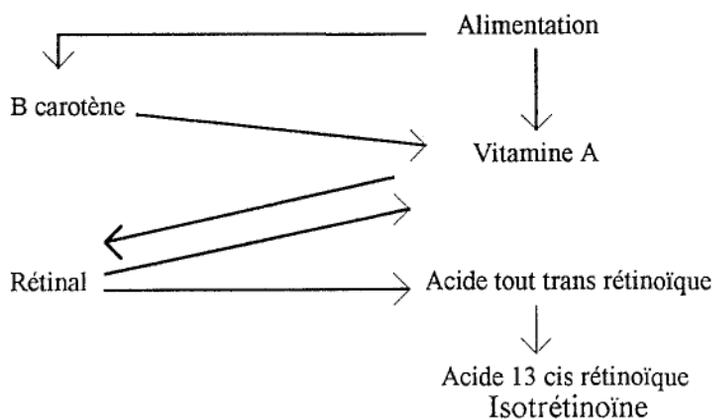
### **I 2 3 - Les dérivés de la vitamine A**

Les trois principales substances à activité vitaminique A sont : la vitamine A, le rétinol et l'acide rétinoïque.

La vitamine A s'oxyde de manière réversible en rétinol ; le rétinol s'oxyde de manière irréversible en acide rétinoïque dans le foie, les cellules intestinales et les cellules cibles.

L'aldéhyde sert à la vision.

L'acide rétinoïque et ses dérivés sont actifs dans la croissance, la différenciation des tissus épithéliaux et peuvent également promouvoir le développement osseux. En revanche, ils n'ont pas d'action dans la vision et la reproduction.

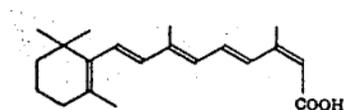


### I 3 - Physicochimie (53)

Dénomination commune internationale : DCI Isotrétinoïne.

Nom chimique : acide diméthyl 3,7 - (triméthyl 2, 6, 6 - cyclohexane - 1 yl 1) - 9 nonatetra énoïque 2, 4, 6, 8.

Formule chimique :  $C_{20}H_{28}O_2$

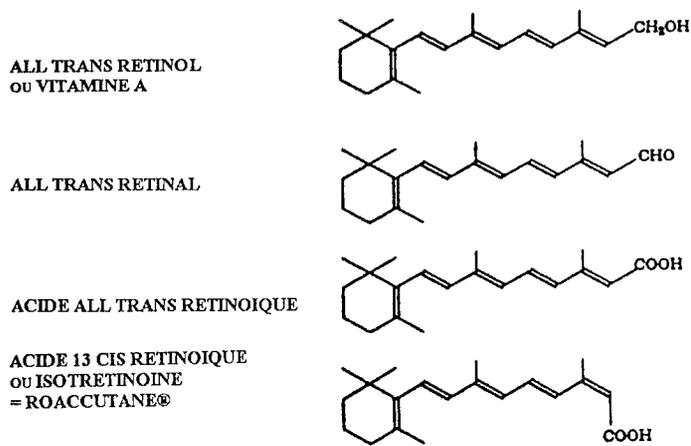


Poids moléculaire : 300, 44

Point de fusion : 174° C à 180° C

Solubilité : La substance chimique se présente sous forme de poudre cristalline jaune orange insoluble dans l'eau.

Acidité : L'Isotrétinoïne est un acide faible, il appartient à la classe des rétinoïdes qui comprend les formes naturelles et les analogues de synthèse de la vitamine A.



Structures chimiques des analogues de la vitamine A

## I 4 - Roaccutane® et acné

### I 4 1 - Indications : Vidal 1995 (54)

Acnés sévères, en particulier dans les localisations des lésions au niveau du tronc, résistantes aux traitements usuels y compris les traitements majeurs :

- Acné nodulaire et/ou kystique
- Acné conglobata

D'après les références médicales conventionnelles de 1994, il n'y a pas lieu de prescrire de l'Isotrétinoïne en dehors des acnés sévères nodulo-kystiques et conglobata, et des acnés résistantes aux traitements classiques majeurs.

### I 4 2 - Rappel sur l'acné (17)

L'acné est une dermatose fréquente, quasi constante à l'adolescence, persistant parfois à l'âge adulte. Son expression est variable, elle va du "bouton" à une acné sévère atteignant le visage et le dos posant alors d'importants problèmes relationnels.

Le siège anatomopathologique est le follicule pilo-sébacé : l'acné est un état dystrophique des follicules pilo-sébacés des régions les plus séborrhéiques, déclenché et accentué par des facteurs hormonaux. Les germes résidant dans les follicules pilo-sébacés sont responsables des poussées inflammatoires.

### **I 4 2 1 - Rappel physiologique**

Le follicule pileux est une invagination de l'épiderme dans laquelle se loge le poil. Dans ce follicule pileux débouchent les glandes sébacées. La glande sébacée est une glande holocrine, à l'origine du sébum, d'origine épiblastique. Elle est située dans le derme moyen. Les glandes sébacées sont plus grandes et plus nombreuses sur le visage (front) et la partie supérieure du dos.

La composition du sébum est très complexe, c'est un mélange lipidique composé de :

- Triglycérides : 60 %
- Cires : 21 %
- Squalène : 15 % (précurseur du cholestérol)

Le sébum exerce un rôle de protection de l'épiderme en facilitant sa cohésion, son hydratation et sa défense externe contre la lumière. Il protège contre les agents chimiques par la constitution d'une barrière lipidique imperméable aux agents hydrosolubles. De plus, s'ajoute un pouvoir bactéricide et fongicide.

La glande sébacée étant dépourvue de toute innervation, le contrôle de sa sécrétion se fait essentiellement par des facteurs hormonaux.

Le canal pilo-sébacé comprend deux parties :

- Partie distale :

Acro-infundibulum représentant 1/5 de la longueur du canal.

- Partie proximale :

Infra-infundibulum caractérisé par une absence de couche granuleuse et la synthèse d'une kératine peu adhérente.

La partie acro infundibulum a une kératinisation comparable à celle de l'épiderme. L'augmentation du rythme de kératinisation crée le bouchon infra infundibulaire responsable de la formation du comédon.

### **I 4 2 2 - Pathologie acnéïque**

L'acné résulte de la conjonction de 3 mécanismes :



### I 4 2 3 - Aspects cliniques

Localisation des lésions : . visage

. partie supérieure du thorax

On distingue :

- Les lésions purement rétentionnelles :

microkystes et comédons ouverts (points noirs).

- Apparition de papules, nodules, kystes :

Dans le comédon fermé, il y a une prolifération intense de l'épithélium folliculaire et une augmentation de sébum créant une sorte de bouchon entraînant une augmentation de pression au niveau des parois du follicule pilo-sébacé. Les agents irritants concentrés dans le sébum attaquent la paroi folliculaire et provoquent une inflammation plus ou moins grave sous forme de papules, pustules ou plus graves sous forme de nodules et kystes.

### I 4 3 - Mécanisme d'action du Roaccutane® sur les différentes composantes de l'acné. (17)

- Action anti-séborrhéique et action anti-kératinisante :

La réponse de la glande sébacée à l'Isotrétinoïne serait vraisemblablement non hormonale. L'Isotrétinoïne produit une baisse marquée du volume et de l'activité de la glande sébacée ainsi que des changements dans la composition lipidique du sébum.

- Diminution du nombre de Propionibacterium acnes :

L'Isotrétinoïne n'est pas un agent antibactérien.

Il n'a pas un effet direct sur les bactéries, mais réduit indirectement la population bactérienne simplement par un changement du micro-environnement qui devient hostile à la croissance des organismes.

- Action anti-inflammatoire :

Cliniquement, on observe une réduction progressive de toutes les formes de lésions inflammatoires.

Encore mal précisé, cet effet anti-inflammatoire serait dû à l'inhibition du chimiotactisme des cellules impliquées dans l'inflammation.

#### **I 4 4 - Posologie - Durée du traitement (17, 28, 53)**

Les variations interindividuelles de l'absorption, du métabolisme et de la réponse thérapeutique nécessitent un ajustement individuel des posologies.

La dose d'attaque du traitement est aussi fonction du poids du patient et du degré de sévérité de la maladie. Elle est répartie en général en 2 prises quotidiennes au moment des repas.

Trois dosages sont disponibles : 5 mg

10 mg

20 mg

- 0,5 mg/kg par jour est la dose initiale préconisée. Une dose d'attaque voisine de 1 mg/kg par jour serait susceptible d'accélérer la rémission et d'en prolonger la durée mais aux dépens de la tolérance et donc de l'acceptabilité du traitement.
- La dose initiale sera ensuite augmentée ou diminuée suivant la tolérance individuelle et la réponse thérapeutique.
- La posologie efficace est comprise entre 0,1 et 1 mg/kg par jour  
Une posologie de 1 mg/kg par jour ne peut être prescrite que pour une durée brève.

- Durée du traitement :

La durée habituelle du traitement est de 16 semaines (temps généralement nécessaire au blanchiment complet de l'acné). Il est possible d'observer une aggravation temporaire de l'acné en début de traitement.

L'amélioration clinique se poursuit après l'arrêt du traitement pendant un certain temps, et les signes d'imprégnation thérapeutique disparaissent rapidement.

En cas de récurrence :

- Si la récurrence est peu importante, un traitement local suffit.
- Si la récurrence est sévère, une 2<sup>ème</sup> cure d'Isotrétinoïne peut être entreprise, en respectant un intervalle de 8 semaines entre les 2 cures.

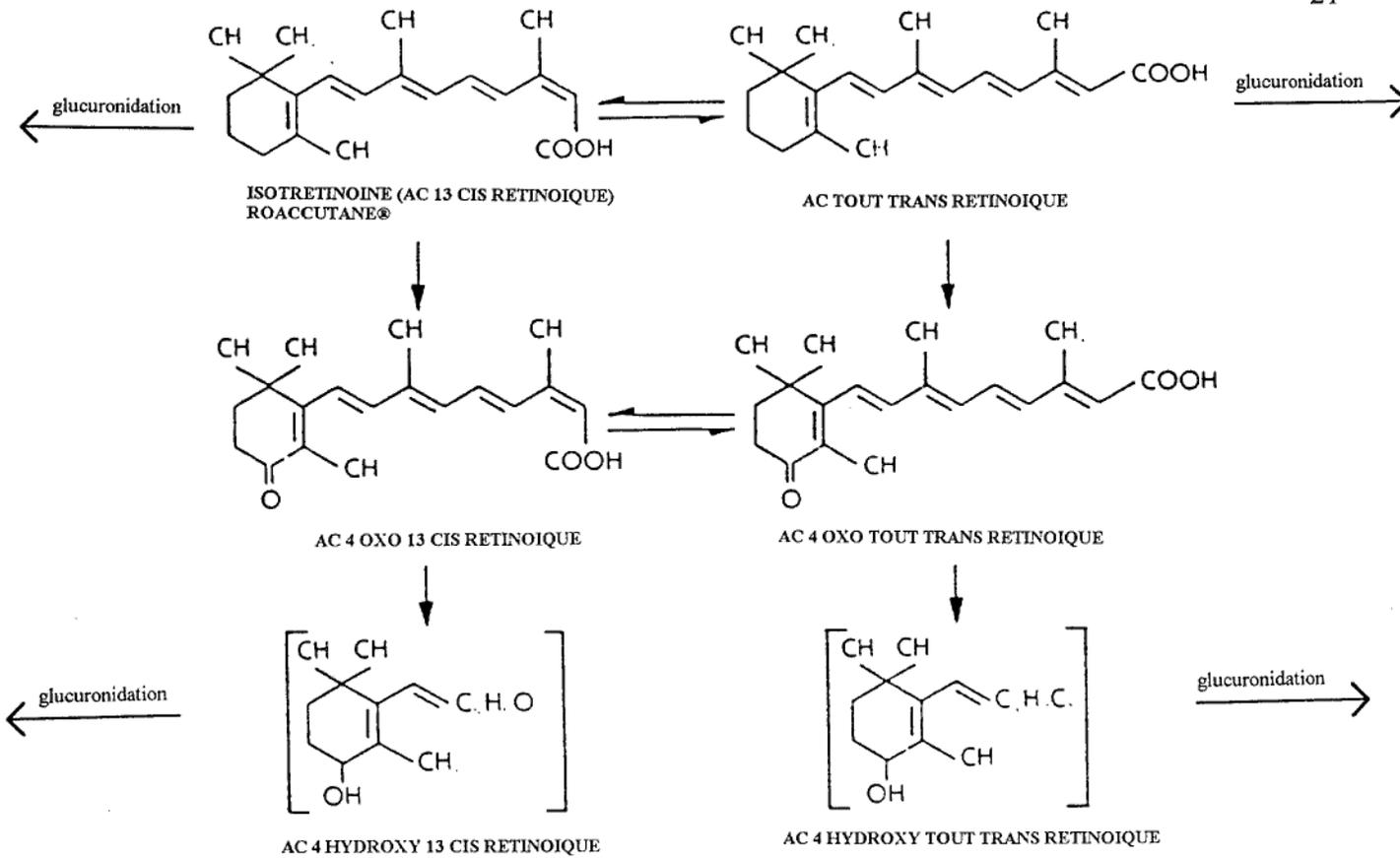
### I 4 5 - Pharmacocinétique (17)

<u>Caractéristiques</u>	<u>Isotrétinoïne</u>
Biodisponibilité	25 %
Résorption	digestive
Conc. plasmatique max.	2 à 3 heures taux indépendant de la dose
Liaison à l'albumine plasmatique	99,9 %
demi-vie d'élimination - dose simple - doses multiples	10-20 h 10-20 h
Passage à travers le placenta et dans le lait	oui
Voie d'excrétion	urine : sous forme de métabolites. bile : Isotrétinoïne et ses métabolites glucoronoconjugués
Métabolites majeurs	4 oxo Isotrétinoïne pharmacologiquement actif de demi-vie = 29 h 4 hydroxy Isotrétinoïne
Pas d'accumulation de l'Isotrétinoïne en administration prolongée.	

Remarque : L'effet tératogène serait du à une accumulation du métabolite majeur = 4 oxo Isotrétinoïne de demi-vie plus longue, dans le traitement chronique.

Le métabolite principal est le 4 oxo Isotrétinoïne, pharmacologiquement actif.

Les deux isomères 13 cis rétinoïque et tout trans rétinoïque ont les mêmes métabolites 4 oxo et 4 hydroxy dans les configurations tout trans et 13 cis.



### Métabolites de l'Isotrétinoïne

## I 4 6 - Mode d'action (24, 30, 34, 46, 53)

### I 4 6 1 - Identification du récepteur de l'Acide Rétinoïque

Deux groupes de biologistes moléculaires, l'un français (Petkovic et son équipe, en 1987) et l'autre nord-américain (Guigere et son équipe, en 1987) par une approche identique, ont identifié le récepteur liant l'acide rétinoïque : la C. R. A. B. P. (cellular rétinoïde acid binding protein).

Dans la circulation sanguine, l'acide rétinoïque est lié à l'albumine.

A l'intérieur de la cellule, la C. R. A. B. P. est le récepteur cytoplasmique qui achemine les molécules vers un site où il induit la formation d'un ARN<sub>m</sub> qui transmet l'information : ceci implique que l'acide rétinoïque agisse par modulation des gènes (un des modes d'action possible).

Cette protéine spécifique est saturable, c'est à dire qu'il en existe un nombre limité dans les cellules et ce nombre varie d'une cellule à l'autre. Il y a une augmentation de la C. R. A. B. P. après utilisation d'un rétinoïde naturel ou synthétique appliqué localement, ou administré oralement.

La C. R. A. B. P. est localisée dans les tissus suivant :

- hypophyse ++
  - oeil +
  - prostate ++
  - peau +
  - cartilage +
- et la plupart des tissus.

Les deux isomères de l'Acide Rétinoïque, c'est à dire le 13 cis rétinoïque et le tout trans rétinoïque se fixent sur la même C. R. A. B. P.

#### **I 4 7 - Précautions d'emploi (3, 17, 20, 54)**

- Bilan lipidique (TG, Cholestérol) avant traitement, puis après un mois, puis tous les 3 à 4 mois. En cas d'hypercholestérolémie et d'hypertriglycéridémie à dose élevée chez les sujets à risques, on prescrit un régime restrictif, on réduit la posologie et éventuellement on arrête le traitement.
- Surveillance régulière des gamma GT, des transaminases (ASAT, ALAT), phosphatases alcalines (avant traitement et pendant).
- Protection solaire par un écran total.
- Porteur de lentilles : éviter d'en porter durant la durée du traitement. L'utilité d'un examen ophtalmique systématique n'a pas encore été clairement démontré.
- Pour un traitement supérieur à 6 mois, un suivi radiologique serait utile, notamment chez l'enfant qui pourrait présenter un retard de croissance (éviter les sports très physiques).
- Ne pas associer avec d'autres médicaments contenant de la vitamine A, avec des antibiotiques anti-acnéiques (tétracyclines) et avec les topiques locaux anti-acnéiques (kératolytiques ou exfoliants).
- De par son effet tératogène, l'Isotrétinoïne demande certaines précautions :
  - . Vérifier avant traitement toute absence de grossesse.
  - . Mettre en route une contraception rigoureuse commencée un mois avant traitement et poursuivie un mois au moins après arrêt du traitement (ou plutôt 3 mois).

- . Débuter le traitement au 2<sup>ème</sup> ou 3<sup>ème</sup> jour des règles.
- . Proscrire le traitement pendant l'allaitement.

### **I 4 8 - Effets indésirables (3, 5, 17, 20, 50, 54)**

#### **I 4 8 1 - Effets cutané-muqueux (23 %)**

Il s'agit surtout d'une fragilité cutané-muqueuse : chéilite, sécheresse cutanée.

On trouve aussi des poussées d'acné, des lésions cutanées infectieuses, des lésions psoriasiformes, des réactions de photosensibilisation, des urticaires géantes.

#### **I 4 8 2 - Effets sur l'appareil locomoteur (19,2 %)**

Il s'agit surtout d'arthralgies et de myalgies avec augmentation des C. P. K.

#### **I 4 8 3 - Effets métaboliques (11,5 %)**

Il s'agit d'une perturbation du bilan lipidique :

Triglycérides ↗

Cholestérol ↗

VLDL ↗

LDL ↗

HDL ↘

Les bilans hépatiques et sanguins sont également perturbés :

VS ↗

Plaquettes ↗

Immunoglobulines ↗

ASAT ↗

ALAT ↗

Phosphatases alcalines ↗

**I 4 8 4 - Effets ophtalmiques (8,5 %)**

Il s'agit surtout de conjonctivites, de douleur des yeux et de troubles de l'accommodation.

**I 4 8 5 - Effets neuropsychiques ( 6,2 %)**

Ce sont surtout des céphalées.

**I 4. 8 6 - Effets gastro-intestinaux ( 3,1 %)****I 4. 8 7 - Effet tératogène****I 4 9 - Contre-Indications (3, 17, 20, 50, 54)**

Femmes en âge de procréer (voir précaution d'emploi)

Grossesse

Insuffisance rénale ou hépatique

Hypervitaminose

Hyperlipémie

Hypersensibilité à l'Isotrétinoïne

Association avec les tétracyclines

**I 4 10 - Interactions médicamenteuses**

- Les tétracyclines sont à éviter à cause d'un risque d'hypertension intracrânienne.
- La prise d'oestrogènes oraux pourrait prédisposer à une majoration des taux de triglycérides.
- La consommation d'alcool sera à réduire car l'alcool potentialise l'hypertriglycéridémie.
- Ne pas prendre de vitamine A en supplément pour éviter des toxicités qui peuvent se potentialiser.
- En raison du risque d'inactivité des contraceptifs oraux, la prise simultanée d'inducteurs enzymatiques est fortement déconseillée chez la femme en âge de procréer et traitée par Roaccutane®.

- Les traitements topiques associés : l'administration concomitante d'agents kératolytiques ou exfoliants n'est pas indiquée.

#### **I 4 11 - Résultats - Appréciations des différents phénomènes observés : (17, 20, 50)**

L'amélioration commence entre la 3<sup>ème</sup> et la 8<sup>ème</sup> semaine de traitement :

- Le visage s'améliore avant le tronc
- La diminution de la séborrhée apparaît avant la diminution des signes inflammatoires
- Les manifestations cutanéomuqueuses apparaissent dès la fin de la 1<sup>ère</sup> semaine ou la 2<sup>ème</sup> semaine, elles sont dose-dépendantes (cheilite, sécheresse cutanée et oculaire, dermite faciale, rougeur, prurit).
- Possibilité d'une poussée d'acné passagère vers la 4<sup>ème</sup> semaine ne traduisant pas une inefficacité du traitement.
- Possibilité d'une desquamation palmo-plantaire vers la 4<sup>ème</sup> semaine qui s'atténue à partir de la 12<sup>ème</sup> semaine.

Les rémissions sont d'autant plus durables que la posologie et la durée du traitement sont suffisantes. On peut obtenir une régression de 70 à 80 % du score d'acné et l'amélioration se poursuit 2 à 3 mois après l'arrêt du traitement.

Les effets indésirables régressent spontanément à l'arrêt du traitement. En cas de rechute, la réponse sera aussi bonne lors d'une 2<sup>ème</sup> cure à des doses souvent moindres.

#### **I 5 - Toxicité (3, 10, 17, 50)**

L'Isotrétinoïne reproduit en grande partie, la toxicité de la Vitamine A

##### **I 5 1 - Toxicité aiguë**

Après ingestion d'une dose supérieure à un million d'U.I.

La toxicité du Roaccutane® en surdosage aigu est faible. Cependant, on peut observer des signes d'hypervitaminose A (céphalées, nausées, vomissements, desquamation cutanée massive, somnolence, irritabilité, anorexie, hydrocéphalie aiguë chez le nourrisson, arrêt de croissance avec hyper-ostose des os longs chez l'enfant).

### **I 5 2 - Toxicité chronique**

Après une ingestion quotidienne supérieure à 100 000 U.I. et pendant plusieurs mois. Le tableau d'une intoxication chronique débute par des signes généraux (fatigue, hyperexcitabilité, anorexie, troubles du sommeil...) puis surviennent des signes cutanés (prurit, desquamation), suivis ultérieurement de fractures, lésions hépatiques avec élévation des phosphatases alcalines. Les effets secondaires ainsi observés sont dose-dépendants mais sont cependant réversibles à l'arrêt du traitement.

### **I 5 3 - Mutagenèse**

Les résultats des principaux tests permettant d'étudier la mutagenèse (test d'Ames, test du micronucléus chez la souris) se sont révélés négatifs : l'Isotrétinoïne n'a pas d'effet mutagène.

### **I 5 4 - Carcinogénèse (17)**

Etude de Kamm :

<b>Espèces</b>	<b>Durée du traitement</b>	<b>Dose en mg/kg/jour</b>	<b>Administration</b>
Rats mâles et femelles	105 semaines à raison de 7 jours/7	0, 2, 8, 32	pendant repas

- Augmentation de l'incidence des phéochromocytomes dans les deux sexes à haute dose et déjà à dose moyenne pour les rats mâles.
- Diminution des adénomes chez les rats mâles quelle que soit la dose.
- Diminution des angiomes hépatiques.
- Diminution des leucémies chez la femelle quelle que soit la dose.
- Diminution des tumeurs mammaires et des tumeurs multiples chez la femelle.

### **I 5 5 - Spermatogénèse**

Pour des doses modérées chez l'homme, on a réalisé des spermogrammes avant, pendant, à la fin et plusieurs mois après l'arrêt du traitement.

On conclut ainsi que l'Isotrétinoïne ne modifie pas la spermatogenèse tant au point de vue quantitatif que qualitatif (mobilité et morphologie).

De plus, chez les patients atteints d'acné conglobata ou de tétrade acnéique, on a mis en évidence une oligospermie avant traitement qui se corrige sous Isotrétinoïne.

### **I 5 6 - Tératogenèse (7, 15, 24, 25, 44)**

Cet effet n'intéresse pas l'homme, l'Isotrétinoïne n'affectant pas la spermatogenèse et n'étant pas mutagène.

Le Roaccutane® est hautement tératogène chez la femme enceinte.

Il existe un risque de malformations très élevé en cas de survenue d'une grossesse au cours d'un traitement par Roaccutane, qu'elles qu'en soient la posologie et la durée.

Le risque malformatif existe pour tout fœtus exposé.

La période d'embryogenèse est celle où l'atteinte par l'Isotrétinoïne causera le plus de préjudice à l'embryon. Sur des grossesses exposées à l'Isotrétinoïne, plusieurs résultats sont à envisager :

- Avortement spontané
- Mise au monde d'un enfant mort né
- Mise au monde d'un enfant vivant avec des malformations majeures.
- Mise au monde d'un enfant vivant ayant quelques malformations peu importantes.
- Mise au monde d'un enfant normal.

Le spectre des malformations :

- Le système cardio-vasculaire
- Le système nerveux central
- Le squelette
- Le crâne et la face.

Le 4 oxo 13 cis rétinolique, métabolite actif de l'Isotrétinoïne a une demi-vie d'élimination plus longue que l'Isotrétinoïne, et pour cela il serait plus tératogène que la substance mère. L'effet tératogène serait dû à une accumulation du métabolite en traitement chronique.

Ceci implique donc chez la femme en période d'activité génitale une protection anticonceptionnelle rigoureuse.

La prescription de Roaccutane® chez la femme en âge de procréer ne peut être envisagée que si la patiente est capable de comprendre l'importance du risque tératogène et de suivre les précautions d'emploi.

## **II - PHARMACOLOGIE DE LA GROSSESSE**

### **II 1 - Introduction**

L'étude de la cinétique de distribution et d'action des médicaments est difficile dans un organisme gravide car celui-ci constitue un système complexe à quatre compartiments : mère, fœtus, placenta, liquide amniotique.

Dans chacun de ces compartiments, le transport, le métabolisme et l'excrétion d'un médicament sont différents.

### **II 2 - Pharmacologie maternelle (6, 9, 22, 42)**

Les différentes phases de distribution des médicaments sont modifiées par :

- l'apparition d'un nouveau compartiment
- des modifications physiologiques : augmentation du volume plasmatique et interstitiel, diminution de la concentration des protéines plasmatiques, diminution de l'inactivation hépatique des drogues, modification de l'excrétion des médicaments.

Ces modifications physiologiques s'accompagnent de changements dans la pharmacocinétique des médicaments.

#### **II 2 1 - Résorption gastro-intestinale**

La motilité de l'estomac et celle de l'intestin sont diminuées au cours de la grossesse. Le temps d'évacuation gastrique et de transit intestinal peuvent augmenter de 30 à 50%.

Le retard de l'évacuation aura pour conséquences de retarder la résorption des médicaments et de modifier la quantité résorbée. L'augmentation du temps de contact majorera la quantité résorbée de médicaments acides faibles lentement solubles (exemple : l'Isotrétinoïne).

Il y a aussi diminution de la sécrétion acide surtout au cours du 1<sup>er</sup> et du 2<sup>ème</sup> trimestre.

L'augmentation du pH gastrique peut influencer l'ionisation des médicaments acides faibles.

L'augmentation du flux sanguin gastro-intestinal peut théoriquement accélérer la résorption intestinale des médicaments très liposolubles à diffusion rapide à travers la paroi intestinale (exemple : l'Isotrétinoïne)

## II 2 2 - Distribution des médicaments

- Les compartiments liquidiens, le volume sanguin, le volume plasmatique et l'eau du corps sont profondément altérés au cours de la grossesse. Le volume plasmatique augmente de 50 % vers la 30-34<sup>ème</sup> semaine d'aménorrhée. L'eau totale du corps est largement augmentée et atteint presque 8 litres (fœtus, placenta, liquide amniotique, utérus, glandes mammaires, œdèmes des tissus maternels). L'expansion des espaces liquidiens modifie la distribution des médicaments, mais surtout des médicaments hydrosolubles.
- Les graisses du corps s'accumulent surtout sous forme de dépôts sous cutanés. Cette accumulation de graisses explique l'augmentation du volume de distribution de certaines substances très liposolubles.
- La liaison aux protéines plasmatiques est généralement diminuée par diminution de la concentration en albumine (l'Isotrétinoïne est fixé à 99.9%). Ceci conduit à une modification de l'efficacité et de la toxicité du médicament par augmentation de la fraction libre du médicament dans le plasma.

D'après les données physico-chimiques, en ce qui concerne la pharmacocinétique de l'Isotrétinoïne durant la grossesse : sa résorption gastro-intestinale serait augmentée, son volume de distribution dans les dépôts graisseux sous cutanés aussi, en même temps qu'une augmentation de sa fraction libre dans le sang.

## II 2 3 - Métabolisme

Bien que la grossesse entraîne de profonds changements des métabolismes intermédiaires, les modifications du métabolisme des médicaments semblent moins importantes et surtout moins connues.

- Le métabolisme hépatique :

L'augmentation de la proportion de forme libre entraîne une augmentation du métabolisme hépatique. Les modifications observées paraissent quantitativement mineures par comparaison

avec celles des autres paramètres pharmacocinétiques. Toutefois, elles pourraient être qualitativement importantes et conduire à la production de métabolites plus actifs et toxiques.

- Le métabolisme existant au niveau du placenta et du foie foetal n'est pas capable, en raison de la faible activité au niveau placentaire des enzymes transformant les médicaments et la petitesse du foetus par rapport à l'organisme maternel, de modifier les concentrations plasmatiques des médicaments chez la mère. Il peut cependant modifier le rapport concentration materno-foetale.

## **II 2 4 - Excrétion rénale**

Le débit sanguin rénal s'élève très précocement. La filtration glomérulaire ne cesse d'augmenter jusqu'au terme. La clairance à la créatinine s'élève de 50%. L'élimination des médicaments empruntant principalement la voie rénale doit donc augmenter pendant la grossesse à condition que la résorption tubulaire reste inchangée.

Seuls les métabolites de l'Isotrétinoïne s'éliminent par voie rénale.

## **II 3 - Placenta et passage transplacentaire**

### **II 3 1 - Formation du placenta (9, 18)**

Le placenta est le siège des échanges foeto-maternels, il est formé d'éléments d'origine embryonnaire et d'origine maternelle provenant de la transformation de la muqueuse utérine.

La partie maternelle du placenta constitue un large sinus sanguin. Les villosités de la partie foetale font saillie dans ce lac, elles contiennent les branches des artères et de la veine ombilicale. Les différents échanges s'effectuent à travers les parois des villosités placentaires.

La partie foetale, édifiée vers le 7<sup>ème</sup> jour, établit la circulation vers le 21<sup>ème</sup> jour.

Au 15<sup>ème</sup> jour, la circulation maternelle placentaire s'amorce.

La structure définitive intervient vers le 4<sup>ème</sup> mois.

Les échanges foeto-maternels se feront à travers la membrane placentaire mais il n'y aura jamais mélange des deux sangs.

Jusqu'à l'accouchement, l'épaisseur du placenta diminue et la surface augmente. Il y a donc augmentation des échanges.

## **II 3 2 - Fonctions du placenta**

### **II 3 2 1 - Le placenta : lieu d'échanges (6, 9, 18, 32, 42)**

Le sang foetal puise dans le sang maternel, à travers les parois des villosités, les éléments dont il a besoin et rejette les déchets.

La diffusion des gaz du sang assure la fonction respiratoire du placenta. Ce sang foetal puise l'oxygène dans le sang maternel et rejette le gaz carbonique.

L'eau passe par osmose, elle sert au foetus et au renouvellement du liquide amniotique.

Les protéines de la mère sont dégradées en acides aminés et sont reconstituées en protéines spécifiques du foetus au niveau de l'épithélium villositaire.

Pour les lipides, on ne sait encore si il y a dégradation des lipides de la mère ou si il y a production des lipides par le foetus à partir des glucides.

Les glucides diffusent. La glycémie foetale est en équilibre avec la glycémie maternelle.

Les vitamines traversent le placenta. La vitamine K passe très mal.

### **II 3 2 2 - Le placenta : glande endocrine**

Le placenta synthétise et excrète les hormones nécessaires au maintien de la gestation (la progestérone est produite au cours du 2<sup>ème</sup> mois et prend le relais du corps jaune) et au développement foetal.

### **II 3 2 3 - Le placenta : lieu de métabolisation**

Le placenta est lui-même le siège d'activités enzymatiques mais qui, par rapport à celles de la mère et du foetus, interviennent peu.

## **II 3 3 - Le passage transplacentaire (9, 18)**

En fait, le placenta se comporte comme une membrane semi-perméable lipoprotéique et le transfert des médicaments à travers la membrane placentaire n'est qu'un cas particulier d'un transport à travers une membrane biologique.

Les différents mécanismes du passage transplacentaire sont les suivants :

### II 3 3 1 - La diffusion passive

C'est le mécanisme le plus important.

C'est une diffusion, sans dépense d'énergie ni phénomène de saturation et de compétition, suivant la loi de Fick.

Elle dépend de différents facteurs :

- facteurs placentaires : ce sont l'épaisseur et la surface du placenta.
- facteurs physiologiques :
  - . Poids moléculaire : quand il est inférieur à 600, les molécules traversent facilement la barrière.
  - . Liposolubilité : en effet, les membranes biologiques sont lipoprotidiques. Les molécules liposolubles diffusent aisément à travers les membranes alors que les substances hydrosolubles diffusent moins bien. Cela dépend du coefficient de partage = solubilité dans les lipides/solubilité dans l'eau. Plus le coefficient est élevé, plus la molécule diffuse.
  - . Degré d'ionisation : le passage à travers une membrane biologique est plus difficile pour une molécule chargée que pour une molécule neutre. La plupart des médicaments sont des acides ou des bases faibles, leur degré d'ionisation dépend d'une constante d'ionisation  $pka$  et d'une variable qui est le pH du milieu dans lequel le médicament est dissous. Or, il existe un gradient de pH : le pH du milieu foetal est 7.25-7.30 alors que celui du milieu maternel est de 7.4. Ainsi la proportion de molécules ionisées n'est pas la même de part et d'autre de la membrane transplacentaire. Or, comme seule la fraction non ionisée peut franchir la membrane facilement et de façon passive, il pourra y avoir accumulation chez le foetus.

### II 3 3 2 - Le transport actif

Le transport actif utilise de l'énergie, des phénomènes de saturation à toutes concentrations et de compétition peuvent exister.

Le passage est influencé par les caractéristiques spatiales et structurales de la molécule. Très peu de médicaments ont cette spécificité. Plus un médicament ressemble à une molécule biologique, plus il est susceptible d'emprunter un phénomène de transport actif.

### **II 3 3 3 - La diffusion facilitée**

Ce système n'utilise pas d'énergie, comme la diffusion passive, mais il utilise un transporteur comme dans le transport actif. La diffusion se fait dans le sens du gradient de concentration.

### **II 3 3 4 - La pinocytose**

Caractérisée par des invaginations microscopiques de la membrane cellulaire, qui viennent englober des gouttelettes de fluide extra cellulaire, ce processus est invoqué dans le passage des virus et des anticorps.

### **II 3 3 5 - L'ultrafiltration**

C'est le passage à travers les pores de la membrane cellulaire. Seules les molécules de poids moléculaire inférieur à 100 peuvent passer.

### **II 3 3 6 - Conclusion**

En fait, le mouvement des médicaments est beaucoup plus complexe. De nombreux facteurs rentrent en compte :

- le degré de liaison des médicaments avec les protéines plasmatiques, l'affinité est beaucoup plus grande chez la mère que chez le fœtus.
- la présence d'un phénomène de transport actif des médicaments du fœtus vers la mère lorsque le taux maternel en médicament diminue.
- la biotransformation des médicaments au cours du passage transplacentaire. En effet, un nombre considérable d'enzymes nécessaires à la biotransformation des médicaments a été trouvé au niveau du placenta. Ainsi, les réactions d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse et de conjugaison peuvent être réalisées lors du passage transplacentaire. Le placenta peut donc servir de foie auxiliaire pour le fœtus.

- la biotransformation des médicaments dans les tissus fœtaux a un rôle important puisqu'elle peut empêcher le passage fœto-maternel. Si il y a eu transformation d'un produit lipophile en un métabolisme hydrophile, ce dernier s'accumulera alors au niveau du fœtus.
- l'influence des facteurs hémodynamiques sur le passage transplacentaire est nettement démontré. Ainsi, les modifications de la circulation fœto-placentaire par des agents pharmacodynamiques peuvent modifier le transfert médicamenteux. De même, les modifications de la circulation maternelle perturbent les échanges. Une baisse du débit sanguin, l'hypertension artérielle ou l'hypotension chez la mère, provoquent des modifications de la perfusion utéro-placentaire.

En fait, le placenta n'est pas une barrière, mais un filtre peu sélectif capable de laisser passer la majeure partie des substances chimiques administrées à la mère.

En plus de ce rôle de filtre, il intervient de façon considérable dans les échanges nutritionnels et dans les réactions immunologiques.

Il possède aussi une activité métabolique propre en synthétisant de nombreuses substances enzymatiques et hormonales.

Tout au long de la gestation, les propriétés de transfert se modifient selon l'évolution anatomique du placenta.

Il est important de retenir que ce n'est pas parce qu'une molécule ne passe pas le placenta qu'elle n'est pas tératogène(exemple du bleu de trypan qui agit sur le processus de nutrition sans aller au niveau du fœtus). De même, une molécule traversant le placenta n'est pas pour autant tératogène ou embryotoxique.

#### **II 4 - Paramètres fœtaux (6)**

- La distribution des médicaments dans le compartiment fœtal dépend étroitement des particularités de sa circulation : shunt partiel du foie, court circuit de la circulation pulmonaire. Cette circulation privilégie, entre autres, le système nerveux central. Compte tenu du degré d'immaturation de la barrière hématoencéphalique, on est en droit de penser que cet appareil est relativement vite exposé et mal protégé contre les agressions médicamenteuses tout au long de la vie intra-utérine.

- Les capacités métaboliques, oxydation, réduction et conjugaison hépatiques, bien qu'apparaissant précocement dans la vie intra-utérine, sont faibles. De même, les capacités excrétrices rénales glomérulaires et tubulaires sont immatures : le fœtus peut donc accumuler certains métabolites.

## **II 5 - Rappel sur les périodes embryologique et fœtale**

### **II 5 1 - Rappel d'embryologie (9, 16, 40, 49)**

#### **II 5 1 1 - Première semaine**

Après la fécondation, l'œuf se segmente, arrive au stade de morula, puis se creuse d'une cavité et devient un blastocyste qui s'implante dans la muqueuse utérine vers le 6<sup>ème</sup> jour. L'œuf s'implante par son pôle embryonnaire grâce à l'activité lytique du syncytiotrophoblaste. A ce stade le bouton embryonnaire s'individualise du trophoblaste.

#### **II 5 1 2 - Deuxième semaine**

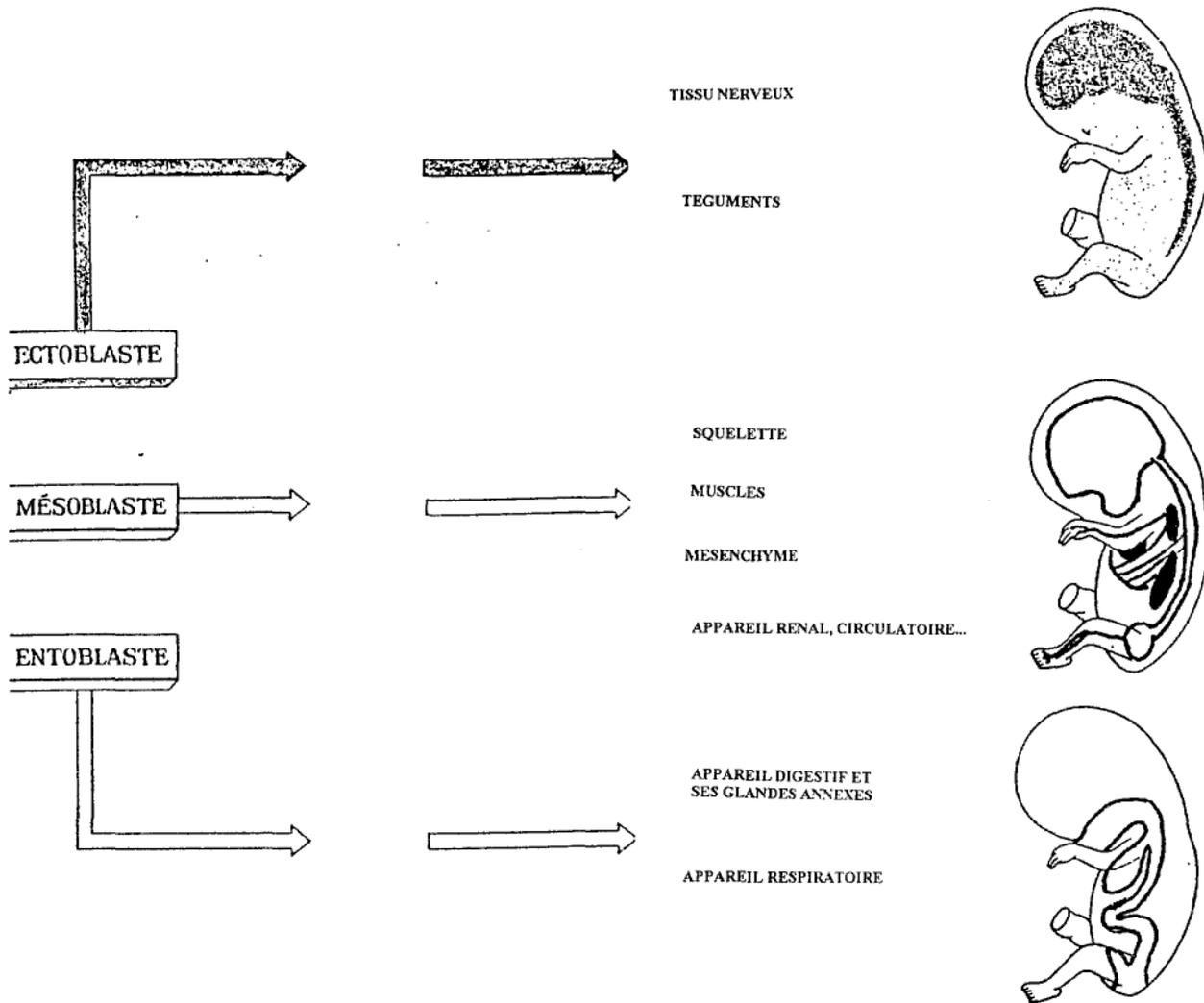
A la face inférieure du bouton embryonnaire, vont se différencier l'ectoblaste et l'endoblaste : l'embryon est didermique, à deux feuillets.

#### **II 5 1 3 - De la troisième à la huitième semaine (49)**

A la troisième semaine, il se produit la gastrulation, qui est la mise en place du troisième feuillet : le mésoblaste.

De ces trois feuillets vont naître les ébauches des différents organes et systèmes de l'embryon :

- l'ectoblaste donne le tissu nerveux et l'épiderme
- le mésoblaste donne le squelette, les muscles, le mésenchyme, l'appareil rénal, circulatoire...
- l'endoblaste donne les appareils digestif et respiratoire



Destinée des trois feuilletts

A partir de cette troisième semaine, l'ectoblaste se transforme. Il s'épaissit et forme le neuroblaste.

Le neuroblaste voit ses bords se surélever puis se rapprocher l'un de l'autre et finalement se souder et fusionner complètement pour donner le tube neural. La neurulation a lieu au cours de la quatrième semaine.

Lors de la fermeture, un contingent de cellules très particulières se détache et forme un bourrelet à la jonction ectoblaste-neuroblaste (au niveau de l'accolement des lèvres de la gouttière neurale) : ce sont les cellules de la crête neurale.

Ces cellules s'engagent dans une différenciation et une migration.

Ces cellules sont à l'origine de la formation du massif facial, du thymus et des parois des arcs aortiques entre autres.

D'épithéliales et jointives, ces cellules vont devenir mésenchymateuses et mobiles.

Elles migrent jusqu'à la face inférieure du tube neural.

Deux courants de migration peuvent être discernés :

- les cellules du cerveau antérieur vont entourer les vésicules optiques et les placodes olfactives.
- les cellules du futur tronc cérébral vont entourer le pharynx, assurer le développement des arcs branchiaux et des bourgeons maxillo-mandibulaires et migrent aussi vers le thorax, l'intestin et le cœur.

## II 5 2 - Période embryonnaire (18)

Cette phase s'étend sur les deux premiers mois de la grossesse, elle est fondamentale car l'embryon acquiert sa forme presque définitive (morphogenèse) et édifie ses principales ébauches organiques (organogenèse).

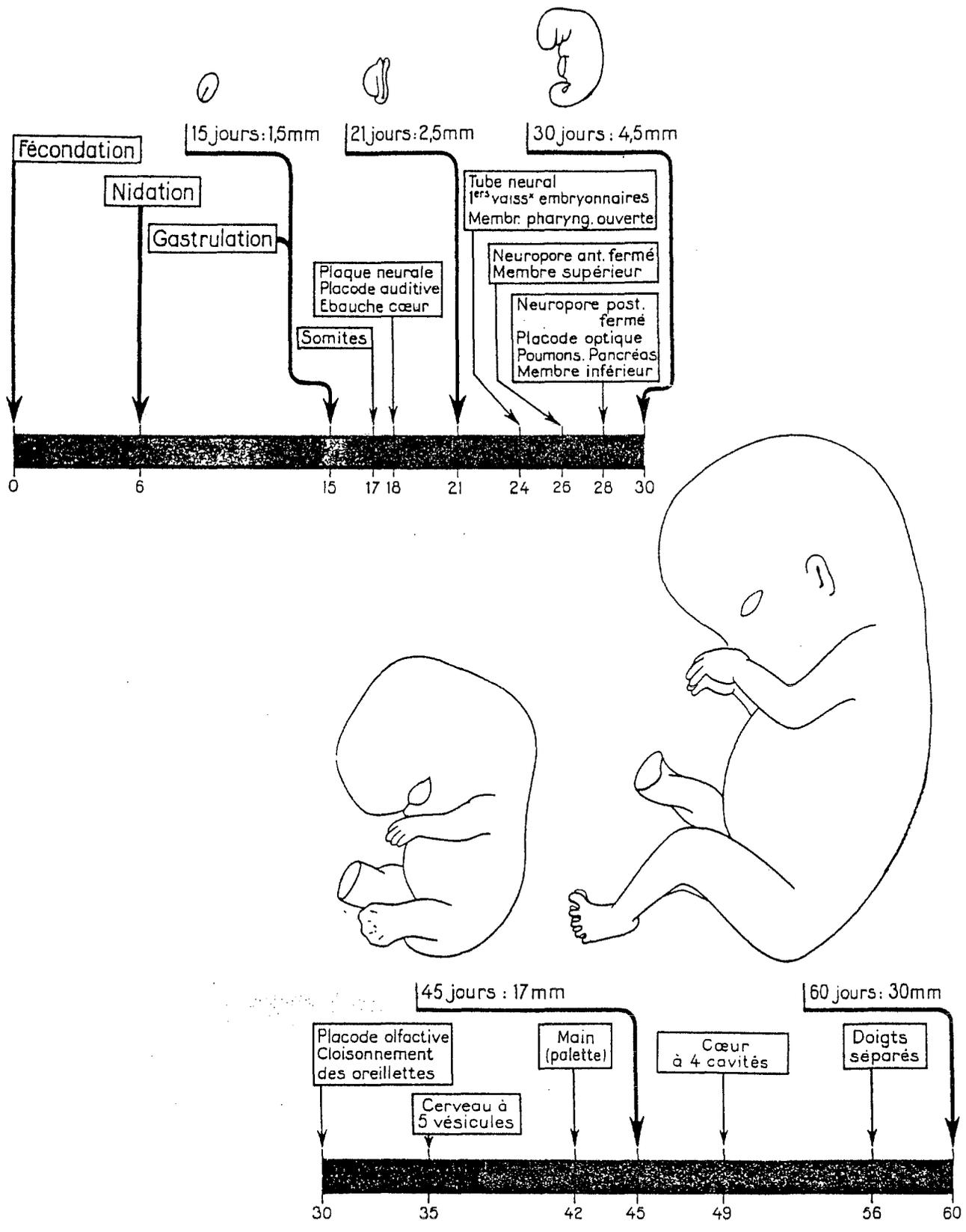
Mécanismes généraux du développement : le développement embryonnaire implique croissance et différenciation qui sont sous la dépendance de deux grands contrôles :

- contrôle génique : l'ADN des chromosomes est le vecteur de l'information génétique, il contrôle la synthèse des protéines et il détermine la spécificité de l'organisme.
- contrôle épigénétique : chaque cellule embryonnaire est dépendante d'un environnement surtout exogène, provenant de la mère par le placenta, et d'un environnement propre à l'embryon : hormones, anticorps, inducteurs.

Ce contrôle épigénétique assure la formation progressive des ébauches, puis des organes par des mécanismes complexes de mouvements cellulaires d'induction, de régulation et de régression.

Ainsi toute modification de l'environnement constitue un danger pour le fœtus, de même, toute modification du mécanisme de synthèse des protéines pourra être la source de malformations.

Or, de nombreux médicaments interfèrent avec cette synthèse.



Période embryonnaire : date d'apparition des ébauches d'après TUCHMANN-DUPLESSIS

### **II 5 3 - Période foetale (4, 18)**

Pendant les sept mois suivants, la morphogenèse est pratiquement achevée et on assiste, au cours de cette longue phase, à des phénomènes de croissance et de maturation histologique et enzymatique des organes en place (système nerveux central, organes génitaux, reins).

### **II 6 - Risques encourus selon la période d'administration du médicament (6, 22, 45)**

Si dans les esprits, le risque de tératogénicité se situe essentiellement encore autour de la malformation, c'est depuis peu que l'on admet la possibilité d'un effet nocif de définition plus large prenant en compte les troubles fonctionnels.

Selon le terme d'exposition, c'est-à-dire selon le terme de développement embryonnaire ou foetal, un xénobiotique frappera des systèmes de plus en plus fins et, respectant la morphogenèse, touchera la physiologie.

Un rapide aperçu de la chronologie du développement intra-utérin illustre bien cette notion.

#### **II 6 1 - Période de pré-implantation (blastopathies)**

Dans la lumière de la trompe, le blastocyste peut entrer en contact avec certaines substances médicamenteuses.

La concentration de certains médicaments dans la lumière tubaire peut être supérieure aux taux maternels. Les effets des médicaments sont mal connus à cette date. Deux hypothèses sont avancées :

- la première suit la loi du "tout ou rien". Les cellules du blastocyste sont polyvalentes, une atteinte légère est compensée par les cellules non touchées, une atteinte grave tue l'œuf.
- dans la deuxième hypothèse, le médicament reste inclus dans le cytoplasme et ne peut agir que plus tard.

#### **II 6 2 - La période d'organogenèse (embryopathies)**

Cette période va du 14<sup>ème</sup> au 56<sup>ème</sup> jour après la fécondation. Les cellules acquièrent des fonctions distinctes et ne peuvent plus être remplacées. C'est la véritable période critique. On observe :

- \* soit une mort de l'embryon
- \* soit une anomalie morphologique et le type d'anomalie dépend du stade de développement de l'embryon à ce moment là.

Rappelons que :

- du 15<sup>ème</sup> au 25<sup>ème</sup> jour se développe la gouttière neurale
- du 24<sup>ème</sup> au 40<sup>ème</sup> jour se développent les vésicules optiques, les cristallins et l'ébauche de l'oreille interne et de la cochlée
- du 40<sup>ème</sup> au 60<sup>ème</sup> jour se développent les organes génitaux externes
  - \* soit des effets retardés qui peuvent entraîner des modifications fonctionnelles (portant par exemple sur le psychisme) et des modifications génétiques sur la descendance.

Comme les organes se développent simultanément, une agression peut provoquer la combinaison de plusieurs anomalies. Mais l'association de plusieurs anomalies n'est pas obligatoire car les organes ne sont pas tous sensibles aux mêmes agents. Une composante génétique, augmentant l'action de certaines substances tératogènes, pourrait également exister bien que l'on en n'ait pas fait la preuve à ce jour chez l'espèce humaine.

### **II 6 3 - Période fœtale (fœtopathies)**

L'organisation de trois appareils se poursuit :

- appareil génital jusqu'à la 12<sup>ème</sup> semaine
- les dents
- le système nerveux

Dans l'ensemble cependant, les organes sont en place et les anomalies que l'on peut observer sont :

- altération des structures préexistantes : nécroses, amputations, infections...
- anomalies de l'histogenèse : formation de kystes, microgyrie...
- anomalies fonctionnelles, celles-ci ne peuvent s'observer qu'après la naissance, parfois longtemps après : retard psychomoteur, troubles du comportement, troubles endocriniens.

Au delà de la 10<sup>ème</sup> semaine, les médicaments ou substances toxiques (tabac, alcool, drogues toxicomanogènes...) administrés à la mère peuvent avoir sur l'enfant un retentissement fonctionnel souvent très grave, mais sans retentissement sur la morphogenèse.

## **II 6 4 - Période prénatale**

En fin de grossesse ou lors de l'accouchement, un médicament utilisé jusque là sans danger spécifique peut faire courir un risque toxique. Il peut, en effet, passer chez le nouveau né jusqu'à clampage du cordon. Ce risque dépend de l'intervalle de temps séparant l'administration du médicament de la naissance.

### **III - MISE EN EVIDENCE DE LA TERATOGENICITE (18, 44)**

La tératogénicité (du grec teratos : monstre et genesis : formation) est la production pathologique ou expérimentale d'anomalies du développement.

Connue depuis l'Antiquité, elle a surtout été étudiée depuis le début de ce siècle.

Pour l'ensemble des grossesses humaines, certains auteurs pensent qu'une gestation sur deux n'est pas menée à terme, principalement à cause de syndromes malformatifs fœtaux.

Les causes sont multiples (Wilson en 1977) : (9, 18, 44)

- transmission génétique : 20 %
- aberration chromosomique : 3 à 5 %
- Facteurs externes : radiations < 1 %
  - infections (rubéole, herpès...) : 2 à 3 %
  - troubles métaboliques maternels : 1 à 2 %
  - médicaments et agents chimiques : 4 à 5 %
  - association de plusieurs causes
  - causes inconnues : 65 à 70 %

L'ampleur du problème et la difficulté de détection des agents tératogènes chez l'homme ont conduit à multiplier les méthodes d'études.

Actuellement, les méthodes appliquées chez l'homme sont de type épidémiologique ; les méthodes expérimentales faisant appel à du matériel animal et exceptionnellement à des embryons humains.

#### **III 1 - Méthodes expérimentales**

Les méthodes expérimentales réalisées in vivo ou in vitro, malgré leurs propres limites, représentent une alternative et un complément efficace pour la détection des agents tératogènes.

Elles représentent le moyen le plus efficace pour la détection des agents tératogènes externes.

Ces études, sans préjuger de la nature et de l'importance d'un risque éventuel chez l'homme (puisque dans toute la pharmacotoxicologie, l'extrapolation directe des résultats à une toute autre

espèce est impossible), ont néanmoins une valeur d'alerte, orientant le choix thérapeutique vers d'autres substances.

### **III 1 1 - Méthodes in vivo (18, 37)**

On sait que dans la grande majorité des cas, la toxicologie des xénobiotiques résulte de la formation de liaisons covalentes entre le xénobiotique lui-même, ou certains métabolites actifs, électrophiles, et les centres nucléophiles des macromolécules tissulaires.

Il peut arriver que le xénobiotique ou ses métabolites, même à des doses apparemment non toxiques, modifient ou altèrent le matériel génétique des cellules somatiques et/ou germinales de l'hôte (ADN).

#### **III 1 1 1 - Choix des espèces (37)**

La tératogénicité d'un médicament peut varier d'une espèce animale à une autre ; ainsi la recherche de l'activité tératogène devra se faire sur plusieurs espèces animales.

La CEE recommande "au moins deux espèces animales" : un rongeur (rat ou souris) et un non rongeur de la famille des lagomorphes (souvent le lapin). En fait, il vaudrait mieux utiliser rat + souris + lapin. D'autres espèces sont admissibles mais, ces trois là, présentent un triple avantage :

- gestation de courte durée :

souris 10-20j

rat 21-22j

lapin 28-34j

- nombre élevé de fœtus :

souris 6 à 10

rat 7 à 8

lapin 6 à 10

- prix de revient relativement modique :

La lapine par sa taille permet des observations auxquelles se prêtent mal les souris et les rats.

Les primates présentent souvent une sensibilité analogue à celle de l'homme, mais la durée de gestation est longue :

macaque 156-180j

babouin 164-186j

et le nombre de fœtus est faible : 1

Il est évidemment souhaitable que les mécanismes de bio-transformation soient aussi voisins que possibles de ceux de l'homme.

Des études métaboliques sont menées en même temps que l'étude de la toxicité par administrations répétées ; les espèces retenues doivent être soumises à ces études.

Pour les rongeurs, on prendra 20 femelles gravides par dose et pour les non rongeurs, 12 femelles gravides par dose. Ces femelles sont traitées pendant la phase sensible de l'embryogenèse :

rat et souris : 6 → 15<sup>ème</sup> jour

lapin : 6 → 18<sup>ème</sup> jour

Les femelles sont ensuite sacrifiées à la fin de cette période et avant la mise-bas, c'est-à-dire :

rat : 19<sup>ème</sup> jour

singe : 18<sup>ème</sup> jour

lapin : 28<sup>ème</sup> jour

Si en effet, on attend la mise-bas, les animaux malformés sont souvent dévorés par la mère et échappent ainsi à l'expérimentateur. Les fœtus sont prélevés par césarienne. Pour posséder des cas témoins, certaines gestations se poursuivent tout de même jusqu'à terme.

### III 1 1 2 - Choix des doses (18, 45)

Le choix des doses fortes tolérées rend nécessaire l'exécution d'une expérience préliminaire sur quelques femelles gravides avec deux à trois doses et un nombre limité d'animaux par dose. Il ne faut pas que la dose la plus forte soit embryolétale; il ne faut pas davantage qu'elle soit toxique pour la femelle gravide qui est plus sensible à l'action d'un xénobiotique que la femelle non gravide. Mais la dose doit être suffisante pour faire apparaître l'effet tératogène éventuel.

Les caractéristiques du médicament doivent être prises en compte :

- pour un médicament à action courte, prévoir une administration deux fois par jour.
- pour un médicament à action prolongée, prévoir d'espacer de plusieurs jours les administrations pour éviter un effet cumulatif.

Une série d'animaux témoins sera traitée dans les mêmes conditions qu'une série d'animaux qui reçoivent le produit étudié. Le nombre d'animaux pour chaque série doit être suffisant pour permettre une évaluation statistique des résultats.

### **III 1 1 3 - Voie d'administration (18, 37, 45)**

La voie d'administration sera celle de la thérapeutique bien que la tératogénicité et la toxicité d'un même produit puissent varier suivant la voie.

Remarque : la voie orale se fait par intubation œsophagienne chez les animaux.

Si la première voie étudiée est la voie orale et si le médicament devient injectable, il faudra une nouvelle expérimentation. A l'inverse, il n'apparaît pas nécessaire de recommencer une étude par voie orale lorsque la voie parentérale a déjà été étudiée.

### **III 1 1 4 - Examens pratiques dans les études de tératogénicité**

#### **III 1 1 4 1 - Pendant l'épreuve**

On observe l'état de santé et le comportement des animaux, les symptômes classiques, les avortements, la mortalité.

#### **III 1 1 4 2 - Observations de la césarienne**

- Examen du tractus génital de la mère : nombre de corps jaunes, points d'implantation, pesée des utérus avant leur ouverture
- A l'ouverture de l'utérus : noter le nombre et le poids des fœtus vivants et des fœtus morts, pesée des placentas.

#### **III 1 1 4 3 - Examen des fœtus**

- Observation des malformations macroscopiques externes : par exemple anophtalmie, microophtalmie, exencéphalie, encéphalocèle ... qui sont plus faciles à déceler chez les animaux de grande taille.

La moitié ou les deux tiers des fœtus vivants, prélevés au hasard, sont soumis à un examen du squelette par coloration à l'alizarine.

- La moitié ou le tiers restant est immergé dans le liquide de Bouin pour examen histologique (exemple : anomalies cardiaques, œsophagiennes, observer éventuellement qu'un œil macroscopiquement normal présente des anomalies).

La recherche d'un effet tératogène demande beaucoup de travail et une grande méticulosité.

L'ensemble des données est traité par les méthodes statistiques, spécialement pour les pourcentages de fœtus vivants, de perte avant l'implantation, après implantation, de malformations.

Toutes les pièces, toutes les lames, tous les résultats sont conservés en archives.

### **III 1 1 5 - Interprétation et valeur de ces tests**

En possession des données expérimentales, l'expérimentateur porte un jugement quant à l'action tératogène, en comparant les cas témoins et les cas traités avec ces tests statistiques.

Il va maintenant falloir tirer une conclusion qui devrait être : le produit x, à dose n, est (ou n'est pas) tératogène chez telle ou telle espèce animale. Peut-on en inférer qu'il sera (ou ne sera pas) tératogène pour l'espèce humaine ?

Remarquons que, dans l'état actuel des connaissances :

- Tous les médicaments tératogènes pour l'espèce humaine produisent aussi des malformations chez les rongeurs et le lapin.
- Les résultats négatifs obtenus chez les rongeurs et le lapin ne permettent pas de conclure formellement à l'absence de tout risque tératogène pour l'embryon humain.

#### Cas les plus simples mais pas les plus fréquents :

- Si un médicament, examiné convenablement ne provoque, chez un nombre suffisant d'animaux et chez plusieurs espèces, ni malformations ni taux élevé de résorptions embryonnaires, on ne peut l'estimer potentiellement non nocif : des recherches complémentaires s'imposent (choix d'autres espèces, d'autres doses). Avec ces protocoles, tout risque de tératogénicité chez l'homme devrait être mis en évidence.
- Si, dans les mêmes conditions, le médicament révèle des malformations chez plusieurs espèces, à des doses qui n'altèrent pas l'état général de la mère, on peut estimer son potentiel tératogène hautement probable. Si il s'agit d'un médicament très intéressant, on pourra effectuer un essai

supplémentaire sur une autre espèce dont on aura vérifié qu'elle métabolise ce produit comme l'homme.

#### Cas plus compliqués :

Dans les conditions que nous avons précisées, le médicament provoque l'apparition de malformations chez une ou deux espèces tandis que la troisième est résistante. Ce comportement différent peut s'expliquer par des différences de voie métabolique. Il faut cependant considérer ce médicament comme potentiellement dangereux.

Pour les médicaments utilisés depuis longtemps en médecine humaine, les observations cliniques considérables ont plus de poids que les résultats sur un nombre relativement faible d'animaux de laboratoire.

### **III 1 1 6 - Tests de remplacement (1)**

Une discussion s'est récemment focalisée sur l'éthique de l'expérimentation animale et la possibilité de remplacement ou de réduction de l'emploi d'animaux. Ceci peut être réalisé par le perfectionnement des techniques in vivo existantes ou leur remplacement par de nouveaux tests.

#### **III 1 1 6 1 - Tests sur les mammifères**

##### **III 1 1 6 1 1 - Emploi des études de recherche de gamme de doses**

C'est la sélection des niveaux de doses appropriées pour des études complètes.

Les avantages de ce schéma d'étude sont :

- les petits nombres d'animaux utilisés, les faibles quantités de produit nécessaires, la prise en considération des capacités métaboliques maternelles et fœtales, l'examen des différences entre les espèces.

##### **III 1 1 6 1 2 - Tests limites**

Les directives sur l'évaluation toxicologique indique que les produits de faible toxicité n'ont pas besoin d'être étudiés à faible dose si une dose d'au moins 1000 mg/kg (étude par voie orale) ou

5 ng/l (étude par inhalation) ne montre pas d'embryotoxicité évidente. Ce test est recommandé pour des produits dont on présume une faible toxicité. Il n'est besoin que d'un seul groupe traité et d'un seul groupe témoin.

### **III 1 1 6 2 - Tests sur non mammifères utilisant des embryons vivants libres**

Les embryons entiers d'espèces non mammifères, tels que le poulet ou les amphibiens, ont été utilisés d'une façon extensive dans les études de recherche fondamentale. Les avantages de ces tests sont qu'ils n'ont besoin que de faibles quantités de produits à tester et que l'étude est de faible durée. Les inconvénients majeurs sont qu'ils utilisent des embryons de classe inférieure comme modèle de l'embryon de mammifère.

Les influences sur la mère sont par conséquent exclus et ces tests produisent trop de résultats faussement positifs :

- Tests d'embryotoxicité :

- sur le poulet
- sur la grenouille
- sur le poisson
- sur l'embryon de drosophile
- sur l'hydre

### **III 1 2 - Méthodes in vitro**

Le tératologiste est amené à tester un nombre croissant de molécules. Cette demande va excéder le potentiel actuel en laboratoire, en hommes et en animaux. Pour cette raison, les chercheurs en sont venus à l'expérimentation in vitro.

#### **III 1 2 1 - Définition des tests in vitro**

Ce sont des expériences faisant appel à des systèmes biologiques (cellules, tissus, organes, embryons) maintenus artificiellement en vie, dans un milieu contrôlé, hors de l'organisme d'origine.

Les essais in vitro ont été généralement développés comme tests de criblage et en vue de procurer des informations sur le mécanisme de la toxicité de reproduction. Ils n'ont pas été développés en

premier pour remplacer les tests conventionnels actuels. Au cours du développement d'un produit où des petites quantités seulement d'une substance sont disponibles, il peut être impossible d'effectuer des études sur l'animal. Dans ce cas, les criblages *in vitro* peuvent être valables pour savoir si le produit présente un danger pour la reproduction.

Il est également possible d'utiliser les tests de criblage pour classer une famille de produits chimiques dans l'ordre de leur toxicité potentielle pour la reproduction. Ainsi un test "in vitro" a été utilisé pour classer des rétinoïdes synthétiques selon leur toxicité pour le développement.

Tous les tests suivants souffrent d'inconvénients et les effets sur la mère sont exclus.

### **III 1 2 2 - Tests sur cellules d'embryon entier**

La culture *in vitro* d'embryons de mammifères et d'humains a été effectuée avec succès. Cette technique reproduit *in vitro* le développement embryonnaire normal pendant une courte période.

#### **III 1 2 2 1 - Embryons de préimplantation**

Les auteurs s'accordent pour affirmer que la période de préimplantation n'est pas sensible à l'induction d'anomalies.

#### **III 1 2 2 2 - Embryons de post-implantation (Premier stade de l'organogenèse)**

Ce sont des études de choix en tératologie expérimentale.

Ces études permettent la mise en évidence du potentiel embryotoxique direct et/ou indirect des substances sur l'embryon cultivé en ajoutant l'agent tératogène étudié et/ou ses métabolites au milieu de culture.

### **III 1 2 3 - Tests sur cultures d'organes entiers d'embryons**

Un large ensemble d'organes embryonnaires ou fœtaux peut être explanté et maintenu en culture (cristallin embryonnaire, rein, thyroïde).

Comme les cultures d'embryons entiers, la technique de culture d'organes d'embryons reproduit *in vitro* une période brève du développement. Cependant, la période étudiée prend chronologiquement le relais de la technique précédente et permet l'observation d'évènements plus tardifs de

l'embryogenèse. Cette technique constitue un modèle utile à l'étude de l'action des agents tératogènes sur les processus de différenciation embryonnaire.

### III 1 2 4 - Tests sur des cultures de tissus et de cellules embryonnaires

Ces essais utilisent des cellules et des tissus issus d'embryons, qui continuent de suivre un certain nombre de processus de développement tout en restant en culture (croissance, différenciation cellulaire, apparition de produits géniques spécifiques...).

Ces essais sont utiles pour préciser et comprendre certains points du mécanisme intime d'action des agents tératogènes.

La spécificité d'action d'un tératogène sur tel ou tel type cellulaire serait liée à une différence de sensibilité de la cible.

Les lésions élémentaires de cellules embryonnaires provoquent des altérations, soit du métabolisme, soit de la replication de la cellule.

La mort de quelques cellules parmi une petite population de cellules destinées à former une ébauche, dès les premiers stades de l'embryogenèse, est lourde de conséquences pour le fœtus.

Parmi ces tests, on trouve :

- culture de neuroblastes-myoblastes de drosophile
- culture de cellules de la rétine neurale de l'embryon de poulet
- culture de cellules de bourgeons de membres de rat et de souris et culture de cellules du système nerveux central en micromasse.
- essai sur le mésenchyme palatal de l'embryon humain.

### III 1 3 - Conclusion

La plupart des tests in vitro ont été, à l'origine, utilisés pour étudier le mécanisme de la toxicité de reproduction observée chez les animaux.

Cependant une comparaison des résultats obtenus in vitro avec ceux obtenus in vivo est encore à effectuer. Ainsi dans l'état actuel de l'expérience et des connaissances les tests in vitro ne peuvent, à eux seuls, être utilisés directement pour évaluer le danger pour l'homme. Dans la plupart des cas, les résultats in vitro devront être suivis d'essais conventionnels in vivo.

## **III 2 - Méthodes épidémiologiques (6, 18, 22, 37, 44)**

Depuis 1960, à la suite d'effets indésirables sévères (Thalidomide) chez les femmes enceintes, des recherches épidémiologiques se sont développées visant à évaluer le rôle des médicaments dans les malformations congénitales.

Toutes les techniques épidémiologiques reposent sur l'observation : elles diffèrent par les modes de recueil et d'analyse des données.

Lorsque des résultats existent, ils prévalent sur les données expérimentales.

### **III 2 1 - Méthodes descriptives**

Elles décrivent le phénomène.

#### **III 2 1 1 - Pharmacotérovigilance extensive**

C'est l'étude de cas isolés. Ce système d'observation repose sur la notification de malformations apparues chez des enfants de mères traitées pendant leur grossesse.

Il s'agit d'observations éparses et, pris séparément, ces cas n'ont pas beaucoup de valeur sur le plan épidémiologique, mais leur convergence peut attirer l'attention d'observateurs attentifs. L'alerte pour une substance est donc donnée par l'accumulation d'observations d'une similitude troublante.

De plus, c'est une méthode mal adaptée à la tératogénicité car il existe un long délai entre l'administration du produit et le diagnostic des malformations.

L'attention des observateurs peut être éveillée dans deux cas de figure :

- apparition de malformations normalement extrêmement rares dans la population générale
- augmentation de fréquence de malformations plus "banales" mais homogènes dans un groupe de mères exposées au même agent.

#### **III 2 1 2 - Pharmacotérovigilance intensive**

C'est l'étude dite des registres : il s'agit du recueil de cas cliniques.

Ce système repose sur l'observation de la fréquence de malformations dans une population et permet de déceler une augmentation accidentelle de la fréquence d'une anomalie donnée qui fera rechercher l'apparition d'un nouveau facteur (médicaments).

Il s'agit là d' études épidémiologiques descriptives puisqu'un tel enregistrement ne cherche pas à établir l'existence d'une relation entre le médicament et la malformation.

En France, le premier système mis en place couvre la région Rhône-Alpes et se distingue par la richesse de descriptions et de classifications des malformations.

Ces études ont pour rôle de suggérer la nécessité d'autres études épidémiologiques analytiques et parfois d'orienter vers l'existence d'un agent causal.

### **III 2 2 - Méthodes analytiques**

Les enquêtes sur un échantillon représentatif permettent d'estimer la fréquence d'une anomalie et la fréquence d'une exposition.

Elles requièrent la constitution d'un échantillon de grand effectif tiré au sort dans la population.

#### **III 2 2 1 - Enquêtes de type : exposés-non exposés**

Elles sont encore désignées par les termes d'études de cohortes ou d'études longitudinales.

Ces enquêtes permettent de comparer la proportion d'anomalies décelée parmi les sujets exposés et les sujets non exposés à l'action d'un agent présumé causal.

Elles étudient donc l'issue de la grossesse d'un groupe de femmes exposé à un médicament à celle d'un groupe de femmes non exposées dans la même population. Elles nécessitent la constitution de deux groupes de sujets dont les effectifs sont fixés au départ.

Ce type d'enquête épidémiologique est coûteux :

- il faut inclure un grand nombre de sujets dans l'étude pour atteindre une puissance statistique suffisante.
- la durée de surveillance s'ajoute à la durée d'inclusion.

Néanmoins, ces études sont utiles lorsque l'exposition est rare et elles permettent l'estimation directe du taux de survenue d'un effet dans une population donnée, et du risque supplémentaire attribuable à l'exposition.

#### **III 2 2 2 - Les enquêtes de type cas-témoins**

Elles sont encore dites rétrospectives ou transversales. Le principe est basé sur la comparaison

d'une population de nouveaux-nés malformés à des témoins non malformés (qui par ailleurs ont les mêmes caractéristiques). Les effectifs sont réduits, la durée d'étude courte et le coût peu important. Ces études cas-témoins sont indiquées quand une anomalie est rare, mais elles impliquent le choix d'un seul effet étudié et interdisent la mise en évidence d'autres effets.

L'inconvénient principal tient aux biais qui peuvent s'introduire dans le choix de la population témoin, et sur le mode d'interrogatoire, puisque l'on cherche à obtenir des mères des renseignements antérieurs à la naissance de leur enfant.

Le meilleur exemple de l'intérêt de ce type d'approche est celui du diéthylstilbestrol dont la tératogénicité au cours de la grossesse a été mise ainsi en évidence. Ces études cas-témoins constituent un outil rapide et efficace.

### **III 2 3 - Difficultés méthodologiques**

Avant de choisir un type d'enquête épidémiologique, il faut clairement définir la question posée et pouvoir :

- définir l'exposition
- sélectionner les effets à observer
- s'assurer que les groupes sont comparables

Préciser :

- les buts de l'enquête
- le type d'enquête choisie
- les critères de sélection des sujets
- la nature et le mode de recueil des renseignements.

Toutes les méthodes épidémiologiques ont une même limite = CORRELATION NE SIGNIFIE PAS CAUSALITE.

Cette proposition résume la difficulté du choix des critères à prendre en compte pour évaluer la tératogénicité des médicaments.

Les méthodes épidémiologiques requièrent l'enregistrement d'un grand nombre d'observations, des délais d'étude souvent longs, d'importants investissements et connaissent des limites liées au nombre important de variables à prendre simultanément en compte pour analyser correctement les résultats.

**DEUXIEME PARTIE :**

**TERATOGENICITE DE L'ISOTRETINOÏNE**

## I - INTRODUCTION (14, 19, 24)

L'Isotrétinoïne ou acide 13 cis rétinolique a été synthétisé en 1955, commercialisé en septembre 1982 aux USA (Accutane®) et en 1986 en France (Roaccutane®), avec pour indication exclusive : les acnés sévères nodulokystiques, conglobata et rebelles aux traitements classiques.

Les premiers cas de malformations liés à la prise d'Isotrétinoïne pendant la grossesse ont été rapportés aux USA dès 1983 : douze cas d'anomalies de la grossesse présumés liés à l'Isotrétinoïne sont soumis à la Food and Drug Administration (FDA) par le fabricant, 10 mois seulement après la commercialisation du produit (sept avortements spontanés précoces, cinq syndromes malformatifs). Depuis, de nombreux cas prouvant l'action tératogène puissante de l'Isotrétinoïne chez l'homme ont été publiés. En 1989, la FDA estimait à environ mille, le nombre de syndromes polymalformatifs attribués à une exposition in utero à l'Isotrétinoïne ; l'essentiel de ces cas ayant été rapporté aux USA et au Canada.

Le risque tératogène est important et est évalué entre 15 et 45 % dans les cas exposés dans la littérature. Il est majeur au cours du 1<sup>er</sup> trimestre.

En théorie, le risque tératogène est possible après l'arrêt du traitement et fixé empiriquement à un mois, ceci en raison de la lenteur d'élimination de la molécule et de son métabolite.

Aux USA, on estime que plus de soixante mille femmes par an en âge de procréer sont traitées avec l'Isotrétinoïne alors que la FDA évalue à quatre mille le nombre de femmes entre quinze et quarante quatre ans pour lesquelles l'Isotrétinoïne serait vraiment indiqué.

Pour cette étude de tératogénicité, nous citerons brièvement dans un premier temps les syndromes malformatifs principaux de l'exposition à l'Isotrétinoïne que l'on retrouve aussi bien chez l'animal que chez l'homme. Puis nous traiterons la tératogénécité chez l'animal, à travers plusieurs études in vitro et in vivo, jusqu'à l'extrapolation à l'humain, et enfin, différentes études faites chez ce dernier.

## **II - GENERALITES SUR LES MALFORMATIONS INDUITES PAR L'ISOTRETINOÏNE ET SES DERIVES (2, 7, 13, 21, 24, 25, 32)**

Actuellement, plus de soixante types de malformations ont été décrits chez le fœtus exposé à l'Isotrétinoïne durant le premier trimestre de la grossesse.

Habituellement, il s'agit d'un syndrome polymalformatif affectant le cœur, le système nerveux central et le massif cranofacial, notamment l'oreille et le thymus. Les anomalies cranofaciales et cérébrales semblent les plus fréquentes.

Les composés qui induisent ces malformations sont l'acide 13 cis rétinoïque (Isotrétinoïne), son isomère : l'acide tout trans rétinoïque et le métabolite de l'Isotrétinoïne : le 4 oxo 13 cis rétinoïque.

### **II 1 - Anomalies cranofaciales**

L'embryopathie est caractérisée par une dysmorphie faciale particulièrement des oreilles externes. On rencontre également un bec de lièvre.

- La dysmorphie faciale est caractérisée par : *occiput proéminent*, *front fuyant* et rétrécissement du diamètre bipariétal donnant une configuration triangulaire de la tête. L'implantation des cheveux est basse, fréquemment asymétrique.

- Les malformations auriculaires concernent essentiellement l'oreille externe, *réduite* et *malformée*.

Le pavillon est soit absent, avec une ébauche de lobule bassement implantée, soit malformé. Le conduit auditif externe peut être absent (atrétique) ou présent mais obturé par une membrane. Ces anomalies sont le plus souvent asymétriques.

- Au niveau des yeux, on peut retrouver de manière inconstante une *microphthalmie*, un hypertélorisme et/ou une asymétrie, voire une orientation anormale des fentes palpébrales.

Le nez est proéminent avec un aplatissement du sommet de l'arête nasale.

- La *micrognathie* est fréquente. On décrit plus rarement une fente labiale et/ou palatine complète.

### **II 2 - Anomalies du système nerveux central**

- L'anomalie du système nerveux central la plus fréquente est l'*hydrocéphalie* ; celle-ci peut être obstructive ou communicante.

- D'autres malformations cérébrales ont plus rarement été décrites : *microcéphalie*, *hydranencéphalie*. Le cervelet est fréquemment atteint : agénésie, atrophie cérébelleuse, voire kyste de la fosse postérieure.
- Un déficit des nerfs crâniens est possible et concerne les nerfs optiques, auditifs, oculomoteurs (commun et externe) et faciaux. Une hypotonie axiale sévère a très souvent été rapportée.

### **II 3 - Anomalies cardiaques**

- L'anomalie la plus fréquente est l'atteinte des gros vaisseaux : transposition, "aorte à cheval", troncus artériosus, coarctation de l'aorte, hypoplasie ou interruption de la crosse aortique, dysplasies des valves pulmonaires et/ou aortiques.
- D'autres malformations sont également décrites : *tétralogie de Fallot*, communication inter ventriculaire, canal atrio ventriculaire commun, ventricule droit à double issue.

### **II 4 - Anomalies du thymus**

Elles sont moins fréquentes et variables : agénésie, hypoplasie, voire ectopie.

Elles peuvent être responsables à la naissance d'un déficit de l'immunité cellulaire source d'infections gravissimes.

### **II 5 - Anomalies diverses**

D'autres malformations semblent plus exceptionnelles : lobulation incomplète des lobes pulmonaires inférieurs gauches et moyens droits ; anomalies des extrémités (disparition de la phalange proximale, oligodactylie, pieds palmés, tibias et péronés "fuselés") ; aplasie de la thyroïde.

### **III - TERATOGENICITE CHEZ L'ANIMAL**

L'Isotrétinoïne cause des anomalies du développement chez les embryons de toutes les espèces communes de laboratoire par administration de relativement grandes quantités d'Isotrétinoïne au début de la gestation.

Les études chez l'animal ont pour but d'extrapoler les résultats du modèle expérimental à l'humain. Elles permettent de déterminer les malformations observées en fonction de la dose administrée, du temps d'exposition et de la période de gestation.

#### **III 1 - Etude réalisée chez le poussin (23)**

Le but de l'étude est d'observer les malformations cardiaques induites par l'acide rétinoïque. L'anomalie la plus couramment rencontrée est un défaut de *fusion de la cloison inter ventriculaire*. Cette étude est réalisée sur des œufs à trois périodes de gestation. Une dose de 150µg est administrée à J<sub>5</sub> et les embryons sont examinés à J<sub>6</sub>, J<sub>7</sub> et J<sub>8</sub> en parallèle avec un groupe témoin. L'acide 13 cis rétinoïque induit un défaut de fusion de l'arête cardiaque.

A J<sub>6</sub> l'acide rétinoïque n'a pas d'effet sur la fusion de l'arête cardiaque.

A J<sub>7</sub> on observe que la fusion n'a pas progressé.

A J<sub>8</sub> il y a une différence significative de l'extension de la fusion entre les groupes traités et non traités.

L'acide rétinoïque induit donc un défaut de la fusion de la cloison inter-ventriculaire qui n'est pas dû à la décroissance du volume du tissu, ni à une altération de l'organisation du mésenchyme, ni à une nécrose.

#### **III 2 - Etude réalisée chez la souris (29)**

**III 2 1 - Malformations de l'oreille induites par l'Isotrétinoïne chez l'embryon de souris.**

### III 2 1 1 Méthodes

28 femelles reçoivent un unique gavage de 200 mg/kg d'Isotrétinoïne dans de l'huile de sésame, à différents temps de traitement

J<sub>7</sub> à 18h (t<sub>1</sub>)

J<sub>8</sub> à 0h (t<sub>2</sub>)

J<sub>8</sub> à 6h (t<sub>3</sub>)

J<sub>9</sub> à 0h (t<sub>4</sub>) de gestation

J<sub>0</sub> à 0h correspond à la fécondation.

Les souris sont tuées à J<sub>18</sub> = un jour avant terme ; les fœtus sont prélevés et fixés dans l'alcool à 95°.

Les oreilles externes sont photographiées.

Les squelettes des fœtus sont marqués au rouge d'alizarine et au bleu alcian.

### III 2 1 2 - Résultats

#### - Oreille externe

67,5 % des fœtus examinés montrent une microtie avec un côté droit plus souvent affecté que le gauche (on retrouve cette asymétrie dans d'autres publications).

La microtie ou anotie est plus souvent rencontrée à t<sub>1</sub> (82,14 %).

Aux autres temps de traitement, l'incidence des malformations de l'oreille externe diminue jusqu'à 60 %.

Remarque : L'exencéphalie (souvent associée aux malformations de l'oreille externe) se produit chez 35,7 % des souris à t<sub>1</sub>, et chez 4,7 % des souris à t<sub>2</sub>.

Le traitement à t<sub>1</sub> est aussi associé à une incidence importante de la mort des fœtus.

A t<sub>4</sub>, des morceaux de peau sur la face près de la commissure orale l'emportent en nombre sur les autres anomalies (42,8 %).

#### - Oreille moyenne

Les malformations du tympan sont les plus sévères et les plus communément rencontrées à t<sub>1</sub> et t<sub>3</sub>.

#### - Oreille interne

Des anomalies sévères de la cavité osseuse et du labyrinthe ont été relevées.

t<sub>3</sub> semble être la période la plus sensible pour de sévères malformations osseuses ; l'anomalie la plus souvent rencontrée est un labyrinthe mal formé.

- Association entre les malformations de l'oreille interne et externe.

Les anomalies de l'oreille interne sont souvent associées avec des affections sévères de l'oreille externe.

Cependant, de multiples morceaux de cartilages sont présents chez 26 % des oreilles qui ne présentent pas de malformations externes.

Les osselets affectés se produisent communément en association avec des oreilles externes affichant des morceaux de peau isolés.

Les anomalies de l'oreille interne sont souvent associées avec des affections sévères de l'oreille externe.

### **III 2 1 3 - Discussion**

Ce modèle de la souris suggère que les effets tératogènes de l'Isotrétinoïne induisent des nécroses et un programme de mort cellulaire.

### **III 2 2 - Effets de l'Isotrétinoïne sur le développement du squelette de la souris in vitro et in vivo (35)**

Pour déterminer l'embryotoxicité de l'acide 13 cis rétinolique, on a réalisé des études in vivo et in vitro en utilisant un large éventail de doses administrées sur une période variable de l'organogenèse (de J<sub>7</sub> à J<sub>11</sub>).

#### **III 2 2 1 - Etude in vivo**

##### **III 2 2 1 1- Matériel et méthodes**

Des souris gestantes sont gavées à différents jours de la gestation : de J<sub>7</sub> à J<sub>11</sub> avec un traitement d'une dose par jour d'Isotrétinoïne à des doses de 75, 150, 300, 600 ou 900 mg/kg.

A J<sub>17</sub>, les mères sont tuées, les fœtus sont pesés et examinés pour mettre en évidence les malformations externes et celles du squelette.

### III 2 2 1 2- Résultats

Le pourcentage de résorption augmente et le poids maternel diminue suivant un mode dose dépendant de J<sub>7</sub> à J<sub>8</sub>.

De J<sub>8</sub> à J<sub>11</sub> il n'y a pas d'effet sur la viabilité fœtale, le poids du fœtus et le poids maternel.

Les malformations de la queue et du palais sont les plus communément rencontrées et sont induites à tous les jours du traitement d'une manière dose dépendante.

La plus grande incidence sur le bec de lièvre se situe après J<sub>10</sub> et celle sur les malformations et la queue après J<sub>9</sub>.

Le traitement à J<sub>10</sub> produit également des malformations des os longs et des pattes : la majorité des malformations des pattes arrières se produit à J<sub>11</sub>.

### III 2 2 2 - Etude in vitro

Une culture de membres de souris prélevés à J<sub>11</sub> est soumise à l'Isotrétinoïne pendant trois jours à concentration de 0,2 ; 1 ; 5 ou 25 µg/ml

Résultat :

Tout le cartilage montre une tendance générale à être réduit d'une manière dose dépendante.

C'est la surface des pattes qui est la plus affectée. Les hautes doses de traitement induisent un rapport  $\frac{\text{cartilage os longs}}{\text{cartilage des pattes}}$  augmenté.

### III 2 2 3 - Discussion

Les résultats in vivo montrent que l'Isotrétinoïne affecte la viabilité fœtale de la souris essentiellement quand on l'administre à haute dose (300 à 900 mg/kg) tôt dans la gestation = J<sub>7</sub>.

La malformation la plus fréquemment détectée est le bec de lièvre, les défauts des membres sont peu sévères et induits à une faible incidence.

In vivo, on observe une réduction de tous les cartilages de membres sans affecter la morphogénèse.

Les plus affectés à l'intérieur des membres sont les éléments du squelette des pattes.

Notons, par ailleurs, que le traitement par des doses intermédiaires produit fréquemment une augmentation de la chondrogenèse.

Cette étude implique que l'Isotrétinoïne peut moduler le développement des membres de manière dose dépendante en produisant, soit une augmentation (à faible dose), soit une inhibition (à forte dose) du développement du cartilage.

Cette augmentation de la chondrogenèse pourrait être liée aux conditions de cultures employées.

### **III 3 - Etude réalisée chez le rat (46)**

Le but de cette étude utilisant un modèle in vitro est de mettre en évidence la période minimum d'exposition à l'Isotrétinoïne à la concentration seuil de 500 ng/ml qui induit des malformations du deuxième arc branchial et d'établir la période la plus sensible du développement de cet arc branchial. Le deuxième but est de déterminer si une augmentation de la concentration de l'Isotrétinoïne pourrait compenser ce temps réduit d'exposition.

#### **III 3 1 - Matériel et méthodes**

J<sub>0</sub> = présence de sperme dans le vagin des rats femelles.

Les embryons sont mis en culture à J<sub>9</sub> dans trois solutions d'Isotrétinoïne : 500, 1000, 2000, 4000 ou 16000 ng/ml.

Pour déterminer la période sensible les embryons sont exposés à l'Isotrétinoïne durant 1,5 - 3 - 6 - 12 - 24 ou 48 heures.

Les embryons sont ensuite examinés au microscope.

#### **III 3 2 - Résultats**

Les résultats montrent clairement que six heures d'exposition au début de la période de culture à dose seuil de 500 ng d'Isotrétinoïne/ml est la durée d'exposition minimum et la période la plus sensible pour induire des malformations du deuxième arc branchial.

Notons que les défauts de l'oreille externe dérivant du deuxième arc branchial sont l'une des malformations les plus caractéristiques de l'embryopathie humaine à l'Isotrétinoïne.

Ces malformations, du deuxième arc branchial, sont dues à une atteinte des cellules des crêtes neurales qui ont migré dans ces arcs.

Des temps d'exposition plus courts peuvent induire des malformations modérées du deuxième arc branchial, mais des malformations sévères sont rares ou absentes même quand les concentrations de l'Isotrétinoïne sont augmentées à 16000 ng/ml.

### III 3 3 - Discussion

Ces résultats montrent qu'un minimum de six heures d'exposition à 500 ng/ml est nécessaire pour induire des malformations sévères du deuxième arc branchial.

Une augmentation maximale de la concentration en Isotrétinoïne à 16000 ng/ml ne compense pas cette courte période d'exposition.

Ces résultats montrent que pour induire des malformations du deuxième arc branchial, les embryons doivent être exposés à une concentration seuil d'Isotrétinoïne durant une période minimale.

Ces résultats ont des implications importantes pour les études in vivo et impliquent qu'un agent tératogène doit être présent un minimum de temps (à sa concentration seuil) pour induire certaines malformations.

La dose de l'agent tératogène in vivo pour induire des malformations est déterminée par sa demi-vie.

### III 4 - Etudes réalisées chez le singe (34)

#### III 4 1 - Effet temps : importance de l'exposition précoce pour la tératogénicité

Le but de cette étude est de déterminer si des doses administrées tôt dans la gestation des singes induisent les mêmes malformations qu'une exposition plus tardive.

##### III 4 1 1- Matériel et méthodes

22 femelles singes de 3 à 4 ans et de 2,5 à 3 kg

J<sub>0</sub> = présence de sperme dans le vagin des femelles

J<sub>16</sub> - J<sub>20</sub> = détection de la grossesse

- Expérience n° 1 : 13 femelles reçoivent une dose par jour de 2,5 mg/kg de J<sub>16</sub> à J<sub>25</sub>, puis 2 doses par jour de 2 X 2,5 mg/kg à 8 heures d'intervalle de J<sub>26</sub> à J<sub>27</sub>.

- Expérience n° 2 : 11 femelles reçoivent 1 dose par jour de J<sub>10</sub> à J<sub>20</sub> et 2 doses par jour de J<sub>21</sub> à J<sub>24</sub>.

### III 4 1 2- Résultats

Les expériences indiquent que les périodes les plus sensibles chez le macaque sont :

- Oreille externe : J<sub>16</sub> à J<sub>24</sub> (Exp. n° 1 : 71 %)  
(Exp. n° 2 : 61 %)
- Squelette craniofacial, cœur : J<sub>10</sub> à J<sub>24</sub> (Exp. n° 2 : 22 %)  
(Exp. n° 1 : 0 %)
- Thymus et cervelet : > J<sub>24</sub>

### III 4 1 3- Discussion

- L'oreille externe apparaît être l'organe le plus sensible à l'Isotrétinoïne (biomarqueur).

Une incidence comparable a été rapportée chez l'homme (Lammer et son équipe 1985 ; Rosa et son équipe 1986).

La sévérité des malformations de l'oreille externe, qui sont souvent asymétriques, est plus importante à gauche qu'à droite chez le singe, comme chez l'homme.

- Toutes les malformations cardiaques sont surtout des malformations du cœur et des gros vaisseaux :
  - soit défaut de fusion de la cloison inter ventriculaire
  - soit transposition des gros vaisseaux

ceci est cohérent avec ce qui a été observé chez des enfants, après exposition.

Ces malformations sont observées dans l'expérience n° 2 (J<sub>10</sub> à J<sub>24</sub>).

On remarque qu'aucune malformation du cœur n'a été observée dans l'expérience n° 1 (de J<sub>16</sub> à J<sub>27</sub>) : ceci suggère qu'une condition préalable à des anomalies du cœur est d'être exposée avant l'organogenèse de cet organe.

- Les malformations cranofaciales observées sont :
  - micrognathie
  - bec de lièvre

- aplatissement du pont du nez
- hypertélorisme

Ceci suggère aussi des similitudes importantes entre le syndrome tératogène de l'Isotrétinoïne chez le singe et chez l'homme.

L'exposition à l'Isotrétinoïne précédant le début de l'organogenèse morphologique d'un organe précis apparaît être une "nécessité" à l'embryopathie de cet organe chez le singe : l'exposition à J<sub>10</sub> (correspondant à dix jours avant le début de l'organogenèse) apparaît être un facteur important de la tératogénicité de l'Isotrétinoïne sur l'oreille externe.

Les points communs entre le développement embryologique chez le singe et chez l'homme suggèrent que la période critique pour la tératogénicité de l'Isotrétinoïne est la même.

De plus, la période d'administration utilisée dans l'expérience n° 1 (2,5 mg/kg de J<sub>16</sub> à J<sub>25</sub> et 2 X 2,5 mg/kg de J<sub>26</sub> à J<sub>27</sub>) semble la plus convenable pour évaluer la tératogénécité chez le singe avec le plus de concordance avec le syndrome chez l'homme.

### **III 4 2 - Autre étude, pharmacocinétique (26, 43)**

L'objectif de cette étude est de déterminer le métabolisme, la pharmacocinétique et les concentrations embryologiques après une exposition tératogénique avec l'Isotrétinoïne chez le singe.

#### **III 4 2 1- Matériel et méthodes**

21 femelles gestantes sont traitées avec une dose de 2,5 mg/kg d'Isotrétinoïne une fois par jour, de J<sub>16</sub> à J<sub>26</sub> et deux fois par jour : 2 x 2,5 mg/kg à 8 heures d'intervalle de J<sub>26</sub> à J<sub>31</sub>.

Cette dose a montré qu'elle induisait une tératogénécité sans provoquer d'embryolétalité ou de toxicité maternelle dans cette espèce. Des prises de sang sont effectuées de J<sub>26</sub> à J<sub>31</sub> et les taux de médicaments sont surveillés.

Les embryons sont retirés par hystérectomie à J<sub>31</sub> pour calculer le niveau endogène de rétinoïdes, puis pour être disséqués et analysés.

### III 4 2 2 - Résultats

Les dosages maternels montrent une accumulation dans le sang maternel d'acide 13 cis rétinoïque et de son métabolite 4 oxo à des taux similaires. On retrouve aussi de petites quantités de  $\beta$  glucuronides de l'Isotrétinoïne et de l'acide tout trans rétinoïque.

Chez l'embryon du singe, seulement trois composés sont détectés après administration d'Isotrétinoïne ; il s'agit de l'Isotrétinoïne et son métabolite 4 oxo qui se retrouvent en plus grande quantité. La quantité d'acide tout trans est de 1/3 par rapport à celle d'Isotrétinoïne.

### III 4 2 3- Discussion

La cinétique de l'Isotrétinoïne dans l'embryon de singe indique que le facteur limitant pour une exposition embryonnaire est le transfert du compartiment maternel à celui de l'embryon (qui est relativement lent) et non l'élimination du compartiment embryonnaire qui est égale ou plus rapide que l'élimination du plasma maternel.

Le ratio  $\frac{\text{concentration plasmatique embryonnaire}}{\text{concentration plasmatique maternelle}}$  est de :

- 0,41 pour l'acide 13 cis rétinoïque
- 0,33 pour l'acide 4 oxo 13 cis rétinoïque
- 2,30 pour l'acide tous trans rétinoïque

L'Isotrétinoïne et ses métabolites ont été dosés.

Des courbes de concentration des composés par rapport au temps d'exposition ont été réalisées.

Les valeurs d'aire sous la courbe concentration/temps pour le plasma maternel et celui de l'embryon sont de bons indicateurs des effets tératogènes des rétinoïdes.

Les effets tératogènes ne dépendent pas de la forme de la courbe concentration/temps (avec des pics), mais du total d'exposition des tissus cibles représenté par les valeurs d'aire sous la courbe.

## IV - EXTRAPOLATION DES RESULTATS A L'HOMME ET VARIABILITE DES ESPECES

### **IV 1 - Rongeurs et homme (12, 46, 56)**

Le modèle animal in vivo de l'embryopathie présente de nombreuses similitudes avec l'homme, mais ce modèle est insuffisant pour plusieurs raisons.

Premièrement, selon les espèces, les animaux de laboratoire demandent 20 à 400 fois la dose par jour d'Isotrétinoïne pour obtenir les malformations typiques de l'embryopathie chez l'homme. La dose tératogène d'Isotrétinoïne pour le rat et la souris est de 150 à 200 mg/kg par jour et seulement 0,5 à 1,5 mg/kg par jour chez l'homme.

Deuxièmement, chez l'animal de laboratoire, une plus large gamme de malformations est induite comme des malformations des membres, urogénitales et gastro-intestinales. A l'inverse, chez l'homme, il y a peu de cas de malformations affectant les membres, le système urogénital et gastro-intestinal. Tout ceci est dû à des différences pharmacologiques du métabolisme de l'Isotrétinoïne entre l'homme et l'animal.

Avec une dose normale et chronique d'Isotrétinoïne chez l'homme, il y a des taux sanguins constants d'Isotrétinoïne (132 - 185 ng/ml) et de son principal métabolite le 4 oxo (610 - 791 ng/ml).

L'accumulation de hautes doses du métabolite est dûe à sa demi-vie longue (24,5 h) comparée à celle de l'Isotrétinoïne (10,4 h). A l'inverse la demi-vie de l'Isotrétinoïne est chez la souris de 19 mn et de 0,8 à 0,9 h chez le rat. Le métabolisme rapide de l'Isotrétinoïne chez la souris et le rat explique qu'il faille de hautes doses pour qu'il y ait une concentration sanguine suffisante pour induire des malformations.

On a mis en évidence que les composés tératogènes sont les deux isomères 13 cis rétinoïque (Isotrétinoïne) et tout trans rétinoïque et le métabolite 4 oxo 13 cis rétinoïque.

Le potentiel tératogène plus élevé avec l'acide tout trans rétinoïque, comparé à celui de l'Isotrétinoïne chez la souris, a été attribué (Hammler 1994) à une demi-vie plus longue et à une glucuronocouplage limitée de l'acide tout trans. La formation de glucuronides conjugués est

considérée comme un phénomène de détoxification car ces composés devenus plus solubles seront éliminés par la mère et ne passeront pas la barrière transplacentaire (51).

De plus, l'acide tout trans rétinoïque passe vers l'embryon de façon plus efficace que l'acide 13 cis rétinoïque grâce à des concentrations plus élevées d'acide tout trans pendant les périodes sensibles de gestation chez la souris. Mais le niveau de passage transplacentaire est faible chez la souris pour l'acide tout trans rétinoïque par rapport au passage chez l'homme.

En résumé, il faut utiliser des doses plus importantes chez l'animal que chez l'homme, pour deux raisons :

- élimination plus rapide due à une  $\beta$ glucuronidation plus importante
- passage transplacentaire moins important de l'Isotrétinoïne et du 4 oxo 13 cis rétinoïque.

#### **IV 2 - Singes et homme (26, 34)**

Par rapport aux autres espèces, c'est le singe qui semble le modèle le plus proche de celui de l'homme.

Ceci pour plusieurs raisons :

- Les études de tératogénicité chez le singe ont montré que les organes atteints par l'acide rétinoïque étaient similaires à ceux signalés chez l'humain : malformations du coeur, du cerveau, de la face et du thymus.
- La période critique de tératogénicité de l'Isotrétinoïne semble inclure la période préorganogénique autant chez le singe que chez l'humain.
- La dose tératogène de 2,5 à 5 mg/kg par jour chez le singe est proche de celle de l'humain : 0,5 à 1,5 mg/kg par jour.
- La demi-vie de l'Isotrétinoïne chez le singe : 13,2 h
- Le métabolisme hépatique et les mécanismes d'excrétion biliaire et rénale sont plus rapides chez le singe que chez l'homme, ce qui explique la dose plus importante pour obtenir une tératogénicité comparable.
- Comme chez l'homme, le métabolite principal de l'Isotrétinoïne chez le singe est le 13 cis 4 oxo rétinoïque. Chez l'homme, le métabolite 4 oxo 13 cis rétinoïque s'accumule considérablement durant une thérapie à l'Isotrétinoïne. Chez le singe, les deux composés s'accumulent à des degrés identiques.

- Chez l'homme, comme chez le singe, les concentrations en acide tout trans rétinoïque sont faibles et celui-ci s'élimine plus rapidement que l'acide 13 cis rétinoïque. De plus, le potentiel tératogène de l'acide 13 cis rétinoïque est plus grand que celui de l'isomère tout trans chez le singe.

## V - TERATOGENICITE CHEZ L'HOMME

Depuis son introduction, l'Isotrétinoïne a été classée par la FDA comme molécule tératogène "pregnancy category X".

A la date d'aujourd'hui, il n'y a pas d'étude sur l'homme, mais plusieurs enquêtes ont été conduites et montrent que l'utilisation par inadvertance du Roaccutane pendant la grossesse a été associée à des cas de malformations congénitales, d'avortements spontanés et d'enfants mort-nés.

### **V 1 - Etude n° 1 (15)**

Dans une étude de 1988, on a montré qu'approximativement 540.000 femmes et jeunes filles, entre douze et quarante quatre ans, ont été exposées à l'Isotrétinoïne depuis son introduction aux Etats-Unis.

L'étude qui suit se propose d'étudier les raisons pour lesquelles des femmes enceintes ont été exposées et le déroulement de ces grossesses : elle a été réalisée en juillet 1989 et recense 433 cas d'exposition à l'Isotrétinoïne durant la grossesse, relevés dans 43 états des Etats-Unis de septembre 1982 à juillet 1989 :

#### - Période de conception par rapport à l'exposition

- 130 femmes (33 %) étaient déjà enceintes quand elles ont commencé l'Isotrétinoïne
- 65 femmes (16 %) ont été enceintes durant les trois premières semaines d'utilisation de l'Isotrétinoïne.

Sur les 433 grossesses exposées, 97 % ont été exposées durant le premier trimestre de la grossesse ; 86 % incluaient la période la plus critique de l'organogenèse (du 14<sup>ème</sup> au 63<sup>ème</sup> jour de gestation).

#### - L'origine de la prise d'Isotrétinoïne est connue pour 377 femmes (87 %)

- L'auteur de la prescription est connu pour 289 femmes (77 %) : 90 % des prescripteurs sont des dermatologues (mais seulement dans 40 % des cas un dermatologue est à l'origine de la première prescription). Les autres prescripteurs sont des gynécologues, des pédiatres ou des généralistes.

- L'âge maternel est connu dans 402 cas (93 %) :

- 25 % ont entre 14 et 19 ans
- 60 % ont entre 20 et 29 ans
- environ 10 % ont 35 ans et plus

- Le dénouement de la grossesse est connu pour 402 femmes :

- 222 femmes (54 %) ont subi une interruption médicale de grossesse.
- 29 (7%) ont avorté spontanément.
- Il y a eu 151 naissances dont 72 normales (48 %) ; 71 (47 %) présentent des malformations congénitales, et 8 (5 %) présentent d'autres anomalies que des malformations.

- Ces résultats notent aussi l'incidence sur la tératogénicité de la dose, de la durée et de la période d'exposition. L'analyse des doses utilisées pour un traitement à l'Isotrétinoïne entraînant des malformations chez les enfants, de la durée totale d'exposition et de la période après la conception pendant laquelle l'exposition a eu lieu démontre indéniablement *qu'il n'existe pas de dose, de durée d'exposition fœtale et de période pendant la grossesse qui ne soient inoffensives*. Il n'existe donc pas de seuil tératogène mis en évidence à ce jour chez l'humain.

Onze malformations congénitales et quatre avortements spontanés ont été rapportés après une exposition fœtale de moins d'une semaine. De même, il n'y a pas de différence statistique entre les malformations fœtales engendrées par une exposition avant le 14<sup>ème</sup> jours de gestation et celles engendrées dans une période entre le 14<sup>ème</sup> et le 63<sup>ème</sup> jour de gestation (25 % de risque).

## V 2 - Etude n° 2 (2)

Lammer et son équipe ont étudié en 1986, 1987 et 1988 la tératogénicité de l'Isotrétinoïne chez des femmes en âge de procréer qui ont pris par inadvertance de l'Isotrétinoïne durant leur grossesse.

Parmi 154 grossesses étudiées en 1986, 56 cas sont analysés rétrospectivement et les autres cas de façon prospective.

Les mères ont entre 16 et 31 ans.

Toutes prennent de l'Isotrétinoïne de 0,5 à 1,5 mg/kg dans les premières dix semaines après la conception. La période critique de tératogénicité de l'Isotrétinoïne chez l'humain est de la deuxième

à la cinquième semaine. La période critique de la morphogenèse des structures affectées se situe durant le 28<sup>ème</sup> jour de gestation. La durée d'exposition est de 16 à 124 jours.

- Devenir des 154 grossesses exposées à l'Isotrétinoïne.
  - 95 (62 %) ont subi un avortement
  - 12 (7,8 %) des grossesses exposées ont spontanément avorté durant le 1<sup>er</sup> trimestre
  - 47 grossesses sont menées à terme.
- Devenir de ces 47 grossesses :
  - 3 enfants sont mort-nés et malformés
  - 18 enfants naissent vivants avec au moins une malformation majeure
  - 26 enfants naissent sans malformation majeure. Ces enfants n'ont pas été évalués pour les malformations mineures et le développement mental.

Le risque d'une malformation majeure est donc de 38 %.

- Les études chez l'homme n'ont pas permis à l'heure actuelle de mettre en évidence les effets tératogènes de l'Isotrétinoïne en fonction de la dose et du temps d'exposition.
- Parmi les 18 enfants malformés nés vivants, 9 mouraient plus tard d'anomalies cardiaques congénitales, d'anomalies cérébrales ou des deux.
- les types de malformations observées parmi les 21 enfants malformés sont :
  - 17 malformations cranofaciales
  - 18 " du système nerveux central
  - 12 " cardiaques
  - 7 défauts du thymus.

Une association de plusieurs anomalies est signalée chez 10 des 21 enfants malformés.

- Les malformations cranofaciales les plus courantes sont :
  - asymétrie faciale
  - microtie et/ou anotie

Elles sont souvent associées avec une atrésie ou une sténose du canal auriculaire.

Les malformations auriculaires sont presque toujours bilatérales, mais les malformations sévères pourraient être asymétriques.

Un mauvais développement des os du crâne, une micrognathie et une fente palatine ont aussi été signalés.

- Les malformations cardio-vasculaires peuvent être classées comme malformations du cœur et des gros vaisseaux ou anomalies des arcs branchiaux du tissu mésenchymateux.

Les défauts du cœur et des gros vaisseaux sont observés chez huit enfants, exemple : transposition des gros vaisseaux, tétralogie de Fallot.

Les défauts des arcs branchiaux des tissus mésenchymateux sont observés chez 7 enfants, exemple : interruption de l'arc aortique, une artère sous-clavière droite sténocœsophagienne et une hypoplasie de l'aorte.

- Les malformations du système nerveux central incluent une hydrocéphalie pour 9 enfants et des malformations structurales du cortex cérébral et du cervelet.

De toute évidence, l'embryopathie induite par l'Isotrétinoïne chez l'humain suit les mêmes types d'anomalies que celles décrites chez les animaux.

### **V 3 - Autres observations (11)**

En dehors des malformations caractéristiques des embryopathies à l'Isotrétinoïne, des malformations du thymus ont été décrites. M. Cohen, A. Rubinstein et leurs équipes en 1987 ont étudié un nouveau-né présentant plusieurs malformations caractéristiques d'une embryopathie à l'Isotrétinoïne et une hypoplasie sévère du thymus avec un affaiblissement de la fonction immunologique. L'évolution de ses fonctions immunitaires montre une diminution des lymphocytes T au-delà de la neuvième semaine, jusqu'à sa mort due à une pneumonie.

#### Discussion

La mère de cet enfant n'a pas été exposée à d'autres substances tératogènes que l'Isotrétinoïne pendant sa grossesse. L'enfant de cette étude développe deux épisodes de pneumonie et meurt. Cette étude suggère fortement une lésion du système immunitaire par l'Isotrétinoïne chez le fœtus humain. On retrouve une sévère involution du thymus présentant cependant une architecture relativement bien conservée (cette involution n'est pas due à une situation de stress ou à des infections répétées).

Après la naissance, une diminution progressive des lymphocytes T matures est observée. Il est possible que la présence initiale de ces cellules matures soit due in utero à une induction par un passage transplacentaire d'hormones thymiques maternelles. Après la naissance, lorsque l'influence

des hormones maternelles diminue, le thymus anormal du nouveau-né n'est pas capable de prendre le relais.

En conclusion, la mortalité parmi les enfants avec des malformations dues à l'Isotrétinoïne est supérieure à 57 %.

Les causes majeures de décès sont :

- anomalies cardiaques congénitales
- malformations cérébrales

ou la combinaison des deux. L'infection, la pneumonie en particulier, a aussi été incriminée dans la mort de ces enfants.

Les anomalies du système immunitaire pourraient être responsable de la prédisposition aux infections et contribuer à la mortalité élevée.

#### **V 4 - Sensibilité, spécificité et valeur prédictive de l'exposition à l'Isotrétinoïne (38)**

Les examens habituels des programmes de surveillance des naissances anormales s'orientent vers le nombre d'anomalies spécifiques uniques. Mais ils ne surveillent pas en même temps les anomalies qui se produisent en combinaison avec d'autres anomalies spécifiques. Cependant, de nombreuses substances tératogènes connues sont associées avec des spectres d'anomalies combinées.

La surveillance de l'association des deux ou trois malformations permet de détecter plus rapidement une embryopathie à un agent tératogène donné.

Cette étude évalue la sensibilité, la spécificité et la valeur prédictive positive des malformations dues à l'Isotrétinoïne.

##### **V 4 1 - Méthodes**

On étudie un échantillon de 61 fœtus exposés à l'Isotrétinoïne.

Les malformations observées ont été classées en fonction des organes touchés : ce sont les malformations typiques de l'embryopathie à l'Isotrétinoïne déjà évoquées.

##### **V 4 2 - Définition**

Sensibilité : proportion de fœtus malformés dans la population des fœtus exposés. C'est l'éventail des malformations.

Spécificité : proportion de fœtus exposés malformés par rapport aux fœtus non exposés, non malformés. Une spécificité de 100 % serait idéale dans la mesure où un type d'anomalie attesterait de l'exposition à l'Isotrétinoïne.

Valeur prédictive positive (VPP)

C'est la probabilité qu'un fœtus ait une malformation spécifique de l'exposition à l'Isotrétinoïne. La VPP est importante car elle mesure nos capacités à distinguer les malformations dues à l'Isotrétinoïne avec d'autres malformations ayant une autre cause.

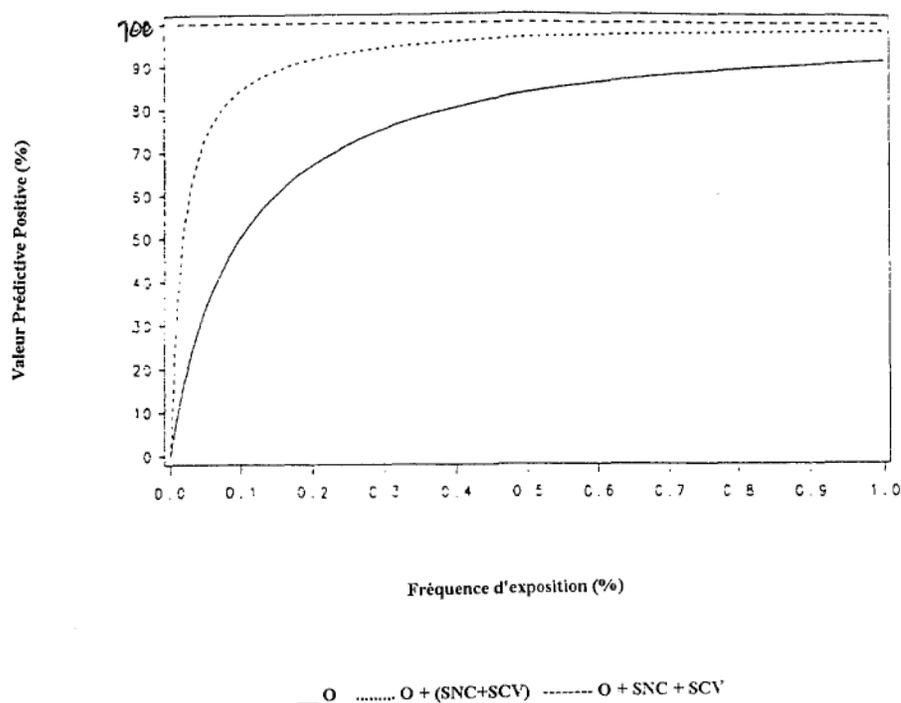
**V 4 3 - Résultats (38)**

Sensibilité d'un type de malformations chez 51 cas exposés à l'Isotrétinoïne

Malformations	Nombre	Pourcentage %
oreille O	43	70,5
système nerveux central SNC	30	49,2
système cardio-vasculaire SCV	20	32,8
O + SNC	24	39,3
O + SCV	15	24,6
SNC + SCV	14	23
O + SNC + SCV	11	18
O + (SNC ou SCV)	28	45,9

Spécificité

Malformations	Nombre	Pourcentage %
O	12	99,47
SNC	11	95,12
SCV	11	95,94
O + SNC	12	99,96
O + SCV	12	99,98
SNC + SCV	12	99,84
O + SNC + SCV	12	100,0
O + (SNC ou SCV)	12	99,93



#### V 4 4 - Discussion

Bien qu'aucun type de malformation ne soit particulièrement sensible, la plus grande sensibilité à une exposition in utéro à l'Isotrétinoïne est la malformation des oreilles (70 %). Viennent ensuite les malformations du SNC, puis la combinaison de malformations de O + (SNC ou SCV).

Du point de vue de la sensibilité, les combinaisons de malformations sont moins sensibles que les malformations uniques. Malgré cela, si on ne surveille que les malformations de l'oreille, on ne détecte que 70 % des cas. La sensibilité est donc un paramètre peu fiable.

Du point de vue de la spécificité, le type de malformations le plus spécifique est la combinaison des malformations O + SNC + SCV avec une spécificité de 100 %. Viennent ensuite, les malformations O + SCV. Contrairement à la sensibilité, la spécificité augmente avec la combinaison de deux ou trois malformations.

Du point de vue de la valeur prédictive positive VPP les malformations de l'oreille seules sont les moins prédictives de l'embryopathie à l'Isotrétinoïne.

La VPP des malformations de l'oreille combinées avec celles du SNC ou du SCV est intermédiaire entre VPP des malformations de l'oreille combinées avec celles du SNC et du SCV. En effet, les malformations de l'oreille combinées avec les malformations du SNC et du SCV (O+SCV+SNC) représentent la combinaison des malformations la plus prédictive de l'exposition à l'Isotrétinoïne.

Cette combinaison est prédictive à 100 % et spécifique à 100 % de l'embryopathie à l'Isotrétinoïne. Tous les fœtus avec cette combinaison de malformations devraient être, théoriquement, des fœtus avec une embryopathie due à l'Isotrétinoïne.

*Remarque* : La sensibilité permet de mettre en évidence le plus grand nombre de cas potentiellement exposés alors que la spécificité et la VPP permettent de s'assurer d'une embryopathie à l'Isotrétinoïne mais sur un nombre de cas détectés plus faibles. De même, il n'y a pas de différence statistique entre les malformations fœtales engendrées par une exposition avant le 14<sup>ème</sup> jour et le 63<sup>ème</sup> jour de gestation (25 % de risque).

### **V 5 - Etude sur le bon déroulement d'une grossesse après l'arrêt de l'Isotrétinoïne (14)**

Depuis que la Food and Drug Administration a approuvé la commercialisation de l'Isotrétinoïne en 1982, le laboratoire Roche a reçu plus de cent rapports de cas de grossesses après arrêt du traitement à l'Isotrétinoïne. L'analyse de ces cas fournit des informations concernant l'issue des grossesses après un tel traitement.

#### **V 5 1 - Méthodes**

Le laboratoire Roche a regroupé tous les rapports de grossesses qui ont été volontairement signalés au U.S. de septembre 1982 à septembre 1986. Sur 120 patientes qui ont terminé ou arrêté leur traitement à l'Isotrétinoïne avant leur grossesse, le résultat de ces grossesses est connu dans 101 cas. Il n'y a pas de différence significative entre les patientes en ce qui concerne l'âge des mères, leur poids, la dose d'Isotrétinoïne, la durée du traitement et la période séparant la dernière prise d'Isotrétinoïne de la conception.

Les données étant basées sur des rapports volontaires, il est possible que des cas de grossesses normales n'aient pas été communiqués.

Pour contourner ce biais, les cas sont classés selon que l'étude a été prospective ou rétrospective.

La population prospective a sûrement été moins sujette au biais résultant de la "non-communication" des cas.

Parmi les 101 femmes qui ont démarré leur grossesse après l'arrêt du traitement à l'Isotrétinoïne et pour lesquelles le résultat de la grossesse est connu, 88 cas sont signalés prospectivement.

Le diagnostic des malformations est réalisé par le pédiatre qui a connaissance du traitement antérieur de la mère à l'Isotrétinoïne. Tous les cas rapportés sont surveillés après la naissance tous les trois mois pendant deux ans et tous les examens sont notés.

Les taux d'incidence de malformations congénitales et d'avortements spontanés de la population prospective sont comparés aux statistiques nationales selon le test de Student's.

## V 5 2 - Résultats

- Parmi la population prospective :

Sur les 88 cas, 8 sont des avortements et 4 des cas de malformations.

Le taux d'incidence des avortements est de 9,1 %

Le taux d'incidence des malformations est de 5 % des nouveaux-nés vivants.

90 % des grossesses ont démarré dans les deux mois suivant l'arrêt du traitement.

3 femmes ont reçu leur dernière dose d'Isotrétinoïne dans les deux jours précédant la date estimée de la conception et ont ensuite donné naissance à des enfants à terme et normaux.

Les malformations congénitales observées ne sont pas caractéristiques d'une embryopathie à l'Isotrétinoïne :

Chez le bébé né avec une fontanelle antérieure relativement petite, cette taille de fontanelle reste dans une marge normale. Le bébé est en bonne santé à la naissance et son développement est normal lors du dernier examen à deux ans.

Deux autres bébés souffrent de cataracte congénitale de cause inconnue. Aucune des mères de ces enfants n'a d'autres facteurs de risque pour des malformations congénitales tels que l'exposition à d'autres agents tératogènes connus, l'abus d'alcool, une infection virale, un passé diabétique ou autres maladies chroniques. Les patientes ont toutes moins de trente ans. La dose quotidienne d'Isotrétinoïne était de 40 à 80 mg par jour et la durée du traitement allait de quatre à cinq mois.

Un autre bébé souffre d'une "hypospadias". La mère avait 27 ans lors de la conception qui aurait eu lieu 55 jours après l'arrêt du traitement à l'Isotrétinoïne.

Il n'y a pas de différence significative observée, au niveau du poids des mères, du dosage d'Isotrétinoïne, de la durée du traitement à l'Isotrétinoïne et de la période entre la dernière dose d'Isotrétinoïne et la conception, entre les femmes qui ont donné naissance à des enfants normaux ou anormaux.

De la même façon, il n'y a pas de différence notable de ces variables entre les mères qui ont donné naissance à des enfants normaux et celles qui ont avorté spontanément.

Cependant, les femmes qui ont avorté spontanément étaient nettement plus âgées que celles qui ont donné naissance à des enfants normaux ou anormaux.

- Parmi la population rétrospective :

Sur les 13 cas, 4 enfants souffrent de malformations congénitales.

Cependant aucune de ces malformations n'est caractéristique d'une embryopathie à l'Isotrétinoïne. L'exposition de la mère à l'Isotrétinoïne a été interrompue au moins neuf mois avant la conception dans chacun de ces 4 cas.

- 5 cas d'avortement ont été signalés

- 4 enfants normaux sont signalés

### **V 5 3 - Commentaires**

- Etude prospective

Dans cette étude, nous ne trouvons pas d'augmentation du risque de malformations congénitales ou d'avortements spontanés parmi les 88 femmes qui ont terminé ou arrêté leur traitement à l'Isotrétinoïne avant leur grossesse.

Ni le taux d'incidence de 5 % de malformations congénitales, ni celui de 9,1 % d'avortements spontanés ne sont significativement différents des taux d'incidence signalés chez des femmes normales, en âge de procréer, qui n'ont pas été exposées à l'Isotrétinoïne.

La taille de cet échantillon de 88 femmes est trop petit pour évaluer des risques faibles.

Les cas prospectifs de cette étude ont été signalés avant que le début de la grossesse ne soit connu.

Il existe donc moins de biais de sélection.

- Etude rétrospective

Pour les cas de malformations congénitales découverts rétrospectivement, l'exposition maternelle à l'Isotrétinoïne a eu lieu au moins neuf mois avant la conception. Comme la demi-vie sanguine de l'Isotrétinoïne est de dix à douze heures, il est difficile d'établir une relation de cause à effet dans ces cas.

- Cas d'avortements thérapeutiques

21 femmes ont choisi de subir un avortement thérapeutique. La majorité des avortons n'a pas été examinée pour détecter des malformations congénitales. Aucune malformation n'a été signalée chez les avortons qui ont été examinés.

#### **V 5 4 - Conclusion**

Cette étude suggère que, dans les limites permises par la taille de l'échantillon, il n'y a pas de risque statistiquement significatif de malformations congénitales ou d'avortements spontanés chez les femmes qui ont terminé ou arrêté leur traitement à l'Isotrétinoïne avant leur grossesse.

#### **V 6 - Cas cliniques : tirés de publications ou de dossiers hospitaliers**

##### **V 6 1 - Cas n° 1 (7)**

Une femme reçoit 20 mg/jour de Isotrétinoïne : 3 mois ½ avant la conception

7 semaines après ses dernières menstruations

Premier enfant

Accouchement mouvementé

Enfant 3,320 kg

Circonférence de la tête : 40,5 cm

Fontanelle 4,5 cm

Faible cri à la naissance + hypotonie durant les premiers moments de la vie.

Traits du visage - front proéminent

- petites oreilles non différenciées
- pont du nez déprimé
- orbite profonde
- petit menton

ECG - déviation de l'axe droit

- hypertrophie ventriculaire

Faible activité musculaire

Se nourrit faiblement

Gain de poids faible

Scanner  $\Rightarrow$  hydrocéphalie + hydranencéphalie

A J<sub>11</sub> : Shunt ventriculopéritonal entraînant une infection à staphylocoques  $\Rightarrow$  shunt enlevé + antibiothérapie.

Le bébé ne suit rien des yeux.

Mort à 1 mois ½ d'une pneumonie. Pas d'autopsie.

### **V 6 2 - Cas n°2 (28)**

Mère, 22 ans, a pris contre l'acné des minocyclines jusqu'à deux mois avant la conception et Roaccutane® une fois par jour pendant 8 jours au cours de la 4<sup>ème</sup> à la 6<sup>ème</sup> semaine après la conception.

Après trente semaines de gestation, elle accouche spontanément par voie vaginale d'un enfant de sexe féminin présentant de sévères malformations.

L'enfant présente :

- microcéphalie avec microphtalmie bilatérale
- oreilles externes rudimentaires

L'oreille droite est un morceau de peau sans cartilage et le canal interne est absent . L'oreille gauche montre une malformation partielle.

- au deuxième jour de vie, l'enfant présente une hémorragie intraventriculaire
- à la troisième semaine, il présente une insuffisance cardiaque et rénale.

L'enfant meurt après 28 jours de vie.

Les études post-mortem révèlent des malformations cardiaques majeures et une hémorragie intracérébrale.

Les études chromosomiques sont normales. Ceci démontre que si une malformation est suspectée pendant la grossesse, une amniocentèse n'apporte aucune aide. Même un dosage d'Isotrétinoïne dans le liquide amniotique n'a pas de valeur prédictive significative.

### **V 6 3 - Cas n° 3 : (Service gynécologie-obstétrique Hopital Nord La Tronche, 1991)**

Une femme de 25 ans a suivi un traitement au Roaccutane® à 5 mg par jour en traitement

d'entretien pendant 4 mois. Elle a commencé ce traitement alors qu'elle était déjà enceinte de 7 semaines.

Ce traitement a été prescrit par un dermatologue avec un contraceptif oral.

L'interruption médicale de grossesse est décidée à 19 semaines.

L'examen anatomopathologique de prélèvements effectués à l'autopsie montre un fœtus de sexe féminin pesant 275 g et mesurant 26,5 cm :

- La boîte crânienne est défoncée ne renfermant qu'une moitié d'encéphale.
- Les membres supérieurs et inférieurs dans leurs différents segments, sont fixés en flexion.
- Pas d'autre anomalie externe.
- L'autopsie viscérale ne montre pas de lésion au niveau du cœur, du tractus respiratoire, du tube digestif et de l'appareil génito-urinaire. L'analyse histologique des différents viscères examinés (cœur, poumon, foie, rein, surrénales, pancréas, thymus, rate, intestin, utérus, ovaires) ne fait que confirmer l'absence de lésions notables.

#### **V 6 4 - Cas n° 4 : (Service gynécologie-obstétrique Hopital Nord La Tronche, 1993)**

Une femme enceinte de 18 SA, dont les dernières règles datent du 19/07/93. Depuis octobre 92, elle prend du Roaccutane® à 20 mg par jour avec contraception Cycleane® puis Adepal®. Après un échec de la contraception, l'interruption médicale de grossesse est décidée en raison des risques encourus par le fœtus en décembre 1993.

Une échographie pelvienne est pratiquée le 27/11/93 montrant une grossesse intra-utérine monofœtale normalement évolutive.

L'examen anatomopathologique de l'encéphale montre :

- Encéphale pesant 60 g
- Les deux vallées sylviennes sont largement ouvertes et les circonvolutions cérébrales lisses.
- Il existe 3 foyers hémorragiques méningés.
- Le tronc cérébral et le cervelet sont macroscopiquement normaux.

#### **V 6 5 - Cas n° 5 (47)**

Mère 17 ans - Père 24 ans

Premier enfant, grossesse sans problème.

Durant le premier mois de la grossesse, la mère a pris 50 mg par jour d'Isotrétinoïne contre l'acné.

L'enfant pèse 3,5 kg

- longueur 50,5 cm
- Circonférence de la tête 34,5 cm
- Capacité à tenir sa tête droit à 5 mois
- Se tient assis à sept mois

A sept mois, il pèse 8,400 kg - Longueur 80 cm

Il est admis dans une clinique pédiatrique pour des convulsions fébriles.

On note alors : - un front proéminent

- des oreilles grandes et rondes
- une micrognathie
- un cou large

Il existe :

- une asymétrie thoracique marquée avec une hypoplasie du haut côté droit de la poitrine
- clavicule droite et scapula ne sont pas palpables
- humérus droit petit et en rotation vers l'intérieur, il est attaché au thorax au niveau de la 4<sup>ème</sup> ou 5<sup>ème</sup> côte
- cubitus et radius petits
- sternum petit
- les doigts de la main droite sont plus petits que ceux de la main gauche
- cordon fibreux visible s'étend sur 4 cm entre ombilique et xyphoïde.

Les examens de routine de laboratoire sont normaux (CPK, Transaminases...)

L'examen ophtalmologique est normal.

ECG et EEG sont normaux.

Le scanner montre des ventricules élargis de manière asymétrique.

A deux ans et demi, son développement est retardé : il a juste commencé à marcher et ne prononce que quelques mots.

Cet enfant représente un des premiers cas de réduction de membre consécutif à une exposition à l'Isotrétinoïne tôt dans la grossesse.

Mac Bride (1985) avait précédemment rapporté le cas d'un enfant avec des réductions des quatres extrémités et membres, dont la mère avait pris de l'Isotrétinoïne du vingt-sixième au quarantième jour de gestation.

Bien que ces cas suggèrent que l'Isotrétinoïne provoque des malformations de membres, ils ne procurent pas de conclusion évidente sur ce type de malformations en tératogénicité humaine.

#### **V 6 6 - Cas n° 6 (31)**

Il s'agit d'une femme de 20 ans.

Ses dernières règles datent du 06/01/1983 et elle arrête le traitement à l'Isotrétinoïne le 07/03/83.

Elle est examinée pour la première fois à la quatorzième semaine de gestation.

Elle a reçu 60 mg par jour d'Isotrétinoïne pendant six mois avant la conception et pendant les sept premières semaines de gestation puis 40 mg par jour pendant la huitième semaine de gestation.

La patiente a été bien avertie de la tératogénicité de l'Isotrétinoïne et choisit de continuer sa grossesse qui se poursuit sans problème.

La croissance du fœtus est suivie par une série d'échographies. Les échographies de la treizième et de la dix huitième semaines ne montrent aucune anomalie.

A partir de la vingt troisième semaine, on remarque un retard uniforme de deux semaines de la croissance du fœtus.

A la quarante deuxième semaine de gestation, la patiente commence un travail spontané et accouche d'un nouveau-né vivant de sexe féminin, pesant 2,5 kg. Le pédiatre examine tous les organes susceptibles d'être touchés par l'embryopathie à l'Isotrétinoïne et aucune anomalie n'est décelée.

Un examen à l'âge de six mois montre une croissance et une audition normale, un état physique, mental et comportemental normal.

Pas de mention concernant le suivi de cet enfant.

#### **V 6 7 - Cas n° 7 (25)**

Une femme de 26 ans est traitée pour de l'acné par l'Isotrétinoïne à 40 mg deux fois par jour. A cause de six ans de stérilité, elle n'a pas pris de contraception pendant son traitement bien qu'elle ait été avertie des risques de malformations fœtales en cas de grossesse. Un test de grossesse se déclare

positif au cours du traitement : il s'avère que le fœtus a été exposé à l'Isotrétinoïne durant les cinq premières semaines de sa croissance intra-utérine.

Le père n'était pas l'homme qui fut son partenaire sexuel pendant ses six ans de stérilité.

Une échographie au 3<sup>ème</sup> mois n'a pas révélé de malformations mais le visage n'a pas été vu. Nous n'avons pas de renseignements concernant les échographies réalisées ultérieurement.

Cette femme accouche à terme d'un garçon de 2,8 kg par césarienne pour une disproportion céphalopelvienne.

L'enfant présente des morceaux d'oreille bilatéraux à l'angle du mandibule, pas de canal auditif externe, une micrognathie et une fente palatine. L'oreille interne semble normale. Le crâne est triangulaire, la région frontale est resserrée, les crêtes orbitales sont plates, le front est fuyant et l'occiput proéminent.

Son examen clinique montre un murmure systolique : l'échocardiographie suggère une anomalie de la cloison ventriculaire, des poumons et des valves aortiques. L'échocardiographie montre un élargissement atrial droit et une hypertrophie ventriculaire droite. Un scanner cérébral est normal. On note aussi une paralysie faciale gauche et une perte de la masse et du tonus musculaire dans les membres. L'enfant est nourri par intubation.

Cet enfant présente donc les malformations typiques d'une embryopathie à l'Isotrétinoïne (oreille et cœur) exceptées celles du système nerveux central.

Ce cas montre l'importance d'une contraception, quand l'Isotrétinoïne est prescrit, même si la femme présente des antécédents de stérilité.

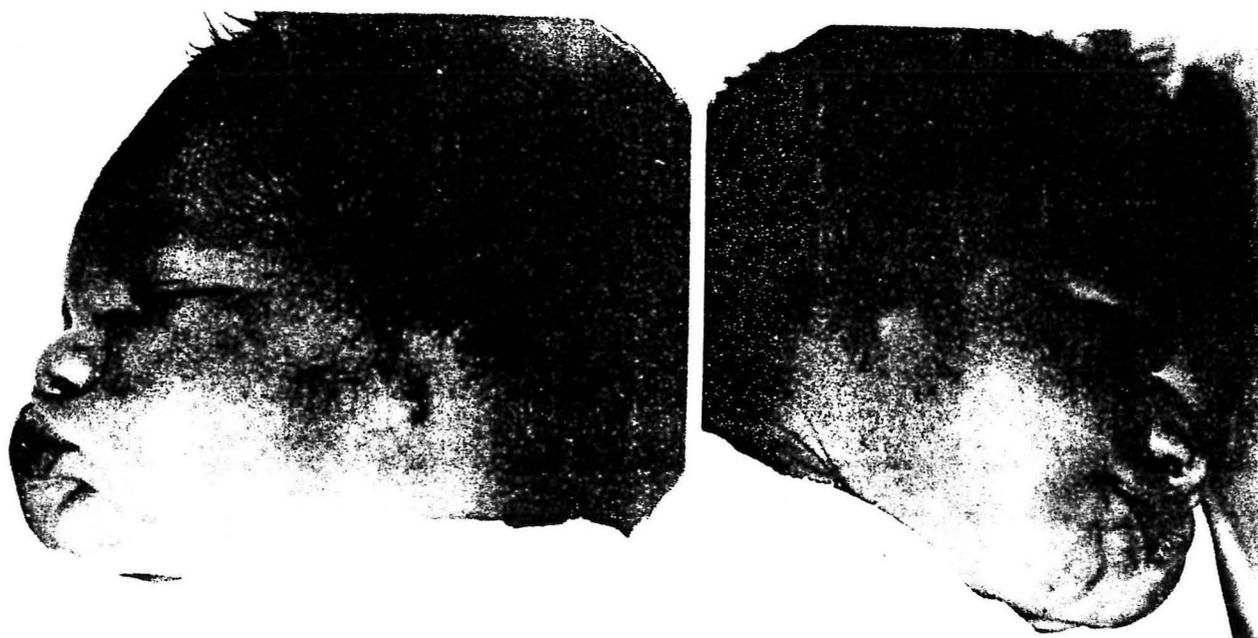
#### **V 6 8 - Cas n° 8 (0)**

Une jeune femme âgée de 21 ans, étudiante, sans antécédent pathologique personnel ou familial signalé au cours du suivi de sa grossesse, accouche par voie basse au terme de 39,5 semaines d'aménorrhée de son premier enfant sans incident.

Dès la naissance, on constate une agénésie bilatérale de l'oreille externe (voir photo). L'examen clinique du nouveau-né note un souffle systolique, une hypotonie axiale, une parésie faciale périphérique droite et des réflexes primaires médiocres. Aucune autre anomalie cranofaciale n'est observée. Au total, on retient chez cet enfant une anotie et une cardiopathie, association très évocatrice d'une embryopathie à l'Isotrétinoïne.

L'interrogatoire de la mère permet de retrouver à postériori un traitement oral par l'Isotrétinoïne prescrit pour une acné faciale microkystique. La jeune femme avait pris 30 mg/jour d'Isotrétinoïne pendant sept mois. Elle avait été au préalable dûment informée par le dermatologue des risques tératogènes liés à ce médicament, cette information étant certifiée par la signature d'un consentement écrit. Une contraception orale par Adépal® avait été prescrite simultanément mais arrêtée par la patiente alors que le traitement à l'Isotrétinoïne était poursuivi. On a situé l'arrêt du traitement à l'Isotrétinoïne dans la semaine précédant la date présumée de la conception. Depuis qu'elle était enceinte, la jeune femme n'avait pas revu le dermatologue et n'avait signalé l'existence de ce traitement à risque ni à son médecin généraliste, ni à l'obstétricien consulté en fin de grossesse.

Cet exemple représente le seul cas que nous ayons retrouvé d'un enfant né en France avec une embryopathie à l'Isotrétinoïne.



**V 7 - Anomalies comportementales induites par l'Isotrétinoïne (2, 4, 12, 21)**

En plus des malformations structurales majeures, la vitamine A et l'acide tout trans rétinol ont donné des déficits du système nerveux faisant penser que l'Isotrétinoïne pouvait avoir des effets similaires.

En 1990, Jensch a rapporté des effets comportementaux chez les rats exposés à l'Isotrétinoïne du onzième au treizième jour de la gestation.

Des études ont été réalisées pour évaluer la croissance physique, le développement et les fonctions neuropsychologiques des enfants avec une insistance particulière sur la relation qui peut exister entre les résultats structuraux et intellectuels.

Une étude prospective de Lammer en 1985 suit cinquante sept femmes ayant consommé de l'Isotrétinoïne au cours du premier trimestre de leur grossesse. Lammer n'a suivi que de façon incomplète l'évolution des enfants de son étude. Mais les résultats préliminaires montrent que l'exposition à l'Isotrétinoïne expose non seulement à un risque de malformations, mais également à celui d'anomalies fonctionnelles. C'est ainsi que l'examen, à l'âge de cinq ans, de vingt sept enfants exposés au cours du premier trimestre a montré quatorze cas (52 %) de déficits intellectuels dont 37,5 % chez les enfants n'ayant aucune malformation. La présence de déficits fonctionnels significatifs chez des individus sans malformation majeure démontre l'importance de l'évaluation du comportement comme un outil additionnel pour l'évaluation du risque d'une embryopathie à l'Isotrétinoïne.

On peut s'attendre à des déficits neuro-comportementaux chez des enfants exposés à l'Isotrétinoïne après la période de malformation la plus sensible à cause du développement prolongé du système nerveux central.

#### **V 8 - L'Isotrétinoïne absorbée chez le sujet masculin et conséquences sur la reproduction**

Un médicament, pris par un sujet masculin, peut être responsable d'effets tératogènes dans trois conditions :

- Le produit est responsable d'altérations chromosomiques des spermatozoïdes : il s'agit alors d'un problème de mutagénicité.
- Le produit est présent dans le liquide spermatique et fait l'objet d'une résorption vaginale, donnant lieu à un passage dans la circulation sanguine maternelle et fœtale.

- Le produit, présent dans le liquide spermatique, entre en contact direct avec l'embryon à l'occasion des rapports. Il s'agit plus d'une hypothèse théorique que réelle.

En ce qui concerne les rétinoïdes :

- de nombreuses études de mutagénicité ont été entreprises. Qu'il s'agisse de tests de Ames, de tests sur des levures, de tests d'altération chromosomique in vitro, d'études sur les chromosomes des spermatozoïdes humains et de tests d'altération des noyaux. Les résultats sont restés négatifs. Il n'y a donc pas lieu de craindre une altération du matériel génétique des spermatozoïdes.

De plus, différentes études ont été entreprises, tant chez l'animal que chez l'homme, afin d'étudier la qualité du sperme.

- Chez la souris, de fortes doses d'Isotrétinoïne, sont responsables d'une dégénérescence testiculaire avec réduction de la spermatogenèse.
- Chez le hamster cependant, des traitements analogues ne modifient nullement la qualité du sperme.
- Plusieurs études ont été conduites chez l'homme. La première, menée pendant douze semaines chez vingt sujets traités par Isotrétinoïne à doses thérapeutiques, a montré une augmentation significative de la mobilité des spermatozoïdes, une diminution du taux de spermatozoïdes anormaux, alors que le nombre total de spermatozoïdes restait identique. La deuxième étude, conduite sur douze autres patients traités par Isotrétinoïne à doses thérapeutiques, pendant vingt quatre semaines, montre des résultats tout à fait comparables sans, cette fois-ci, être significativement différents d'un point de vue statistique, en raison du petit nombre de patients inclus dans l'étude.

D'après une autre étude de tératogénicité réalisée chez vingt hommes avec de l'acné et traités par l'Isotrétinoïne à 0,2 mg/kg par jour pour trois mois, aucun changement de morphologie du sperme n'a été observé après le traitement (55). En fait, chez deux hommes suivis jusqu'au neuvième mois de traitement par l'Isotrétinoïne à 0,5 mg/kg par jour, une amélioration de la mobilité, de la quantité et de la morphogénèse du sperme a été remarquée. Dans une autre étude, aucun changement conséquent n'a été vu en ce qui concerne la quantité, la mobilité et la morphogénèse du sperme chez 28 patients traités par l'Isotrétinoïne à 1 mg/kg par jour.

De plus, les examens endocrinologiques conduits tout au long de cette dernière étude, permettent d'affirmer qu'il n'y a aucune modification des taux plasmatiques de testostérone, de LH et de FSH au cours du traitement par rétinoïdes.

- Le problème de la résorption vaginale des rétinoïdes contenus dans le liquide spermatique peut être abordé comme suit : si on émet l'hypothèse que les concentrations de rétinoïdes (ROACCUTANE® ou TIGASON®) sont identiques dans le plasma et le liquide spermatique, la concentration de ces rétinoïdes serait de l'ordre de 500 à 600 ng/ml de sperme. Un rapport quotidien, avec dépôt intravaginal de 3 ml de sperme, serait ainsi susceptible d'apporter environ 1,5 µg de rétinoïdes par jour. Si l'on supposait que ces rétinoïdes soient totalement résorbés par la muqueuse vaginale, la femme absorberait 1,5 µg de rétinoïdes par jour, soit 20 000 fois moins qu'un traitement classique par 30 mg par jour.

Or, les résultats préliminaires d'une étude entreprise sur le liquide spermatique de sujets traités à doses thérapeutiques, montrent des concentrations spermatiques de TIGASON® variant entre 1 et 5 ng/ml. Ainsi, la dose transmise à la mère, par 3 ml de sperme d'un sujet traité par 30 mg de TIGASON® par jour, sera au maximum de 15 ng, soit deux millions de fois moindre que la dose absorbée par le père.

- L'hypothèse d'un contact direct, entre l'embryon et les rétinoïdes contenus dans le liquide spermatique, à l'occasion des rapports, est plus un problème théorique que réel. En effet, pour qu'il y ait malformations, il faut que les rétinoïdes soient au contact de l'embryon au moment de l'organogenèse. On sait qu'une fois la fécondation réalisée et l'œuf nidé, il n'y a plus de passage de liquide spermatique à travers le col utérin. Il faudrait donc imaginer que le sperme reste dans l'utérus depuis la conception jusqu'à la période d'organogenèse, soit trois à quatre semaines. Ceci est manifestement impossible.

En conclusion, quel que soit le mécanisme envisagé, l'hypothèse d'un pouvoir tératogène des rétinoïdes pris par le père semble tout à fait improbable.

Cependant, le centre de pharmacovigilance d'Angers (5) rapporte le cas d'un homme de 28 ans, 85 kg, traité pendant six mois par Roaccutane® à la posologie de 80 mg par jour pour une acné nodulokystique du visage. Pendant la durée de ce traitement, sa femme a fait deux avortements spontanés. Un enfant normal en bonne santé était né avant ce traitement ; une grossesse débutée trois mois après l'arrêt du traitement chez le mari s'est déroulée normalement.

### V 9 - L'Acide rétinoïque en application cutanée (48)

Le trétinoïne (acide tout trans rétinoïque) en application topique augmente le nombre de mitoses épidermiques, il augmente le renouvellement des cellules épidermiques et diminue la formation de kératine. Plusieurs expériences traitant de la possible tératogénicité du trétinoïne topique ont été publiées et les résultats sont quelque peu contradictoires.

Dans une expérience, de jeunes lapins dont les mères avaient été traitées localement par une crème à 0,1 % en milieu de grossesse étaient légèrement plus petits, les doses de trétinoïne chez les morts intra-utérins étaient relativement augmentées, mais ceci n'était pas statistiquement significatif. Aucune augmentation d'anomalies fœtales n'a été notée.

Dans une seconde expérience avec des lapins, le poids fœtal n'était pas affecté mais une dose relative augmentée chez les morts intra-utérins et chez les lapins porteurs d'anomalies mineures du squelette était retrouvée.

Une 3<sup>ème</sup> expérience note une ossification incomplète avec 0,05 % de trétinoïne à 1 mg/kg par jour appliqué sur la face de rats en milieu de grossesse.

Il n'y a pas chez l'humain de rapport sur la croissance d'enfants, avec des malformations congénitales après une application de trétinoïne chez la mère.

La quantité de trétinoïne absorbée est critique pour déterminer que le trétinoïne est tératogène par voie topique.

Moins de 5 % de trétinoïne topique est absorbé chez l'humain après une application. Mais 31 % d'une solution de vitamine A est absorbée après dix jours d'une application topique chez des patients avec de l'acné.

Si un patient applique du trétinoïne à 0,1 %, 1 mg par jour, sur sa figure et qu'un tiers est absorbé, c'est l'équivalent d'une ingestion de 12 UI/kg par jour. Pour une femme de 60 kg, cette quantité est 720 UI par jour. Les vitamines prénatales contiennent 5000 UI de vitamine A, c'est sept fois la quantité de vitamine A qui devrait être absorbée après application topique de trétinoïne.

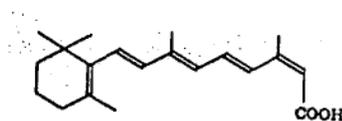
Il est peu probable qu'une application topique de trétinoïne puisse induire un effet tératogène. Cependant l'acide tout trans rétinoïque n'est pas chimiquement identique à la vitamine A et il est concevable que les effets tératogènes du trétinoïne aient lieu à de plus faibles doses.

Le trétinoïne est prescrit chez une femme en âge de procréer. Chez une femme enceinte, la décision finale de l'utilisation de trétinoïne topique doit être prise par l'obstétricien et sa patiente sachant qu'il n'y a pas de rapport publié sur des naissances anormales après application de trétinoïne topique chez la mère.

## VI - MECANISME D'ACTION TERATOGENE DE L'ISOTRETINOINE

L'action tératogène de l'Isotrétinoïne est liée à ses propriétés physicochimiques et son mécanisme d'action s'exerce tant au niveau tissulaire que sur la modulation des gènes.

### **VI 1 - Relation Structure - Activité (51)**



#### *- Groupe carboxylique terminal*

Le groupement carboxylique des rétinoïdes est extrêmement important dans leur potentiel tératogène. Une haute activité tératogène semble nécessiter un groupement acide libre, préférentiellement un acide carboxylique.

#### *- Enchaînement des doubles liaisons*

A l'heure actuelle, la configuration en doubles liaisons semble jouer un rôle dans la tératogénicité de la molécule mais ce rôle n'est pas clairement élucidé.

#### *- Groupement hydrophobe*

Un groupement hydrophobe est nécessaire pour une haute activité tératogène. Cependant, les effets de ce groupement sur la tératogénicité semble moins important comparé à ceux de l'enchaînement des doubles liaisons ou du groupement acide terminal.

### **VI 2 - Etude de l'action de l'Isotrétinoïne sur les crêtes neurales**

#### **VI 2 1 - Etude n° 1 : in vivo (56)**

Les expériences de W. Webster, M. Johnston, E. Lammer et K. Sulik étudient l'action de l'Isotrétinoïne sur les cellules des crêtes neurales antérieures chez l'embryon de souris et de rat.

A l'exception du cerveau, la face, le cœur, les gros vaisseaux et le thymus sont des structures dérivées, au moins en partie, des cellules des crêtes neurales antérieures : l'action tératogène de l'Isotrétinoïne aurait lieu sur cette population cellulaire embryonnaire.

#### - Méthodes

50 souris fécondées reçoivent une dose d'Isotrétinoïne de 200 mg/kg du 7<sup>ème</sup> au 9<sup>ème</sup> jour de gestation (période de migration des cellules des crêtes neurales).

Les souris sont sacrifiées un jour avant terme, les fœtus sont disséqués et examinés en parallèle avec un échantillon témoin. Un autre échantillon de souris reçoit la même dose au 8<sup>ème</sup> jour et est sacrifié entre la 2<sup>ème</sup> et la 96<sup>ème</sup> heure après l'exposition.

#### - Résultats

Les effets sur les embryons de souris de mères exposées à l'Isotrétinoïne, dépendent du moment d'administration du médicament. Les expositions les plus précoces sont associées à de très hautes incidences de mort embryonnaire.

Au cours d'une gestation normale, chez les embryons de mammifères, les cellules des crêtes neurales sont initialement localisées à la jonction neurectoblastique.

En même temps que le tube neural se développe, les cellules des crêtes migrent sous l'ectoderme pour aller vers l'extrémité supérieure et les arcs branchiaux.

En quatre heures d'exposition, des changements sont observés sur les cellules des crêtes qui migrent du mésencéphale et du tronc cérébral vers le premier et le deuxième arc branchial.

Les cellules des crêtes montrent pour la plupart la présence de vacuoles cytoplasmiques qui peuvent déformer la membrane plasmique. Au bout de vingt quatre heures après l'exposition, ces modifications cellulaires disparaissent, mais, à ce stade, les embryons montrent un sous-développement des arcs branchiaux.

Le 2<sup>ème</sup> arc, qui est à l'origine de la majeure partie de l'oreille externe, est plus sévèrement affecté lors de cette durée de traitement.

### - Discussion

La présence de vacuoles cytoplasmiques dans les cellules des crêtes indiquent que le médicament a un effet cytotoxique direct. Les changements membranaires de ces cellules embryonnaires sont associés à une perte de la capacité migratoire. Ces changements, même présents sur une courte période, sont particulièrement dommageables pour ces cellules qui contribuent au développement embryonnaire par une migration importante et un taux élevé de prolifération. Le sous-développement important du 2<sup>ème</sup> arc est un marqueur précoce des anomalies de l'oreille externe.

La longue période de développement, durant laquelle des anomalies de l'oreille peuvent être induites, inclue la période avant la migration des cellules des crêtes : ces cellules peuvent être affectées alors qu'elles font encore partie des plis neuraux et qu'elles sont en train de se différencier avant leur migration.

Les cellules des crêtes post-otiques contribuant à la formation du cœur, de gros vaisseaux et du thymus migrent plus tard que les cellules pré-otiques, ce qui explique pourquoi, les malformations du thymus et du cœur se voient seulement après une administration tardive d'Isotrétinoïne chez la souris.

En conclusion, ces résultats indiquent que les cellules des crêtes neurales peuvent être endommagées par l'Isotrétinoïne à la fois pendant la période de développement au niveau des plis neuraux et ensuite pendant leur prémigration, migration et post-migration, mais elles deviennent progressivement moins sensibles.

### **VI 2 2 - Etude n° 2 : in vitro (56)**

Le but de cette étude est de déterminer chez le rat si le métabolite 4 oxo Isotrétinoïne est un agent tératogène, et de comparer la tératogénicité de ce composé à celle de son composé parent l'Isotrétinoïne à différentes concentrations thérapeutiques.

### - Méthodes

Les embryons de rat sont explantés au cours de la soirée du 9<sup>ème</sup> jour de gestation et sont cultivés. Ces embryons expérimentaux grandissent dans un liquide contenant 100 à 1000 ng/ml d'Isotrétinoïne ou de 4 oxo Isotrétinoïne. Ces embryons sont étudiés en parallèle avec des témoins. Les cultures sont arrêtées au bout de 48 heures et les embryons sont disséqués sous microscope.

Les paramètres d'évaluation du développement sont :

- la présence de battements cardiaques
- une circulation dans le sac vitellin
- le fait que l'embryon soit recourbé ou non
- le nombre d'arc branchiaux

- Résultats

La période de culture comprend la période précoce de différenciation des cellules des crêtes et de migration nécessaire au développement facial normal.

A la fin de la période de culture, les embryons témoins ont trois paires d'arc branchiaux.

Avec l'Isotrétinoïne et le 4 oxo Isotrétinoïne, les effets embryotoxiques sont dépendants de la dose administrée :

- A 1000 ng/ml les deux composés causent de sévères retards de croissance et de développement :
  - pas de circulation dans la membrane vitelline
  - battements cardiaques faibles
  - peu d'embryons recourbés
  - une seule paire d'arc branchiaux

Presque tous les embryons exposés au 4 oxo Isotrétinoïne ont le neuropore postérieur ouvert.

- A 500 ng/ml, les effets sur le sac vitellin et la croissance des embryons sont moins sévères. Le premier arc viscéral est toujours présent mais le deuxième est en général réduit de taille et parfois absent. La taille et la forme du deuxième arc varient beaucoup entre les embryons et entre les deux côtés du même embryon.

L'évolution des arcs vers le développement de l'oreille est aussi perturbée.

Les deux substances entraînent des anomalies similaires des arcs branchiaux, l'Isotrétinoïne pouvant être plus tératogène que le 4 oxo.

- A 250 ng/ml

Les embryons exposés à l'Isotrétinoïne sont plus petits que les témoins, mais aucune anomalie morphologique n'est notée.

- A 125 ng/ml

Les embryons expérimentaux sont indifférenciables des témoins

### - Discussion

Cette étude in vitro chez le rat montre que les malformations de l'oreille sont dues à une déficience du 2<sup>ème</sup> arc branchial comme ceci est montré dans l'étude n° 1 in vivo chez la souris.

Cette étude n° 2 montre en plus que le niveau critique pour l'Isotrétinoïne et le 4 oxo Isotrétinoïne chez le rat est entre 250 et 500 ng/ml pour une exposition de quarante huit heures.

Bien que le métabolite soit moins tératogène chez le rat, l'embryotoxocité serait due à une association des deux composés qui induisent des malformations similaires à des concentrations similaires.

En conclusion, l'embryopathie à l'Isotrétinoïne est due à l'action jumelée de ce composé et de son métabolite 4 oxo sur la différenciation et la période de migration des cellules des crêtes neurales.

## **VI 3 - Action de l'Isotrétinoïne au niveau des gènes (53)**

### **VI 3 1 - Identification du récepteur cytoplasmique de l'Isotrétinoïne (24, 30, 34, 46, 53)**

Au niveau cellulaire, l'action thérapeutique ou l'action tératogène de l'Isotrétinoïne ont les mêmes mécanismes chez l'embryon.

L'Isotrétinoïne absorbé par la muqueuse intestinale est déversé dans la circulation sanguine où il est fortement lié à l'albumine.

De nature lipidique, l'Isotrétinoïne pénètre à travers la membrane plasmique qui entoure les cellules. A l'intérieur de la cellule, une protéine de liaison, C.R.A.B.P. (Cellular Retinoïd Acid Binding Protein = Protéine de Liaison Intracellulaire de l'acide rétinoïque) joue le rôle de récepteur cytoplasmique qui achemine les molécules vers un site nucléaire précis.

On la trouve dans de nombreuses cellules embryonnaires. Il a été établi une corrélation entre l'existence de la C.R.A.B.P. dans un tissu et l'observation d'un effet biologique des rétinoïdes sur ce même tissu.

La C.R.A.B.P. est une protéine cytosolique de P.M. : 14600, ne possédant qu'un site de liaison par molécule et rigoureusement spécifique pour l'acide rétinoïque.

La C.R.A.B.P. a été purifiée, on en connaît la séquence et son gène a été cloné.

Il se produit ensuite une translocation du complexe acide rétinoïque - C.R.A.B.P. du cytoplasme vers le noyau.

Plusieurs auteurs ont montré que l'acide rétinoïque se lie à un nombre déterminé de sites nucléaires spécifiques pourvu que l'acide rétinoïque soit préalablement lié à la C.R.A.B.P.

Toutefois la C.R.A.B.P. elle-même ne se lie pas aux sites de la chromatine. Elle pourrait être soit dégradée, soit recyclée, elle se comporterait comme une navette entre le cytoplasme et le noyau.

### VI 3 2 - Identification du récepteur nucléaire de l'Isotrétinoïne

Ce récepteur nucléaire présente une grande homologie de séquence avec le récepteur nucléaire de l'hormone thyroïdienne et des stéroïdes. Ces récepteurs sont des facteurs de régulation de la transcription induit par l'acide rétinoïque qui traduit le signal acide rétinoïque en l'expression du gène.

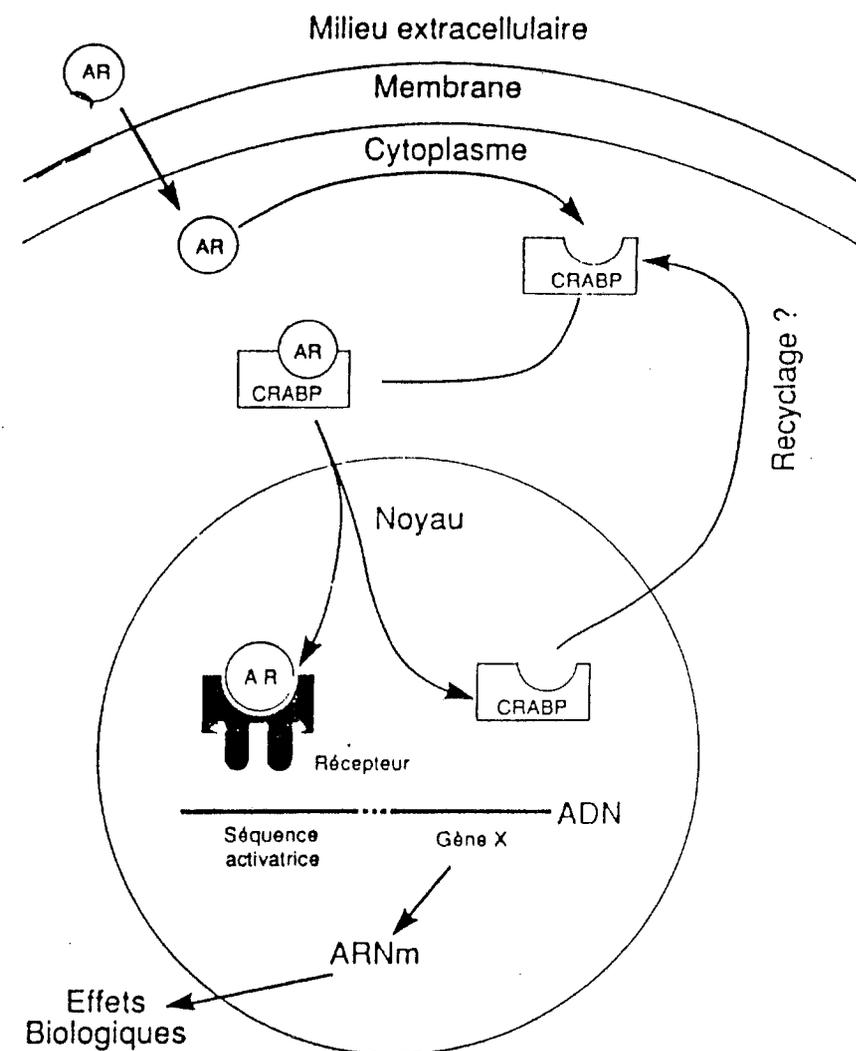
H. Jiang, M. Gyda, Dharnish (30) et leur équipe en 1994 ont découvert et caractérisé une famille de récepteurs nucléaires à l'acide rétinoïque (RAR- $\alpha$ , RAR- $\beta$  et RAR- $\gamma$ ) chez la souris. Cette étude a donné les résultats suivants :

- Ces récepteurs nucléaires sont différents par leur affinité tissulaire. Le récepteur RAR a pour substrat l'acide rétinoïque tout trans et l'acide rétinoïque 13 cis. Les récepteurs RAR diffèrent par un acide aminé terminal. La stimulation du récepteur RAR par son substrat (Isotrétinoïne) produit un ARNm (ARNmRAR). L'ARNm produit est en relation avec la quantité d'acide 13 cis rétinoïque et d'acide tout trans rétinoïque présente chez l'embryon.
- une dose d'acide 13 cis rétinoïque et trois doses d'acide tout trans rétinoïque ont montré les mêmes actions tératogènes et la même quantité d'ARNmRAR produite. L'acide tout trans rétinoïque est donc un agent tératogène moins puissant chez la souris que l'acide 13 cis rétinoïque. Les taux élevés d'ARNmRAR se retrouvent surtout dans les régions cranofaciales. Ce taux est moindre dans le reste de l'embryon. Par rapport au taux basal, le niveau d'ARNmRAR est augmenté de 4 à 8 fois dans la tête, et de deux à quatre fois dans le corps.
- Il existe une forte corrélation entre l'élévation des niveau d'ARNmRAR et la probabilité d'une malformation fœtale.



- Tous les rétinoïdes tératogènes naturels ou synthétiques élèvent les niveaux d'ARNmRAR. Les rétinoïdes "marginiaux" qui ne sont pas tératogènes n'ont pas d'influence ou ne produisent qu'une très faible élévation des niveaux d'ARNmRAR.

Des études plus récentes (51) ont mis en évidence l'expression relative de chaque sous type de récepteurs RAR. En général, le récepteur RAR- $\alpha$  est largement distribué alors que les récepteurs RAR- $\beta$  et RAR- $\gamma$  ont des localisations plus réduites. Par exemple, RAR- $\gamma$  n'est pas exprimé dans le système nerveux central. A l'inverse, RAR- $\alpha$  et RAR- $\beta$  sont exprimés dans celui-ci. Plusieurs résultats conduisent à penser que l'élévation du niveau d'ARNm d'un isoforme spécifique (RAR- $\beta$ 2) est liée au développement anormal dû à l'acide rétinoïque. Il existe une corrélation importante entre l'élévation d'acide rétinoïque et l'expression du RAR- $\beta$ 2. L'augmentation du niveau d'ARNm RAR $\beta$ 2 dans les tissus embryonnaires est corrélée à l'action tératogène.



Hypothèse du mécanisme d'action cellulaire de l'acide rétinoïque

### **VI 3 3 - Le gène Homeobox = Hox (0,51)**

Les gènes Hox ont été découverts en premier chez la drosophile mais cette famille de gènes a aussi été mise en évidence dans de nombreuses espèces animales incluant les mammifères (souris et hommes). Ces gènes sont distribués suivant des séquences homologues, chaque séquence étant localisée sur un chromosome différent dans le génome. La concentration en acide rétinoïque dans chaque cellule affecte les gènes Hox qui seront transcrits activement en ARNm. La transcription des gènes Hox est en fait soumise à une régulation (induction - répression) liée à l'acide rétinoïque. La transcription de certains gènes Hox est induite par l'acide rétinoïque ; celle d'autres gènes Hox (en particulier sur le rhombencéphale) peut au contraire être réprimée par cette même substance.

Les gènes Hox participent à l'organisation segmentaire de la région cervicofaciale embryonnaire et des arcs branchiaux.

La participation des gènes Hox dans l'activité tératogène de l'acide rétinoïque reste une voie de recherche à explorer.

### **VI 4 - Autres modes d'action possible de l'Isotrétinoïne**

Ces derniers n'ont pas encore aujourd'hui été correctement élucidés.

- La vitamine A et ses dérivés pourraient agir comme cofacteurs de diverses activités métaboliques cellulaires et notamment des activités enzymatiques. Les rétinoïdes ont la capacité de transférer des résidus mannoses sur les glycoconjugués membranaires. Cette modification déstabilise la membrane cellulaire en augmentant sa perméabilité et en diminuant sa résistance électrique. L'Isotrétinoïne agit ainsi comme un détergent (53).

- A. John évoque aussi le mécanisme de tératogénicité en notant que l'Isotrétinoïne pourrait exagérer le processus normal de mort cellulaire physiologique. La vitamine A et ses dérivés induiraient la libération d'enzymes lysosomales (28).

- Enfin, les rétinoïdes pourraient avoir un effet sur le second messager cellulaire (AMPc, Ca<sup>++</sup>, protéine kinase), par l'intermédiaire desquels ils contrôlèrent les activités métaboliques de la cellule et donc sa croissance et sa différenciation (53).

**TROISIEME PARTIE**

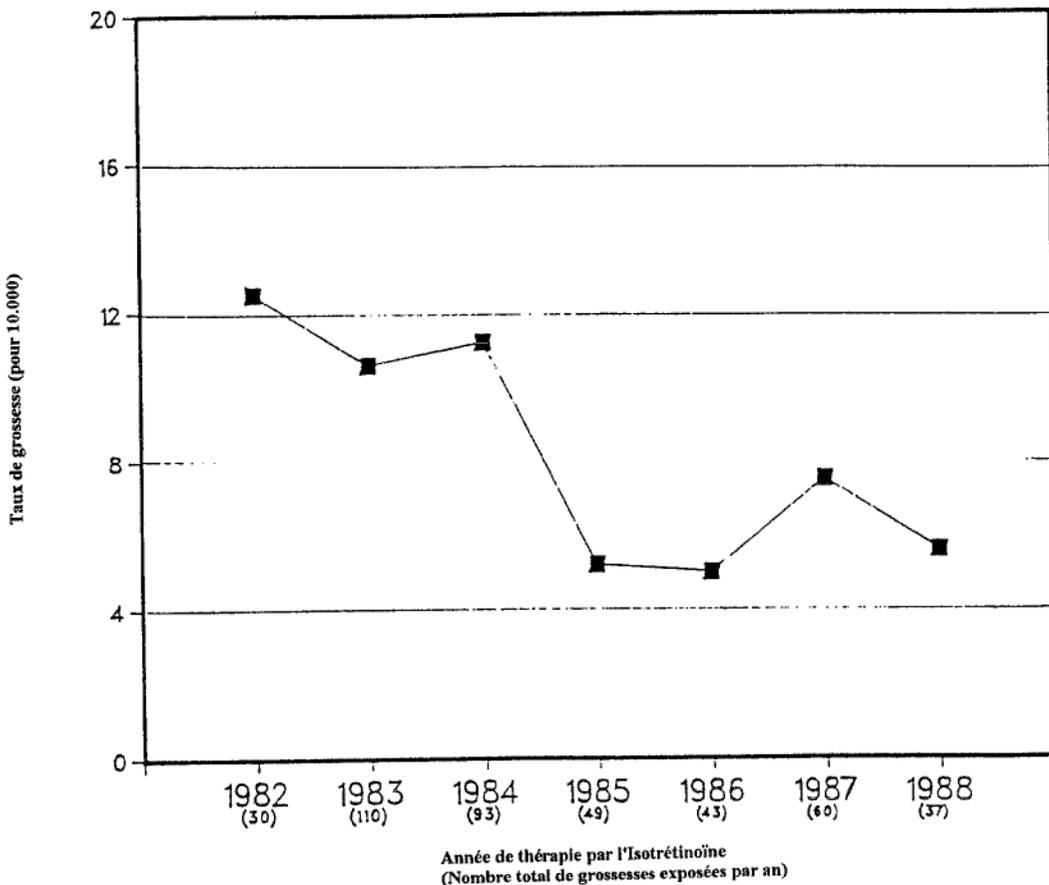
## I - BONNE PRATIQUE DE PRESCRIPTION DE L'ISOTRÉTINOÏNE CHEZ LA FEMME EN AGE DE PROCREER

### **I 1 - Premières séries de mesures mises en place (12, 19, 54)**

L'Isotrétinoïne est un agent thérapeutique de valeur. Malheureusement, les études avant commercialisation ont montré que l'Isotrétinoïne est tératogène chez l'animal et la FDA a placé cette molécule dans "pregnancy category X".

Des recommandations sont à prendre en compte et à appliquer pour maintenir la disponibilité de ce produit efficace en minimisant les cas de malformations sur le fœtus.

En Juin 1983, le premier bébé malformé est recensé après une exposition à l'Isotrétinoïne pendant la grossesse. Ce premier cas fut suivi par de nombreux autres recensés par la FDA ainsi que par Lammer et son équipe en 1985.



Taux de grossesse pour 10.000 femmes et jeunes filles entre 12 et 44 ans exposées à l'Isotrétinoïne.

Le New-York Times rapporte qu'entre 1982 et 1986, 900 à 1300 bébés sont nés avec de sévères malformations à cause de ce médicament. Quatre jours après cette publication (1986), la FDA et le laboratoire Roche se réunissent pour établir un programme de prévention de la grossesse pour la femme sous Roaccutane®.

Les objectifs de ce programme sont :

- Limiter l'utilisation de Roaccutane® à une acné sévère, kystique et récalcitrante.
- Prendre des mesures pour exclure son utilisation chez la femme enceinte.
- S'assurer que la femme en âge de procréer utilise des mesures contraceptives efficaces durant la prise d'Isotrétinoïne.

Le programme est le suivant :

- Une liste des critères de qualification pour s'assurer que seules les femmes en âge de procréer présentant l'indication reçoivent le traitement.
- Le laboratoire Roche s'engage à rembourser la première visite chez un médecin expert, qui conseillera la patiente au sujet d'un mode de contraception et effectuera un test sanguin de grossesse.
- Un consentement et une bonne compréhension des risques du traitement sont indispensables pour que la patiente mesure l'importance de la contraception et des recommandations à suivre tout au long du traitement.

Ces premières mesures s'avérant insuffisantes, en 1988, le laboratoire Roche et la FDA ont mis en place un nouveau programme de prévention :

- Introduction dans chaque conditionnement de Roaccutane®, d'une notice explicative contenant un avertissement pour la grossesse et les critères que la femme doit remplir pour recevoir un traitement à l'Isotrétinoïne.
- Des brochures détaillées et explicatives sont remises aux dermatologues et aux autres prescripteurs possibles de l'Isotrétinoïne. Les femmes en âge de procréer doivent remplir toutes les conditions suivantes :
  - ① La patiente doit présenter une acné kystique, sévère, défigurante, récalcitrante.
  - ② La patiente est capable de comprendre et d'appliquer les instructions.

- ③ La patiente est capable de se conformer aux mesures contraceptives obligatoires (observance).
- ④ La patiente a reçu les recommandations orales et écrites des risques du traitement à l'Isotrétinoïne pendant la grossesse et des risques d'échec de contraception. Elle a reconnu par écrit (décharge) avoir été informée et avoir compris ces recommandations.
- ⑤ Une grossesse a été définitivement exclue par :
  - un test sanguin de grossesse négatif
  - un questionnaire approprié
  - un examen physique
- ⑥ La patiente ne commencera le traitement qu'après le 2<sup>ème</sup> ou le 3<sup>ème</sup> jour de sa prochaine période normale de menstruation.
- ⑦ La patiente devra continuer la contraception un mois après l'arrêt du traitement à l'Isotrétinoïne.

## **I 2 - Dernières recommandations (1991-94) (12, 41)**

Même si les mesures prises pour protéger du risque de grossesse pendant le traitement ne sont pas totalement satisfaisantes, le nombre de ces grossesses sous Isotrétinoïne décline aujourd'hui. Mais des cas de malformations persistent et un nouvel effort reste à faire pour réduire ces cas.

De plus, l'incidence des fausses couches spontanées après exposition à l'Isotrétinoïne est estimée de 20 à 30 %, en revanche, on ignore le nombre exact d'interruption de grossesses motivées par l'exposition à ce médicament (0).

En présence d'une acné grave et handicapante chez une femme apte à la procréation et en l'absence d'une alternative thérapeutique, le médecin peut être amené à envisager l'administration du Roaccutane®. Cependant, les risques encourus doivent être soigneusement pesés face au bénéfice thérapeutique attendu.

La "Teratology Society" recommande aux femmes qui utilisent l'Isotrétinoïne de se protéger par des implants de progestérone. Le coût de cette contraception étant élevé, la "Teratology Society" demande à la FDA de proposer une progestérone injectable de coût moins élevé, d'efficacité supérieure à une contraception orale et égale à la progestérone implantable.

Il est impératif que les femmes utilisent une contraception efficace même en cas d'antécédents de stérilité.

Une contraception fiable et rigoureuse doit être également entreprise lors de traitements répétés (en cas de récurrences) puis durant quatre semaines après l'arrêt de ces derniers (soit 40 demi-vies).

Le traitement doit se poursuivre sous couvert de tests de grossesse effectués tous les mois pendant toute la durée du traitement.

En conclusion, ces mesures de prévention sont encore trop récentes pour en évaluer l'effet. Si l'application de ces recommandations n'assure pas la prévention, la FDA et les fabricants pourraient restreindre la disponibilité du produit.

### **I 3 - Différentes pratiques suivant les pays (24)**

Aux USA et au Canada, la patiente doit signer un consentement éclairé stipulant :

- qu'elle n'est pas enceinte
- qu'elle prend une contraception
- qu'elle a été informée des risques.

En Australie, en Finlande et en Israël, la prescription est restreinte aux seuls dermatologues.

Au Royaume-Uni, en Tchécoslovaquie et en Nouvelle Zélande, le produit n'est délivré que par des pharmacies hospitalières.

En France, les références médicales conventionnelles élaborées en association avec l'agence nationale pour le développement et l'évaluation médicale (ENDEM) mentionnent le Roaccutane® dans la partie "affection dermatologique : acné (1994 - VII)". Ces références stipulent :

- Il n'y a pas lieu, du fait des dangers tératogènes, d'entreprendre un traitement de l'acné par l'Isotrétinoïne, sans vérifier qu'il n'y a pas de grossesse en cours (test qualitatif de grossesse systématique et répété chaque mois) et sans instituer une contraception efficace, commencée un mois avant le début de l'Isotrétinoïne et poursuivie un mois après son arrêt.
- Il n'y a pas lieu de prescrire de l'Isotrétinoïne en dehors des acnés sévères nodulo-kystiques et conglobata, et des acnés résistantes aux traitements classiques majeurs.
- Il n'y a pas lieu, pour le bilan préalable systématique du traitement de l'acné par l'Isotrétinoïne et, si le traitement est poursuivi, pour le bilan d'un mois, puis tous les deux mois, de pratiquer d'autres

examens (sauf morbidité associée) que le dosage des transaminases, du cholestérol total et des triglycérides.

Ces références médicales françaises de 1994 n'apportent aucune mesure supplémentaire de prévention par rapport à celles antérieures de la FDA américaine beaucoup plus strictes. De plus, l'édition 1995 du Vidal restreint d'avantage l'indication aux acnés sévères, nodulo-kystiques et conglobata ayant résisté aux traitements classiques majeurs, en particulier dans les lésions au niveau du tronc.

## II - ASPECT LEGAL SUR L'INTERRUPTION DE GROSSESSE

### **II 1 - Rappel légal (6, 8, 21, 22, 24, 52)**

Jusqu'aux lois VEIL et PELLETIER de 1975 et 1979, toute interruption volontaire de grossesse était passible de prison, voire d'exécution (en 1942, M.L. Giraud fut exécutée pour avoir pratiqué des avortements clandestins). Cependant, en 1939, avec le décret-loi du 29.07.39, les législateurs ont prévu la possibilité d'interrompre les grossesses entraînant un danger mortel pour la mère. Par la suite, en 1947 et 1955, différents décrets établirent les conditions légales à remplir et la marche à suivre administrativement pour réaliser ces interruptions de grossesse.

Vers la fin des années cinquante et au cours des années soixante, la recherche médicale a fait d'importants progrès notamment en ce qui concerne la rubéole congénitale (établissement d'un parallèle entre la maladie de la mère et la survenue de malformations fœtales). Le premier caryotype sur le liquide amniotique est réalisé en 1966 ; les premières échographies apparaissent en 1970.

Malgré les nombreuses pressions exercées pour modifier la législation, il faudra donc attendre les lois VEIL - PELLETIER de 1975 et de 1979 pour que les indications fœtales soient reconnues à part entière comme motif à l'interruption de grossesse. Les indications maternelles seront, elles aussi, élargies. Ce sont ces lois qui sont encore en vigueur actuellement.

Cependant, dans la précipitation de leur vote, si ces lois ont assez clairement défini les conditions de fond et de forme de l'I.V.G. (interruption volontaire de grossesse avant le terme de 12 semaines d'aménorrhée), elles ont trop rapidement évoqué l'avortement au-delà de ce terme en lui consacrant seulement les paragraphes 12 et 13 de l'article L 162 du Code de la Santé Publique. Ces deux articles constituent les seuls recours juridiques pouvant permettre dans des indications maternelles et fœtales de justifier la non-application de l'article 317 du Code Pénal sur l'avortement, anciennement dit criminel, et toujours applicable, et de régler les indications et les exigences d'encadrement d'un acte médical d'autant plus dangereux qu'il est réalisé à un terme avancé de la grossesse.

Article L 162.12.C.S.P.

*"L'interruption volontaire de grossesse peut à toute époque être pratiquée si deux médecins attestent, après examen et discussion, que la poursuite de la grossesse met en péril grave la santé de la femme... ou qu'il existe une forte probabilité que l'enfant à naître soit atteint d'une affection d'une particulière gravité, reconnue comme incurable au moment du diagnostic."*

Art. L 162.13.C.S.P.

*Il impose l'application des dispositions des articles précédents sur la nécessité de la pratique de l'interruption thérapeutique de grossesse par un médecin (Art. L 162.2), sur la clause de conscience (Art. L 162.8), avec une nécessaire information post-opératoire sur la contraception (Art. L 162.9) et la nécessité d'une déclaration au médecin inspecteur régional de la santé (Art. L 162.10).*

Il est tout d'abord plus que paradoxal de constater qu'il est difficile d'établir avec précision la fréquence des interruptions médicales de grossesse (IMG), en particulier pour ce qui concerne les malformations : ceci s'explique par le fait que la déclaration des IMG au registre des malformations est volontaire et non obligatoire. Bastiani en estime la fréquence à 0,12 % dans le département des Bouches-du-Rhône entre le 1er Janvier 1984 et le 31 Décembre 1988 (146 fœtus pour 117.193 enfants nés pendant cette même période) : cette étude n'a été rendue possible que grâce à l'existence du centre de tératovigilance de Marseille.

Bien qu'aucune étude nationale statistique valable ne puisse être utilisée en raison de l'irrégularité des déclarations des IMG, il est possible d'affirmer que la fréquence de tels actes a augmenté au cours de la dernière décennie atteignant 2000 à 3000 par an. Il est certain que si les indications maternelles d'une telle interruption tardive de grossesse se sont réduites en nombre, les indications fœtales ont nettement augmenté en fréquence, sans doute en raison de la plus grande fiabilité des explorations échographiques et génétiques permettant le diagnostic ou tout du moins l'assurance d'une forte probabilité de malformations ou de maladies métaboliques justifiant les interruptions légales de grossesse à un stade avancé.

## **II 2 - Risques des explorations fœtales (6, 8)**

Des procédures de plaintes en responsabilités sont à redouter, soit en cas d'incidents au cours des prélèvements, tels que l'amniocentèse, dommageables pour le fœtus (ou plus rarement pour la mère), soit à la suite d'une interprétation erronée des résultats des explorations réalisées pour permettre un diagnostic anténatal nécessaire avant la décision d'une interruption médicale de grossesse au cours du 2<sup>ème</sup> ou 3<sup>ème</sup> trimestre.

## **II 3 - Risques médicolégaux dans la pratique de l'interruption médicale de grossesse**

La libération de l'interruption de grossesse sous certaines conditions de fond et de forme à un stade avancé, a entraîné l'évolution et l'amélioration de nouvelles techniques d'interruption médicale de grossesse que certains qualifient abusivement de thérapeutique (d'autres auteurs plus critiques d'eugéniques) grâce à l'apparition de nouvelles médications déclenchant et entretenant les contractions utérines, tout en facilitant la béance du col utérin grâce à une maturation favorisant l'expulsion de l'œuf avec des risques maternels réduits.

## **II 4 - Contrôle a posteriori de l'interruption médicale de grossesse (6, 8,52)**

De plus en plus souvent, les femmes et les couples ayant demandé ou accepté, après un bilan anténatal, l'indication d'une interruption médicale de grossesse, s'inquiètent après sa réalisation de la réalité de son indication, de la vérification post-mortem, et du devenir du fœtus extrait viable ou non. C'est ainsi que de nombreuses unités de diagnostic anténatal se trouvent assaillies de questions, tout-à-fait légitimes, concernant la réalisation d'une autopsie et des modalités des obsèques du fœtus extrait parfois près du terme de la grossesse.

C'est pour cela qu'il est recommandé de proposer au couple de découvrir, même malformé, le fœtus extrait et si cette formalité (réductrice classiquement de la période de deuil) n'est pas réalisée, la conservation de documents photographiques dans le dossier de l'IMG peut avoir un grand intérêt médicolégal en cas de doléances tardives. Il est d'ailleurs surprenant de constater que les parents concernés s'associent aux spécialistes pour réclamer aux législateurs la mise en place d'un registre obligatoire de constatations complétant le dossier médical et éventuellement médicolégal (Cf.infra).

## II 5 - Problèmes médicojuridiques posés par le diagnostic anténatal d'après les lois de 1975 et 1979 (8, 21, 52)

Les rédacteurs de ces textes n'avaient sans doute pas considéré l'évolution très rapide des possibilités de diagnostic anténatal (cytogénétique et échographie obstétricale). Le diagnostic des malformations fœtales étant de plus en plus recherché et également réclamé par la gestante, le cadre de la loi est actuellement nettement insuffisant en ce qui concerne le contrôle des interruptions de grossesse à un stade avancé autant dans leurs indications que dans leurs résultats.

Le cadre légal permettant l'interruption de la vie fœtale apparaît dangereusement imprécis. En effet, la loi française est la seule à donner la possibilité d'une interruption de grossesse à toute époque, contrairement à d'autres législations européennes, comme celles de la Grande-Bretagne et de l'Allemagne, qui ont fixé un terme butoir à 22 et 24 semaines d'aménorrhée (S.A.). Alors qu'une véritable euthanasie fœtale prénatale est possible en France quelques minutes avant l'accouchement, le Code Pénal français sanctionne rigoureusement la suppression très précoce du nouveau-né qui serait victime d'un infanticide quelques minutes seulement après sa naissance.

L'analyse la plus précise possible de l'article L 162.12 du Code de la Santé Publique actuellement en vigueur montre que la pratique de l'IVG au-delà de 12 S.A. peut être réalisée sur l'attestation de deux médecins qui, après examen et discussions, retiennent des indications maternelles ou fœtales à cette interruption. Ce texte ne précise pas la qualité des deux médecins en imposant seulement que l'un d'entre eux exerce son activité dans un établissement hospitalier. Il est possible de se demander si l'attestation requise par la loi doit s'adresser à un spécialiste de l'affection maternelle en cause, à un pédiatre néonatalogue, ou à un bioclinicien ayant participé à des explorations révélatrices d'une atteinte fœtale.

De même, en ce qui concerne l'expert, il est possible de se demander s'il lui est seulement demandé une signature exigible ès-qualité, qu'il appartienne ou pas à une spécialité environnant la gestante.

Il apparaît regrettable que le texte légal ne fasse aucune allusion au gynécologue-obstétricien qui a la charge de la surveillance de la grossesse et du couple mère-fœtus.

La notion de "forte probabilité" qui domine le texte législatif pose un problème délicat. Autant la détermination de la particulière gravité et l'incurabilité d'une affection relève de l'exclusive compétence professionnelle des médecins, autant la notion mathématique de forte probabilité échappe à cette compétence pour relever de celle des statisticiens. Où commence la forte probabilité décisive, pour fonder la décision d'un collège d'omnipraticiens, confirmée par l'attestation à double signature imposée par la loi ?

Il apparaît la nécessité de textes plus précis en ce qui concerne :

- l'agrément des unités de diagnostic anténatal en fonction de la qualité des spécialistes intervenants, de leur environnement de laboratoire et de moyens d'exploration et la mise en place de commissions d'éthique déjà fonctionnelles en matière d'essais cliniques ou d'expérimentations.

Dans cette organisation, la place du gynécologue-obstétricien devrait apparaître prioritaire.

- la mise à jour obligatoire d'un registre, parallèlement à la déclaration de l'acte d'interruption de grossesse au médecin inspecteur régional de la santé, prévue à l'article L 162.10 du code de la santé publique, actuellement non imposée. Ceci permettrait de colliger même anonymement, pour des raisons de confidentialité, les consultations de diagnostic anténatal, les réflexions des membres et la décision positive ou négative retenue avant que l'interruption soit réalisée.

Un projet de loi est actuellement proposé et en attente d'analyse par le Sénat.

En ce qui concerne une femme enceinte (et ne le sachant pas, le plus souvent), ayant pris du Roaccutane®, connaissant aujourd'hui, chez l'animal et en clinique, la possibilité d'apparition de malformations fœtales, nous pouvons être légitimement inquiet. Le pourcentage d'atteintes embryonnaires est élevé (environ 25 %) et le diagnostic échographique est malheureusement difficile et/ou tardif : l'hydrocéphalie et les cardiopathies ne sont pas toujours visualisées précocement. Certaines malformations du système nerveux central et les atteintes comportementales ne peuvent pas être décelées par des tests anténataux. En cas d'exposition en début de grossesse, l'interruption de grossesse est justifiée.

Quelles que soient la dose, la durée et la période d'exposition, l'innocuité n'a pas été démontrée. Il s'agit d'une des expositions pour laquelle l'interruption de grossesse doit être abordée avec le couple.

Ceci relance une fois encore le problème de l'indication chez toute femme susceptible d'être enceinte. Si le traitement est indispensable une CONTRACEPTION RIGOUREUSE devra être suivie.

Ceci pose un problème d'ordre éthique. Le Roaccutane® est sans aucun doute un médicament très efficace et quelques fois un dernier recours pour certains patients touchés d'une acné défigurante et invalidante. Cette molécule, très active, traitant une pathologie n'entraînant pas un pronostic vital engendre néanmoins des malformations fœtales pouvant justifier l'interruption de grossesse, quelquefois à un stade avancé.

### **III - ENQUETE AMERICAINE ET QUESTIONNAIRE A 23 DERMATOLOGUES**

Malgré les recommandations du Laboratoire Roche et de la FDA pour éviter l'exposition à l'Isotrétinoïne durant la grossesse, une étude de Lammer montre que parmi 99 femmes enceintes ayant pris accidentellement du Roaccutane® : (12, 24)

- 1/3 était enceinte avant le début de la thérapie
- 1/3 n'avait pas de contraception durant l'utilisation de l'Isotrétinoïne
- sur le 1/3 restant et utilisant une contraception, 50 % utilisaient une contraception peu efficace (moyens locaux)

#### **III 1 - Enquête américaine (19)**

En 1992, P.L. Doering, O.E. Araujo et leur équipe ont questionné les dermatologues américains sur leurs prescriptions de Roaccutane®. Les principaux objectifs de cette étude sont :

- déterminer les habitudes de prescription de l'Isotrétinoïne par les dermatologues
- déterminer l'influence du profil des effets secondaires de ce produit, en particulier les réactions affectant le fœtus, sur les habitudes de prescription de ces mêmes dermatologues.

#### **III 1 1 - Méthodes**

Ce questionnaire a été posté à 1618 dermatologues pratiquant aux USA et figurant sur la liste des membres de l' "American academy of dermatology". Cet échantillonnage comprend des dermatologues exerçant en cabinet privé, avec charge d'enseignement ou exerçant en administration, de même que quelques dermatologues œuvrant dans d'autres champs d'activités.

Le questionnaire est composé de 22 questions à choix multiples ou de questions ouvertes à réponses courtes et porte sur l'utilisation de l'Isotrétinoïne dans leur pratique.

#### **III 1 2 - Résultats**

Des 1618 questionnaires postés, 670 furent retournés et utilisés pour l'évaluation, soit un taux de réponses de 41,4 %.

La plupart des médecins qui ont répondu exercent en cabinet privé.

63,4 % des personnes sondées ont traité entre dix et cinquante patients avec l'Isotrétinoïne au cours de la dernière année.

#### - Influence des effets indésirables

64 % sont hésitants à prescrire l'Isotrétinoïne à cause de sa tératogénicité et des autres effets indésirables potentiellement graves. La crainte de leur responsabilité légale influence la prescription d'Isotrétinoïne pour 88,6 % des médecins sondés.

#### - Utilisation de l'Isotrétinoïne chez la femme

53,5 % des dermatologues interrogés rapportent que 30 à 50 % des patients traités par l'Isotrétinoïne sont des femmes.

73,5 % des sondés répondent qu'ils réclament un test de grossesse de routine avant de prescrire l'Isotrétinoïne aux femmes en âge de procréer.

En revanche, seulement 36,3 % surveillent leurs patientes grâce à des tests de grossesse réalisés au moins deux fois au cours du traitement à l'Isotrétinoïne.

59,1 % font signer un document d'information et de consentement à toutes leurs patientes pour les aviser de la tératogénicité de l'Isotrétinoïne.

#### - Habitude de prescription

Plus de 55 % n'hésitent pas à étendre l'utilisation de l'Isotrétinoïne au-delà de l'acné kystique.

Seulement 38,8 % des médecins hésitent à prescrire ce médicament pour les formes modérées d'acné.

97 % utilisent d'abord un traitement antibiotique oral avant de prescrire l'Isotrétinoïne.

#### - Arrêt de traitement

Les médecins rapportent qu'en général leurs patients tolèrent bien l'Isotrétinoïne (42,7 % n'ont jamais eu à arrêter le traitement secondairement à des effets indésirables durant l'année précédente).

Lorsque le traitement doit être arrêté, c'est généralement l'hypertriglycéridémie qui en est la cause.

- Restriction des prescriptions

82,3 % des dermatologues pensent qu'ils devraient être les seuls à prescrire ce produit.

### III 2 - Questionnaire proposé à 23 dermatologues

Au cours de nos recherches bibliographiques sur les recommandations de prescription de l'Isotrétinoïne chez la femme en âge de procréer, nous avons pensé qu'il était bon d'avoir une idée de la véritable pratique de prescription du Roaccutane chez quelques dermatologues.

Nous avons questionné 23 dermatologues exerçant en profession libérale dans la région de Grenoble et d'Orange.

Les objectifs principaux de ce questionnaire sont de déterminer les habitudes de prescription du Roaccutane® par ces dermatologues chez la femme en âge de procréer et de se rendre compte de l'influence des effets tératogènes de ce produit sur la façon de prescrire.

Le questionnaire est composé de 12 questions demandant une réponse par oui ou par non ou une réponse courte.

#### III 2 1 - Résultats

- 16 dermatologues sur 23 sont **hésitants à prescrire le Roaccutane®** chez la femme **en raison de sa tératogénicité**. Pour certains, ces risques tératogènes permettent d'argumenter un refus de prescription à une femme ou une jeune fille qui demande ce médicament mais qui ne présente pas l'indication.

Pour les 7 médecins dermatologues qui n'hésitent pas à prescrire le Roaccutane® malgré le risque tératogène, une petite partie pense que ce risque est négligeable. Mais la plupart prend en compte ce risque, qui ne les freine pas dans leur prescription, dans la mesure où il le gère grâce aux moyens de contraception et au dialogue avec leur patiente.

- 10 dermatologues sur 23 **hésitent à prescrire le Roaccutane® en raison de ses effets indésirables** potentiellement graves.

Ces effets indésirables sont suivis régulièrement et les dosages sanguins nécessaires sont réalisés chez la plupart des dermatologues. Finalement, une grande majorité des dermatologues pense que le Roaccutane® est bien supporté et peu ont déjà dû arrêter le traitement à cause d'un effet

néfaste. En revanche, certains bilans avant le traitement peuvent empêcher la prescription à cause souvent d'un cholestérol et de triglycérides élevés.

Les bilans sanguins apparaissent comme importants, mais ces effets indésirables sont bien gérés par une bonne surveillance pour la plupart des dermatologues de notre enquête.

- 7 dermatologues sur 23 disent ne **prescrire le Roaccutane®** que pour des **acnés sévères, nodulokystiques, résistantes aux traitements habituels** (indication stricte du Vidal) (54).

Aucun dermatologue ne prescrit le Roaccutane® en première intention.

Une grande majorité des dermatologues élargit l'indication aux acnés résistantes, récidivantes aux traitements habituels et aux acnés traînantes de l'adulte (indication des RMO (41) : "acnés sévères nodulokystiques et conglobata, ET des acnés résistantes aux traitements classiques majeurs).

Beaucoup de dermatologues démarrent un traitement par Roaccutane® après avoir essayé un traitement antibiotique (par une tétracycline) sans résultat satisfaisant.

Un Docteur X. de notre enquête avoue qu'un quart de ses prescriptions sont hors indication du Vidal car il prescrit l'Isotrétinoïne même pour des acnés modérées sachant que celles-ci résistent aux autres traitements.

- Tous les dermatologues **préviennent leurs patientes du risque tératogène au cours d'une grossesse.**

16 dermatologues sur 23 abordent le problème de l'interruption de grossesse qui sera réalisée si une grossesse est débutée au cours du traitement. Beaucoup de dermatologues entament un dialogue avec la patiente sur les effets néfastes de l'Isotrétinoïne sur le fœtus, et certains parlent même des types de malformations que ce médicament peut entraîner.

Un grand nombre d'entre eux ne se pose pas la question de l'existence ou non de rapports sexuels chez leurs patientes et évoquent de toute façon la nécessité d'exclure toute grossesse pendant le traitement.

Quelques dermatologues sont encore gênés d'aborder le problème d'une éventuelle grossesse et donc la question de rapports sexuels avec de jeunes filles (surtout quand elles viennent consulter

avec leurs mères). Le Docteur D. n'évoque pas oralement le risque d'une grossesse, mais inscrit sur chaque ordonnance de Roaccutane® : "contraception obligatoire".

- 21 dermatologues sur 23 **s'assurent que leur patiente n'est pas enceinte** avant de démarrer le traitement.

Sur ces 21 dermatologues :

- 10 font un test de grossesse systématique à leur patiente (dosage sanguin des  $\beta$ HCG) avant de prescrire le traitement.
- 2 de ces dermatologues avouent ne pratiquer ce test que depuis peu de temps (été 95), depuis la parution des R.M.O. sur ce sujet.
- 11 ne font pas systématiquement de tests de grossesse, mais se basent sur le dialogue avec leur patiente. Ils questionnent la patiente sur son mode de vie et certains demandent la date des dernières règles. Ils s'appuient sur une relation de confiance avec leurs patientes. Certains demandent parfois un test de grossesse en cas de doute sur leurs dires ou en cas de cycles irréguliers. En général, ces dermatologues disent "cerner" leurs patientes par le questionnaire et se fier à l'impression qu'elles leur donnent.

Pour les 2 dermatologues qui ne s'assurent pas que leur patiente n'est pas enceinte :

- un pense qu'il "faudrait qu'il le fasse" mais il a confiance en ses patientes puisqu'il les a prévenues du risque d'une grossesse.
- l'autre nous a répondu que la majorité des femmes était déjà sous contraception et qu'il demandait aux autres de consulter leur gynécologue pour que celui-ci leur prescrive une contraception orale.

- A la question, "**Prescrivez-vous d'autres tests de grossesse de contrôle au cours du traitement**" ?

- 17 dermatologues répondent ne pas en prescrire. Parmi eux, 6 ne font jamais de test de grossesse de contrôle, mais 3 demandent parfois un test en cas de doute au cours d'une visite de contrôle.
- 6 dermatologues demandent le dosage des  $\beta$ HCG de leur patiente au cours du traitement.
- 4 suivent strictement les R.M.O. et répètent ce test chaque mois pendant tout le traitement.

Un d'entre eux demande ce test le 1<sup>er</sup> mois, 3<sup>ème</sup> mois et 5<sup>ème</sup> mois, après le début du traitement. Un autre répond qu'il fait toujours au moins un test après le début du traitement, mais que pour les autres il se base sur la confiance avec sa patiente.

- 9 dermatologues sur 23 **demandent systématiquement à leur patiente d'être sous contraception orale pendant le traitement.** Le Docteur M... dit que pour cette raison, il évite de prescrire le Roaccutane® chez de trop jeunes filles.

Très peu de dermatologues prescrivent eux-mêmes le contraceptif. Ils demandent en général à leur patiente de consulter un gynécologue. Ils ne se mettent pas en relation avec le gynécologue pour vérifier que la patiente a suivi leur conseil.

Beaucoup de dermatologues disent que leur patientes sont déjà souvent sous contraception quand elles viennent à la consultation dermatologique.

Certains dermatologues expliquent à leurs patientes qu'ils doivent les mettre sous contraception pour des raisons médico-légales.

14 dermatologues sur 23 ne mettent donc pas systématiquement leurs patientes sous contraception orale. 4 de ces 14 dermatologues renvoient leurs patientes chez le gynécologue.

Beaucoup de médecins dermatologues se posent le problème de mettre une très jeune fille (parfois 12 ou 13 ans) sous contraception orale alors qu'elle vient juste d'être réglée.

Faut-il croire toutes les jeunes filles qui disent ne pas avoir de rapports sexuels ? Une jeune fille venant consulter avec sa mère dit-elle toujours la vérité sur sa vie sexuelle ?

Là, se pose encore le problème du dialogue et des liens de confiance avec la patiente. 2 dermatologues nous ont dit avoir donné du Roaccutane® à de jeunes religieuses et ne leur ont parlé ni du risque de ce médicament au cours de la grossesse, ni de la contraception.

Nombreux de ces dermatologues ne prescrivent une contraception orale que si leur patiente "en a besoin" selon eux. Certains dermatologues demandent à revoir leurs patientes plus souvent s'ils ont des doutes sur leurs dires pour un meilleur suivi.

Le Docteur Y... explique que le Roaccutane® demande un traitement qui peut s'étendre sur plusieurs mois, un changement du mode de vie des patientes (surtout des jeunes femmes) est donc possible au cours du traitement. Le suivi des patientes sur le plan de la contraception doit donc être sérieux.

Ces 14 dermatologues disent que les patientes sont souvent sous contraception et qu'ils acceptent le stérilet comme un bon moyen de contraception.

En général, les dermatologues refusent de prescrire le Roaccutane® à des femmes qui ne veulent pas utiliser de contraception (croyance religieuse) et qui pourraient être enceintes (exemple : les femmes utilisant la courbe de température pour repérer le pic ovulatoire).

Quelques dermatologues nous ont dit ne prescrire le Roaccutane® qu'à leurs patients avec un bon coefficient intellectuel leur permettant de comprendre que ce traitement n'est pas anodin et qu'il implique une surveillance importante.

Le Docteur Z... dit prendre beaucoup de précautions avec les adolescentes qui "jouent souvent avec le feu", elles peuvent prendre des risques sans oser l'avouer (certaines jeunes filles rappellent seules leur dermatologue après la consultation pour leur reparler de contraception).

A l'inverse, le Docteur C... très gêné de parler de contraception a dit : *"je marque sur l'ordonnance : contraception obligatoire, point ! Ensuite elles font avec leur conscience. On a l'air malin de parler de contraception avec les jeunes filles quand elles sont avec leurs mamans. Soit elles prennent déjà la pilule, soit elles sont offusquées si on en parle"*.

- 11 dermatologues sur 23 demandent à leur patiente de **commencer la pilule 1 mois avant de commencer le Roaccutane®**.

12 dermatologues ne demandent pas de commencer la contraception un mois avant.

Sur ces 12 dermatologues :

- 1 demande de commencer le traitement lors des prochaines règles de la patiente.
- 3 demandent de commencer la contraception et le traitement en même temps. Un de ces dermatologues demande à sa patiente d'utiliser en plus de la pilule, pour le premier mois, préservatifs et ovules spermicides.

- 13 dermatologues sur 23 demandent de **continuer la contraception un mois après l'arrêt du traitement**.

2 dermatologues demandent plus d'un mois

5 dermatologues demandent plus de 2 mois

2 dermatologues demandent 3 mois.

- 15 dermatologues sur 23 ne demandent pas de **commencer le traitement au 2<sup>ème</sup> ou 3<sup>ème</sup> jour des règles.**

4 dermatologues sur 23 demandent de le commencer au 2<sup>ème</sup> ou 3<sup>ème</sup> jour des règles.

1 dermatologue ne le demande que si le moyen de contraception est peu fiable.

Un autre ne le demande que si elle commence la pilule en même temps que le traitement.

2 dermatologues demandent de commencer le traitement après les règles.

- Aucun dermatologue ne fait systématiquement **signer de décharge** ou de consentement à ses patientes attestant que celles-ci sont bien prévenues du risque du médicament et qu'elles suivent ce traitement en connaissance de cause.

Nombre d'entre eux expliquent que ces décharges n'ont aucune valeur légale en France.

2 de ces 23 dermatologues ont néanmoins fait signer une fois une décharge, soit sous la pression du laboratoire, soit en cas de sérieux doutes et de manque de confiance en la patiente.

- 13 dermatologues sur 23 pensent que **seuls les dermatologues devraient prescrire le Roaccutane®.**

En général, ces médecins dermatologues pensent qu'ils sont les seuls à être assez renseignés sur ce médicament et à posséder assez d'expérience dans sa manipulation pour assurer une surveillance suffisante.

Le Docteur S... pense aussi que la prescription par les seuls dermatologues permettrait des économies de sante. Le Docteur P... pense qu'un dermatologue devrait être à l'origine au minimum de la première prescription.

9 dermatologues pensent que les médecins généralistes peuvent aussi prescrire le Roaccutane®. 4 d'entre eux mettent la condition que ce généraliste connaisse bien ce produit, le manie au bon dosage et fasse un bon suivi.

- 5 dermatologues sur 23 comptent parmi leurs patients le **cas d'une femme qui a du subir une interruption de grossesse** après la prise de Roaccutane® pendant la grossesse ou juste avant.

Nous avons recensé :

- Le cas d'une personne avec un stérilet au moment de la prescription de Roaccutane®. Cette patiente a présenté quelques mois plus tard une grossesse avec échec de contraception. Elle ne s'est pas adressée à son dermatologue et l'interruption de grossesse a été suivie par un gynécologue. Le dermatologue n'a été au courant de cette grossesse qu'accidentellement lors d'une rencontre fortuite avec cette personne plusieurs mois plus tard !
- Le cas d'un médecin dermatologue qui, pendant le questionnaire, nous a dit ne jamais avoir eu recours à des interruptions de grossesse sous Roaccutane®. Nous avons appris en consultant les dossiers hospitaliers du service de gynécologie du Professeur BERNARD à Grenoble, que ce dermatologue était à l'origine d'une prescription d'Isotrétinoïne à une patiente déjà enceinte de 27 SA à l'entrée dans ce service.  
Cette patiente a donc subi une interruption médicale de grossesse.
- Le cas d'une femme de quarante ans sous contraception orale. Après leur dialogue, le dermatologue était confiant et la patiente connaissait parfaitement les risques et l'importance d'une contraception bien suivie. Cette dernière avait un désir de grossesse confus et a volontairement arrêté la pilule deux mois avant l'arrêt de Roaccutane®. Elle a débuté une grossesse et a du subir une interruption de grossesse.
- Le cas d'une patiente qui au cours d'une consultation de suivi du traitement au Roaccutane® a mentionné avoir un retard de règle. Après un test de grossesse se révélant positif, cette femme a subi une interruption de grossesse. Cette patiente n'avait pas de contraception efficace pendant le traitement, mais une méthode qualifiée de "peu sûre".
- Le cas d'une patiente qui en accord avec son dermatologue a préféré recourir à l'interruption de grossesse, après une grossesse débutée juste un mois après l'arrêt de l'Isotrétinoïne.

### III 2 2 - Discussion

En général, les dermatologues sont bien conscients du risque tératogène de l'Isotrétinoïne, mais le prescrivent tout de même vu son efficacité thérapeutique en basant leur décision sur le dialogue, la confiance, le mode de vie, et la capacité des patientes à comprendre l'importance d'une contraception efficace.

Il ressort de ce questionnaire qu'un seul dermatologue sur 23 suit à la lettre les R.M.O. ; les autres, conscients du risque, se fient davantage à leur expérience et au dialogue avec leur patient et ne veulent pas décharger leur responsabilité de médecin sur les R.M.O.

Nous sommes tout de même obligées de mentionner ici que ces méthodes ont conduit à 5 interruptions de grossesse alors que seulement 23 dermatologues ont été consultés (une de ces interruptions de grossesse ayant été retrouvée, de façon fortuite, dans le dossier hospitalier d'une patiente dont le dermatologue nous avait dit ne jamais avoir eu de cas sous Roaccutane®).

Seulement 7 dermatologues sur 23 ne prescrivent le Roaccutane® que pour des acnés nodulokystiques sévères résistantes aux traitements habituels. Si cette indication du Vidal était suivie, la prescription de Roaccutane® en serait considérablement diminuée car cette affection est relativement rare.

- Certaines pratiques de prescriptions nous semblent "dangereuses" dans la mesure où un dermatologue nous a confié connaître les risques, mais ne pas agir en conséquence et répété : "il faudrait que je le fasse...".

Un autre disait être préoccupé par la contraception des patientes sous Roaccutane®, mais ne pas prendre le maximum de précautions surtout vis à vis des tests de grossesse.

On a aussi rencontré des dermatologues gênés d'aborder franchement le problème de la contraception et qui ne suivent donc pas leur patiente sur ce sujet.

Il semble que, malgré l'insistance du laboratoire Roche et l'information qu'il propose à travers des brochures au prescripteur, certains dermatologues ne soient pas encore suffisamment sensibilisés au risque tératogène de ce médicament. Certains ne considèrent pas tout ce qu'il est possible de mettre en œuvre comme précautions pour faire diminuer le nombre d'interruptions de grossesse sous Roaccutane®.

- Il est certain qu'une contraception rigoureusement suivie et efficace pour chaque patiente en âge de procréer sous Roaccutane® écarte au maximum le risque d'une grossesse.

Mais il faut savoir que des échecs de contraception ont lieu avec toutes les méthodes disponibles et que même une méthode jugée efficace peut être prise à défaut.

Seule une prise de conscience de la patiente elle-même la sensibilisera au problème et ceci ne peut être obtenu qu'à travers la qualité de l'information et du dialogue proposé par le médecin. Même une très jeune fille avouant ne pas avoir de vie sexuelle doit être prévenue du risque tératogène du médicament.

- Ce médicament réclame donc une pratique de prescription rigoureuse. Cependant, chaque dermatologue est un spécialiste capable de juger le cas particulier de chacun de ses patients. Il nous semble donc abusif, voire absurde, de les encadrer par des textes de loi trop restrictifs et trop généraux obligeant, pour chaque prescription de Roaccutane®, à une pratique systématique de la contraception, et des tests de grossesse répétés chaque mois. Les R.M.O. imposent cette marche à suivre sans préciser si le patient est un homme ou une femme !

Il existe aussi le cas des religieuses, des femmes ayant subi une hystérectomie totale....

*D'après le Docteur P. Peyrony, dermatologue, les R.M.O. devraient être considérées comme une référence de base générale sur la conduite à tenir à minima devant une situation donnée schématique, opposable à une attitude différente choisie par le praticien qui sait heureusement garder à l'esprit qu'en médecine l'exception est souvent la règle et que chaque cas est particulier. On ne peut règlementer chaque acte médical en quelques lignes. Le médecin ne doit pas se considérer comme prisonnier d'une R.M.O., simplement son attitude critique, enfreignant une R.M.O., se doit d'être motivée (43).*

- Ce questionnaire nous a enfin permis, à travers l'expérience et la pratique des dermatologues que nous avons rencontrés, de mieux relativiser la théorie des textes de loi et les recommandations du laboratoire, chaque cas étant particulier.

Nous avons pu aussi réaliser le nombre important d'interruptions de grossesse (5 sur 23 dermatologues rencontrés). Malgré les prises de conscience successives du risque tératogène de ce médicament, le problème reste plus que jamais d'actualité.

- Ce questionnaire nous a aussi fait prendre conscience du rôle que peut et doit jouer le pharmacien d'officine. Il reste le dernier rempart avant l'absorption du médicament et se doit aussi, et dans

tous les cas, d'informer la patiente du risque tératogène et de la nécessité d'une contraception efficace et bien suivie.

## **CONCLUSION**

Cette thèse, débutée dans le service de gynécologie du Professeur Bernard à Grenoble à partir de dossiers cliniques, a essayé de résumer l'essentiel des travaux effectués chez l'animal de laboratoire et chez l'homme sur les effets de l'Isotrétinoïne, Roaccutane®, pris pendant la grossesse. L'embryotoxicité du Roaccutane® a été démontrée. C'est un médicament hautement tératogène, le risque est évalué entre 15 et 45 % des cas exposés (24). On retrouve une triade caractéristique de malformations avec atteintes cranofaciales, cardiovasculaires et du système nerveux central ; les atteintes du thymus sont également fréquentes (21).

Le Roaccutane® est donc formellement contre-indiqué chez la femme enceinte à tous les stades de la grossesse. Il n'existe aucune dose ou durée d'exposition inoffensive. De bonnes pratiques de prescription et des précautions d'emploi strictes doivent être respectées, chez toutes les femmes en âge de procréer. Toute femme susceptible d'être enceinte devra suivre une contraception efficace et rigoureuse. Cette contraception doit être débutée un mois avant le traitement et poursuivie un mois après l'arrêt. Le Roaccutane® doit être administré au 2<sup>ème</sup> ou 3<sup>ème</sup> jour du cycle, sous couvert d'un test de grossesse négatif dans les 15 jours qui précèdent le début du traitement. La répétition mensuelle de ce test est demandée par les R.M.O. pendant toute la durée du traitement (41).

Malgré des séries de mesures coercitives depuis l'introduction du médicament, il existe de nombreux cas de grossesse sous Roaccutane®. Le diagnostic anténatal de l'embryopathie n'est pas toujours possible (cécité, surdité, atteinte thymique, retard mental...). Il peut certes déceler certaines anomalies cardiaques ou encéphaliques, mais on ne peut pas considérer l'interruption de grossesse comme une solution anodine et satisfaisante (0). L'interruption de grossesse est systématiquement proposée et c'est un des cas pour lesquels la décision doit être prise avec le couple.

Il est indéniable que le laboratoire Roche et les responsables du médicament sont bien conscients du problème et essaient d'informer et de prendre des mesures efficaces pour faire chuter le nombre de grossesses sous Roaccutane®. Si malgré tout, le nombre de grossesses ne diminue pas, serait-il concevable de laisser disponible sur le marché un médicament, dont l'efficacité en thérapeutique

dermatologique est certes indiscutable, mais dont l'utilisation serait mal contrôlée sachant que l'exposition fœtale a pour seule issue l'interruption de grossesse ?

Suite à une conversation téléphonique avec un responsable du laboratoire Roche en novembre 1995, nous avons appris que des concertations ont lieu depuis août 1995 entre le laboratoire et l'agence du médicament. L'A.M.M. serait précisée et le circuit du médicament modifié. Le Roaccutane® pourrait devenir un "médicament d'exception" dont la prescription se limiterait aux SEULS DERMATOLOGUES dans des indications redéfinies.

Ce débat reste d'actualité.

## LEXIQUE

- Agénésie :** Absence totale d'une structure ou d'un organe, par défaut de création embryonnaire.
- Atrésie :** Occlusion incomplète congénitale ou acquise d'un orifice ou d'un conduit naturel.
- Bipariétal :** Le diamètre de la tête du fœtus passant par les 2 fosses pariétales (os plat, pair et symétrique, constituant la paroi latérale de la voute crânienne).
- Coarctation de l'aorte :** Rétrécissement congénital de l'isthme de l'aorte.
- Congénitale :** Se dit d'une maladie, d'une anomalie, ou d'une lésion présente dès la naissance soit de façon évidente, soit de façon potentielle à révélation tardive.
- Dysplasie :** Trouble portant sur le développement d'un tissu ou d'un organe, aboutissant à une modification de forme, de volume et parfois de fonctionnement.
- Ectopie :** Anomalie de situation d'un organe.
- Hydranencéphalie :** Malformation constituée par l'absence d'hémisphères cérébraux, lesquels sont remplacés par du liquide céphalorachidien.
- Hydrocéphalie :** Accumulation excessive de liquide céphalo-rachidien à l'intérieur de la boîte crânienne, entraînant une augmentation du volume crânien.
- Hypertélorisme :** Malformation craniofaciale caractérisée par un élargissement de la petite aile du sphénoïde, de l'espace inter-orbitaire et de la racine du nez et par un écartement excessif des yeux.
- Hypoplasie :** Développement insuffisant d'un tissu ou d'un organe (aplasie légère).
- Micrognathie :** Développement incomplet du maxillaire inférieur (constriction des mâchoires).
- Microphthalmie :** Diminution congénitale des dimensions de globe oculaire.
- Microtie :** Petitesse anormale des oreilles.
- Occiput :** Partie postéro-inférieure du crâne.
- Phéochromocytome :** Tumeur sécrétant des substances hypertensives développées aux dépens des cellules chromaffines différenciées de la médullo-surrénale. Ces tumeurs sont en général bénignes, de faible volume, parfois bilatérales.

- Sutures coronales :** Articulation de l'os frontal et des pariétaux.
- Térogène :** Qui provoque des monstruosités.
- Térogénèse :** (Tératus = monstre), Production pathologique ou expérimentale d'anomalies du développement.
- Térogénologie :** Science décrivant les anomalies congénitales du développement de l'embryon ou étudiant leurs causes.
- Tétralogie de Fallot :** Malformations cardiaque caractérisée par l'association d'une sténose pulmonaire, d'une malposition de l'orifice aortique, d'une communication interventriculaire haute et d'une hypertrophie ventriculaire droite.
- Truncus artériel :** Synonyme de tronc artériel commun.  
Anomalie congénitale des gros vaisseaux à la base du cœur caractérisée par l'existence d'un tronc artériel unique, dû à la persistance du tronc artériel commun embryonnaire.

**BIBLIOGRAPHIE****00 ALLESANDRI J.L., PILORGET H., MONTBRUN A.**

Embryopathie liée à l'Isotrétinoïne.

J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod. 1995 ; 24 : 511-515.

**01 ANONYME**

Méthodes substitutives d'évaluation de la toxicité pour la reproduction.

ECETOC 1992 ; 12 : 2 - 46.

**02 ANONYME**

L'information du lab. Roche est bien faite.

Rev. Prescrire 1986 ; 6 (58) : 7.

**03 ANONYME**

Isotretinoin and human teratogenicity.

Nutr. Rev. 1986 ; 44 (9) : 297 - 299.

**04 ADAMS J., LAMMER E.**

Neurobehavioral teratology of isotretinoin.

Reprod. toxical. 1993 ; 7 (2) : 175 - 177.

**05 ALLAIN P., LAINE P.**

Rapport sur les effets indésirables des rétinoïdes.

Centre de Pharmacovigilance CHU Angers 1987 ; II : 11 - 24.

**06 BAVOUX F., ELEFANT E.**

Médicaments et grossesse.

C.R.A.T Paris 1994 ; 1 - 7.

**07 BENKE P.**

The isotretinoin teratogen syndrome.

JAMA 1984 ; 251 (24) : 3267 - 3268.

**08 BODY G. , SOUTOUL J-H.**

Interruption médicale de grossesse aux deuxième et troisième trimestre.

E.M.C 1994 ; 1 - 18.

**09 BOUCHET I.**

Recherche du potentiel tératogène de deux molécules antiémétiques.

Rapport du D.E.A de Pharmacochimie 1981 ; Lyon - Grenoble.

**10 BURK D., WILLHITE C.**

Inner ear malformations induced by isotretinoin in hamster fetuses.

Teratology 1992 ; 46 (2) : 147 - 157.

**11 COHEN M. , RUBINSTEIN A. , LI J. , , NATHENSON G.**

Thymic hypoplasia associated with isotretinoin embryopathy

AJDC 1987 ; 141 (3) : 263 - 66.

**12 CORDERO J., KOCHHAR D., FANTEL A.**

Recommandations for isotretinoin use in women of childbearing potential

Teratology 1991 ; 44 : 1 - 6.

**13 COSKEY R.**

Isotretinoin and teratogenicity

J.Am.Acad. Dermatol. 1988 ; 19 (2) : 353 - 354.

**14 DAI W., HSU M., ITRI L.**

Safety of pregnancy after discontinuation of isotretinoin.

Arch. Dermatol. 1989 ; 125 (3) : 362 - 365.

- 15 DAI W., LA BRAICO J., STERN R.**  
Epidemiology of isotretinoin exposure during pregnancy.  
J.AM.Acad.Dermatol. 1992 ; 26 (4) : 599 - 606.
- 16 DAVID G., HAEGEL P.**  
Embryologie sous la direction du Pr Tuchmann - Duplessis  
MASSON ; Paris I 1965 : 60 - 83.
- 17 DELPLANCQ A.**  
L'acide 13 cis rétinoïque (Isotrétinoïne), Roaccutane, dans le traitement des acnés graves, par voie orale.  
Thèse Pharm. 1989 ; Amiens.
- 18 DELUERMOZ S.**  
Aspirine et grossesse  
Thèse Pharm. 1985 ; Grenoble.
- 19 DOERING P., ARAUJO O., FROHNAPLE D., LA MARRE A., FLOWERS F.**  
Patterns of prescribing isotretinoin : focus on women of childbearing potential.  
Ann. Pharmacother. 1992 ; 26 : 155-61.
- 20 DOROSZ P.**  
Guide pratique des médicaments  
Mabire ; 13 ème éd. ; Paris ; 1993.
- 21 ELEFANT E.**  
Tératogénèse des rétinoïdes par voie orale.  
Rev. Prescrire 1992 ; 12 (124) : 617 - 620.

- 22 ELEFANT E, BAVOUX F., BOYER M., BODIOU C., SARRUT B.**  
Médicaments et grossesse  
Collège national des obstétriciens 1987 ; 286 - 306.
- 23 HART R., WINN K., UNGER E.**  
Avian model for 13 cis retinoic acid embryopathy : morphological of ventricular septal defects.  
Teratology 1992 ; 46 (6) : 533 - 539.
- 24 HECKEL S., FAVRE R., WEBER P., DELLENBACH P.**  
Tératogénicité des rétinoïdes.  
J.Gynecol. Obstet. Bid. Reprod. 1993 ; 22 : 43 - 47.
- 25 HILL R.**  
Isotretinoin teratogenicity.  
Lancet 1984 ; I (8392) : 1465.
- 26 HUMMLER H., HENDRICKX A., NAU H.**  
Maternal toxicokinetics, metabolism, and embryo exposure following a teratogenic dosing regimen with 13 cis retinoic acid (isotretinoin) in the cynomolgus monkey.  
Teratology 1994 ; 50 : 184 - 193.
- 27 IRWING D., WILLHITE C., BURK D.**  
Morphogenesis of isotretinoin - induced  
Microcephaly and micrognathia studied by scanning electron microscopy.  
Teratology 1986 ; 34 (2) : 141 - 153.
- 28 JAHN A., GANTI K.**  
Major auricular malformations due to Accutane® (isotretinoin).  
Laryngoscope 1987 ; 97 (7) : 832 - 835.

**29 JARVIS B., JONHSON M., SULIK K.**

Congenital malformations of the external, middle, and inner ear produced by isotretinoin exposure in mouse embryos.

Laryngol. head neck surg. 1990 ; 102 (4) : 391 - 401.

**30 JIANG H. GYDA M., HARNISH D., CHANDRARATRA R., SOPRANO K., KOCHHAR D., SOPRANO D.**

Teratogenesis by retinoic acid analogs positively correlates with elevation of retinoic acid receptor- $\beta$ 2 on RNA levels in treated embryos.

Teratology 1994 ; 50 : 38 - 43.

**31 KASSIS I., SUNDERJI S.**

Isotretinoin (Accutan®) and pregnancy.

Teratology 1985 ; 32 : 145 - 146.

**32 KOCH F.**

Pouvoir tératogène de la vitamine A et des rétinoïdes.

Thèse Pharm. 1992 ; Bordeaux II.

**33 KOEBERT M., HAUN J., PAULI R.**

Temporal evolution of risk estimates for presumed human teratogens.

Reproduct. toxicol. 1993 ; 7 (4) : 343 - 348.

**34 KORTE R., HUMMLER H., HENDRICKX A.**

Importance of early exposure to 13 cis retinoic acid to induce teratogenicity in the cynomolgus monkey.

Teratology 1993 ; 47 (1) : 37 - 45.

**35 Kwasigroch T., Bullen M.**

Effects of isotretinoin (13 cis retinoic acid) on the development of mouse limbs in vivo and in vitro.

Teratology 1991 ; 44 (6) : 605 - 616.

**36 Lambert D., Dalac S., Escallier F., Foucher J-L., Mounicq F.**

Malformations foetales après étrétinate.

Nouv. dermatol. 1988 ; 7 (4) : 448 - 451.

**37 Laroche M-J., Fabiani J., Rousselet F.**

L'expertise toxicologique des médicaments.

MASSON éd., Paris ; 1986.

**38 Lynberg M., Khoury J., Lammer E., Waller K., Cordero J., Erickson D.**

Sensitivity, specificity and positive predictive value of multiple malformations in isotretinoin embryopathy surveillance.

Teratology 1990 ; 44 (5) : 513 - 519.

**39 Mitchell A.**

Oral retinoids.

What should the prescriber know about their teratogenic hazards among women of childbearing potential ?

Drug safety 1992 ; 7 (2) : 79 - 85.

**40 Moore K.**

L'être humain en développement.

Vigot ; Paris 1989 : 62 - 90.

**41 NOIRY J-P.**

Références médicales conventionnelles applicables en 1995.

Rev.Prescrire 1995 ; 15 (151) : 372 - 373.

**42 OLIVE G., SUREAU C.**

Utilisation des médicaments chez la femme enceinte.

Sem. Hôp. Paris 1987 ; 63 (24) : 1950 - 1967.

**43 PEYRONY P.**

Références médicales opposables.

La lettre du syndicat (Syndicat National Français des Dermatologistes et des Vénérologistes) 1995 ; (43) : 2 - 3.

**44 PONCHON M.**

Le risque tératogène médicamenteux.

Critères d'évaluation utilisés en pharmacovigilance.

Thèse Méd. 1984 ; Lyon I.

**45 RICHARDET M.**

Le risque tératogène des médicaments.

Thèse Pharm. 1985 ; Dijon.

**46 RITCHIE H., WEBSTER W.**

Parameters determining isotretinoin teratogenicity in rat embryo culture.

Teratology 1991 ; 43 (1) : 71 - 81.

**47 RIZZO R. LAMMER E., PARANO E., PANONE L., ARGYLE J.**

Limb reduction defects in humans associated with prenatal isotretinoin exposure.

Teratology 1991 ; 44 : 599 - 604.

**48 ROTHMAN K., POCHI P.**

Use of oral and topical agents for acne in pregnancy.

J.AM. Acad. Dermatol. 1988 ; 16 (3) : 438 - 439.

**49 ROUX C., COULY G.**

Les 9 premiers mois de la vie.

Sci. et vie 1995 ; (1990) : 40 - 52.

**50 RUPIN D.**

Fiche d'intervention destinée aux centres anti-poisons et aux centres de pharmacovigilance.

Produits Roche laboratoire 1986 : 1 - 7.

**51 SOPRANO D., SOPRANO K.**

Rétinoids as teratogens

Ann. Rev. Nutr. 1995 ; 15 : 111-132.

**52 SOUTOUL J., PIERRE F.**

Le cadre législatif de l'interruption médicale de grossesse : l'évolution des indications en France.

SYNGOF 1993 ; 14 : 17 - 21.

**53 TOLEDANO S.**

Mécanisme d'action de l'acide 13 cis rétinolique

= Isotrétinoïde = Roaccutane®.

Thèse Pharm. 1992 ; Paris V.

**54 VIDAL.**

Dictionnaires des spécialités pharmaceutiques françaises

Ed. 1995.

**55 WARD A.**

Side effects of isotretinoin.

Drugs 1984 ; 28 (6) : 2 p.

**56 WEBSTER W., JOHNSTON M., LAMMER E., SULIK K.**

Isotretinoin embryopathy and cranial neural crest on vivo and in vitro study.

J. craniofac. genet. dev.biol.suppl. 1986 ; 6 : 211 - 222.

**57 WILLHITE C., HILL R., IRVING D.**

Isotretinoin induced craniofacial malformations in humans and hamsters.

J. craniofac. genet. dev.biol.suppl. 1986 ; 2 : 193 - 209.



AUTORISATION D'IMPRESSION  
ET DE  
SOUTENANCE

De la Thèse dont l'intitulé est :

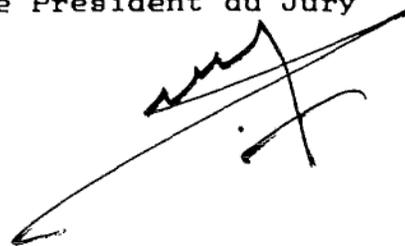
TERATOGENICITE DE L'ISOTRETINOÏNE,  
ROACCUTANE®

CANDIDAT : M<sup>elle</sup> Valérie LEVEQUE

Vu

GRENOBLE, le 16/11/95

Le Président du Jury



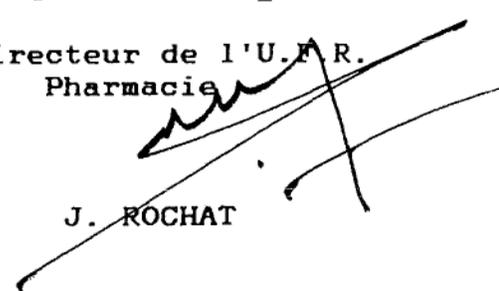
Vu

GRENOBLE, le 16/11/95

P/ Le Président de l'Université  
Joseph FOURIER - GRENOBLE I  
Sciences. Technologie. Médecine

Le Directeur de l'U.F.R.  
Pharmacie

J. ROCHAT



AUTORISATION D'IMPRESSION  
ET DE  
SOUTENANCE

De la Thèse dont l'intitulé est :

TERATOGENICITE DE L'ISOTRETINOÏNE,  
ROACCUTANE®

CANDIDAT : M<sup>elle</sup> CATHERINE COLI

Vu

GRENOBLE, le 16/11/95

Le Président du Jury

Vu

GRENOBLE, le 16/11/95

P/ Le Président de l'Université  
Joseph FOURIER - GRENOBLE I  
Sciences. Technologie. Médecine

Le Directeur de l'U.F.R.  
Pharmacie

J. ROCHAT

