



**HAL**  
open science

# Ankyloglossie chez le berger Kangal, une étude clinique et génétique

Fanny Lambert

► **To cite this version:**

Fanny Lambert. Ankyloglossie chez le berger Kangal, une étude clinique et génétique. Médecine vétérinaire et santé animale. 2022. dumas-03957509

**HAL Id: dumas-03957509**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03957509v1>**

Submitted on 26 Jan 2023

**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.

# ANKYLOGLOSSIE CHEZ LE BERGER KANGAL, UNE ETUDE CLINIQUE ET GENETIQUE

---

THESE D'EXERCICE

pour obtenir le titre de  
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement  
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

*par*

**LAMBERT Fanny, Lucie**

**Directrice de thèse : Mme Lucie CHEVALLIER**

---

## JURY

PRESIDENT :  
**M. Alain DUCOS**

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

ASSESEURS :  
**Mme Lucie CHEVALLIER**  
**Mme Sylvie CHASTANT**

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'ALFORT  
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation  
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

**Liste des directeurs/assesseurs de thèse de doctorat vétérinaire**

**Directeur : Professeur Pierre SANS**

**PROFESSEURS CLASSE  
EXCEPTIONNELLE**

- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Pharmacologie, thérapeutique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et industrie des aliments d'origine animale*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, statistiques, modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la reproduction, endocrinologie*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie médicale animale et comparée*

**PROFESSEURS 1<sup>ère</sup> CLASSE**

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et industrie des aliments*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, anatomie pathologique*
- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootechnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie pathologique, animaux d'élevage*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et thérapeutique*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des ruminants*

**PROFESSEURS 2<sup>ème</sup> CLASSE**

- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des équidés et des carnivores*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation animale*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, imagerie médicale*
- Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles*
- M. **RABOISSON Didier**, *Médecine de population et économie de la santé animale*

## **MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE**

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la reproduction*
- Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et industrie des denrées alimentaires d'origine animale*
- Mme **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
- M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et mathématiques*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et infectiologie*

## **MAITRES DE CONFERENCES CLASSE NORMALE**

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **BRET Lydie**, *Physique et chimie biologiques et médicales*
- Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
- M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie, imagerie médicale*
- M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
- Mme **DANIELS Hélène**, *Immunologie, bactériologie, pathologie infectieuse*
- Mme **DAVID Laure**, *Hygiène et industrie des aliments*
- M. **DIDIMO IMAZAKI Pedro**, *Hygiène et industrie des aliments*
- M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
- Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*
- Mme **GRANAT Fanny**, *Biologie médicale animale*
- Mme **JOURDAN Géraldine**, *Anesthésie, analgésie*
- M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des équidés*
- Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
- M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
- M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **VERGNE Timothée**, *Santé publique vétérinaire, maladies animales règlementées*
- Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

## **INGENIEURS DE RECHERCHE**

- M. **AUMANN Marcel**, *Urgences, soins intensifs*
- M. **AUVRAY Frédéric**, *Santé digestive, pathogénie et commensalisme des entérobactéries*
- M. **CASSARD Hervé**, *Pathologie des ruminants*
- M. **CROVILLE Guillaume**, *Virologie et génomique cliniques*
- Mme **DEBREUQUE Maud**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- Mme **DIDIER Caroline**, *Anesthésie, analgésie*
- Mme **DUPOUY GUIRAUTE Véronique**, *Innovations thérapeutiques et résistances*
- Mme **GAILLARD Elodie**, *Urgences, soins intensifs*
- Mme **GEFFRE Anne**, *Biologie médicale animale et comparée*
- Mme **GRISEZ Christelle**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **JEUNESSE Elisabeth**, *Bonnes pratiques de laboratoire*
- Mme **PRESSANTI Charline**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **RAMON PORTUGAL Félipe**, *Innovations thérapeutiques et résistances*
- M. **REYNOLDS Brice**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- Mme **ROUCH BUCK Pétra**, *Médecine préventive*



## Remerciements

**A Monsieur le Professeur Alain DUCOS, Président du Jury de cette thèse,**

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

*Génétique quantitative et des populations, amélioration génétique, économie des filières d'élevage, agroécologie, zootechnie*

Pour son aide dans la réalisation de cette thèse, que ce soit par les outils fournis que par les corrections apportées ; pour sa disponibilité toujours indéfectible ; pour sa bienveillance et son intérêt.

**A Madame la Docteure Lucie CHEVALLIER, Directrice de thèse,**

Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

*Génétique moléculaire et médicale*

Pour sa disponibilité en toute circonstance et sa motivation sans faille, pour sa bienveillance et son soutien à toutes les étapes du projet.

**A Madame la Professeure Sylvie CHASTANT, Assesseuse de cette thèse,**

Professeure de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Animatrice de l'unité propre NeoCare

*Reproduction*

Pour l'aide apportée dans la trouvaille du bon sujet ; pour son temps et sa présence lors de la soutenance.

**A Madame Anne HUPEL,**

Secrétaire du club de race des bergers Kangal

Pour avoir initié le projet, pour son aide précieuse au cours de celui-ci et pour son accompagnement au cours de la Nationale d'élevage du Kangal.

## Table des matières

Liste des figures	3
Liste des tableaux	6
Liste des abréviations	7
Introduction	9
1. Partie bibliographique	10
1.1 Les études génétiques chez le chien	10
1.1.1 Rappels de génétique	10
1.1.2 Le génome du chien	14
1.1.3 Approche génétique de la santé du chien	14
1.2 La langue	15
1.2.1 Rappels d'anatomie	15
1.2.2 Rappels d'histologie	20
1.2.3 Rappels d'embryologie	23
1.2.3.1 Généralités	23
1.2.3.2 Mécanismes génétiques et moléculaires du développement de la langue	25
1.2.4 L'ankyloglossie	27
1.2.4.1 Chez l'Homme	27
1.2.4.1.1 Phénotype	27
1.2.4.1.2 Epidémiologie	31
1.2.4.1.3 Causes	34
1.2.4.1.4 Conséquences	39
1.2.4.1.5 Prise en charge	40
1.2.4.2 L'ankyloglossie chez les autres espèces	41
1.2.4.2.1 La souris	41
1.2.4.2.2 La vache	45
1.2.4.2.3 Le dromadaire	46
1.3 L'ankyloglossie chez le chien	47
1.3.1 Etude phénotypique	48
1.3.2 Etude génétique et moléculaire de l'ankyloglossie	50
2. Partie expérimentale	55
2.1 Matériel et méthodes	55
2.1.1 Recrutement des cas	55
2.1.1.1 Réalisation des arbres généalogiques	57

2.1.2	Constitution d'une cohorte de chiens	58
2.1.2.1	Prélèvements de matériel biologique	58
2.1.2.2	Extraction d'ADN	58
2.1.2.3	Test statistique	59
2.2	Résultats	60
2.2.1	Analyse des questionnaires	60
2.2.1.1	Epidémiologie	61
2.2.1.2	Phénotype	62
2.2.2	Arbre généalogique	64
2.2.3	Obtention d'ADN	67
2.3	Discussion des résultats	68
2.3.1	Mode de transmission	68
2.3.2	Caractéristiques phénotypiques, épidémiologiques et génétiques	77
2.3.3	Limites du projet	78
2.3.4	Perspectives d'avenir	78
	Conclusion	79
	Bibliographie	80
	Table des annexes	86



## Liste des figures

Figure 1 : Schémas des muscles de la langue et du pharynx, plans superficiels selon leur aspect latéral et plans profonds selon leurs aspects latéraux et dorsaux. (Source : Evans et Miller 2020)	17
Figure 2 : Schéma de l'innervation de la langue. (Source : Evans et Miller, 2020).	19
Figure 3 : Schéma de la vascularisation de la tête du chien. (Source : Evans et Miller 2020)	20
Figure 4 : Schéma fournissant une nouvelle définition du frein de la langue (Source : Mills et al. 2019).	22
Figure 5: Schéma du développement embryonnaire de la langue et du pharynx. Les zones roses sont issues du premier arc branchial (Source : Hyttel, 2010).	24
Figure 6 : Organigramme regroupant les molécules impliquées dans le développement embryonnaire de la langue de la souris (Source : Cobourne et al. 2019).	27
Figure 7 : Photographies des différents types d'ankyloglossie chez l'Homme selon Coryllos (Source : Coryllos et al. 2004).	28
Figure 8 : Graphique présentant le nombre de diagnostics d'ankyloglossie et de frénotomies pour 1000 naissances au cours du temps en Norvège (Source : Haug et al. 2021).	33
Figure 9 : Graphique présentant le nombre de diagnostics d'ankyloglossie et de frénotomies réalisées pour 1000 naissances au cours du temps au Canada (Source : Lisonek et al. 2017).	33
Figure 10 : Pedigrees des familles atteintes d'ankyloglossie, desquels un mode de transmission autosomique dominant à pénétrance incomplète ou récessif a été déduit chez l'Homme (Sources : Klockars et Pitkaranta, 2009; Devasya et Sarpangala, 2017; Klockars, 2007; Lenormand et al. 2018; Morowati et al. 2010; Acevedo et al. 2010; Keizer, 1952).	36
Figure 11 : Arbre généalogique d'une famille atteinte de CPX (X linked cleft palate) (Source : Gorski et al. 1994).	37
Figure 12 : Comparaison des séquences protéiques de TBX22 chez l'Homme et la souris (Source : Braybrook et al., 2002).	42
Figure 13 : Marquage de l'expression de TBX22 sur des coupes histologiques d'embryons de souris entre le jour embryonnaire E12,5 et E17,5 (Source : Braybrook et al. 2002).	43
Figure 14 : Sections sagittales histologiques de gueule de souris, sauvage (+/+) et invalidée (-/-) pour LGR5 (Source : Morita et al. 2004).	44
Figure 15 : Photographies du phénotype "ankyloglosse" chez un veau, vues rostale et latérale (Source : Kiliç, 2011).	46
Figure 16 : Photographie du phénotype "ankyloglosse" chez un dromadaire (Source : Anwar et Purohit, 2012).	47
Figure 17 : photographie d'un berger Kangal (Source : site internet de la Société Centrale Canine).	47
Figure 18 : Photographie d'une ankyloglossie complète chez le berger Kangal (Source : Grundmann et Hofmann, 2006).	50
Figure 19: Pedigrees issus des familles de bergers Kangal atteints d'ankyloglossie. Réalisé d'après (Temisoyzlu et Avki, 2003 ; Grundmann et Hofmann, 2006 ; Alkan et al., 2013) à l'aide de Genopro 2020.	51
Figure 20 : Marquage des $\alpha$ B-crystallines par immunoréactivité sur une coupe histologique de frein de langue de berger Kangal (Source : Karahan et Çinar Kul, 2009)	54
Figure 21 : Photographie des échantillons archivés dans la biobanque (Source personnelle).	59
Figure 22 : Diagramme de la proportion mâles/femelles au sein du groupe « chien atteint d'ankyloglossie » (n=19). Source : personnelle, issue de l'analyse des questionnaires conservés.	61
Figure 23 : histogramme présentant le nombre de chiens ayant reçu le diagnostic d'ankyloglossie en fonction de leur âge (n=17) (Source : personnelle).	62

Figure 24: Photographie illustrant une ankyloglossie partielle chez un chiot de 2 mois (Source : Dr Estelle Udry).	63
Figure 25 : Arbre généalogique d'une famille de bergers Kangal atteinte d'ankyloglossie. Réalisé avec Genopro à partir des pedigrees de LOF select et des éleveurs (Source : personnelle).	66
Figure 26 : Famille (1).	71
Figure 27 : Famille (2).	73
Figure 28 : Famille (3).	75

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques des modes de transmission d'une maladie héréditaire monogénique (Source personnelle).	12
Tableau 2 : Dimensions et apparence des freins de langue de 4 nouveaux-nés (Source : Mills et al. 2019).	22
Tableau 3 : Paramètres de l'échelle de Hazelbaker. Traduit de (Hazelbaker, 1993).	30
Tableau 4: Comparaison des proportions de frénotomies réalisées pour 1000 enfants entre 0 et 4 ans dans les différentes régions d'Australie, en 2006 et 2016 (Source : Kapoor et al. 2018).	34
Tableau 5 : Description des 29 cas renseignés d'ankyloglossie chez des bergers Kangal de 2003 à nos jours (Sources : compilation des données issues de Temizsoylu et Avki, 2003 ; Kilic et Sari, 2004 ; Grundmann et Hofmann, 2006 ; Karahan et Çinar Kul , 2009 ; Alkan et al., 2013).	49
Tableau 6 : Modèle de tableau pour le calcul d'un Chi <sup>2</sup> de comparaison entre un effectif observé et un effectif attendu.	60
Tableau 7 : Résultats de l'extraction des ADN. Obtenus avec le Nanodrop™ One/C (Source : personnelle).	68
Tableau 8 : Bilan des hypothèses retenues pour la famille (1).	72
Tableau 9 : Bilan des hypothèses retenues pour la famille (2).	75



## Liste des abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique

Alk5 : *Activin A Receptor Type II-Like Kinase*

ARN : acide ribonucléique

Bmp4 : *Bone Morphogenetic Protein 4*

BOC : *BOC Cell Adhesion Associated, Oncogene Regulated*

C-met : *C-mesenchymal epithelial transition*

CPX : *cleft palate linked to X* : fente palatine liée à l'X

CRYAB : chaîne B alpha-cristalline

Cxcr4 : *C-X-C Motif Chemokine Receptor 4*

DEAP : sous-test d'évaluation diagnostique de l'articulation et de la phonologie

Eya1 : *Eyes absent Transcriptional Coactivator And Phosphatase 1*

Fgf10 : *Fibroblast Growth Factor 10*

FSH : hormone de stimulation des follicules

Gab1 : *GRB2 Associated Binding Protein 1*

Gas1 : *Growth Arrest Specific 1*

GRB : *Growth Factor Receptor Bound Protein*

HATLFF : *Hazelbaker Assessment Tool for Lingual Frenulum Fonction* : échelle d'Hazelbaker

HGF : *hepatocyte growth factor*

kb : kilobase

Kif3a IFT : *Kinesin Family Member 3A intra-flagellar transport*

Lbx1 : *Ladybird Homeobox 1*

LGR5 : *Leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor 5*

LH : hormone lutéinisante

Mb : mégabase

OMIA : *Online Mendelian Inheritance in Animals*

OMIM : *Online Mendelian Inherited diseases in Men*

Pax3 : *Paired Box 3*

RT-PCR : PCR en temps réel

SDF1 : *stromal cell-derived factor 1*

SHH : *sonic hedgehog*

Six1 : *Sine Oculis Homeobox 1*

Smo : *Smoothed, Frizzled Class Receptor*

SNP : *single nucleotide polymorphism* : polymorphisme simple

Tak1 : *transforming growth factor- $\beta$ -activated kinase 1*

TBX22 : gène/protéine Tool Box 22

TDT : *transmission disequilibrium test*

TGF- $\beta$  : *Transforming Growth Factor Beta*

TPT : test de phonologie des bambins

TSH : hormone de stimulation de la thyroïde

Wnt : *Wingless-Type*

Wnt5a : *Wingless-Type, 5a member*

YAC : *yeast artificial chromosome* : chromosome artificiel à base de levures

## Introduction

L'ankyloglossie, du grec « agkilos » pour « courbé » et « glossa » pour « langue », est une affection congénitale à l'origine d'un raccourcissement du frein de la langue, provoquant une diminution de la mobilité linguale. Elle est décrite chez l'Homme dans la littérature depuis des siècles : Aristote faisait ainsi mention d'une langue attachée au plancher de la bouche au *III<sup>e</sup>* siècle avant J-C., et les premières techniques chirurgicales visant à détacher la langue du plancher apparaissent au *VII<sup>e</sup>* siècle de notre ère (Walsh, McKenna Benoit 2019). Chez l'Homme, il s'agit d'un enjeu important du *XXI<sup>e</sup>* siècle en matière de prise en charge du nouveau-né puisque sa prévalence est estimée entre 2,8 et 46,5%, avec des conséquences notables concernant l'allaitement du nouveau-né (Schlatter et al. 2019). L'origine héréditaire de l'ankyloglossie est fortement suspectée et des gènes candidats ont déjà été identifiés (Han et al. 2012).

Chez le berger Kangal, l'affection est décrite pour la première fois en Turquie en 2003 (Temizsoylu, Avki 2003), et depuis de nombreux articles ont montré l'occurrence de cas dans la race, avec une suspicion de transmission héréditaire au sein de familles de chiens. En France, cette suspicion a émergé d'une hausse de la prévalence qui nous a été décrite par les éleveurs de la race ; et c'est en partant de ce postulat que nous nous sommes interrogés : comment définir cliniquement cette affection et quelles en sont ses conséquences chez le berger Kangal ? L'ankyloglossie est-elle une affection héréditaire et si oui quel est son mode de transmission ? Peut-on identifier des gènes candidats ?

Dans cette optique, nous avons réalisé une étude en deux parties : en premier lieu, la partie bibliographique fait l'état des connaissances en matière de génétique du chien, d'anatomie et d'embryologie de la langue ainsi que sur l'ankyloglossie chez l'Homme et les autres espèces ; en second lieu, la partie expérimentale vise à étudier l'ankyloglossie chez le berger Kangal en France. Pour cela, nous avons rassemblé des informations cliniques sur des chiens atteints et sains apparentés à des chiens atteints auprès des éleveurs et propriétaires. En parallèle, nous avons récupéré les pedigrees des chiens concernés pour réaliser une étude génétique de l'affection. Enfin, nous avons recueilli des prélèvements biologiques afin de rechercher une cause génétique de l'ankyloglossie dans la race.

## 1. Partie bibliographique

### 1.1 Les études génétiques chez le chien

Une maladie est dite génétique si elle est la conséquence de modifications du patrimoine génétique d'un individu. Elle est dite héréditaire si cette modification est transmise d'une génération à l'autre dans une famille.

Les arguments en faveur d'une origine héréditaire sont une homogénéité clinique (signes cliniques semblables, âge équivalent à la déclaration des symptômes, évolution similaire de la maladie...), une fréquence augmentée au sein d'un groupe ou d'une lignée particulière et l'observation d'une fréquence augmentée de la maladie en particulier dans les lignées consanguines (Feingold, Fellous, Solignac 1998).

#### 1.1.1 Rappels de génétique

Chez les mammifères, une maladie est dite « mendélienne » si elle suit les lois de Mendel, c'est-à-dire que c'est une maladie héréditaire monofactorielle (monogénique). On distingue les maladies portées par les chromosomes sexuels (X ou Y) des maladies dites autosomiques.

On dit qu'une maladie héréditaire est hétérogène si le gène affecté est différent d'un patient à l'autre présentant pourtant le même phénotype. A contrario, si un seul gène est retrouvé chez tous les patients atteints, on dit que la maladie héréditaire est homogène.

Pour identifier le mode de transmission génétique d'une maladie mendélienne, il existe un certain nombre de règles et de probabilités de risque caractéristiques, regroupées dans le tableau 1. On définit des particularités propres à certains de ces modes de transmission :

- Pénétrance incomplète : tous les porteurs du génotype à risque ne sont pas atteints (effet de l'environnement, de l'expression d'un autre gène, etc).
- Expressivité variable : deux individus avec la même mutation présentent des signes cliniques différents.



- Pseudodominance : une fréquence élevée de porteurs sains hétérozygotes entraîne des mariages avec une probabilité équivalente d'obtenir des descendants atteints que lors d'une transmission dominante.
- Inactivation du X chez les femelles mammifères : dans chaque cellule pour les mammifères femelles, un des deux chromosomes X est inactivé ; on a donc des cellules qui expriment le chromosome X d'origine paternelle et des cellules qui expriment le chromosome X d'origine maternelle.
- Mosaïcisme : présence concomitante de cellules normales et anormales, conséquence d'une mutation lors des divisions cellulaires d'une série de cellules dans le développement précoce d'un embryon ou fœtus (Feingold, Fellous, Solignac 1998).

Mode de transmission		Définition	Génotypes	Probabilités	Sex ratio	Critère	Saut de génération ?	Particularités possibles
Autosomique	Dominant	Gène porté par un autosome et un seul allèle muté suffit pour être atteint	+/+ : sain +/- : atteint -/- : atteint (si viable)	Croisement individu sain/individu atteint : risque de 50% pour chaque enfant.	Même ratio masculin/féminin	Un individu atteint a au moins un de ses parents atteints.	Non	Pénétrance incomplète  Expressivité variable
	Récessif	Gène porté par un autosome et il faut deux allèles mutés pour être atteint	+/+ : sain +/- : porteur sain -/- : atteint	Croisement individus sains hétérozygotes : risque de 25% pour chaque enfant.	Même ratio masculin/féminin	Les individus atteints naissent souvent de parents sains. Les atteints naissent plus souvent lors d'accouplements consanguins.	Oui souvent	Pseudodominance
Lié au sexe	X dominant	Gène porté par le chromosome X, un seul allèle suffit aux individus pour être atteints	X+/X+, X+/Y : sains X+/Xm, Xm/Y : atteints Xm/Xm : sévèrement atteinte	Croisement entre père sain et mère atteinte : risque de 50% pour chaque enfant.  Croisement entre père malade et mère saine : risque de 100% pour chaque fille, 0% pour chaque garçon.  Croisement de 2 parents malades : risque de 50% pour chaque garçon, 100% pour chaque fille.	Plus de femmes que d'hommes atteints	Jamais de transmission père-fils.	Non	Inactivation du X chez les femmes

	X récessif	Gène porté par le chromosome X, il faut deux allèles mutés à un individu femelle pour être atteint et un seul pour un individu mâle	X+/X+, X+/Y, X+/Xm : sains Xm/Xm, Xm/Y : atteints	Croisement entre père malade et mère saine : risque de 0% pour chaque garçon, risque de 50% pour chaque fille d'être porteuse saine.  Croisement père malade et mère porteuse saine : risque de 50% pour chaque enfant d'être malade, risque de 100% pour chaque fille d'être porteuse.	Plus d'hommes que de femmes atteints	Jamais de transmission père/fils.	Oui	
	Y	Gène porté par le chromosome Y	X/Y : sain X/Ym : atteint	Un père transmet sa maladie à 100% de ses fils.	Uniquement des mâles atteints	Jamais de transmission père/fille.	Non	
Maternelle		Gène situé sur l'ADN mitochondrial	/	Une mère malade transmet sa maladie à 100% de ses enfants. Un père malade ne transmet jamais sa maladie.	Même ratio masculin et féminin	Une personne malade a sa mère malade.	Non	Hétéroplasmie : toutes les mitochondries ne sont pas mutées ; variabilité de phénotype des descendants.

Tableau 1 : Caractéristiques des modes de transmission d'une maladie héréditaire monogénique (Source personnelle).

Il existe aussi des maladies polygéniques dont les effectifs de mâles et femelles sains et atteints dans les familles ne répondent pas aux caractéristiques citées précédemment.

### 1.1.2 Le génome du chien

Le génome du chien, séquencé pour la première fois en 2005, est constitué de 38 paires d'autosomes et des deux chromosomes sexuels X et Y (Ostrander, Comstock 2004). Le chien est aujourd'hui un très bon modèle de recherche médicale en génétique car la cartographie de son génome est très avancée (Hayward et al. 2016). Un des génomes de référence est le suivant : CanFam3.1 (issu d'une femelle Boxer) (Jagannathan et al. 2019) A ce jour, les archives européennes en matière de variations génétiques chez le chien (*dog variant database and biomedical consortium*) contiennent environ 18 millions de SNV (*single nucleotide variation*) et plus de 9 millions d'indels courts. Aujourd'hui, avec une quinzaine de chiens atteints et une quinzaine de chiens témoins de la même race et pour une même affection, il est possible d'identifier l'allèle responsable de l'affection, pour une maladie monogénique.

Actuellement se déroule le projet Dog10K, qui est le fruit d'une collaboration internationale qui vise à génotyper plus de 10 000 chiens en 5 ans, afin d'établir une base explicative de leur diversité phénotypique (Ostrander et al. 2019).

### 1.1.3 Approche génétique de la santé du chien

Selon OMIA (*Online Mendelian Inheritance in Animals*), 842 caractères héréditaires faisant intervenir un seul locus ont été identifiés à ce jour chez le chien, dont 542 constitueraient des potentiels modèles pour la santé humaine et 324 se transmettraient selon des modalités mendéliennes (OMIA - Online Mendelian Inheritance in Animals). L'étude du génome du chien et de ses affections héréditaires permet donc en premier lieu de donner une base de réflexion pour limiter l'occurrence de ces problèmes de santé (réalisation de tests génétiques), mais également de mieux comprendre leurs mécanismes. La connaissance des maladies canines bénéficie donc dans certains cas aux connaissances en médecine humaine.

Lors des travaux de recherche concernant les affections héréditaires du chien, la démarche est la suivante : en premier lieu, l'affection doit être diagnostiquée par un vétérinaire et le phénotype correctement décrit. Des études épidémiologiques et

familiales permettent de distinguer des maladies environnementales, héréditaires ou faisant intervenir une composante génétique et environnementale. Par la suite, on rassemble des prélèvements de chiens atteints (dits « cas ») ou de chiens sains non apparentés (dits « témoins »), ce qui permet de réaliser une étude cas/témoin. Si on a prélevé des chiens atteints et leurs apparentés, on parle d'étude familiale.

Trois possibilités sont envisageables pour identifier le ou les gène(s) responsable(s) de l'affection : soit certains gènes sont suspectés d'être impliqués (par analogie avec une autre espèce par exemple) et on va séquencer cette partie du génome, auquel cas seuls peu d'individus suffisent ; soit on n'a pas de gènes candidats et on peut au choix soit réaliser un criblage génétique dans une grande famille de chiens (plusieurs dizaines d'individus sont souvent nécessaires), soit faire une analyse de liaison en comparant des cas et des témoins (plusieurs dizaines d'individus nécessaires) avec des marqueurs répartis sur l'ensemble des chromosomes, à l'aide de puces à SNP (Jagannathan et al. 2019). On voit donc bien qu'une étroite collaboration est nécessaire entre les éleveurs, les clubs de race, les vétérinaires et les chercheurs si on souhaite obtenir toutes les informations nécessaires à l'étude d'une affection héréditaire.

Il est intéressant de noter que les échantillons nécessaires sont de taille inférieure à ceux réalisés pour les études sur l'Homme, ce qui est la conséquence de la relative homogénéité génétique au sein d'une race.

## 1.2 La langue

### 1.2.1 Rappels d'anatomie

La langue du chien est un organe aux multiples fonctions : perception du goût, mais aussi mouvements qui permettent la préhension et la mastication des aliments, la déglutition, la prise de boisson, les léchages du chien ou de ses congénères, ou encore la régulation de la température corporelle par polypnée (Eubanks 2007).

C'est un organe long, mobile et musculeux. Elle est attachée sur l'os basihyoïde, et libre au niveau de la symphyse mandibulaire. Elle est constituée d'un corps (*corpus linguae*) et d'une racine (*radix linguae*) séparés par une rangée de papilles organisées en forme de V (Eubanks 2007).

Sa surface dorsale, le *dorsum linguae*, est rugueux car il porte les papilles linguales kératinisées filiformes, fongiformes, circumvallées, foliées et coniques et

est séparé en deux par une rainure médiane. Sa surface ventrale s'appelle le facies ventralis linguae et son épithélium est doux. Les surfaces dorsale et ventrale sont séparées par la margo linguae. Les deux marges se rejoignent pour former l'apex de la langue, qui constitue la zone libre et la plus fine (Eubanks 2007).

Les papilles filiformes et fongiformes se localisent dans les premiers deux-tiers de la langue, tandis que les circumvallées, foliées et coniques se situent dans le dernier tiers (Eubanks 2007). Les papilles filiformes et coniques facilitent le mouvement de l'ingestat dans la gueule, tandis que les fongiformes, circumvallées et foliées contiennent des récepteurs gustatifs (Dellmann et Brown 1976).

La muqueuse linguale est épaisse et kératinisée sur la surface dorsale, tandis qu'elle est fine et peu kératinisée sur la surface ventrale. Cette muqueuse forme le frein de la langue sur la surface ventrale. Celui-ci connecte le corps de la langue au plancher de la gueule. De part et d'autre du frein de la langue se trouve le plica fimbriata, plis de la muqueuse de la surface ventrale de la langue. Il démarre près du bout rostral du frein et disparaît progressivement au bout de deux centimètres (Evans et Miller 2020).

Les muscles qui composent la langue sont les muscles extrinsèques, comprenant le styloglosse, le hyoglosse et le génioglosse, et les muscles intrinsèques, aussi appelés lingualis proprius (Eubanks 2007).

Le muscle styloglosse s'accroche sur l'os stylohyoïde et est composé de trois têtes musculaires qui s'insèrent dans la langue à différents niveaux le long de son axe. Il permet de tirer la langue caudalement et de soulever la partie caudale de la langue (Evans et Miller 2020).

Le muscle hyoglosse se trouve à la racine de la langue. Il s'accroche sur la surface ventrolatérale de l'os basihyoïde et la fin de l'os thyrohyoïde. Il s'étend rostralement et dorsalement au muscle mylohyoïdien et latéralement au muscle géniohyoïdien et génioglosse. Il permet de rétracter et d'abaisser la langue (Evans et Miller 2020).

Le muscle génioglosse est un muscle fin et triangulaire qui se trouve dans l'espace intermandibulaire, sur la surface ventrale de la langue. Il s'accroche sur la surface médiale de la mandibule, caudalement à l'origine du muscle géniohyoïdien. Il permet d'abaisser la langue (Evans et Miller 2020).

Le muscle propria linguae est constitué de multiples faisceaux musculaires localisés dans le fascia de l'insertion des muscles extrinsèques de la langue. Ils se divisent en quatre groupes mal délimités : fibrae longitudinalis superficialis, fibrae longitudinalis profundis, fibrae transversae, fibrae perpendiculares. Il permet de faire sortir la langue de la bouche et de réaliser les mouvements complexes pour la mastication, la déglutition, la vocalisation (Evans et Miller 2020).

L'organisation de ces muscles est illustrée dans la figure 1.

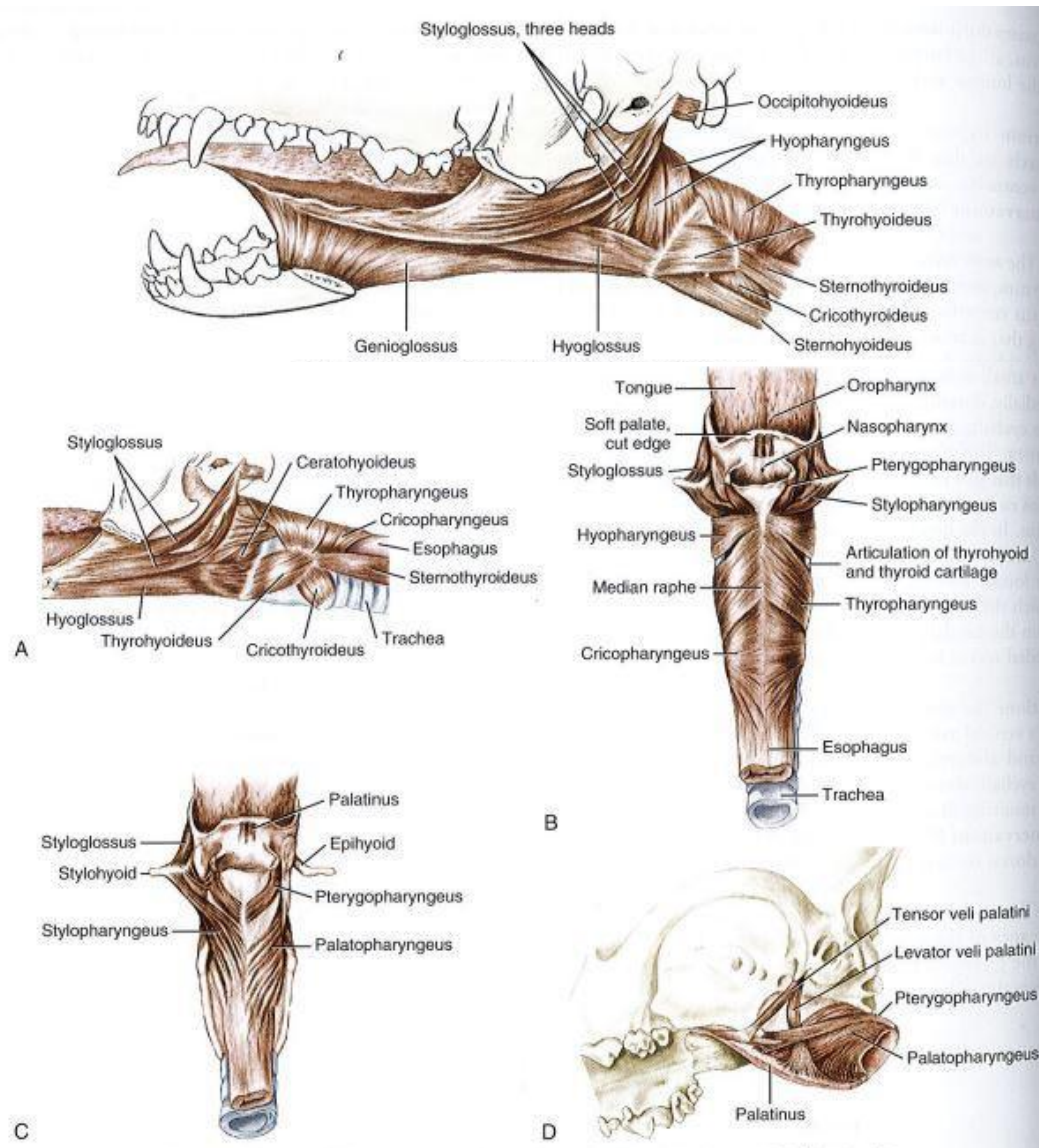


Figure 1 : Schémas des muscles de la langue et du pharynx, plans superficiels selon leur aspect latéral et plans profonds selon leurs aspects latéraux et dorsaux (Source : Evans et Miller 2020).

Légende : première figure : Muscles de la langue et du pharynx en vue latérale ; deuxième figure : A : Muscles de la langue et du pharynx, dissection profonde, vue latérale ; B : Muscles du pharynx, vue dorsale ; C : Muscles du pharynx, dissection profonde, vue dorsale ; D : Muscles du pharynx et du palais, dissection profonde, vue ventrolatérale.

La lyssa est un corps allongé et flexible d'environ 4cm de long chez un chien de taille moyenne, situé dans le plan médian et sur la partie ventrale de la partie libre

de la langue. La partie rostrale est superficielle tandis que la partie caudale s'enfonce dans les fibres musculaires des muscles striés. La lyssa est encapsulée dans une gaine de tissu conjonctif remplie de tissu adipeux, de muscle strié et occasionnellement d'ilots cartilagineux. Elle pourrait agir comme un récepteur à l'étirement de la langue (Evans et Miller 2020).

Les glandes linguales comportent des glandes séreuses et des glandes muqueuses. Les glandes associées avec les papilles circumvallées ou foliées sont exclusivement séreuses : ce sont les glandes gustatives (*glandulae gustatoriae*). On retrouve d'autres glandes séreuses dans le tiers caudal de la langue, ainsi que de nombreuses glandes mucoséreuse situées dans la sous-muqueuse de la langue (Evans et Miller 2020).

L'innervation motrice de la langue est réalisée par le nerf XII (hypoglosse). Il innerve les muscles intrinsèques et extrinsèques (hyoglosse, génioglosse et styloglosse) de la langue (Evans et Miller 2020).

L'innervation sensitive est réalisée par le nerf lingual (issu des branches du nerf V) qui permet la nociception, le ressenti de la température et la sensation de toucher, la chorda tympani (issue des branches du nerf VII) pour la sensibilité gustative, la sécrétion des glandes ainsi que le ressenti de la température et du toucher, le nerf glossopharyngien (IX) pour la sensibilité gustative du tiers caudal de la langue, la sécrétion des glandes, le nerf vague (X) pour la sensibilité du tiers caudal de la langue, et le nerf hypoglosse (XII) pour la sensibilité profonde et la proprioception de la langue (Evans et Miller 2020). Ces nerfs sont illustrés en figure 2.



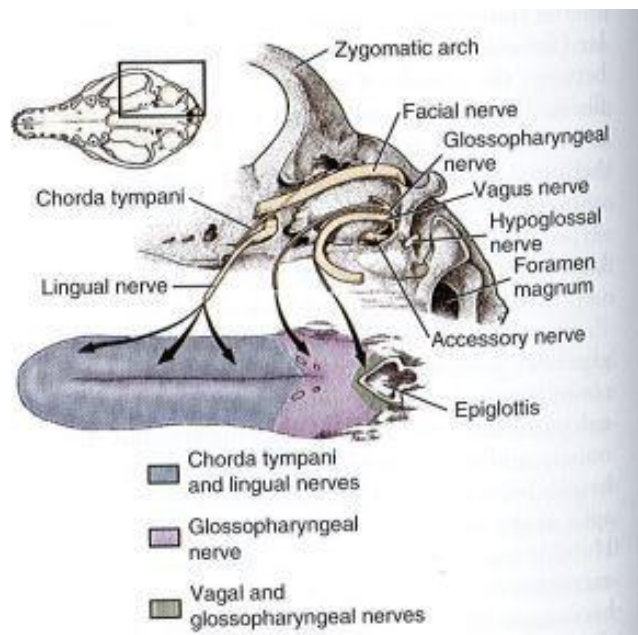


Figure 2 : Schéma de l'innervation de la langue. (Source : Evans et Miller, 2020).

La langue reçoit une vascularisation veineuse par la veine linguale, qui provient de la veine linguofaciale elle-même provenant de la veine jugulaire externe. La veine linguale démarre à l'apex de la langue et suit un trajet crânio-caudal, accompagnée par l'artère linguale et le nerf hypoglosse. Sa position est latérale au muscle génioglosse et médiale au muscle hyoglosse. La langue reçoit également une vascularisation veineuse de la veine sublinguale, qui démarre en partie rostrale du frein de la langue et qui suit un trajet crânio-caudal sur la surface dorsale du muscle mylohyoïdien (plancher de la bouche). Elle est donc située entre le frein et le bord latéral du plica fimbriata, dans la sous-muqueuse. Rostralement, cette veine est accompagnée par la branche linguale du nerf V (mandibulaire) et par une artère satellite. Elle permet le transport du sang depuis le frein de la langue, les canaux salivaires sublingual et mandibulaire et la glande linguale polystomatique (Evans et Miller 2020). Cette vascularisation de la langue est visible sur la figure 3.

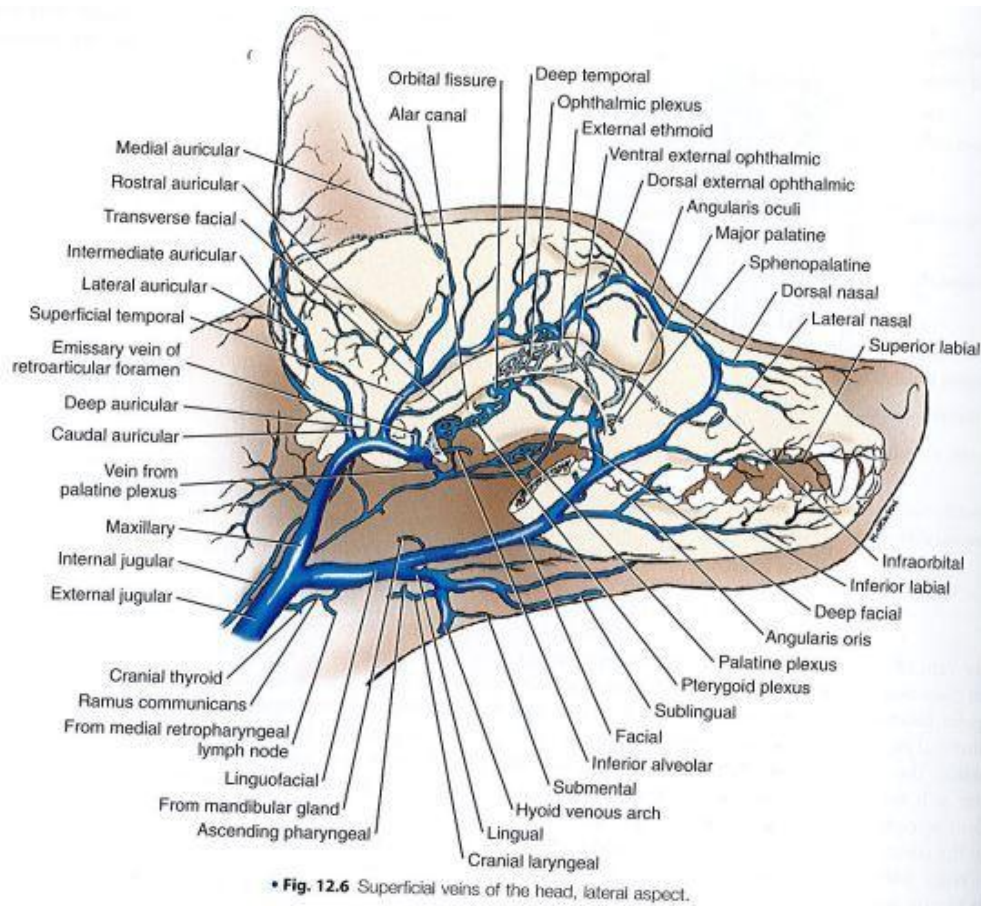


Figure 3 : Schéma de la vascularisation de la tête du chien. (Source : Evans et Miller 2020)

### 1.2.2 Rappels d'histologie

L'épithélium qui recouvre la langue est squameux stratifié avec des variations d'épaisseur du stratum corneum : il est plus épais sur la surface dorsale que sur la surface ventrale, où il peut être non kératinisé. Histologiquement, on retrouve les papilles évoquées précédemment (filiformes, coniques, fongiformes, circumvallées, foliées), qui présentent des formes différentes (Dellmann et Brown 1976).

Le frein de la langue n'a quant à lui été décrit histologiquement que récemment ; on distingue la définition histologique du frein de la langue entouré des autres tissus (plancher de la bouche et surface ventrale de la langue) et la définition histologique du frein de la langue isolé (Mills et al. 2020).

Une étude réalisée par Mills et al. sur 10 individus humains embaumés a permis les observations suivantes. Le plancher de la bouche est recouvert d'un épithélium sous lequel on retrouve des couches horizontales de tissu conjonctif. L'aspect et la composition de ce tissu conjonctif sont compatibles avec du fascia, dont l'épaisseur varie d'un individu à l'autre. Il comporte une proportion importante de

fibres de collagène de type III (qui permettent la distension et la mobilité), en particulier dans la région du frein lingual, et de fines couches d'élastine. On n'observe pas de « bande » médiane sous-muqueuse qui constituerait un cordon. La grande majorité (8/10) des individus ne présente pas d'épaississement des couches de fascia dans la région du frein lingual. En périphérie, le fascia du plancher de la bouche fusionne avec le périoste mandibulaire ; au centre, le fascia du plancher de la gueule fusionne avec le tissu conjonctif sous-muqueux de la face ventrale de la langue. Le muscle génioglosse est suspendu au fascia du plancher de la bouche par une fine couche verticale de tissu conjonctif continue avec la couche épimysiale qui entoure le muscle. De part et d'autre de la ligne médiane, le fascia du plancher de la bouche enveloppe de nombreuses structures : les glandes sublinguales, les canaux sous-mandibulaires, la vascularisation de la langue. L'innervation quant à elle est située superficiellement sur la surface ventrale de la langue, directement sous la couche de fascia (Mills et al. 2020).

Le frein de la langue a ensuite été isolé chez 3 individus (cadavres frais). Anatomiquement, on observe un « pli » plus ou moins épais et opaque selon les individus, qui histologiquement est constitué du fascia du plancher de la bouche élevé sur toute la longueur du frein associé à un amincissement de la partie la plus superficielle de la muqueuse orale. Le muscle génioglosse est suspendu à la couche la plus externe du fascia musculaire, qui s'insère dans les couches profondes des fascia du plancher de la bouche. On remarque que la morphologie du frein de la langue évolue sur sa longueur ; il est plus complexe en partie antérieure qu'au niveau de la « section coronale », où il est le mieux défini (Mills et al. 2020).

La définition anatomique et histologique du frein de la langue a néanmoins été revue récemment (Mills et al. 2019). Dans son étude, il réalise une dissection fine de la langue et des tissus environnants sur 9 cadavres humains adultes afin d'établir les différentes attaches de la langue à la bouche. Le frein de la langue est alors défini comme une structure dynamique qui se forme par élévation d'un pli médian de la muqueuse du plancher de la bouche, par opposition avec ses définitions antérieures (par défaut) qui la percevaient comme une « corde » médiane constituée de tissu conjonctif à orientation antéro-postérieure. Cette nouvelle perception de son organisation est illustrée par la figure 4. Il établit également les longueurs qui peuvent physiologiquement varier d'un individu à l'autre : hauteur de l'attache entre le pli médian et la surface ventrale de la langue, hauteur de l'attache entre le fascia

du plancher de la bouche et la surface ventrale de la langue, hauteur de l'attache entre le fascia du plancher de la bouche et la mandibule, longueur du frein, hauteur de la remontée du muscle génioglosse dans le pli médian.

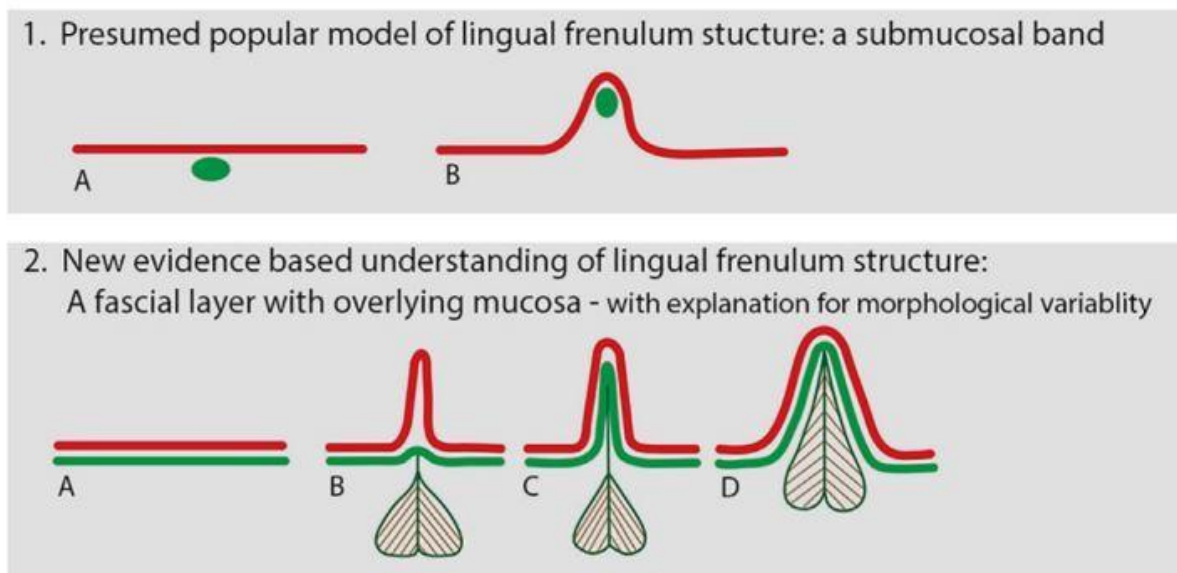


Figure 4 : Schéma fournissant une nouvelle définition du frein de la langue (Source : Mills et al. 2019).

Légende : (1) Compréhension présumée de la structure du frein de la langue : une bande submuqueuse : (a) : langue relâchée ; (b) : langue élevée, étirant le frein de la langue. Ligne rouge : muqueuse buccale. Ovale vert : coupe sagittale de la bande submuqueuse de tissu conjonctif.

(2) : Nouvelle compréhension du structure du frein de la langue : ligne rouge : muqueuse buccale. Ovale vert : fascia du plancher de la bouche, avec le muscle génioglosse suspendu au fascia. (a) : Langue relâchée, le fascia du plancher de la bouche est juste sous la muqueuse. (b-d) : variations dans la morphologie du frein de la langue avec son élévation. (b) « Transparent » : un pli muqueux s'élève tandis que le fascia reste à la base du pli. (c) « Opaque » : la muqueuse et le fascia s'élèvent ensemble pour former le pli. (d) : « Large » : la muqueuse et le fascia s'élèvent ensemble avec le muscle génioglosse tiré dans le pli.

Une étude a par la suite été réalisée sur quatre cadavres de nouveaux-nés humains afin de confirmer les observations réalisées sur les adultes et établir des normes de taille qui permettront de distinguer les freins de la langue « pathologiques » (ankyloglossie) des freins de la langue « normaux » (Tableau 2).

Cadaver	Frenulum (mm)				
	Height of ventral tongue attachment	Height of midline attachment on mandible	Length of frenulum: between mandibular and ventral tongue attachments	Frenulum length vs. ant tongue length (%)	Description of appearance
1	4	Not elevated	4	44	"Mixed"
2	2	Slight elevation	6	100	"Mixed"
3	6	Slight elevation	5	50	Transparent
4	4	Moderate elevation	7	70	Opaque

Tableau 2 : Dimensions et apparence des freins de langue de 4 nouveaux-nés (Source : Mills et al. 2019).

Légende : colonnes : cadavre ; hauteur de l'attache ventrale de la langue ; hauteur de l'attache à la mandibule ; longueur du frein entre la mandibule et les attaches ventrales de la langue ; ratio entre la longueur du frein et la longueur de la partie antérieure de la langue ; description de l'apparence.

Il a ainsi été démontré que le frein de la langue chez un nouveau-né, comme chez un adulte, est une structure complexe en couches dont la morphologie évolue

de façon dynamique avec les mouvements de la langue. Ainsi, la mobilité de la langue n'est pas due qu'aux muscles de la langue mais également au fascia du plancher de la bouche qui joue un rôle déterminant dans les mouvements de la partie antérieure de la langue. Le muscle génioglosse, quel que soit sa « hauteur » lors de sa remontée dans le frein, ne semble pas limiter les mouvements de la langue (Mills et al. 2019).

### 1.2.3 Rappels d'embryologie

#### 1.2.3.1 Généralités

La cavité buccale se développe consécutivement à la formation du second palais et du choane ; les cellules ectodermiques se mettent en place pour former les laminae labio-gingivale supérieure et inférieure, qui fusionnent en zone intermédiaire pour former les lèvres, les gencives et le vestibule buccal et en zone latérale pour former les joues et ainsi fermer la bouche. Caudalement, on retrouve les arcs palatoglossiens qui s'étendent de la limite entre palais dur et palais mou jusqu'à la racine de la langue (Hyttel, 2010).

La langue des mammifères a pour origines les arcs branchiaux (provenant des 3 tissus du développement embryonnaire que sont l'ectoderme, l'endoderme et le mésoderme), les myoblastes issus des myotomes occipitaux et les cellules de la crête neurale (Cobourne et al. 2019).

En premier lieu, une proéminence médiale appelée tuberculum impar émerge du 1<sup>er</sup> arc branchial. Deux bourgeons latéraux également issus du 1<sup>er</sup> arc branchial se forment rostralement et latéralement à cette proéminence. Les deux bourgeons latéraux et le tuberculum impar fusionnent pour donner les deux-tiers rostraux de la langue (apex et corps) ; la ligne médiane formée par la fusion des bourgeons latéraux forme le septum lingual et la lyssa (Figure 5).

La racine de la langue se développe à partir d'une autre proéminence médiane appelée copula, issue du 2<sup>e</sup> arc branchial et de l'éminence hypobranchiale, issue des 3<sup>e</sup> et 4<sup>e</sup> arcs branchiaux (Hyttel, 2010).

Les muscles de la langue proviennent des myotomes occipitaux tandis que le tissu conjonctif qu'elle contient provient des cellules de la crête neurale (Cobourne et al. 2019).



L'épithélium squameux stratifié a une origine très majoritairement endodermique ; l'apex est néanmoins recouvert d'un épithélium d'origine ectodermique (Hyttel, 2010).

L'innervation de la langue se réalise dans l'ordre qui suit : formation des papilles fongiformes par le biais du développement de la chorda tympani (nerf facial VII), puis formation des papilles circumvallées et foliées par le biais du développement du nerf glossopharyngien IX. Enfin les papilles « mécaniques » se forment, avec les deux-tiers rostraux innervés par le nerf trijumeau V (avec pour origine le 1<sup>er</sup> arc branchial) et le tiers caudal innervé par le nerf glossopharyngien IX (avec pour origine le 3<sup>e</sup> arc branchial) et le nerf vague X (avec pour origine le 4<sup>e</sup> arc branchial) (Hyttel, 2010).

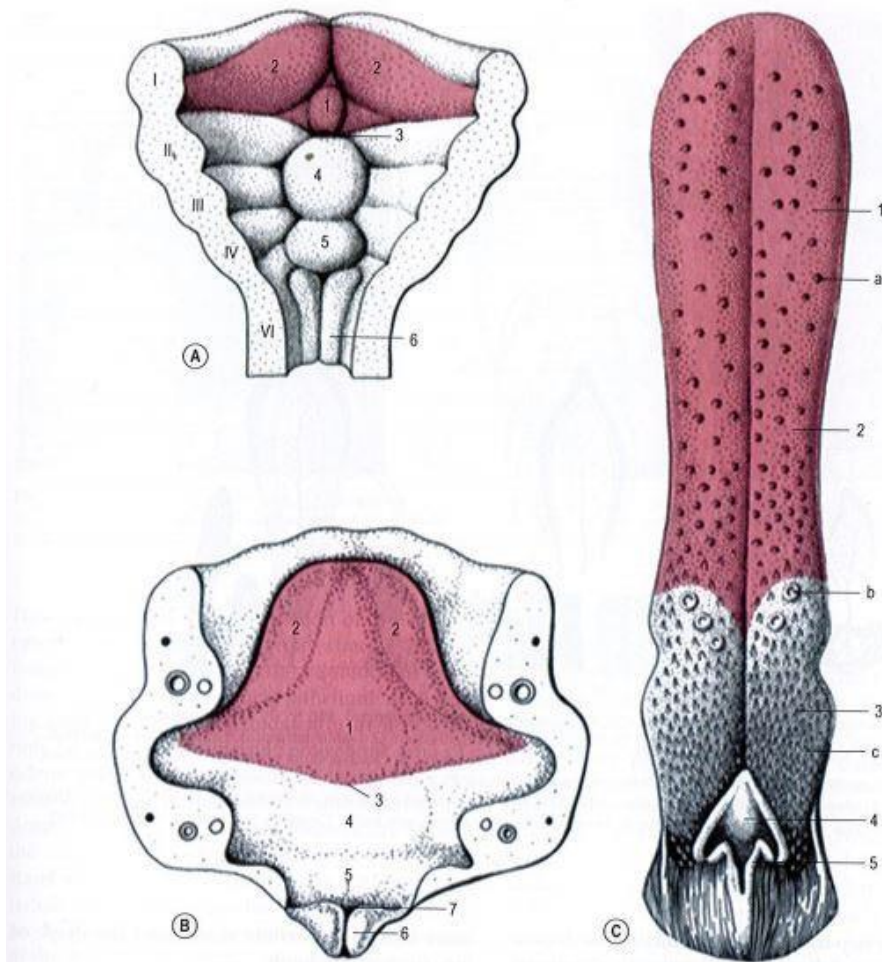


Figure 5: Schéma du développement embryonnaire de la langue et du pharynx. Les zones roses sont issues du premier arc branchial (Source : Hyttel, 2010).

Légende : A : I-VI : arc branchiaux I à VI, 1 : tuberculum impar ; 2 : bourgeons latéraux ; 3 : primordium de la glande thyroïde ; 4 : copula ; 5 : éminence hypobranchiale ; 6 : renflement aryténoïde. B : stade plus avancé des structures définies en A. 7 : orifice laryngé. C : langue du chien : 1 : apex de la langue ; 2 : corps de la langue ; 3 : racine de la langue ; 4 : épiglotte ; 5 : aryténoïde ; a : papilles fongiformes ; b : papilles circumvallées ; c : papilles filiformes.

Chronologiquement, on observe d'abord une émergence de la langue par les bourgeons des arcs branchiaux : elle est alors totalement fixée au plancher de la bouche par une membrane médiale. Puis l'extrémité crâniale de cette membrane disparaît par apoptose et résorption des muscles squelettiques, ce qui libère l'extrémité la plus crâniale de la langue (Morita et al. 2004).

#### 1.2.3.2 Mécanismes génétiques et moléculaires du développement de la langue

Chez l'Homme, de nombreux facteurs moléculaires entrent en jeu pour permettre l'induction, la migration et la différenciation des cellules à l'origine du développement embryonnaire des muscles de la langue.

Parmi eux, on retrouve notamment Pax3, qui est un facteur de transcription à l'origine de l'induction des cellules progénitrices dans les somites ; ce dernier joue également un rôle dans la migration des cellules en régulant la transcription du récepteur à la C-met tyrosine kinase (Cobourne et al. 2019).

Les C-met et HGF (*hepatocyte growth factor*) interagissent pour la formation des muscles squelettiques ; les HGF interviennent donc également dans la prolifération et migration des cellules à l'origine des muscles de la langue (Cobourne et al. 2019).

Gab1 (protéine de liaison associée à GRB) a également été identifiée comme partenaire de C-met phosphorylé pour réguler l'activité de HGF donc la prolifération et migration des cellules myogéniques (Cobourne et al. 2019).

En parallèle, un certain nombre de molécules interviennent dans la régulation des molécules sus-citées ; on citera Lbx1 qui est co-exprimée avec Pax3, Cxcr4 (récepteur au ligand des chémokines SDF1) qui interagit avec Gab1 et Six1 et Eya1, qui interviennent sur la prolifération des cellules myogéniques (Cobourne et al. 2019).

Les précurseurs myogéniques évoqués ci-dessus sont en étroite collaboration avec les cellules de la crête neurale et les cellules épithéliales, par le biais d'un réseau de signalisation qui permet l'organisation de ces cellules entre elles.

En premier lieu, on peut citer SHH (*Sonic hedgehog*), qui est une protéine de signalisation vis-à-vis des cellules de la crête neurale, sécrétée au début du développement de la langue ; elle est exprimée par les cellules de l'épithélium dorsal

de la langue et son inactivation résulte en une aglossie. Les souris pour lesquelles il manque une protéine nommée Smo (qui sert de récepteur à SHH sur les cellules de la crête neurale) présentent une aglossie et une rétrognathie mandibulaire, ce qui est similaire aux symptômes obtenus pour des souris qui n'exprimeraient pas SHH dans l'endoderme pharyngé et l'ectoderme oral, ainsi que pour des souris pour lesquelles la protéine Kif3a IFT (« *intra-flagellar transport* ») serait inactivée dans les cellules de la crête neurale. Toutes ces possibilités entraînent une absence de signal compromettant la survie des cellules de la crête neurale et des précurseurs myogéniques dans la langue, et empêchant la migration des précurseurs myogéniques à la racine de la langue. Enfin, SHH est associée aux co-récepteurs Gas1 et Boc sans lesquels on obtient une hypoglossie ou une scission médiane de la langue.

Par la suite, nous avons aussi TGF- $\beta$  (« *transforming growth factor* ») qui intervient dans la mise en place des précurseurs des muscles de la langue (issus du mésoderme). Ce facteur régule la différenciation des cellules de la crête neurale et favorise la communication intercellulaire lors de la mise en place des cellules musculaires squelettiques. Chez les souris pour lesquelles TGF- $\beta$  a été inactivé, on observe donc une microglossie et une désorganisation du tissu conjonctif et une densité diminuée des fibres musculaires du septum lingual. Il est intéressant de constater que TGF- $\beta$  sous sa forme dénaturée participe également à l'embryogenèse en affectant la prolifération des myoblastes et leur différenciation, ainsi qu'en régulant la prolifération des cellules de la crête neurale via Fgf10. Ce dernier permet l'induction de TGF- $\beta$  sous toutes ses formes et joue ainsi un rôle important dans la prolifération des cellules myogéniques et des cellules de la crête neurale par l'inhibition de Tak1. En contrepartie, Tak1 a un effet inhibiteur sur la prolifération des cellules de la crête neurale par Fgf10. De plus, on peut citer Alk5 (récepteur de TGF- $\beta$  sur les cellules de la crête neurale), dont l'inactivation conduit à une diminution de la prolifération des précurseurs myogéniques. Ceci est la conséquence d'une diminution de l'expression de Bmp4 dans les cellules de la crête neurale, qui permet la différenciation des cellules myogéniques.

Enfin, Wnt est une protéine de signalisation qui régule le développement de la langue. Lorsque son activité est diminuée, on observe une microglossie associée à un développement défectueux des cellules de la crête neurale. Des malformations sont également associées à une inactivation de Wnt : on obtient un épithélium fin et



non stratifié, une perte de la lamina propria et une hypoplasie associée à une désorganisation des fibres musculaires ; on conclut donc que Wnt permet la prolifération de l'épithélium de la langue et à la fois intervient dans la prolifération des cellules myogéniques et des cellules de la crête neurale. Ces fonctions passent par l'induction de Notch qui régule Pax7 et qui permet également l'autorégulation de Wnt par son inhibition dans l'épithélium. Le ligand le plus représenté parmi les Wnt est Wnt5a dans l'épithélium et le mésenchyme superficiel de la région antérieure, et son inactivation peut conduire à l'ankyloglossie (Cobourne et al. 2019).

L'ensemble des molécules sus-citées et leurs interactions sont rassemblées dans la figure 6.

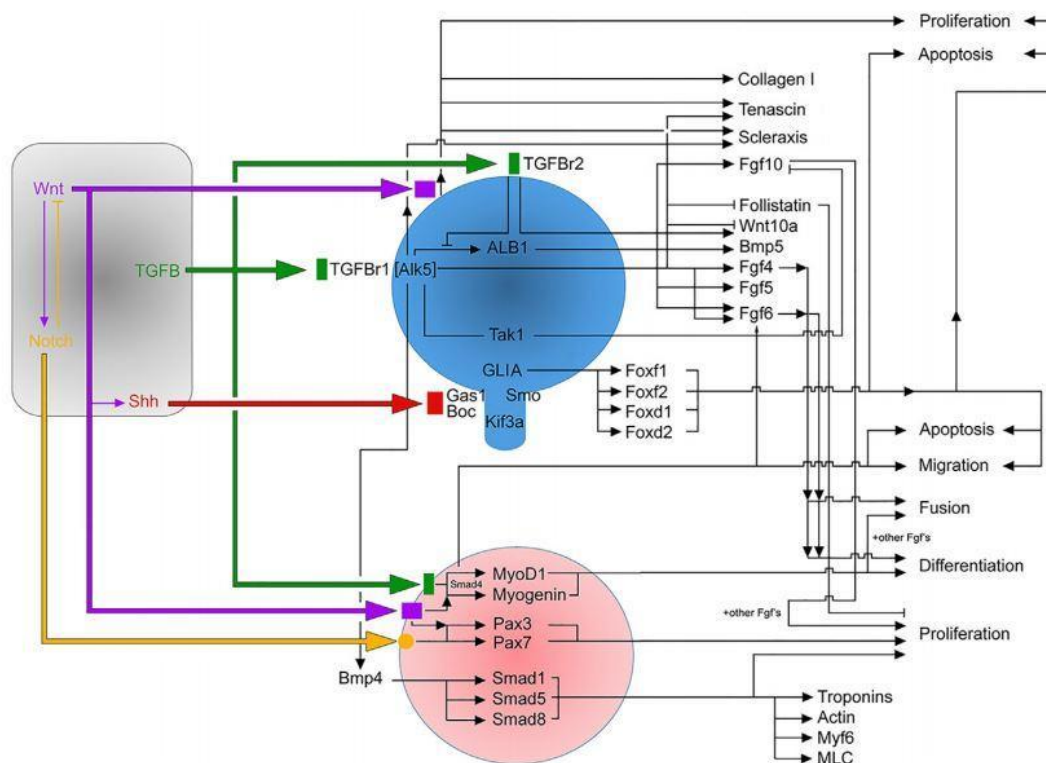


Figure 6 : Organigramme regroupant les molécules impliquées dans le développement embryonnaire de la langue de la souris (Source : Cobourne et al. 2019).

Légende : en gris : cellule épithéliale ; en bleu : cellule de la crête neurale ; en rose : cellule mésodermique. On regroupe ici les interactions entre les molécules de signalisation TGF- $\beta$  (vert), Wnt (violet), Notch (orange) et SHH (rouge).

## 1.2.4 L'ankyloglossie

### 1.2.4.1 Chez l'Homme

#### 1.2.4.1.1 Phénotype

L'ankyloglossie, du grec « agkilos » pour « courbé » et « glossa » pour « langue », est une affection congénitale à l'origine d'un raccourcissement du frein de la langue, provoquant une diminution de la mobilité linguale.

La définition de l'ankyloglossie est très controversée : certains auteurs ne considèrent que des facteurs anatomiques, tandis que d'autres prennent en considération des facteurs fonctionnels en plus des facteurs anatomiques.

L'ankyloglossie peut-être quantifiée anatomiquement avec la classification de Kotlow, qui répartit en 4 groupes les cas d'ankyloglossie selon la longueur de la partie libre de la langue (Kotlow 1999) :

Type I : ankyloglossie légère : 12-16 mm

Type II : ankyloglossie modérée : 8-11 mm

Type III : ankyloglossie sévère : 3-7 mm

Type IV : ankyloglossie complète : moins de 3 mm

Une autre classification anatomique de l'ankyloglossie est proposée par Coryllos (Coryllos et al. 2004), en 4 groupes en fonction de la zone d'insertion du frein sur la langue et de la morphologie du frein de la langue :

Type 1 : Insertion du frein de la langue à son extrémité libre.

Type 2 : Insertion du frein de la langue à 2-4mm de son extrémité libre.

Type 3 : Frein épais, inséré au milieu de la langue et du plancher de la bouche, généralement plus court et moins élastique.

Type 4 : Frein épais, brillant et très peu élastique qui s'insère à la racine de la langue.

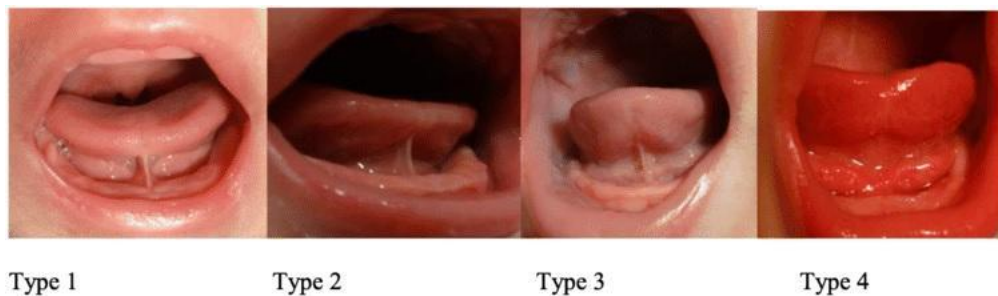


Figure 7 : Photographies des différents types d'ankyloglossie chez l'Homme selon Coryllos (Source : Coryllos et al. 2004).

Les types 1 et 2 sont dits « ankyloglossie antérieure » tandis que les types 3 et 4 sont dits « ankyloglossie postérieure ».

L'échelle de Hazelbaker (HATLFF) est une méthode quantitative visant à diagnostiquer l'ankyloglossie par le biais de 7 paramètres fonctionnels et 5 paramètres anatomiques, référencés dans le tableau 3. Le clinicien attribue pour chaque paramètre une note comprise entre 0 et 2, puis réalise la somme des notes obtenues. Pour un score final égal à 14, il n'y a pas d'ankyloglossie ; pour un score final compris entre 11 et 14, il n'y a pas d'ankyloglossie à la condition que le score des paramètres anatomiques soit supérieur à 8 ; enfin, pour un score inférieur à 11, on estime qu'il y a ankyloglossie et qu'une prise en charge est nécessaire (Amir et al. 2006). Ces critères sont regroupés dans le tableau 3.

<b>Paramètres anatomiques</b>	<b>Paramètres fonctionnels</b>
Aspect de la langue soulevée : 2 : ronde ou carrée 1 : pointe avec une fissure médiane 0 : en forme d'un cœur ou d'un V	Latéralisation : 2 : complète 1 : ne concerne que le corps de la langue et pas la pointe 0 : absente
Elasticité du frein : 2 : très élastique 1 : élasticité modérée 0 : peu ou pas du tout élastique	Elévation : 2 : pointe à mi-distance bouche ouverte 1 : seulement les bords à mi-distance 0 : pointe fixée au procès alvéolaire ou se trouve à mi-distance bouche fermée
Longueur du frein, langue soulevée : 2 : >1cm ou incrusté 1 : 1cm 0 : <1cm	Protraction : 2 : pointe sur la lèvre inférieure 1 : pointe seulement sur la gencive inférieure 0 : absence de positionnement antérieur ou formant une bosse enroulant sur le frein
Insertion linguale du frein : 2 : postérieurement au sommet de la pointe 1 : sur le sommet de la pointe 0 : en encoche	Étalement de la pointe : 2 : complet 1 : modéré ou partiel 0 : peu ou absent
Insertion alvéolaire du frein : 2 : dans le plancher ou basale 1 : basse 0 : haute	Effet ventouse : 2 : bords entiers, bon effet ventouse 1 : uniquement les bords latéraux, effet ventouse modéré 0 : peu ou pas d'effet ventouse
	Péristaltisme : 2 : complet d'avant en arrière depuis la pointe 1 : partiel, commence en arrière de la pointe 0 : absent ou inversé
	Relance de la prise : 2 : absente 1 : périodique 0 : fréquente ou à chaque tétée

Tableau 3 : Paramètres de l'échelle de Hazelbaker. Traduit de (Hazelbaker, 1993).

Un consensus clinique a été proposé par l'Académie Américaine d'Otolaryngologie et de Chirurgie du Cou et de la Tête, lors d'une étude fondée sur la méthode de Delphes appliquée par des otolaryngologistes pédiatriques (Messner et al. 2020). Une série de 89 affirmations a été présentée 3 fois aux experts pour établir ce consensus clinique ; sur ces 89 affirmations, 41 ont fait consensus, 17 en étaient

proches et 21 ne l'atteignaient pas. Parmi les affirmations faisant consensus, deux permettaient d'établir des méthodes diagnostiques pour l'ankyloglossie : « L'ankyloglossie est une affection causant une diminution de mobilité de la langue à cause d'un frein de la langue raccourci. » ; « L'ankyloglossie chez l'enfant doit être évaluée par l'anamnèse (comprenant les commémoratifs sur la lactation) et un examen clinique, comprenant inspection et palpation. ». Ici, on a donc une prise en considération des commémoratifs notamment en matière d'allaitement pour le diagnostic d'ankyloglossie.

La plupart du temps, l'ankyloglossie est une affection « isolée », mais on la retrouve parfois associée à d'autres dans le cadre de syndromes : syndrome d'Ehlers-Danlos, syndrome de Beckwith-Wiedemann, syndrome de Simosa, fente palatine liée à l'X, syndrome orofaciodigital de type 1 (Belmehdi et al. 2018). On décrira notamment des cas d'ankyloglossie familiale associées à des fentes palatines et des anomalies concernant le nombre de dents (Forbes et al. 1996; Lenormand et al. 2018).

Le diagnostic différentiel de l'ankyloglossie comprend toutes les anomalies congénitales ou non de la langue et de ses annexes qui peuvent en diminuer la mobilité : langue bifide, lingua plicata, thyroïde ectopique linguale, malformations lymphatiques, ranula, macroglossie (Becker et Mendez 2021).

#### 1.2.4.1.2 Epidémiologie

De fortes variations existent dans l'incidence de l'ankyloglossie selon les différentes études.

Dans une étude réalisée sur 1041 nouveau-nés choisis aléatoirement et examinés (observation de l'épaisseur du frein de la langue et identification de la présence d'un sillon au bout de la langue), il a été constaté une incidence de 4,8% (50 individus) de l'ankyloglossie avec une gravité variable de faible à modérée (pas de cas sévère) (Messner et al. 2000).

Une autre étude réalisée aux Etats-Unis a évalué l'incidence de l'ankyloglossie dans une population de nourrissons allaités au sein, sur 2763 patients hospitalisés et 273 patients non-hospitalisés et qui présentaient un trouble de l'allaitement. Le diagnostic d'ankyloglossie était alors réalisé à l'aide du HATLFF et mis en parallèle avec les difficultés rencontrées lors de l'allaitement maternel. L'ankyloglossie a été

diagnostiquée chez 88 individus hospitalisés, soit 3,2%, et 35 des patients non hospitalisés, soit 12,8% (Ballard et al. 2002).

En parallèle, une étude rétrospective a été réalisée sur tous les nouveaux-nés dans un hôpital espagnol entre le 1<sup>er</sup> janvier et le 31 décembre 2018 ; sur les 1392 nouveaux-nés considérés, 645 ont reçu le diagnostic d'ankyloglossie (46,5%) par la méthode de Hazelbaker. Parmi ceux-ci, 453 étaient symptomatiques (70,2%), donc 32,5% des nouveaux-nés présentaient une ankyloglossie clinique. Ces chiffres sont très supérieurs à ceux obtenus par ailleurs ; se pose la question du surdiagnostic lié à une modification des critères de définition d'ankyloglossie, et de la démarche de recherche (démarche active ici) (Maya-Enero et al. 2021).

Enfin, une étude réalisée en Norvège et publiée en 2021 qui nous fournit les chiffres issus du Registre des Patients Norvégiens annonce une incidence de 2,8% chez les nouveaux-nés norvégiens en 2019 (Haug et al. 2021).

L'incidence est augmentée chez les individus masculins, avec un sex-ratio de 2.6:1.0 dans le cadre d'une première étude contenant 1041 individus (Messner et al. 2000), de 2.04:1.0 dans le cadre d'une autre comprenant 149 individus (Han et al. 2012), et enfin de 1.5:1.0 dans une troisième étude comprenant 127 individus (Ballard et al. 2002).

On a observé une augmentation du diagnostic d'ankyloglossie de 834% entre 1997 et 2012 aux Etats-Unis, à l'étude de la base de données qui regroupe les informations sur tous les patients enfants américains (« KIDS database ») (Walsh et al. 2019). Dans de nombreux pays, des études ont été réalisées ces 5 dernières années afin de mettre en évidence cette hausse de diagnostic d'ankyloglossie, car elle a un impact fort sur la réalisation de procédures chirurgicales pour les enfants concernés. Par exemple, en Norvège, 7 fois plus de diagnostics d'ankyloglossie ont été posés en 2019 qu'en 2008, avec une augmentation progressive entre ces années (Figure 8) (Haug et al. 2021). En parallèle, une étude menée au Canada entre 2002 et 2014 sur l'ensemble des données du *Canadian Institute for Health Information* a montré une hausse de plus de 15 points du taux de diagnostics pour 1000 naissances entre ces années (Lisonek et al. 2017) (Figure 9).

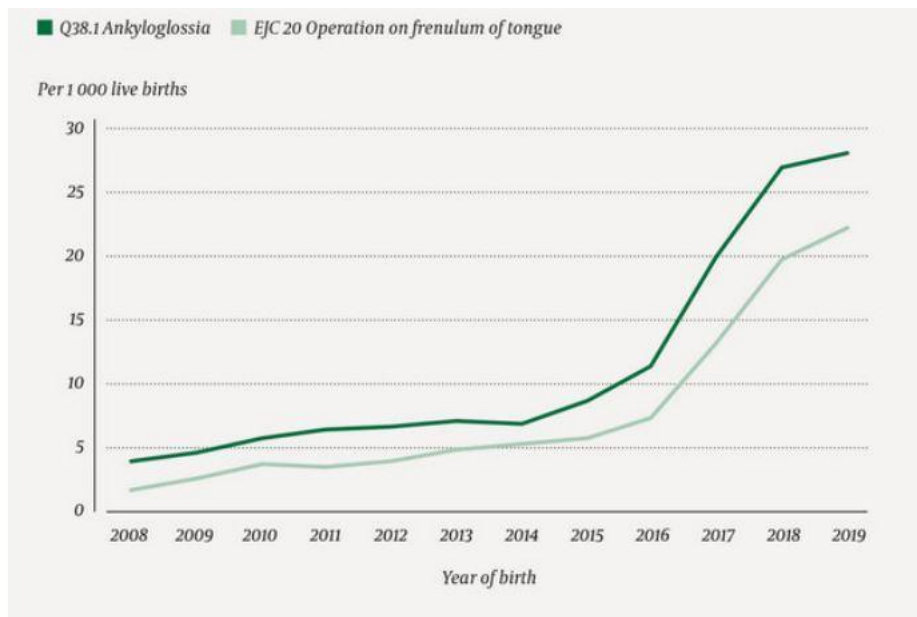


Figure 8 : Graphique présentant le nombre de diagnostics d'ankyloglossie et de frénotomies pour 1000 naissances au cours du temps en Norvège (Source : Haug et al. 2021).

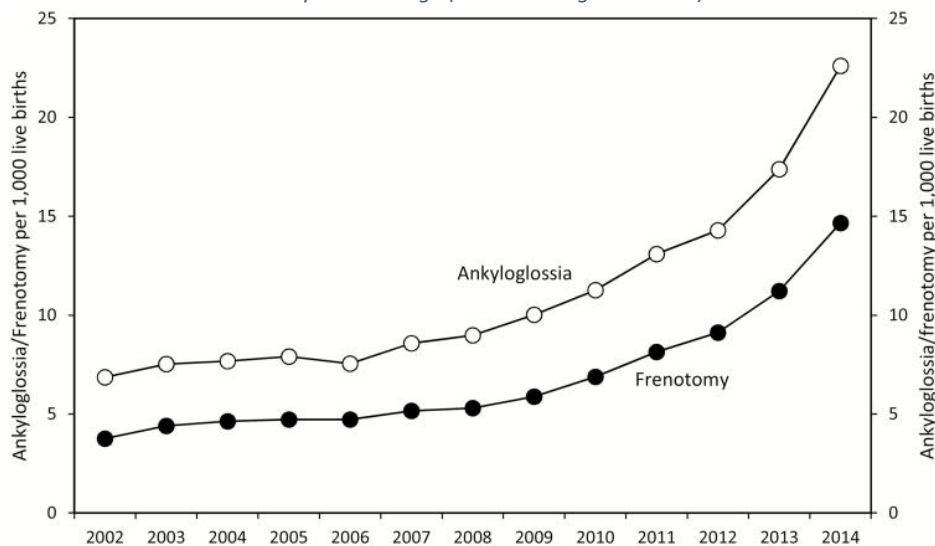


Figure 9 : Graphique présentant le nombre de diagnostics d'ankyloglossie et de frénotomies réalisées pour 1000 naissances au cours du temps au Canada (Source : Lisonek et al. 2017).

Indirectement, cette hausse se ressent dans le nombre d'interventions chirurgicales (frénotomies) réalisées sur les enfants : dans cette même étude au Canada, le taux de frénotomies réalisées pour 1000 naissances a augmenté de près de 11 points (Lisonek et al. 2017) ; en Australie, une étude rétrospective entre 2006 et 2016 sur le nombre de frénotomies réalisées a montré une hausse de 420% du taux d'enfants entre 0 et 4 ans opérés pour 1000 naissances (Tableau 4) (Kapoor et al. 2018).

Region	2006			2016			Change in rate, 2006–2016
	Children (0–4 yrs)	Frenotomies	Rate per 1000 children (0–4 yrs)	Children (0–4 yrs)	Frenotomies	Rate per 1000 children (0–4 yrs)	
Australian Capital Territory	20 781	9	0.43	27 816	459	16.5	3710% <sup>‡</sup>
Western Australia	129 770	267	2.06	175 292	2274	13.0 <sup>†</sup>	530% <sup>‡</sup>
New South Wales	431 534	411	0.95	495 452	2771	5.59 <sup>†</sup>	487% <sup>‡</sup>
Queensland	263 024	265	1.01	319 561	1849	5.79 <sup>†</sup>	474% <sup>‡</sup>
South Australia	89 004	104	1.17	101 567	558	5.49 <sup>†</sup>	370% <sup>‡</sup>
Northern Territory	17 561	5	0.28	19 171	22	1.15 <sup>†</sup>	303% <sup>‡</sup>
Victoria	312 581	502	1.61	396 693	1999	5.04 <sup>†</sup>	214% <sup>‡</sup>
Tasmania	30 123	17	0.56	30 615	15	0.49 <sup>†</sup>	–13%
<i>Australia</i>	<i>1 294 378</i>	<i>1580</i>	<i>1.22</i>	<i>1 566 167</i>	<i>9947</i>	<i>6.35</i>	<i>420%</i>

\* Medicare item codes: 30278, 30281, 52081, 52084. † Compared with rate for Australian Capital Territory:  $P < 0.001$ . ‡ Calculations used unrounded rates for 2006 and 2016. For all states and territories, except Tasmania:  $P < 0.001$ . ♦

Tableau 4 : Comparaison des proportions de frénatomies réalisées pour 1000 enfants entre 0 et 4 ans dans les différentes régions d'Australie, en 2006 et 2016 (Source : Kapoor et al. 2018).

### 1.2.4.1.3 Causes

Parmi les causes supposées d'ankyloglossie qui est une maladie congénitale, on retrouve les causes tératogènes et les causes héréditaires.

#### Tératogènes

La cause tératogène documentée est la consommation de cocaïne chez les mères de nouveaux-nés atteints ; ainsi, indépendamment des facteurs de sexe et d'éthnie, l'ankyloglossie est 3,5 fois plus présente chez les enfants de mères consommatrices de cocaïne que chez les autres enfants (Harris et al. 1992). Une diminution des mitoses et du taux de croissance pourrait expliquer l'apparition d'ankyloglossie dans ce cadre.

#### Héréditaires

OMIM (*Online Mendelian Inheritance in Man*) est une base de données chez l'Homme en ligne des cas référencés pour chaque affection dont la cause est supposée génétique et afin d'établir des hypothèses quant aux modes de transmission génétiques par l'analyse des pedigrees. L'ankyloglossie est référencée sous le numéro 106280 (303400 si ankyloglossie associée à une fente palatine) et OMIM répertorie les cas cliniques décrits et les modes de transmission génétiques supposés.

A ce jour, cette affection congénitale est supposée héréditaire (Han et al. 2012) mais son mode de transmission n'a pas été élucidé avec certitude. En outre, on retrouve des cas sporadiques qui concernent très majoritairement des hommes : lors d'une étude réalisée via des questionnaires remplis par 166 patients atteints



d'ankyloglossie (106 hommes et 60 femmes) afin d'établir les liens familiaux avec d'autres atteints, on a obtenu un sex-ratio homme/femme de 1.2 :1.0 chez les patients qui avaient un collatéral atteint contre un sex-ratio homme/femme de 2.9 : 1.0 chez les patients qui n'avaient pas de collatéral atteint (Klockars et Pitkaranta 2009).

Neuf études ont été menées sur des familles en vue d'établir le mode de transmission de l'ankyloglossie. Deux modes de transmissions probables se détachent : d'une part, un mode autosomique dominant à pénétrance incomplète ou récessif (Klockars et Pitkaranta 2009; Devasya et Sarpangala 2017; Klockars, 2007; Lenormand et al. 2018; Morowati et al. 2010; Acevedo et al. 2010; Keizer, 1952) ; d'autre part, un mode dominant ou récessif lié à l'X (Gorski et al. 1994; Stanier et al. 1993; Han et al. 2012) dans le cadre d'ankyloglossie associée ou non à une fente palatine (dite « CPX »).

Le mode autosomique dominant à pénétrance incomplète ou récessif est supposé dans des familles dans lesquelles l'affection touche autant les femmes que les hommes, avec des sauts de générations (qui peuvent être dus à la pénétrance incomplète ou à la récessivité) (Figure 10).

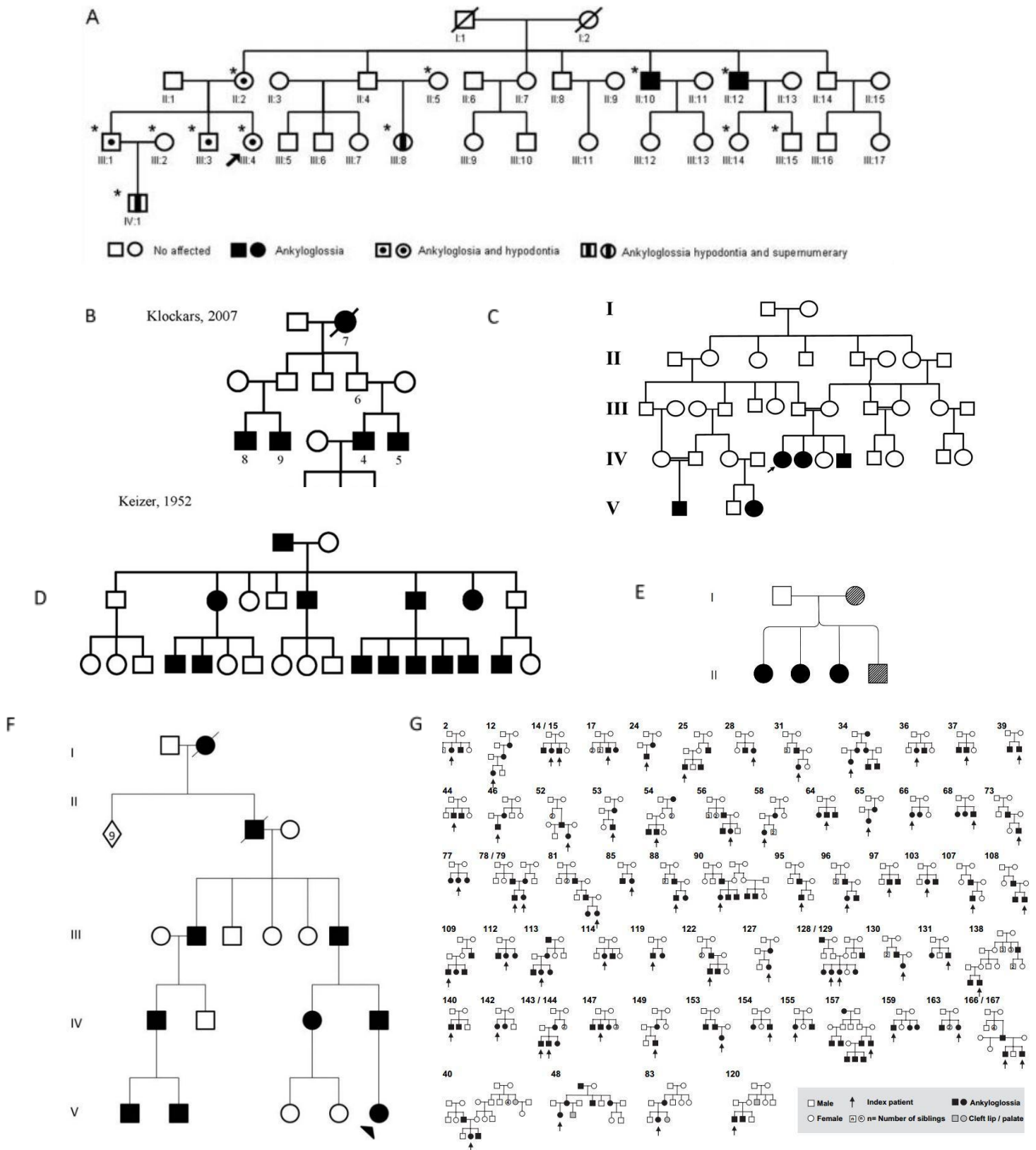


Figure 10 : Pedigrees des familles atteintes d'ankyloglossie, desquels un mode de transmission autosomique dominant à pénétrance incomplète ou récessif a été déduit chez l'Homme (Sources : Keizer, 1952 ; Klockars, 2007 ; Klockars et Pitkaranta, 2009 ; Morowati et al. 2010; Acevedo et al. 2010 ; Devasya et Sarpangala, 2017 ; Lenormand et al. 2018).

Légende : la flèche noire indique le premier individu identifié comme porteur, les carrés représentent des hommes et les ronds des femmes, un remplissage uni noir indique un individu atteint, blanc un individu sain et rayé un statut inconnu. Un point signifie une hypodontie rapportée chez l'individu ; une bande noire verticale une hypodontie associée à des dents surnuméraires ; un double trait de liaison signifie un mariage consanguin ; une étoile marque un individu examiné par un médecin.

A : pedigree issu de (Acevedo et al. 2010) ; B : pedigree issu de (Klockars, 2007) ; C : pedigree issu de (Morowati et al. 2010) ; D : pedigree issu de (Keizer, 1952) ; E : pedigree issu de (Devasya et Sarpangala, 2017) ; F : pedigree issu de (Lenormand et al. 2018) ; G : pedigree issu de (Klockars et Pitkaranta, 2009)

Le mode dominant ou récessif lié à l’X est supposé suite à l’étude de familles dans lesquelles l’affection touche davantage les hommes que les femmes, avec pour hypothèse qu’une mutation récessive sur l’X entraîne un phénotype malade chez les hommes tandis qu’il faudrait une homozygotie de ce même gène muté chez les femmes pour entraîner un phénotype malade (Figure 11).

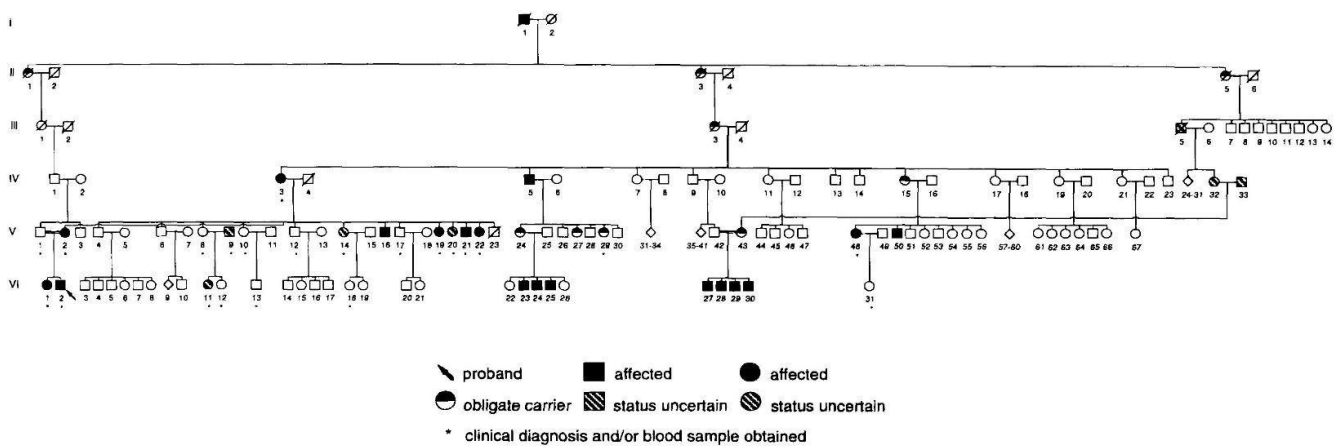


Figure 11 : Arbre généalogique d'une famille atteinte de CPX (X linked cleft palate) (Source : Gorski et al. 1994).

Légende : la flèche noire indique le premier individu identifié comme porteur, les carrés représentent des hommes et les ronds des femmes, un remplissage uni noir indique un individu atteint, mi-noir mi-blanc un individu porteur sain et rayé un statut inconnu. La présence d'un point sous l'individu signifie qu'un diagnostic clinique a été réalisé et/ou du sang a été prélevé.

A l’heure actuelle chez l’Homme, deux gènes sont candidats pour être porteurs d’une mutation responsable de l’ankyloglossie : *TBX22* et *LGR5* (Braybrook et al. 2001; Morita et al. 2004).

Le gène *TBX22* est un gène de la famille T-box (gènes du début du développement embryonnaire), localisé sur le chromosome X au locus Xq21.1 (Gene: *ToolBox22* (ENSG00000122145) - Summary - Homo sapiens - Ensembl genome browser 106 2022). Il est impliqué dans l’organisation des structures crânio-faciales dont notamment la palatogenèse et la glossogenèse (Herr et al., 2003). Les protéines issues de la transcription des gènes T-box sont des activateurs de la transcription de certaines protéines : notamment la protocadhérine paraxiale (PAPC), une protéine transmembranaire qui intervient dans l’adhésion sélective des cellules et le mouvement des cellules lors du développement embryonnaire ; et la

famille de protéines FGF (*fibroblast growth factor*) qui activent la migration et la multiplication des cellules-cibles (Smith, 1999). Le gène *TBX22* intervient dans le cadre de l'ankyloglossie dite « CPX » (mode dominant ou récessif lié à l'X où l'ankyloglossie est associée à une fente palatine) ; il a été identifié dans les familles sus-citées (Gorski et al. 1994) par hybridation par fluorescence, localisé sur la partie proximale du bras long du chromosome X, entre *DXS159* et *DXS3* ou entre *PGK1* et *DXYS1X* respectivement pour les familles Manitoba Mennonite et de Colombie-Britannique (Gorski et al. 1994). A l'aide de YAC (« *yeast artificial chromosome* » : chromosome artificiel issu de levure) créés spécifiquement pour s'étendre sur les 3 Mb que représentent les marqueurs *DXS1002* et *DXYS1X*, la position exacte du gène à l'origine de CPX a pu être précisée (Forbes et al. 1996).

Le gène *LGR5*, localisé sur le chromosome 12, au locus 12q21.1 (*Gene: Leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor 5 (ENSG00000139292) - Summary - Homo sapiens - Ensembl genome browser 106 2022*), code pour une protéine transmembranaire majeure servant de récepteur notamment dans le cadre du développement embryonnaire, dont le ligand précis n'est pas connu à ce jour (pourrait intervenir dans l'interaction avec les hormones glycoprotéiques telles que FSH, LH et TSH). La protéine *LGR5* est très conservée chez les mammifères, et comporte 7 sections avec un grand domaine extracellulaire N-terminal. Chez des souris chez qui *LGR5* a été inactivé, une ankyloglossie a été observée (cf 1.1.4.1) (Morita et al., 2004).

Néanmoins, une autre étude a exclu ces deux gènes dans le cadre d'une analyse de pedigrees combinée à une recherche de marqueurs microsatellites (Lenormand et al. 2018). Les patients de cette famille présentaient une ankyloglossie associée ou non à l'absence des incisives centrales de la mâchoire inférieure. Or, d'une part une transmission par mutation de *TBX22* n'était pas possible car on observait dans les pedigrees des transmissions père-fils qui excluent donc une atteinte portée par l'X ; d'autre part, une analyse de liaison utilisant 4 marqueurs microsatellites (*D12S2195*, *D12S1711*, *D12S80*, *D12S2206*) situées à proximité du gène *LGR5* ont permis d'exclure une liaison entre ce locus et le phénotype de l'ankyloglossie. On en conclut donc que d'autres mécanismes génétiques peuvent être à l'origine d'une ankyloglossie : il s'agit probablement d'une maladie génétiquement hétérogène.

#### 1.2.4.1.4 Conséquences

L'ankyloglossie a un impact important sur les enfants concernés, d'une part par les difficultés que cela crée pour téter au sein, d'autre part il est supposé par certains auteurs qu'une bonne mobilité linguale est nécessaire pour s'exprimer oralement.

Les difficultés d'allaitement sont la problématique majeure pour les nouveaux-nés atteints d'ankyloglossie car elles entraînent des douleurs au niveau des tétons de la mère, une prise de poids diminuée de l'enfant et un sevrage précoce (Messner et al. 2000). Une étude prospective réalisée dans une maternité entre 2014 et 2015 a recueilli les témoignages (score d'allaitement et questionnaire) de 776 mères dont 345 exprimant des difficultés au niveau de l'allaitement de leur enfant ; en parallèle, des HATLFF ont été réalisés sur les enfants. On observe une part significative d'enfants atteints d'ankyloglossie parmi les couples mères-enfants décrivant des problèmes sévères d'allaitement (odds-ratio : 2,6 ; P = 0,014) (Schlatter et al. 2019). Des résultats équivalents ont été obtenus pour les paramètres suivants : faible poids de naissance, pas d'expérience précédente d'allaitement, enfant prématuré. On en conclut que l'ankyloglossie a un impact significatif dans le cadre des problèmes sévères d'allaitement chez l'enfant (Schlatter et al. 2019).

Les difficultés d'élocution, quant à elles, sont un sujet controversé quand on parle des conséquences de l'ankyloglossie. Seuls 23% des pédiatres s'accordent à dire qu'il y a un impact de l'ankyloglossie pour l'élocution de l'enfant. Une revue a été réalisée au *West China Hospital of Stomatology* en proposant une relecture d'articles scientifiques depuis août 2020, permettant la sélection de 3 études à analyser qui comparaient l'incidence de problèmes d'articulation entre des enfants atteints d'ankyloglossie et des enfants sains. Parmi ces 3 études, 2 utilisaient des tests objectifs d'articulation pour évaluer les problèmes d'élocution, comme le TPT (test de phonologie) et le DEAP (sous-test d'évaluation diagnostique de l'articulation et de la phonologie) ou une évaluation de la prononciation des « r ». La dernière étude utilisait a contrario une méthode subjective en demandant aux parents d'évaluer la qualité de l'élocution de leur enfant avec l'échelle de Likert (Wang et al., 2022). Tandis que les premières études concluaient à une absence de différence significative entre les enfants atteints d'ankyloglossie et les enfants sains, la dernière concluait à une différence significative dans la perception de la qualité d'élocution

des enfants selon leurs parents. A ce jour, il n'est donc pas possible de conclure avec certitude sur une fréquence supérieure de difficultés d'élocution chez les enfants atteints d'ankyloglossie (Wang et al., 2022).

#### 1.2.4.1.5 Prise en charge

La prise en charge de l'ankyloglossie chez le nouveau-né est un sujet controversé. Avant d'envisager des prises en charge au niveau de l'enfant, il faudrait proposer un soutien et une formation aux mères qui vont allaiter. Il est possible, en fonction du diagnostic posé et de la sévérité de l'affection, de réaliser une chirurgie dont les modalités sont variables (frénotomie, frénectomie) ou de choisir de ne pas intervenir chirurgicalement et de mettre en place une thérapie orthophonique. A ce jour, aucune étude n'a démontré l'efficacité de thérapies non-invasives comme de l'orthophonie dans le cadre de l'ankyloglossie (Haug et al., 2021).

Les techniques chirurgicales pour traiter l'ankyloglossie sont nombreuses et il n'existe pas de consensus concernant la technique la plus adaptée en fonction de la sévérité de l'ankyloglossie ou de l'âge du patient, qui est donc laissée à l'appréciation du clinicien (Junqueira et al., 2014). On distingue trois types de techniques : la frénotomie, qui est « conservative » ; la frénectomie, pour laquelle le frein est totalement excisé ; et la frénuoplastie (Belmehdi et al., 2018). Celles-ci peuvent être réalisées à la lame froide ou au laser et nécessiter une suture ou pas en fonction des saignements constatés (Ramoser et al. 2019).

L'efficacité des techniques chirurgicales décrites a été étudiée récemment, notamment par une étude rétrospective qui cherche à évaluer l'utilité de la frénotomie chez les nouveaux-nés et chez les enfants, avec un bilan à court-terme et un bilan à long-terme. Sur les 141 parents ayant répondu au questionnaire de court-terme pour leur enfant atteint et opéré, 86% rapportaient une amélioration des symptômes ; au long-terme, sur les 164 patients concernés, 82% des parents rapportaient une amélioration clinique également. En outre, la frénotomie est un acte peu invasif, rapide et considéré comme une procédure chirurgicale à risque per et post-opératoire faible. On peut donc envisager que la frénotomie soit une méthode fiable et améliorant rapidement les signes cliniques des enfants concernés. Il faut néanmoins signaler qu'il n'y avait pas ici de groupe témoin, pour lequel une ankyloglossie aurait été diagnostiquée et non traitée ; on ne peut donc pas conclure avec certitude que la frénotomie soit la meilleure méthode pour le traitement de

l'ankyloglossie (Ramoser et al. 2019). En parallèle, dans une autre étude, aucune différence n'a été constatée sur l'élocution entre un groupe d'enfants atteints opérés (frénectomie) et un groupe d'enfants atteints non-traités : ceci remet en cause non seulement l'effet de l'ankyloglossie sur l'élocution mais aussi l'utilité des procédures chirurgicales sur les effets de l'ankyloglossie sur l'élocution (Daggumati et al. 2019).

Enfin, la chirurgie quelle que soit la méthode présente des risques de complications post-opératoires comme des saignements, infections, lésion des canaux salivaires submandibulaires, sans parler du risque que la chirurgie ne corrige pas le problème initial (si l'ankyloglossie n'était pas la cause du trouble de l'allaitement ou du langage) (Haug et al. 2021). En outre, comme nous l'avons vu précédemment, le diagnostic d'ankyloglossie n'est pas standardisé et une tendance très forte à la hausse du nombre de cas diagnostiqués et opérés a été constatée ces dernières années ; c'est pourquoi, le 26 avril 2022, l'Académie Nationale de Médecine française a rédigé un communiqué intitulé « Coup de frein à la frénotomie linguale chez les nouveaux-nés et les nourrissons ! », appelant les professionnels de santé à la vigilance et proposant les recommandations suivantes : en l'absence de problème d'allaitement, ne pas opérer ; en présence de problème d'allaitement, réaliser une démarche diagnostique méthodique et complète et proposer en premier lieu des mesures conservatrices ; en cas d'échec des mesures conservatrices enfin, proposer la chirurgie en mettant en avant les inconvénients cités plus haut. En parallèle, des études doivent encore être menées afin d'établir une démarche diagnostique standardisée de l'ankyloglossie chez l'enfant (Académie nationale de Médecine, 2022).

#### 1.2.4.2 L'ankyloglossie chez les autres espèces

Des cas ont été décrits et étudiés ou pris en charge chez trois autres espèces : la souris, la vache et le dromadaire.

##### 1.2.4.2.1 La souris

Chez la souris, des études ont été menées pour identifier les gènes à l'origine des malformations congénitales craniofaciales dans leur globalité, ce qui comprend entre autres les malformations de la langue dont l'ankyloglossie fait partie.

Comme nous l'avons vu dans la partie 1.2.4.1.3, le gène *TBX22* a été étudié dans le cadre de l'ankyloglossie. Afin de déterminer les similitudes entre les séquences d'ADN du gène *TBX22* de la souris et de l'Homme, l'outil BLAST (« *Basic Local Alignment Search Tools* ») a d'abord été utilisé. Ce dernier est un programme qui permet la comparaison de séquences nucléotidiques ou protéiques entre elles à partir de bases de données et d'en calculer une différence statistique. Parmi les 4 séquences reconnues, a été identifié un marqueur du chromosome X qui permettait d'émettre l'hypothèse qu'il s'agissait d'une séquence murine orthologue à la séquence humaine. La comparaison des ADNc issus des sections codantes a montré 82% d'identité entre les séquences nucléotidiques et 72%/80% de similarité entre les séquences protéiques (Figure 12). Les deux séquences codantes étant similaires, il a été conclu que la souris constituerait un modèle satisfaisant pour visualiser l'action du gène *TBX22* (Braybrook et al., 2002).

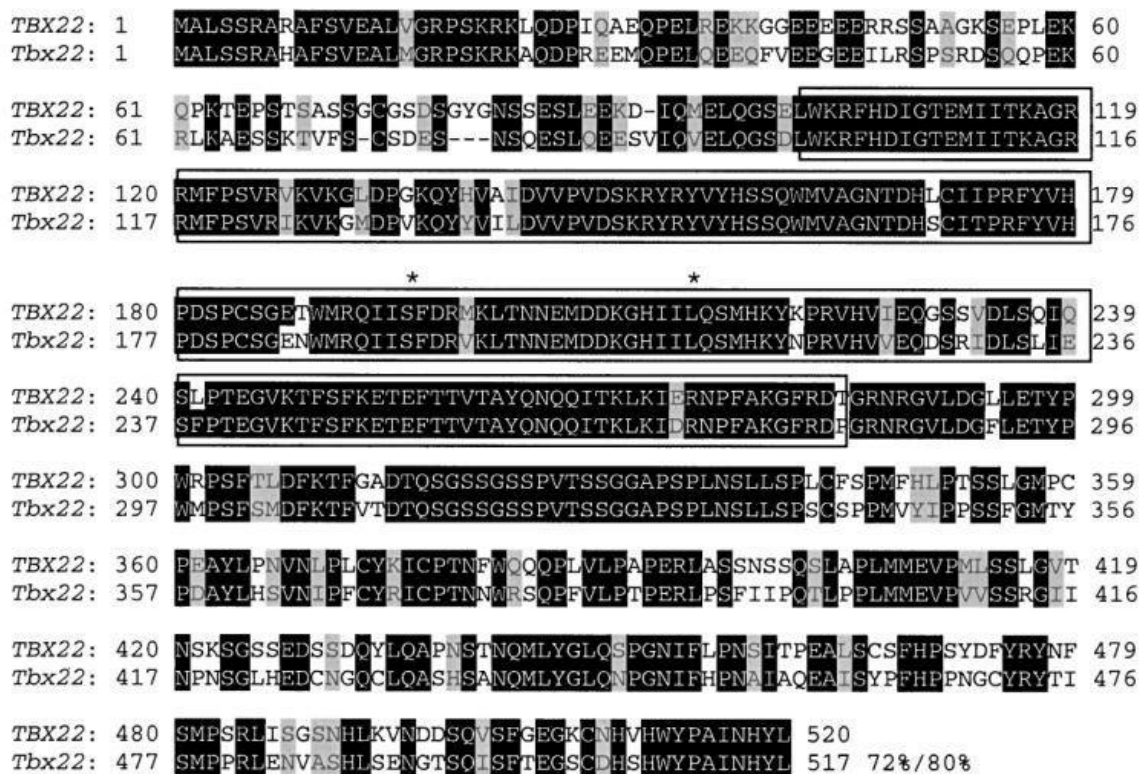


Figure 12 : Comparaison des séquences protéiques de *TBX22* chez l'Homme et la souris (Source : Braybrook et al., 2002).

La suite de l'étude a été consacrée à observer l'expression de *TBX22* au cours du développement embryonnaire de la souris à l'aide de RT-PCR réalisées sur l'ARN total de l'embryon prélevé entre les jours embryonnaires E7,5 et E16,5. Des faibles niveaux d'expression de *TBX22* ont été détectés à E9,5, E10,5, E12,5, E15,5 et E16,5. Aucune expression de *TBX22* n'a été détectée avant E8,5. Pour avoir une



meilleure perception de son expression dans l'espace, la présence de *TBX22* a été révélée sur des coupes crâniofaciales d'embryons. L'expression a été repérée en premier lieu dans les étages palatins latéraux et médial (E12,5), puis dans le mésenchyme palatin (E13,5). En particulier, l'expression est importante aux localisations où il y a une forte expression de *TGFB3*. Un autre site d'expression de *TBX22* est la partie antérieure de la langue, au niveau des cellules issues de la crête neurale du premier arc branchial, et tout particulièrement à la racine de la langue et donc son frein. A E14,5 l'expression de *TBX22* diminue dans les étages palatins et reste importante au niveau du frein de la langue ; puis elle apparaît graduellement au niveau des cellules qui constitueront les structures nasales (Figure 13) (Braybrook et al., 2002).

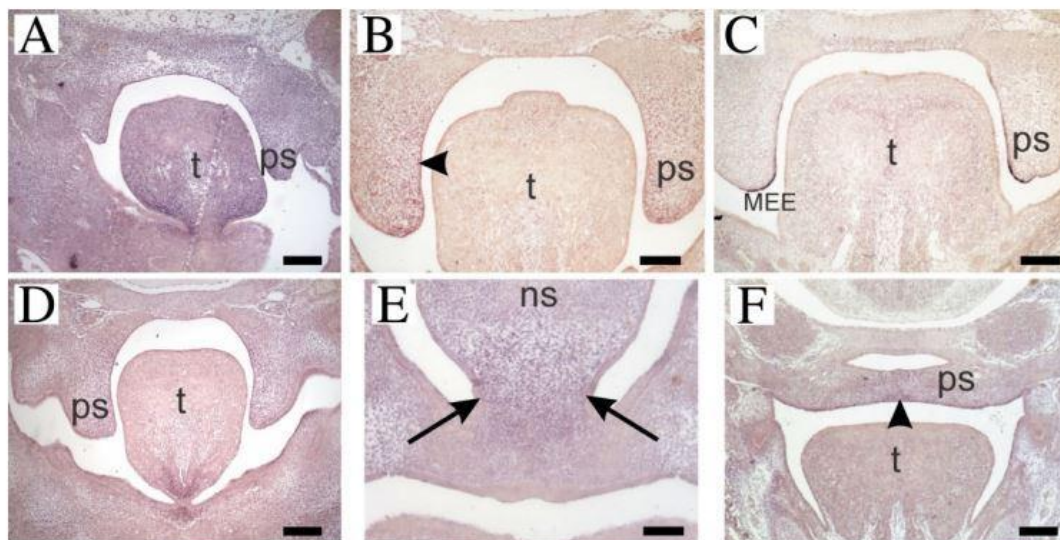


Figure 13 : Marquage de l'expression de *TBX22* sur des coupes histologiques d'embryons de souris entre le jour embryonnaire E12,5 et E17,5 (Source : Braybrook et al. 2002).

Légende : sections sagittales d'embryon de souris hybridé avec un marqueur de *Tbx22* à (A) : E12,5 ; (B) : E13,5 ; (D) : E14,5 ; (E et F) : E15,5. (C) : section sagittale d'embryon de souris à E13,5 hybridé avec un marqueur de *Tgfb3* : le signal est violet/marron. NS : septum nasal ; PS : étage palatal ; T : langue.

La perte de fonction de *TBX22* entraînerait des anomalies au niveau du palais (fente palatine) et/ou de la langue (ankyloglossie). On constate néanmoins que dans d'autres organes, la perte de fonction d'une protéine T-box peut-être compensée par une autre protéine de la même famille ; par exemple, *TBX1* est aussi exprimée lors du développement embryonnaire de la langue de la souris. Parmi les gènes ciblés par *TBX22* en aval, on a la famille des protéines TGF- $\beta$ , les EGF (« *epidermal growth factor* »), *PAPC* (protocadhérine paraxiale), et *BIX* (« *Brachyury-induced homeobox* ») (Braybrook et al. 2002).

Une étude menée en 2003 a permis de creuser le rôle de *TBX22* lors de l'embryogenèse de la langue chez la souris. L'expression de *TBX22* a été détectée par hybridation in situ au niveau de la bande de tissu reliant la surface de la langue au plancher de la gueule ; en particulier, des transcrits de *TBX22* ont été retrouvés dans les cellules mésenchymateuses de la base de la langue, le frein de la langue et la couche supérieure du plancher de la gueule (Herr et al., 2003).

Chez la souris, on décrit une autre cause d'ankyloglossie chez des individus dont le gène *LGR5* a été invalidé (cf partie 1.1.3.3). Pour invalider *LGR5*, l'exon numéro 18 (qui code pour les 7 sections transmembranaires de la protéine) a été remplacé par un transgène contenant une cassette de sélection. Suite à une RT-PCR pour évaluer l'expression du gène (en comparant des individus « sauvages » et des individus « invalidés »), les niveaux d'expression de *LGR5* obtenus chez les individus sauvages étaient significativement supérieurs à ceux des individus invalidés.

Concernant le phénotype, les nouveaux-nés invalidés présentaient une dilatation de l'abdomen avec un contenu aérien tandis que les nouveaux-nés sauvages avaient un contenu liquide (lait). Les souriceaux invalidés sont en outre décédés 24h après leur naissance alors que les sauvages ont survécu. Cette mortalité associée à la dilatation anormale de l'abdomen a fait émettre l'hypothèse d'une aérophagie due à des difficultés d'allaitement, donc la gueule a été examinée : il n'y avait pas de fente palatine mais une adhérence entre la surface ventrale de la langue et le plancher de la gueule a été objectivée. Des sections sagittales histologiques ont été examinées au microscope et la comparaison entre les individus sauvages et invalidés a permis d'identifier une fusion ventrale de la langue propre uniquement aux individus invalidés (Figure 14).

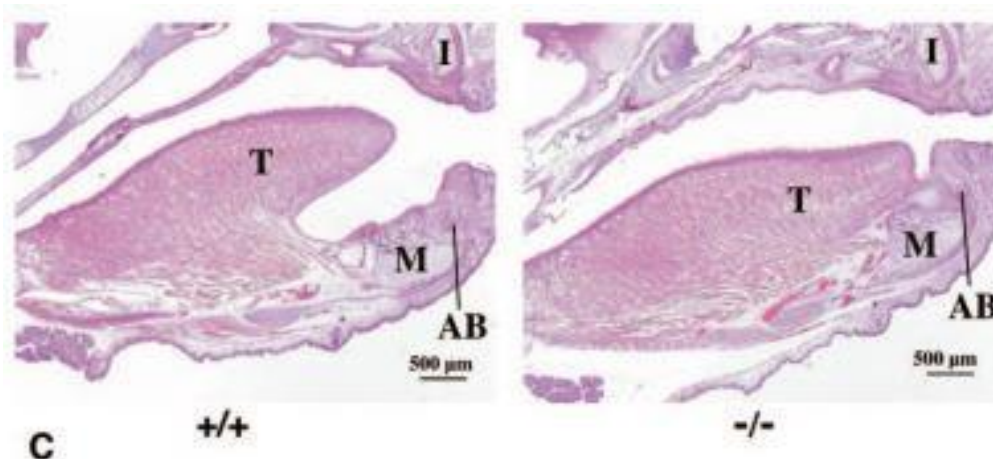


Figure 14 : Sections sagittales histologiques de gueule de souris, sauvage (+/+) et invalidée (-/-) pour *LGR5* (Source : Morita et al. 2004). Légende : +/+ : souris génotype sauvage pour *LGR5* ; -/- : souris génotype avec *LGR5* invalidé. T : langue, M : mandibule ; I : incisive, AB : os alvéolaire de l'incisive inférieure.

Pour déterminer si cette fusion pouvait être corrélée à l'absence du gène *LGR5*, son expression a été évaluée dans l'espace par immunomarquage chez des individus sauvages au cours du développement embryonnaire (E14,5) et observée dans l'épithélium de la langue et les cellules mésenchymateuses du plancher de la gueule.

Les souriceaux chez qui le gène *LGR5* codant pour une protéine réceptrice transmembranaire a été invalidé présentent une ankyloglossie phénotypiquement similaire à celle observée chez l'Homme, et que la protéine *LGR5* a une expression située au niveau de l'épithélium lingual et du plancher de la gueule. Ces informations permettent d'émettre l'hypothèse d'un rôle de signalisation de *LGR5* dans le cadre du développement embryonnaire de la langue (Morita et al. 2004).

Une autre étude sur des souris s'est intéressée au rôle de signalisation moléculaire de trois protéines, *Fgfr2b*, *Fgf10* (ligand de *Fgfr2b*) et *SHH*, dans le cadre du développement embryonnaire craniofacial. Pour cela des souris pour lesquelles un de ces trois gènes a été invalidé ont été utilisées, et ont obtenu systématiquement une fente palatine associée à une ankylose partielle de la langue due à un défaut de d'épithélialisation entre la surface ventrale de la langue et le plancher de la gueule, tandis que ça n'était pas le cas chez les souris sauvages élevées en parallèle. En outre, lorsqu'on observe l'expression de ces gènes au niveau craniofacial, on remarque que *Fgfr2b* est exprimé au niveau de l'épithélium du plancher de la gueule et de la langue à partir de E13, *Fgf10* au niveau du mésenchyme du plancher de la gueule et de la langue de E12 à E14 ; ces deux gènes sont donc exprimés à proximité, ce qui suggère des interactions fortes épithélium/mésenchyme. Dans ce cadre, *SHH* serait une cible de la signalisation par le couple *Fgfr2b*/*Fgf10*, car sa production dans l'épithélium est inhibée lorsque *Fgfr2b* ou *Fgf10* est invalidé (Rice et al. 2004).

#### 1.2.4.2.2 La vache

Un cas d'ankyloglossie a été rapporté à l'université de Shiraz en Turquie en 2011 sur un veau mâle Prim Holstein de 40 jours. Le signal d'appel était son incapacité à mouvoir sa langue à l'intérieur et à l'extérieur de sa gueule, ainsi que des difficultés lors de l'allaitement et de la prise de nourriture solide (dysphagie). Le veau présentait du ptyalisme depuis 20 jours et ne parvenait pas à meugler. Lors de l'examen clinique, le bout de la langue présentait une déviation ventrale et une forme

anormale avec présence d'un sillon. Enfin, il y avait une fine bande de tissu entre la surface ventrale de la langue et le plancher de la gueule, étendue du frein de la langue jusqu'à la gencive des incisives mandibulaires (Figure 15). Le veau ne présentait aucune autre anomalie associée et a retrouvé une fonction normale de la langue après une frénuloplastie dite « de l'horizontal vers le vertical ». L'article ne fournit pas d'informations sur les apparentés du veau concerné (Kiliç, 2011).



Figure 15 : Photographies du phénotype "ankyloglosse" chez un veau, vues rostale et latérale (Source : Kiliç, 2011).

#### 1.2.4.2.3 Le dromadaire

L'ankyloglossie a été diagnostiquée chez une femelle dromadaire de 7 mois référée au centre vétérinaire d'Al Qattara aux Emirats Arabes Unis. L'animal présentait des régurgitations lors de l'ingestion de nourriture sèche. A l'examen clinique, une incapacité à sortir la langue de la gueule a été objectivée. En parallèle, la chamelle présentait du ptyalisme et un retard de croissance. Le bout de la langue était dévié ventralement, et une fine bande de tissu attachait la surface ventrale de la langue au plancher de la gueule (Figure 16). Aucune autre anomalie anatomique ni fonctionnelle n'a été rapportée. Après une frénuloplastie dite « de l'horizontal vers le vertical », la chamelle a été capable de s'alimenter normalement et a eu une reprise normale de poids et de rumination. L'article ne fournit pas d'informations sur les apparentés de l'animal concerné ; pas d'informations cliniques sur ses ascendants non plus, seulement que la mère est morte après la mise-bas (Anwar et Purohit, 2012).



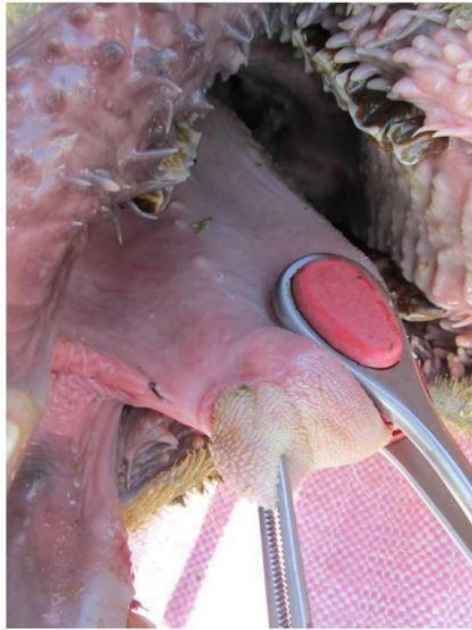


Figure 16 : Photographie du phénotype "ankyloglosse" chez un dromadaire (Source : Anwar et Purohit, 2012).

### 1.3 L'ankyloglossie chez le chien

Chez le chien, les seuls individus atteints d'ankyloglossie décrits sont des bergers Kangal. Ceux-ci sont des chiens de berger turcs utilisés pour garder les troupeaux, issus du groupe 2 (Chiens de type Pinscher et Schnauzer – Molossoïdes – Chiens de montagne et de bouviers suisses et autres races), section 2.2 (Molossoïdes, type montagne). Ces chiens fauves ou sables au masque noir sont des géants musculeux et au poil épais (*Chien de berger kangal* 2018). Une photographie est visible en figure 17.



Figure 17 : photographie d'un berger Kangal (Source : site internet de la Société Centrale Canine)

En France, le standard de la race a été revu en 2018, et le nom modifié ; auparavant, on parlait de « bergers d'Anatolie », et cette dénomination rassemblait un ensemble de chiens de berger turcs dont l'Akbash, le Karabash et le Kangal. Il est désormais avéré que ces races de chiens, apparentées les unes aux autres, possèdent pourtant une diversité génétique suffisante pour être considérées comme des races à part entière individuellement (Altunok et al. 2005).

### 1.3.1 Etude phénotypique

Dans les cinq études qui décrivent l'atteinte chez le berger Kangal, les animaux atteints présentaient le phénotype suivant : la langue était attachée au plancher de la gueule par une fine bande de tissu translucide, déviée ventralement, et présentait une incision en son milieu à son extrémité (langue dite « en W ») (Temizsoylu et Avki, 2003; Kilic et Sari, 2004). L'atteinte peut-être complète ou partielle (Alkan et al. 2013). Les signes cliniques associés sont de l'hypersalivation, une incapacité à sortir la langue de la gueule, une croissance diminuée, des difficultés lors de la prise de boisson et la prise alimentaire (Grundmann et Hofmann, 2006). On n'observe pas d'associations des cas d'ankyloglossie avec des fentes palatines ni des anomalies quant au nombre de dents des chiens concernés ; en revanche, les ankyloglossies étaient parfois associées à une langue bifide (Alkan et al. 2013).

L'ensemble des études décrivant des cas d'ankyloglossie chez le berger Kangal recensent 29 chiens (Temizsoylu et Avki, 2003 ; Kilic et Sari, 2004 ; Grundmann et Hofmann, 2006 ; Karahan et Çinar Kul , 2009 ; Alkan et al., 2013). Les 29 bergers Kangal atteints ont été diagnostiqués entre 2 mois et 23 mois de vie. Sur les 29 chiens, 8 étaient des mâles et 21 des femelles ; on a donc un sex-ratio de 3,8 : 1 (Tableau 5). Le sex-ratio est donc à l'inverse des valeurs obtenues pour l'Homme.

Le phénotype observé était une ankyloglossie complète (langue immobilisée depuis l'extrémité de sa partie libre) (Figure 18), dans 90% des cas (26/29). Les cas décrits étaient localisés pour leur grande majorité en Turquie, avec une exception pour un cas (Grundmann et Hofmann, 2006) en provenance d'Allemagne. L'incidence dans l'espèce canine et en particulier dans la race Kangal n'est pas connue à ce jour.

Numéro attribué	Sexe	Âge (mois)	Poids (kg)	Signes cliniques présentés	Phénotype	Source
1	Mâle	2	3,6	Faible gain de poids, difficultés d'allaitement	Ankyloglossie complète	Alkan et al. 2013
2	Femelle	2	2,9	Faible gain de poids, difficultés d'allaitement	Ankyloglossie complète	Alkan et al. 2013
3	Femelle	2	3,3	Faible gain de poids, difficultés d'allaitement	Ankyloglossie complète	Alkan et al. 2013
4	Mâle	2	2,8	Faible gain de poids, difficultés d'allaitement	Ankyloglossie complète	Alkan et al. 2013
5	Femelle	2	3,4	Faible gain de poids, difficultés d'allaitement	Ankyloglossie complète	Alkan et al. 2013
6	Mâle	5	Non renseigné	Enroulement de la langue, dysphagie	Ankyloglossie complète	Grundmann et Hofmann, 2006
7	Femelle	6	Non renseigné	Hypersalivation, faible gain de poids, dysphagie	Ankyloglossie complète	Kilic et Sari, 2004
8	Femelle	6	14,5	Faible gain de poids, dysphagie	Ankyloglossie partielle	Alkan et al. 2013
9	Femelle	7,5	21,6	Hypersalivation, faible gain de poids, dysphagie	Ankyloglossie complète	Temizsoylu et Avki, 2003
10	Mâle	8	23,1	Hypersalivation, faible gain de poids, dysphagie	Ankyloglossie complète	Temizsoylu et Avki, 2003
11	Mâle	8	25,7	Hypersalivation, faible gain de poids, dysphagie	Ankyloglossie complète	Temizsoylu et Avki, 2003
12	Femelle	18	30,3	Faible gain de poids, dysphagie	Ankyloglossie partielle et lingua bifida	Alkan et al. 2013
13	Femelle	23	38,5	Faible gain de poids, dysphagie	Ankyloglossie partielle et lingua bifida	Alkan et al. 2013
14	Mâle	Non renseigné	Non renseigné	Non renseigné	Ankyloglossie complète	Karahan et Çinar Kul, 2009
15	Mâle	Non renseigné	Non renseigné	Non renseigné	Ankyloglossie complète	Karahan et Çinar Kul, 2009
16	Femelle	Non renseigné	Non renseigné	Non renseigné	Ankyloglossie complète	Karahan et Çinar Kul, 2009
17	Femelle	Non renseigné	Non renseigné	Non renseigné	Ankyloglossie complète	Karahan et Çinar Kul, 2009
18	Femelle	Non renseigné	Non renseigné	Non renseigné	Ankyloglossie complète	Karahan et Çinar Kul, 2009
19	Femelle	Non renseigné	Non renseigné	Non renseigné	Ankyloglossie complète	Karahan et Çinar Kul, 2009
20	Femelle	Non renseigné	Non renseigné	Non renseigné	Ankyloglossie complète	Karahan et Çinar Kul, 2009
21	Femelle	Non renseigné	Non renseigné	Non renseigné	Ankyloglossie complète	Karahan et Çinar Kul, 2009
22	Femelle	Non renseigné	Non renseigné	Non renseigné	Ankyloglossie complète	Karahan et Çinar Kul, 2009
23	Femelle	Non renseigné	Non renseigné	Non renseigné	Ankyloglossie complète	Karahan et Çinar Kul, 2009
24	Femelle	Non renseigné	Non renseigné	Non renseigné	Ankyloglossie complète	Karahan et Çinar Kul, 2009
25	Femelle	Non renseigné	Non renseigné	Non renseigné	Ankyloglossie complète	Karahan et Çinar Kul, 2009
26	Femelle	Non renseigné	Non renseigné	Non renseigné	Ankyloglossie complète	Karahan et Çinar Kul, 2009
27	Femelle	Non renseigné	Non renseigné	Non renseigné	Ankyloglossie complète	Karahan et Çinar Kul, 2009
28	Femelle	Non renseigné	Non renseigné	Non renseigné	Ankyloglossie complète	Karahan et Çinar Kul, 2009
29	Femelle	Non renseigné	Non renseigné	Non renseigné	Ankyloglossie complète	Karahan et Çinar Kul, 2009

Tableau 5 : Description des 29 cas renseignés d'ankyloglossie chez des bergers Kangal de 2003 à nos jours (Sources : compilation des données issues de Temizsoylu et Avki, 2003 ; Kilic et Sari, 2004 ; Grundmann et Hofmann, 2006 ; Karahan et Çinar Kul, 2009 ; Alkan et al., 2013).



Figure 18 : Photographie d'une ankyloglossie complète chez le berger Kangal (Source : Grundmann et Hofmann, 2006).

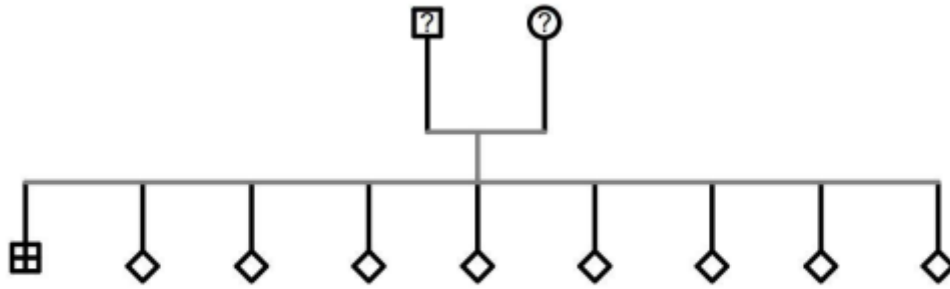
### 1.2.2 Etude génétique et moléculaire de l'ankyloglossie

D'une part, la présence de l'ankyloglossie au sein de familles de chiens sans qu'on ait connaissance d'exposition à des substances tératogènes suggère que l'ankyloglossie est, chez le berger Kangal, une affection héréditaire (Karahan et Çinar Kul, 2009). D'autre part, la localisation géographique éparse (chiens turcs, allemand et on le verra en partie 2, français), l'homogénéité clinique et la fréquence élevée au sein de lignées de chiens est également en faveur d'une transmission héréditaire de la maladie. Enfin, l'affection n'est décrite que chez le berger Kangal alors que celui-ci cohabite avec d'autres races de chiens dans les régions où l'affection a été diagnostiquée, ce qui signe une probable affection héréditaire.

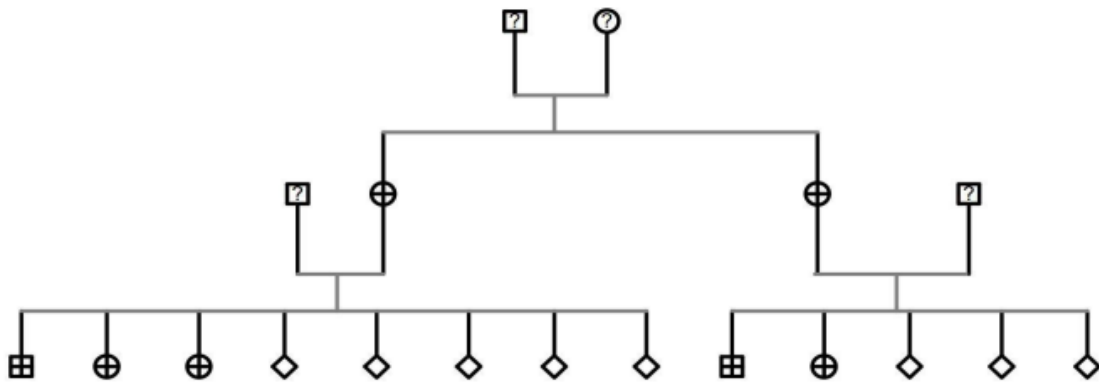
#### **Etude des pedigrees**

Pour 3 des études qui traitent d'ankyloglossie chez le berger Kangal, il est fait mention des ascendants et collatéraux des chiens atteints, ce qui permet de tracer des arbres généalogiques pour mieux comprendre la transmission de la maladie dans les familles de chiens (Figure 19).

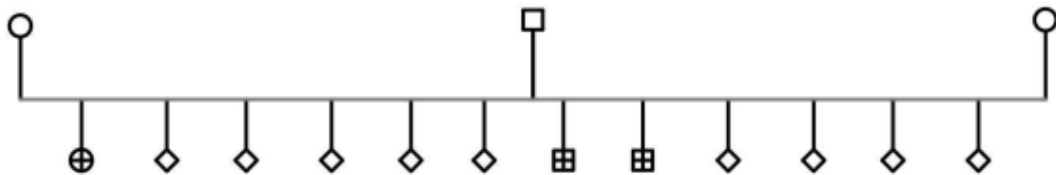




Pedigree issu de (Grundmann, Hofmann, 2006).  
Le statut des parents est inconnu.  
Les collatéraux sont tous sains.  
Réalisé avec Genopro 2020.



Pedigree issu de (Alkan et al., 2013).  
Le statut des parents et des mâles utilisés lors des mariages sont inconnus.  
Deux soeurs atteintes ont donné respectivement 3 chiots sur 6 et 2 chiots sur 5 atteints.  
Réalisé avec Genopro 2020.



Pedigree issu de (Temisoyzlu, Avki, 2003).  
Les parents sont sains.  
Les couples mâle/femelle ont donné respectivement 1 chiot et 2 chiots atteints par portée, pour un ensemble de 12 demi-frères et soeurs.  
Réalisé avec Genopro 2020.

Figure 19: Pedigrees issus des familles de bergers Kangal atteints d'ankyloglossie. Réalisé d'après (Temisoyzlu et Avki, 2003 ; Grundmann et Hofmann, 2006 ; Alkan et al., 2013) à l'aide de Genopro 2020.

Légende : carré pour mâle, rond pour femelle, losange pour sexe indéterminé ; croix pour atteint, vide pour sain, point d'interrogation pour statut phénotypique indéterminé

### Description :

Sur les quatre portées considérées, il y a 9 chiots atteints dont 5 mâles et 4 femelles : les proportions mâles/femelles atteints sont donc équivalentes. Deux types de familles se détachent : soit des portées pour lesquelles les parents ne sont pas

atteints et certains chiots le sont ; soit des portées pour lesquelles au moins la mère est atteinte, en plus des chiots. Dans les deux portées pour lesquelles les deux parents sont sains, respectivement 17% et 34% des chiots sont atteints. Dans les deux portées pour lesquelles au moins la mère est atteinte, respectivement 37,5% et 40% des chiots sont atteints.

### Problématiques :

A la lecture de ces pedigrees, on peut se poser les questions suivantes :

- L'atteinte est-elle héréditaire ?
- Le mode de transmission est-il monogénique lié au sexe ou autosomique ?
- Le mode de transmission est-il dominant ou récessif (si autosomique ou porté par l'X) ?
- Sinon, est-il autre (polygénique, maternel) ?

### Interprétation :

On peut supposer que l'atteinte est héréditaire car plusieurs élevages dans différents pays sont atteints et qu'il y a une forte prédisposition raciale, puisque les seuls cas d'ankyloglossie recensés chez le chien le sont chez le berger Kangal.

On voit que des femelles sont atteintes (pedigree issu de (Alkan et al., 2013)) : la mutation ne peut donc pas être portée par le chromosome Y. On peut exclure la transmission dominante par l'X car les chiots atteints auraient leur mère atteinte (pedigree issu de (Alkan et al., 2013)), sauf s'il y a pénétrance incomplète. On peut également exclure une transmission récessive par l'X car une fille est atteinte sans que son père ne le soit (pedigree issu de (Temisoyzlu et Avki, 2003)). Un mode de transmission lié au sexe est donc peu probable.

Il ne peut pas être autosomique dominant car il y a des chiots atteints avec les deux parents sains (pedigree issu de (Temisoyzlu et Avki, 2003)), sauf à ce que la pénétrance soit incomplète. En outre, les deux sexes sont affectés. On ignore néanmoins si les deux sexes transmettent la maladie et si des sauts de générations ont lieu ou si l'affection est généralement transmise d'un parent affecté vers ses chiots : il nous faudrait pour cela étudier plus de familles. On ne peut donc pas conclure quant à un mode autosomique dominant à pénétrance incomplète ou récessif : les deux restent possibles.

Enfin on peut exclure une maladie mitochondriale car il y a des cas de chiots atteints, fils de mères non atteintes (pedigree issu de (Grundmann et Hofmann, 2006)). Il n'est en revanche pas possible d'exclure d'autres hypothèses comme une hérédité multifactorielle.

On peut également se demander si les différentes formes observées d'ankyloglossie chez le Kangal (complète ou partielle, associée ou non à une langue bifide) sont la conséquence d'une expressivité variable d'un même génotype ou a contrario la conséquence de gènes différents, comme observé chez la souris (pour rappel, *TBX22* et *LGR5* cf partie 1.2.4.2.1).

### **Etude histologique et moléculaire**

Une molécule potentiellement impliquée dans l'ankyloglossie chez le berger Kangal a été isolée dans une étude de 2009 : les  $\alpha$ B-crystallines (codées par le gène *CRYAB*). Pour ce faire, parmi 16 bergers Kangal atteints d'ankyloglossie complète (pas d'autres anomalies rapportées) issus de deux familles de chiens, 5 ont reçu une frénectomie qui a permis l'obtention de freins « ankyloglosses » pour analyse histologique et immunohistochimique. A l'histologie, on observe un épithélium stratifié squameux d'épaisseur variable en fonction des chiens, un tissu conjonctif irrégulier lâche à dense composé de lamina propria et des fibres musculaires squelettiques à proximité de fibres de collagène épaisses. A l'analyse immunohistochimique, les  $\alpha$ B-crystallines ont été retrouvées exclusivement dans les fibres musculaires squelettiques, avec une localisation sarcoplasmique exclusive (Karahan et Çinar Kul, 2009) (Figure 20). Néanmoins, aucun chien témoin n'a été prélevé (par exemple, frein de langue d'un chien sain).

Les  $\alpha$ B-crystallines appartiennent à la famille des sHsps. Cette famille rassemble des protéines chaperonnes pouvant empêcher l'agrégation irréversible, causée par la chaleur ou le stress, de petites protéines dénaturées. Elles maintiennent l'activité des protéines concernées (Dahiya et Buchner 2019). En particulier, les  $\alpha$ B-crystallines permettent le maintien de la stabilité cellulaire en s'associant avec des éléments du cytosquelette tels que les microtubules, l'actine, la vimentine, et la desmine. En outre, elles interviennent dans les mécanismes anti-apoptotiques en inhibant l'activité de la caspase 3 (protéine du déclenchement de l'apoptose cellulaire) et en empêchant la translocation des protéines mitochondriales P53 (protéines pro-apoptotiques).

Ils émettent donc l'hypothèse que les  $\alpha$ B-crystallines, localisées dans les fibres musculaires squelettiques sont impliquées dans un retard ou une interférence avec l'apoptose et en particulier la résorption de ces fibres musculaires, qui aurait dû avoir eu lieu à la fin du développement embryonnaire de la langue (Karahan et Çinar Kul, 2009).

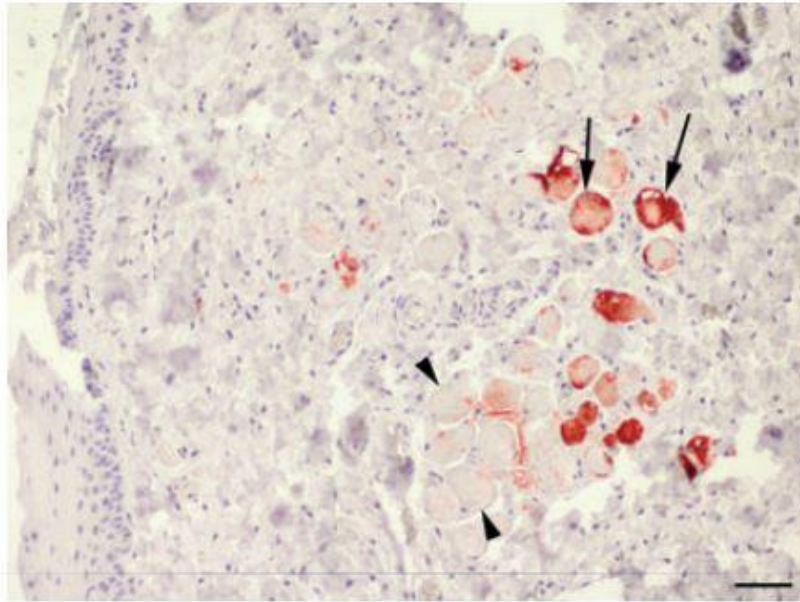


Figure 20 : Marquage des  $\alpha$ B-crystallines par immunoréactivité sur une coupe histologique de frein de langue de berger Kangal (Source : Karahan et Çinar Kul, 2009).

## 2. Partie expérimentale

Les mécanismes génétiques à l'origine de l'ankyloglossie chez le chien sont inconnus à ce jour. Dans le cadre de notre étude, nous sommes partis du constat d'une hausse de la fréquence de l'affection au sein de la race berger Kangal en France, signalée par le club de race du berger Kangal. Une éleveuse en particulier avait constaté une récurrence de cas dans ses lignées de chiens depuis 2013, et souhaitait s'investir dans la recherche des causes génétiques à l'origine de cette affection.

Notre objectif a donc été d'investiguer le plus largement possible la cause génétique de l'ankyloglossie chez le berger Kangal, en collectant les données phénotypiques et les pedigrees des chiens atteints et de leurs apparentés sur un nombre important de chiens en France. Par ailleurs nous avons, dans la mesure du possible, collecté du matériel biologique sur ces chiens afin d'extraire et de stocker leur ADN.

Notre démarche a visé à rassembler dans un premier temps un maximum de données sur les chiens affectés et leurs apparentés non atteints et sur des chiens sains non apparentés, en se mettant en relation avec les éleveurs et propriétaires afin de mieux comprendre le phénotype de l'ankyloglossie chez le berger Kangal. Par la suite, nous avons pu établir des arbres généalogiques rassemblant ces différentes familles de chiens dans le but d'étudier le mode de transmission de cette maladie chez le berger Kangal. En parallèle de cela, nous avons réalisé des prélèvements (frottis buccaux) sur plusieurs chiens dont nous avons extrait l'ADN afin de les stocker dans la biobanque canine nationale Cani-DNA. Les données phénotypiques et génétiques pourront servir à réaliser des analyses génétiques dans le futur.

### 2.1 Matériel et méthodes

#### 2.1.1 Recrutement des cas

L'origine du recrutement des cas a été une éleveuse de berger Kangal, qui avait les données phénotypiques sur plusieurs portées qu'elle avait élevé. Les chiens avaient alors été phénotypés par le vétérinaire de cette éleveuse. En se fondant sur ses données initiales ainsi que sur la bibliographie pré-existante en matière d'ankyloglossie chez le berger Kangal dans d'autres pays du monde (cf partie 1.2.5),

nous avons pu créer un questionnaire informatisé à l'attention des éleveurs et propriétaires de bergers Kangal.

Ce questionnaire, rédigé en français et en anglais sur Google Form, permettait de recueillir les informations suivantes : coordonnées du propriétaire (facultatif), établissement du profil du chien (sexe, âge lors de la découverte de l'atteinte, signes cliniques et anatomiques présentés), coordonnées du vétérinaire ayant réalisé le diagnostic (facultatif), données généalogiques du chien concerné et consentement éclairé. Notre objectif était d'obtenir des réponses sur des chiens atteints et sur des chiens sains apparentés à des chiens atteints. Les questionnaires complets sont présentés en annexe. (annexes 1 et 2)

Le questionnaire a été très majoritairement relayé par la secrétaire du club de race du berger Kangal auprès des éleveurs du club de race en France, en Turquie, aux Etats-Unis et en Australie, mais aussi par mes soins notamment lors de la Nationale d'élevage du chien de berger Kangal qui a eu lieu en septembre 2021 à Paulmy (Indre-et-Loire). Ma présence à cet événement a permis d'interroger les éleveurs et propriétaires quant à leur connaissance de l'ankyloglossie, d'examiner les chiens présents sur place ainsi que de réaliser des prélèvements (frottis buccaux) sur ces derniers et récupérer des prélèvements (frottis buccaux) préalablement demandés par échange téléphonique avec certains éleveurs.

Nous avons été amenés à communiquer avec 11 éleveurs français, 1 éleveur turc et 3 éleveurs américains pour obtenir au total 29 questionnaires, avec en parallèle de nombreuses informations fournies indirectement. Nous n'avons pas eu de nouvelles du club de race australien qui avait également été contacté.

Des relances ont été réalisées régulièrement de mars à novembre 2021, mais il subsiste des erreurs (questionnaires remplis partiellement, absence de réponse parfois, chien intéressant non prélevé, doute sur le statut phénotypique) qui ont conduit à devoir retirer de notre analyse ces questionnaires incomplets.

Lors de la réception du questionnaire, il était proposé au répondant de lui envoyer un kit de prélèvement d'ADN pour le nombre de chiens souhaité. Si la personne était d'accord, un courrier avec un kit comprenant plusieurs cytobrosses était envoyé, ainsi qu'une fiche de renseignements (Annexe 3) à compléter et un formulaire explicatif du protocole de prélèvement de cellules buccales (Annexe 4). Des prélèvements ont été réalisés sur 23 chiens.

En matière d'échantillonnage, nous avons essayé d'obtenir des écouillons de chiens atteints, de chiens apparentés sains et non apparentés sains. Au final, nous avons obtenu la répartition suivante : 4 chiens atteints, 9 chiens apparentés sains, 10 chiens non apparentés sains (sont considérés comme non apparentés les chiens n'ayant ni ascendant ni descendant ni collatéral atteint). Parmi les non apparentés prélevés, deux n'apparaissent pas dans les arbres généalogiques car ils sont trop éloignés du reste de la famille (premier ancêtre commun éloigné d'au moins 6 générations).

Le nom complet des chiens étant demandé, il était possible par la suite de retrouver le pedigree complet avec ascendants, descendants et collatéraux par le biais du site internet de la Société Centrale Canine, LOF select (<https://www.centrale-canine.fr/lofselect/recherche-chien>).

Au besoin et quand cela était possible, les vétérinaires ayant phénotypé le chien ont également été contactés ; cela a permis de préciser le phénotype (ankyloglossie partielle ou complète et signes cliniques associés) ainsi que la prise en charge des chiens concernés.

#### 2.1.1.1 Réalisation des arbres généalogiques

Les pedigrees (ou arbres généalogiques) ont été construits à l'aide de la version gratuite du logiciel Genopro (version 2020). Les symboles utilisés étaient les suivants :

- Carré pour un mâle
- Rond pour une femelle
- Losange pour un sexe indéterminé
  
- Une croix pour remplissage pour un animal atteint d'ankyloglossie
- Pas de remplissage pour un animal sain confirmé
- Un point d'interrogation pour un animal au statut phénotypique inconnu
  
- Une couleur verte pour les animaux prélevés

Pour des raisons de confidentialité, les noms de tous les chiens identifiés dans les pedigrees ont été effacés.

## 2.1.2 Constitution d'une cohorte de chiens

### 2.1.2.1 Prélèvements de matériel biologique

Les prélèvements de matériel biologique en vue d'extraire de l'ADN étaient un écouvillon buccal réalisé par le propriétaire ou par nos soins.

Le protocole du prélèvement de cellules buccales par cytobrosse est présenté en annexe 4. Les propriétaires étaient invités à utiliser 2 brossettes pour des chiens sains et 3 pour des chiens atteints.

J'ai réalisé 9 des 23 écouvillonnages buccaux en Nationale d'élevage et le reste nous a été transmis par courrier ou en main propre après réalisation par le propriétaire directement. Les prélèvements réalisés par les propriétaires eux-mêmes présentent toujours le risque d'avoir été inversés quand un même propriétaire possédait plusieurs chiens.

### 2.1.2.2 Extraction d'ADN

L'ADN a été extrait à partir des frottis buccaux au laboratoire de génétique de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort (groupe 3, Unité de Biologie du système neuro-musculaire). Ces extractions ont été financées par la biobanque canine Cani-DNA faisant partie du CRB-Anim (<https://biosit.univ-rennes1.fr/centre-de-ressources-biologiques-crb-cani-dna>).

Le protocole était fondé sur l'utilisation de l'automate Maxwell de la société Promega®, qui peut extraire de l'ADN génomique à partir de prélèvements de type brossettes buccales ou coton-tiges buccaux secs. L'ADN est récolté après fixation sur des billes magnétiques, une lyse mécanique et des lavages achevés par une élution finale sans précipitation de l'ADN (Abitbol, 2015).

Les documents de référence ayant permis la mise en oeuvre du protocole sont les suivants : manuels techniques de l'automate et du kit associé, fiches de sécurité du thiocyanate de guanidine et de l'éthanol. Le protocole détaillé ainsi que la liste exhaustive du matériel utilisé sont présentés en annexe 5.



Les deux brochettes des animaux atteints ont été traitées séparément afin de ne pas risquer de perdre l'ADN en cas de problème technique.

Une fois extrait, nous avons vérifié la pureté de l'ADN obtenu à l'aide de l'automate Nanodrop™ One/C. Le guide d'utilisation Ozyme est fourni en annexe 6. Pour chaque échantillon, la concentration en ng/μL, les ratios A260/A280 et A260/A230, qui sont des rapports entre valeurs d'absorbance à différentes longueurs d'onde et qui, conjointement, caractérisent la pureté d'un échantillon d'ADN, ont été notés. A260/A280 doit être compris entre 1,8 et 2 pour valider la pureté de l'ADN, et A260/A230 doit être compris entre 2 et 2,2. En cas de variation de ces valeurs, une contamination par des protéines ou des réactifs (par exemple le thiocyanate de guanidine) est présente et peut être distinguée par leur absorbance aux différentes longueurs d'ondes.

Les échantillons obtenus ont été stockés (figure 21) à -20°C et les données associées à chaque échantillon archivées dans le logiciel de la biobanque LabCollector2. Pour chaque échantillon, sa position dans la boîte, les caractéristiques du chien concerné (race, âge, statut phénotypique, numéro d'identification etc), la concentration et le volume d'ADN extrait, les conditions d'extraction, les caractéristiques de pureté, etc, ont été référencés.

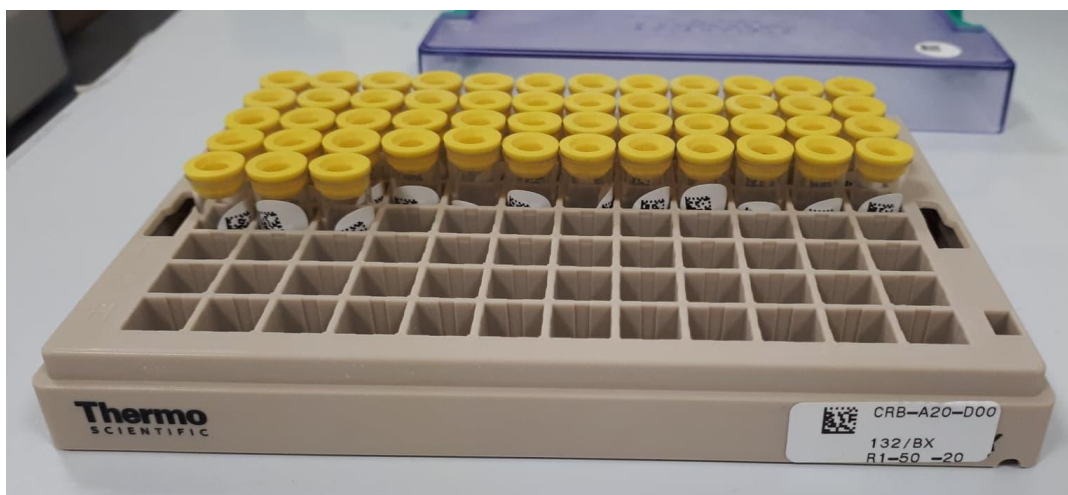


Figure 21 : Photographie des échantillons archivés dans la biobanque (Source personnelle).

### 2.1.2.3 Test statistique

Les nombres de chiens atteints et sains ont été comparés aux nombres attendus pour chaque mode de transmission discuté.

Les effectifs sont présentés dans des tableaux réalisés sur le modèle du tableau 6.

	Atteints	Sains	Total
Observé	$O_A$	$O_S$	$N$
Attendu	$A_A$	$A_S$	$N$

Tableau 6 : Modèle de tableau pour le calcul d'un Chi2 de comparaison entre un effectif observé et un effectif attendu.

$N$  = Nombre total d'individus observés

$O_A$  = Nombre de chiots atteints observés

$O_S$  = Nombre de chiots sains observés

$A_A$  = Nombre de chiots atteints attendus

$A_S$  = Nombre de chiots sains attendus

On calcule le Chi2 avec la formule suivante :  $D_{obs} = (O_A - A_A)^2 / A_A + (O_S - A_S)^2 / A_S$ .

On a deux degrés de liberté. Pour un niveau de confiance à 95% (risque d'erreur  $\alpha = 5\%$ ), on rejette l'hypothèse du mode de transmission étudié si  $D_{obs} > 5.9$ .

## 2.2 Résultats

### 2.2.1 Analyse des questionnaires

Parmi les 29 questionnaires obtenus, 23 ont été conservés ; nous avons écarté volontairement les questionnaires incomplets ou concernant des chiens sains sans aucun lien généalogique avec des chiens atteints. Sur les 23 questionnaires conservés, 21 proviennent de France et 2 des États-Unis. 19 questionnaires concernent des chiens atteints, qui nous permettent d'établir un profil phénotypique, épidémiologique et généalogique de l'affection.

### 2.2.1.1 Epidémiologie

#### Sexe

Sur les 19 questionnaires concernant des chiens atteints, 10 sont des femelles et 9 sont des mâles (sex-ratio selon les questionnaires : 0.9 :1.0) (Figure 22).

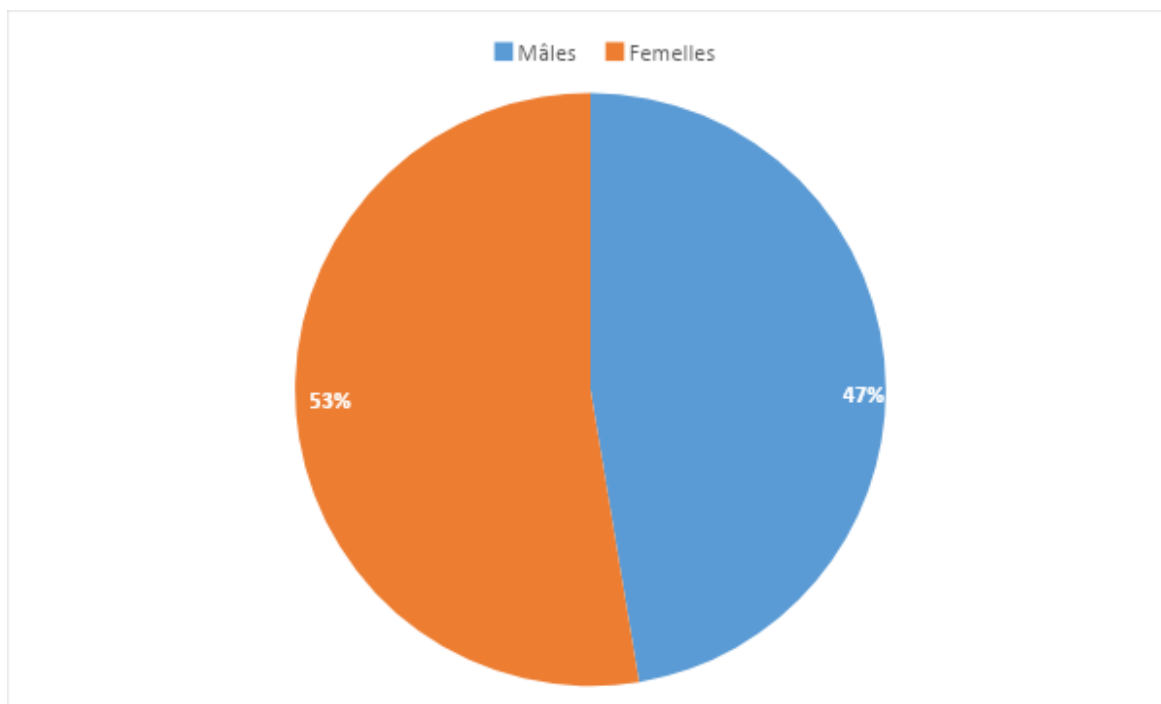


Figure 22 : Diagramme de la proportion mâles/femelles au sein du groupe « chien atteint d'ankyloglossie » (n=19). Source : personnelle, issue de l'analyse des questionnaires conservés.

Sur ce nombre modéré de chiens étudiés, nous n'observons pas de déséquilibre de sex-ratio.

#### Âge

Sur les 19 questionnaires concernant des chiens atteints, 17 ont fourni l'information de l'âge au moment du diagnostic. Pour 13 d'entre eux, le diagnostic a été réalisé à la naissance car l'éleveuse concernée connaissait bien l'affection ; une a reçu le diagnostic à deux mois ; deux ont reçu le diagnostic à 6 mois, consécutivement à l'apparition des signes cliniques ; une enfin a reçu le diagnostic à 14 mois, de même suite aux signes cliniques (Figure 23).

On observe donc deux groupes au sein des chiens atteints : ceux pour lesquels le diagnostic (et le traitement associé) sont réalisés avant l'apparition des premiers signes cliniques, et donc avant le départ du chiot de la portée (cela concerne alors les éleveurs, peu nombreux aujourd'hui en France et les seuls à être bien informés

sur l'ankyloglossie); et ceux pour lesquels le diagnostic et le traitement sont consécutifs à l'apparition des signes cliniques, au-delà de 6 mois.

### Nombre de chiens ayant reçu le diagnostic en fonction de leur âge (n=17)

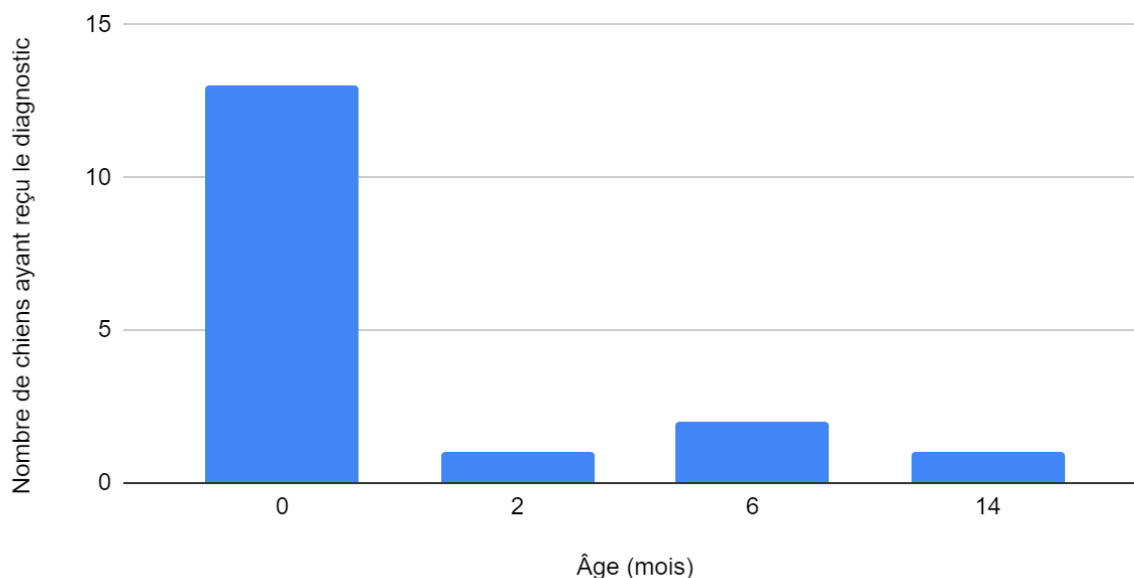


Figure 23 : histogramme présentant le nombre de chiens ayant reçu le diagnostic d'ankyloglossie en fonction de leur âge (n=17) (Source : personnelle).

#### 2.2.1.2 Phénotype

##### Type d'ankyloglossie

Sur les 19 questionnaires concernant des chiens atteints, 4 indiquent que le chien avait une ankyloglossie partielle et 15 indiquent que le chien avait une ankyloglossie complète (soit 79% d'ankyloglossie complète). On a donc des résultats comparables entre les données obtenues ici et la bibliographie en matière de phénotype d'ankyloglossie (valeurs de la bibliographie : 90% d'ankyloglossie complète).

Une photographie avait été fournie pour distinguer une ankyloglossie partielle d'une totale ; néanmoins, comme nous l'avons vu dans la partie 1.2.3, le diagnostic de l'ankyloglossie n'est pas standardisé à ce jour, donc la distinction des phénotypes « ankyloglossie partielle » et « ankyloglossie complète » a pu présenter des difficultés.

On remarque tout de même des phénotypes variés avec des freins de langue plus ou moins étendus vers l'extrémité libre de la langue : en figure 24, voici une

photographie d'un exemple d'ankyloglossie partielle fourni par le vétérinaire d'un de nos éleveurs.

On peut émettre l'hypothèse que ces phénotypes différents sont la conséquence soit d'une origine génétique différente (pas les mêmes gènes en jeu), soit d'une expressivité variable d'un même gène, soit le résultat de l'expression de plusieurs allèles et de l'environnement, dans le cas d'une affection complexe.

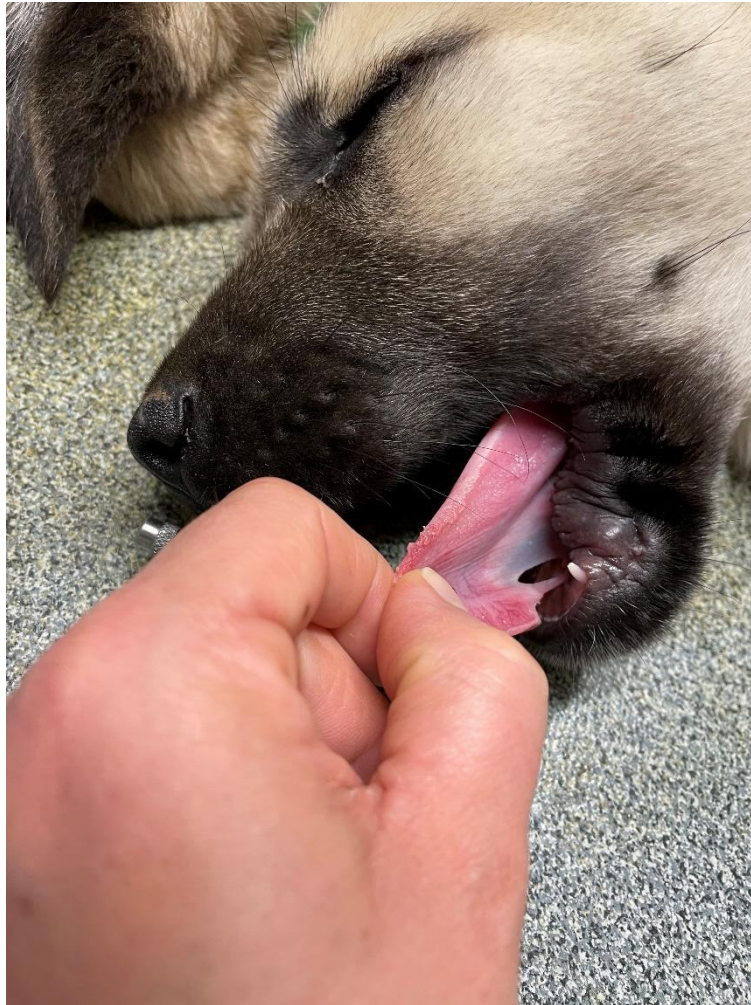


Figure 24: Photographie illustrant une ankyloglossie partielle chez un chiot de 2 mois (Source : Dr Estelle Udry).

### **Malformations associées**

Nous avons trouvé dans la bibliographie des malformations associées à l'ankyloglossie chez le chien et l'Homme : déformations de la face, fente palatine, langue bifide etc. Dans notre étude, aucune autre malformation associée n'a été rapportée dans les 19 questionnaires de chiens atteints, hormis une « langue en W » (conséquence d'une attache rostrale du frein).

## Signes cliniques

Chez 16 des 19 chiens atteints, aucun signe clinique n'a été rapporté. Ces chiens constituent le groupe « diagnostiqué prématurément » que nous évoquions précédemment. Chez les 3 chiens restants, les signes cliniques présentés étaient des difficultés pour s'alimenter et s'abreuver, associés pour le cas diagnostiqué le plus tardivement à un amaigrissement.

Contrairement à ce qu'on aurait pu penser avec la bibliographie, aucun retard de croissance et aucune hypersalivation n'ont été décrits. De plus, aucune modification de l'aboiement n'a été décrit (en parallèle aux difficultés d'élocution décrites chez l'Homme).

Il est intéressant de constater qu'un des chiots atteint d'ankyloglossie est décédé à 4 mois d'une occlusion intestinale ayant évolué en septicémie ; nous avons vu dans la partie 1.2.4.2.1 que des souris atteintes d'ankyloglossie étaient mortes suite à une dilatation abdominale dans le cadre d'une mutation du gène *LGR5* ; ceci pourrait soulever l'hypothèse d'une origine similaire à ces deux phénomènes.

## Prise en charge

Nous avons contacté les vétérinaires ayant réalisé le diagnostic et la prise en charge des chiens concernés ; nous avons obtenu des réponses pour deux d'entre eux, tous deux atteints d'ankyloglossie partielle : pour les deux, le traitement a été chirurgical avec pour l'un une incision réalisée au bistouri électrique et pour l'autre une section du frein de la langue réalisée au ciseau.

### 2.2.2 Arbre généalogique

A l'aide des données de généalogie collectées via les 23 questionnaires, nous avons pu construire un arbre généalogique rassemblant 167 chiens dont 119 ont été phénotypés (Figure 23). A noter qu'un certain nombre de chiens proviennent de l'étranger (Turquie notamment), et leurs pedigrees n'étaient pas accessibles sur LOF select.

Sur les 354 inscriptions au LOF en 2017 pour la race « Chien de berger d'Anatolie » (*Société Centrale Canine*), nous avons identifié 18 animaux atteints issus de portées nées en 2017 dans notre arbre généalogique, soit une prévalence minimale de 5 % cette année là. En comparaison, la prévalence minimale était de 1

% en 2013 et 2% en 2015 (calculs réalisés de façon similaire). Néanmoins ce chiffre est à nuancer : l'ankyloglossie n'est pas une affection très handicapante pour les chiens concernés, elle est peu connue des vétérinaires praticiens et son phénotype n'est à ce jour pas défini ; la prévalence obtenue est donc nécessairement une valeur minimale et probablement sous-estimée.

Le pedigree global est présenté en figure 26.

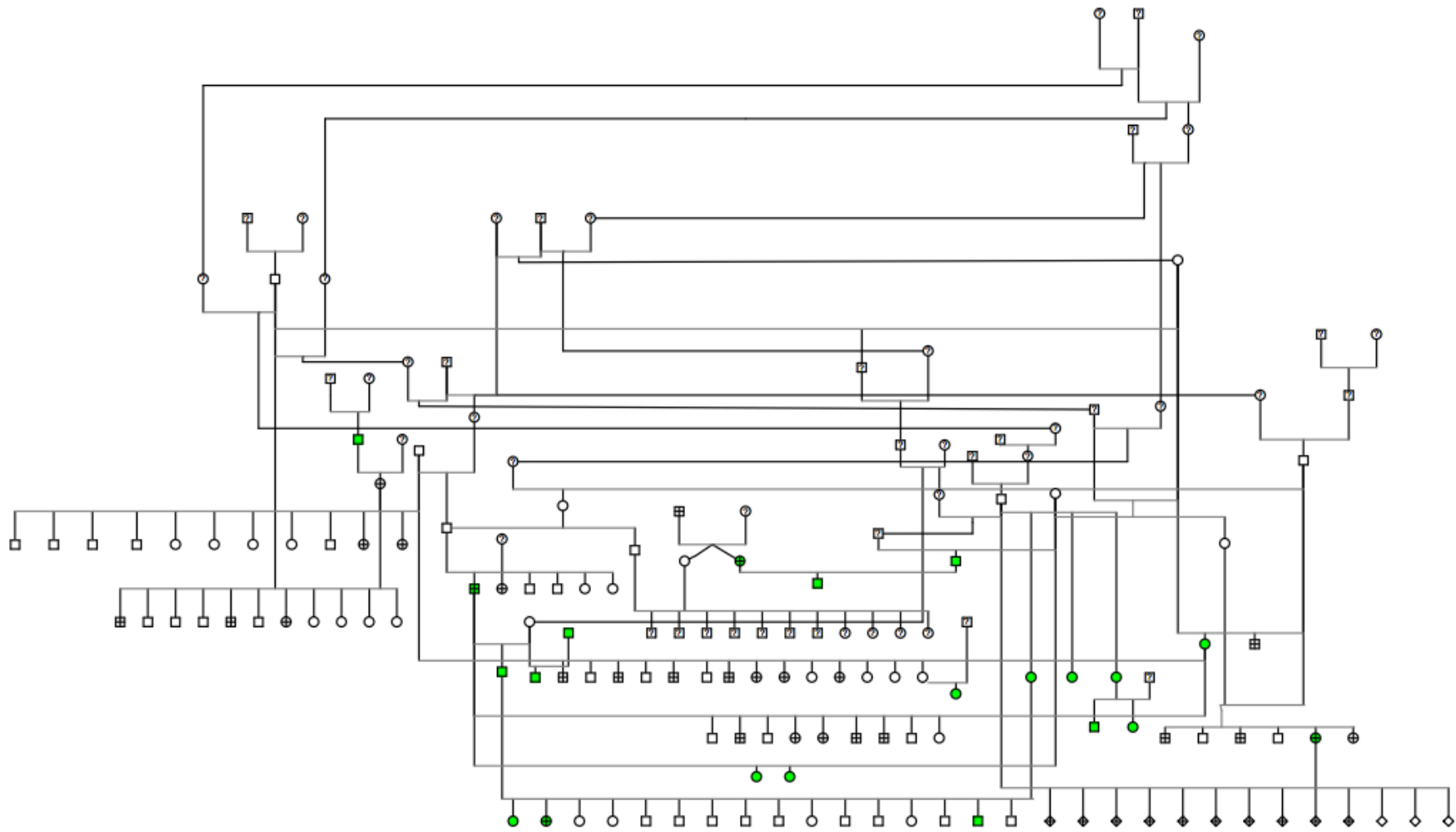


Figure 26 : Arbre généalogique d'une famille de bergers Kangal atteinte d'ankyloglossie. Réalisé avec Genopro à partir des pedigrees de LOF select et des éleveurs. Légende détaillée p57 (Source : personnel).



Parmi les 28 animaux atteints dont on connaît le sexe, il y a 14 mâles et 14 femelles, soit un sex-ratio de 1.0 :1.0.

Il y a 7 portées comprenant au moins un chiot atteint et pour lesquelles les informations sont complètes ; parmi celles-ci, il y a trois portées pour lesquelles seule la mère était atteinte ; trois portées pour lesquelles aucun des parents n'était atteint ; et une portée pour laquelle seul le père était atteint.

Lorsque l'on considère les portées issues d'un accouplement ayant donné au moins un chiot atteint (soit un total de 81 chiots), on dénombre 32 chiots atteints, soit 39,5% de chiots atteints.

La répartition des proportions de chiots atteints est la suivante :

- Respectivement 2/11 (18%), 3/11 (27%) et 10/13 (77%) pour les portées issues de couples mère atteinte/père sain (15/35 en tout, soit 43%)
- Respectivement 7/15 (47%), 1/16 (6%) et 4/6 (67%) pour les portées issues de couples mère saine/père sain (12/37 en tout, soit 32%)
- 5/9 (56%) pour la portée issue du couple mère saine/père atteint

Parmi ces portées, 3 sont issues d'accouplements non consanguins et 4 sont issues d'accouplements consanguins.

### 2.2.3 Obtention d'ADN

Nous avons obtenu des frottis buccaux dont de l'ADN a pu être extrait pour 21 bergers Kangal dont 4 atteints. Ces ADN ont été stockés dans la biobanque Cani-DNA (<http://dog-genetics.genouest.org>), archivés par un code compris entre [A21-X001] et [A21-X021]. Pour chaque échantillon, on retrouve dans le tableau 7 la concentration d'ADN obtenue en ng/ $\mu$ L, les ratios d'absorbance de A260/280 et A260/230, et l'emplacement de stockage.

Les concentrations obtenues variaient de 4,7ng/ $\mu$ L à 110ng/ $\mu$ L. Les valeurs obtenues pour le ratio A260/280 sont satisfaisantes et ne traduisent pas de contamination majeure à 280nm. En revanche, les valeurs obtenues pour le ratio A260/230 devraient être supérieures et signalent une contamination par de l'EDTA, des sucres, du phénol ou du guanidinium thiocyanate (présent dans les lysis buffer comme celui utilisé dans le kit d'extraction).

Nom de l'échantillon	Statut	Concentration (ng/μL)	A260/280	A260/230	Emplacement de stockage
A21-X001-D1	Sain	49,1	1,88	1,12	C2
A21-X002-D1	Sain	53,3	1,5	0,42	C3
A21-X003-D1	Sain	110	1,75	0,69	C4
A21-X004-D1	Sain	79,6	1,65	0,62	C5
A21-X005-D1	Sain	17	1,86	0,85	C6
A21-X006-D1	Sain	132	1,58	0,52	C7
A21-X007-D1	Sain	28,1	1,81	0,73	C8
A21-X008-D1	Sain	86,4	1,89	0,98	C9
A21-X009-D1	Sain	44,2	1,87	0,87	C10
A21-X010-D1	Atteint	69,4	1,28	0,32	C11
A21-X011-D1	Atteint	101,4	1,94	1,34	D1
A21-X012-D1	Atteint	31,8	1,87	0,9	D3
A21-X013-D1	Atteint	3,8	2,08	0,27	D5
A21-X010-D2	Atteint	5,8	1,42	0,31	C12
A21-X011-D2	Atteint	29,5	1,95	1,03	D2
A21-X012-D2	Atteint	46	1,94	1,15	D4
A21-X013-D2	Atteint	4,7	1,53	0,31	D6
A21-X014-D1	Sain	14,2	1,89	0,76	D7
A21-X015-D1	Sain	34,5	1,94	0,98	D8
A21-X016-D1	Sain	30,5	1,92	0,95	D9
A21-X017-D1	Sain	45,4	1,77	0,63	D10
A21-X018-D1	Sain	19,8	1,71	0,63	D11
A21-X019-D1	Sain	5,7	1,7	0,36	D12
A21-X020-D1	Sain	8,8	1,35	0,28	E1
A21-X021-D1	Sain	16,3	1,68	0,55	E2

Tableau 7 : Résultats de l'extraction des ADN. Obtenus avec le Nanodrop™ One/C. (Source : personnelle)

Nous disposons donc désormais d'une première cohorte utilisable dans le futur pour effectuer des analyses génétiques, et qui sera sans doute à compléter avec d'autres prélèvements pour réaliser une étude d'association ou du séquençage pour rechercher le gène ou les gènes à l'origine de l'ankyloglossie chez le berger Kangal.

## 2.3 Discussion des résultats

### 2.3.1 Mode de transmission

#### **Considérations générales concernant le pedigree global**

Concernant la proportion de chiots atteints selon les accouplements réalisés, il y a en moyenne moins de chiots atteints lorsque les deux parents sont sains, et davantage de chiots atteints lorsqu'un des deux parents est atteint (32% versus 43% et 56% respectivement). Il faut cependant nuancer cette dernière donnée car il n'y a qu'une seule portée issue d'un accouplement entre un père atteint et une mère saine, donc la proportion considérée est fondée sur peu d'individus. Si on envisage un mode de transmission mendélien, ces observations sont en faveur d'un mode de transmission récessif ou dominant à pénétrance incomplète.

Il y a également plus d'une portée considérée sur deux qui est issue d'un accouplement consanguin. Les chiens ont un coefficient de consanguinité compris entre 0 et 6,7%, avec une moyenne de coefficient de consanguinité = 1,56 %, malgré un manque de données sur certains reproducteurs (étrangers notamment). Or, en situation de consanguinité, on observe une augmentation du risque d'apparition de maladies héréditaires dues à des allèles récessifs par augmentation de la fréquence des homozygotes par rapport aux hétérozygotes (la panmixie n'étant plus respectée, la population n'est plus à l'équilibre de Hardy Weinberg) (Henry, Gouyon 2008). Le fait que les individus atteints soient plus souvent issus d'accouplements consanguins que non consanguins est en faveur d'un mode de transmission récessif.

### **Test des hypothèses :**

#### **Mode de transmission autosomique :**

On réalise un test du Chi2 pour un mode de transmission autosomique dans le cadre du sex-ratio :

	Mâles atteints	Femelles atteintes	Total
Observé	14	14	28
Attendu	14	14	28

$D_{obs} = 0 < 5.9$  donc l'hypothèse est retenue pour  $\alpha = 0.05$  : le sex-ratio obtenu est compatible avec un mode de transmission autosomique, car parmi les individus atteints, il y a autant de mâles que de femelles.

-> dominant : En cas de mode de transmission autosomique dominant, lors d'accouplement entre un individu sain et un individu atteint, il devrait y avoir 50% de chiots atteints. Ici on a 20/44 chiots atteints soit 45% de chiots atteints. Avec un test du Chi2, on obtient :

	Atteints	Sains	Total
Observé	20	24	44
Attendu	22	22	44

$D_{obs} = 0.36 < 5.9$  donc l'hypothèse est retenue pour  $\alpha = 0.05$  : les proportions de chiots atteints dans les portées avec un parent atteint sont compatibles avec un mode de transmission autosomique dominant.

-> récessif : En cas de mode de transmission autosomique récessif, lors d'accouplements entre deux individus porteurs sains, il devrait y avoir 25% de chiots atteints. Ici on a 12/37 chiots atteints soit 32% de chiots atteints. Avec un test du Chi2, on obtient :

	Atteints	Sains	Total
Observé	12	25	37
Attendu	9.25	27.75	37

$D_{obs} = 1.09 < 5.9$  donc l'hypothèse est retenue pour  $\alpha = 0.05$  : les proportions de chiots atteints dans les portées avec un père sain et une mère saine sont compatibles avec un mode de transmission autosomique récessif.

#### **Mode de transmission lié à l'X :**

-> dominant : En cas de mode de transmission lié à l'X dominant, lors de croisements entre un père sain et une mère atteinte, il devrait y avoir 50% de chiots atteints. Ici on a 15/35 chiots atteints soit 43% de chiots atteints. Avec un test du Chi2, on obtient :

	Atteints	Sains	Total
Observé	15	20	35
Attendu	17.5	17.5	35

$D_{obs} = 0.7 < 5.9$  donc l'hypothèse est retenue pour  $\alpha = 0.05$  : les proportions de chiots atteints dans les portées avec un père sain et une mère atteinte sont compatibles avec un mode de transmission lié à l'X dominant.

Néanmoins, lors de croisements entre un père atteint et une mère saine, il devrait y avoir 100% de filles atteintes et aucun fils atteints. Ici on a 3 fils atteints et 2 filles atteintes ; ainsi, ce mode de transmission peut être exclu, sauf à envisager une pénétrance incomplète.

-> récessif : En cas de mode de transmission lié à l'X récessif, on ne devrait observer que des mâles atteints ( $X^m/Y$ ) avec des mères saines mais conductrices ( $X^m/X^+$ ). Si la fréquence de l'allèle muté était très élevée, on pourrait observer des pères atteints accouplés avec des mères conductrices qui donneraient des mâles et des femelles atteints et des mâles et des femelles sains, mais cette situation est très peu probable. Ainsi nous pouvons exclure un mode de transmission lié à l'X.

### Mode de transmission lié à l'Y :

Des femelles sont atteintes donc on peut exclure l'hypothèse.

### Mode de transmission mitochondrial :

La maladie étant transmise par des mâles et des femelles, ce mode de transmission peut donc être exclu.

A ce stade, nous pouvons garder comme hypothèses un mode de transmission autosomique récessif avec une fréquence importante de l'allèle muté (et donc de porteurs sains) ou plus probablement, un mode autosomique dominant avec une pénétrance incomplète, ou une maladie polygénique avec intervention de facteurs environnementaux.

### Considérations sur des pedigrees individualisés

Nous avons sélectionné quelques familles, qui par les appariements considérés (père sain et mère atteinte, père sain et mère saine, père atteint et mère saine), nous permettent d'obtenir un certain nombre d'informations sur les modes de transmission potentiels. Nous avons alors fondé notre réflexion sur les lois de la génétique mendélienne comme décrites dans le tableau 1.

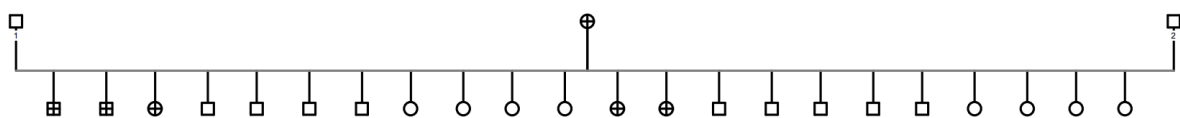


Figure 26 : Famille (1).

Ce premier pedigree nous permet d'étudier un accouplement entre une femelle atteinte et deux mâles sains. On a 3 sur 11 (27%) des chiots atteints pour une des portées et 2 sur 11 (18%) pour l'autre. Sur les 5 chiots atteints, 2 sont des mâles et 3 sont des femelles.

Le fait qu'il y ait autant de mâles que de femelles atteints est plutôt en faveur d'un mode de transmission autosomique. Le pourcentage de chiots atteints est plutôt en faveur d'une transmission récessive ou dominante à pénétrance incomplète.

### Test des hypothèses :

Si on prend l'hypothèse d'un mode de transmission autosomique récessif (auquel cas on suppose que le père est porteur sain d'un allèle « malade », sinon il n'y aura pas du tout de transmission de la maladie) avec la mère atteinte, chaque chiot a une chance sur 2 d'être atteint. Ici pour 22 chiots, on s'attendrait à avoir 11 chiots sains et 11 chiots atteints. Les conditions sont remplies pour réaliser un test du Chi2 (valeurs supérieures à 5). Avec un test du Chi2, on obtient  $D_{obs} = 6.5 > 5.9$ . Donc on rejette l'hypothèse.

	Atteints	Sains	Total
Observé	5	17	22
Attendu	11	11	22

Si on prend l'hypothèse d'un mode de transmission autosomique dominant, on a 50% de chance qu'un des chiots soit atteint si seule la mère est atteinte : on obtient le même résultat que précédemment.

Si on prend l'hypothèse d'un mode de transmission par X dominant, on a 50% de chance qu'un des chiots soit atteint si seule la mère est atteinte : on obtient une fois de plus le même résultat que précédemment.

Si on prend l'hypothèse d'un mode de transmission par X récessif, on a 100% de chance que les chiots mâles soient atteints si seule la mère est atteinte ; on obtient seulement 2/11 chiots mâles atteints donc on peut exclure cette hypothèse.

Le bilan de nos hypothèses pour ce pedigree est regroupé dans le tableau 8.

Hypothèses exclues	Hypothèses possibles
<ul style="list-style-type: none"> <li>● Transmission maternelle (sauf hétéroplasmie)</li> <li>● Transmission par Y</li> <li>● X récessif</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Autosomique dominant</li> <li>● Autosomique récessif</li> <li>● X dominant</li> </ul>

Tableau 8 : bilan des hypothèses pour la famille (1).

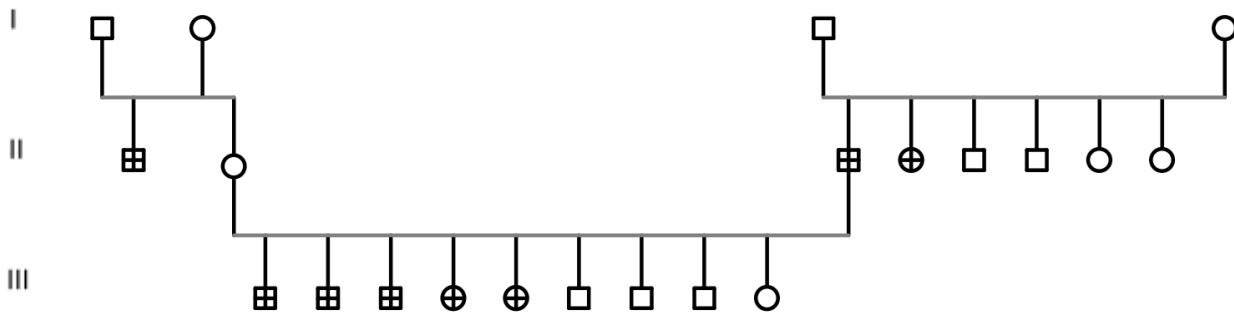


Figure 27 : Famille (2).

Ce second pedigree nous permet d'étudier un appariement entre un mâle atteint et une femelle saine. Il faut ici noter que la femelle saine a un frère atteint. On a 56% (5/9) des chiots atteints, sans distinction marquée entre les mâles et les femelles.

Nous pouvons exclure un mode de transmission lié à l'X récessif car dans la portée de droite de la génération II, une femelle est atteinte sans que son père ne soit atteint ; or elle est nécessairement porteuse de deux allèles mutés, dont un provient nécessairement de son père. Il est également possible d'exclure une transmission liée à l'X dominant avec père atteint et mère homozygote saine car cet accouplement ne donnerait que des femelles atteintes, or on observe des mâles et des femelles atteints.

Nous pouvons tester les autres hypothèses en faisant des tableaux de croisements.

1ère hypothèse : Transmission selon un mode autosomique dominant avec père atteint et mère homozygote saine (A : allèle muté dominant ; a : allèle sauvage récessif)

	Mâle	A	a
Femelle			
a		A/a	a/a
a		A/a	a/a

Dans le cadre d'un croisement entre un mâle atteint et une femelle homozygote saine, si on considère que l'affection est transmise sur un mode autosomique dominant, on a une probabilité de 50% d'obtenir des chiots atteints, avec des

proportions équivalentes mâles/femelles. Il y a trop peu de chiots dans la portée pour faire un test du Chi<sup>2</sup>, mais il y a 5 chiots atteints pour 4 chiots sains : **l'hypothèse reste donc possible** dans notre cas.

2ème hypothèse : Transmission selon un mode autosomique récessif avec père atteint et mère homozygote saine (A : allèle sauvage ; a : allèle muté)

	Mâle	a	a
Femelle			
	A	A/a	A/a
	A	A/a	A/a

Dans le cadre d'un croisement entre un mâle atteint et une femelle homozygote saine, si on considère que l'affection est portée par un mode autosomique récessif, on ne peut pas obtenir de chiots atteints. On peut exclure cette hypothèse.

3ème hypothèse : Transmission selon un mode autosomique récessif avec père atteint et mère hétérozygote (A : allèle sauvage ; a : allèle muté)

	Mâle	a	a
Femelle			
	A	A/a	A/a
	a	a/a	a/a

Dans le cadre d'un croisement entre mâle atteint et femelle hétérozygote saine, si on considère que l'affection est portée par un mode autosomique récessif, on obtient des chiots atteints dans 50% des cas, avec une proportion équivalente de mâles et de femelles. Il y a trop peu de chiots dans la portée pour faire un test du Chi<sup>2</sup>, mais il y a 5 chiots atteints pour 4 chiots sains : **l'hypothèse reste donc possible** dans notre cas.

Si on s'intéresse aux générations I et II, on s'aperçoit que les chiens en génération II ont des parents sains, ce qui est compatible avec un mode de transmission autosomique récessif ou autosomique dominant avec pénétrance incomplète.

Le bilan de nos hypothèses pour ce pedigree est regroupé dans le tableau 9.



Hypothèses exclues	Hypothèses possibles
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Transmission maternelle</li> <li>• Transmission par Y</li> <li>• X récessif</li> <li>• X dominant à pénétrance complète</li> <li>• Autosomique récessif avec mère homozygote saine</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Autosomique dominant avec mère homozygote saine</li> <li>• Autosomique récessif avec mère hétérozygote</li> </ul>

Tableau 9 : Bilan des hypothèses retenues pour la famille (2).

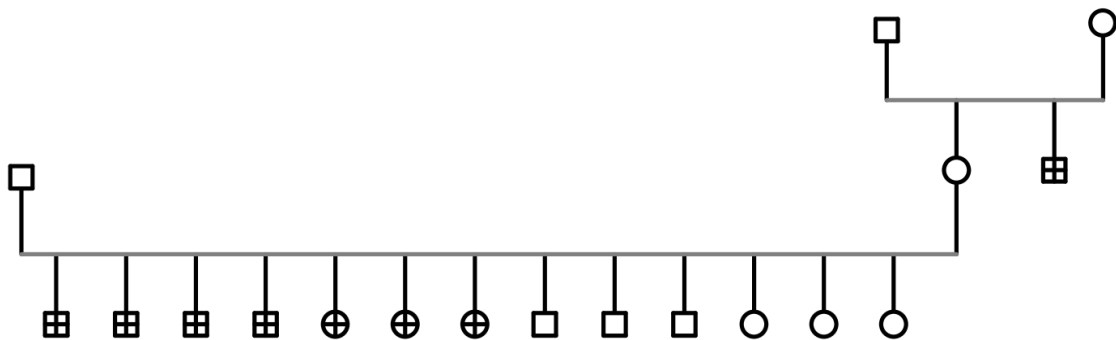


Figure 28 : Famille (3).

Ce troisième pedigree permet de voir un appariement entre un mâle sain et une femelle saine apparentée à un frère atteint (même femelle que le second pedigree). A noter qu'elle a été mise à la reproduction avec le grand-père du chien avec lequel elle avait été mise à la reproduction dans le second pedigree. On a 7 sur 13 chiots atteints (54%), sans déséquilibre de sex-ratio mâle/femelle.

Nous avons déjà établi que la femelle était soit de génotype  $X_m/X^+$  (si mode X récessif), soit  $A/a$  (si mode autosomique récessif ou dominant à pénétrance incomplète). Nous n'avons aucune information sur les ascendants du mâle (pas de pedigree) ; nous savons uniquement que celui-ci était sain.

Une transmission liée à l'X récessif est impossible car on sait que la femelle est  $X_m/X^+$  et le père sain donc nécessairement  $X^+/Y$  : seuls les mâles pourraient être atteints dans cette configuration, or il y a des femelles atteintes.

Test des hypothèses restantes :

Si on prend l'hypothèse d'un mode de transmission autosomique récessif, chaque chiot a 1 chance sur 4 d'être atteint. Ici pour 13 chiots, on a 4 mâles et 3 femelles atteints ; or on s'attendrait à avoir 10 chiots sains et 3 chiots atteints. Avec un test du Chi2 , on obtient  $D_{obs} = 5.8 < 5.9$ . Donc l'hypothèse est retenue pour  $\alpha = 0.05$ .

	Atteints	Sains	Total
Observé	7	6	13
Attendu	3.25	9.75	13

Quant au sex-ratio, on s'attendrait à avoir autant de mâles que de femelles atteints : les effectifs sont trop faibles pour réaliser le test du Chi2, mais on a 4 mâles pour 3 femelles atteints, un sex-ratio qui est cohérent dans le cadre d'une transmission autosomique.

On ne peut pas exclure une transmission liée à l'X dominant à pénétrance incomplète ou autosomique dominante à pénétrance incomplète.

Les hypothèses possibles avec cette configuration sont : transmission autosomique dominante avec pénétrance incomplète, transmission autosomique récessive (auquel cas le père est hétérozygote pour l'allèle concerné), et transmission liée à l'X dominant à pénétrance incomplète.

## Bilan

En bilan, l'analyse des pedigrees nous a permis d'exclure des hypothèses de modes de transmission (porté par Y, mitochondrial, X récessif) mais pas d'établir avec certitude un mode de transmission mendélien : le mode de transmission semble plutôt autosomique (car sex-ratio équilibré) et soit récessif, soit dominant à pénétrance incomplète. Il est également tout à fait possible qu'il s'agisse d'un mode de transmission polygénique.

Si on croise les données de la bibliographie (partie 1.2.5) et les données que nous avons recueillies, il nous est possible de calculer un sex-ratio global de l'affection avec un plus grand échantillon de chiens : sur les 57 chiens atteints, 35 étaient des femelles et 22 des mâles, soit un sex-ratio mâle/femelle global de 0.63 : 1.0. Dans la bibliographie comme dans les données obtenues dans notre étude, nous avons pu

exclure une transmission héréditaire portée par Y, par les mitochondries ainsi que lié à l'X récessif ; et grâce à notre étude, nous avons établi qu'une transmission autosomique dominant ou lié à l'X dominant ne sont possibles qu'en cas de pénétrance incomplète. Enfin, un mode de transmission autosomique récessif est possible mais non certain ; nous devons donc envisager la possibilité d'un mode de transmission héréditaire qui ne suivrait pas les lois de la génétique mendélienne, comme par exemple un mode polygénique. Il est possible qu'un gène majeur agisse en interaction avec d'autres gènes à effet plus faible par exemple.

### 2.3.2 Caractéristiques phénotypiques, épidémiologiques et génétiques

L'ankyloglossie est une affection avec un impact limité sur la santé des chiens. Lors de notre étude, nous sommes parvenus à la caractériser phénotypiquement chez le berger Kangal : il s'agit en règle générale d'une attache de la langue au plancher de la gueule du chien qui est totale, qui entraîne des signes cliniques de gravité modérée (dysphagie) chez le chiot et de gravité plus importante (amaigrissement) chez l'adulte ; son traitement est chirurgical et de réalisation simple. Les données en matière de phénotype et de signes cliniques sont similaires entre la bibliographie et les résultats obtenus dans les familles de bergers Kangal en France pour lesquels nous avons obtenu des informations. Sa prévalence minimale dans la race en 2017 était de 5% et le sex-ratio mâle/femelle des chiens atteints selon notre étude de 1.0 :1.0.

L'absence de produits tératogènes décrits causant cette affection et la large répartition géographique de chiens atteints par cette maladie congénitale suggère une affection héréditaire. Le mode de transmission génétique de celle-ci n'est à ce jour pas établi ; néanmoins, nous avons pu exclure les modes de transmission suivants : transmission liée à l'Y, transmission par les mitochondries, transmission récessive liée à l'X. Les modes de transmission autosomique dominant et lié à l'X dominant ne sont possibles qu'en cas de pénétrance incomplète. Enfin, un mode de transmission autosomique récessif est possible mais signifierait que la fréquence de l'allèle muté est très élevée, ainsi que le nombre de porteurs sains dans la race, ce qui est une possibilité. Néanmoins, un mode de transmission génétique qui ne suive pas les lois de la génétique mendélienne reste l'hypothèse la plus probable ; comme potentiellement une affection faisant intervenir plusieurs facteurs génétiques et des facteurs environnementaux.

En outre, la réalisation de prélèvements d'ADN sur des chiens sains et des chiens atteints nous a permis de démarrer la création d'une banque de données biologiques chez le berger Kangal, pour envisager dans le futur une recherche du ou des gènes concernés. La quantité et la qualité des échantillons d'ADN extraits est satisfaisante et permettra de faire des analyses génétiques.

### 2.3.3 Limites du projet

Lors de notre étude, la principale difficulté rencontrée a été la collecte des informations auprès des éleveurs. D'une part, l'ankyloglossie est une affection peu connue et son diagnostic n'est pas évident même lorsque réalisé par un vétérinaire ; d'autre part, de nombreux chiens ne souffrent pas spécialement de l'affection et celle-ci peut donc passer inaperçue. Enfin, au moment où nous avons démarré notre étude, de nombreux chiens d'intérêt étaient déjà décédés ou avaient été vendus, en France ou à l'étranger, à des propriétaires qui ne nous ont pas répondu.

Concernant l'étude des pedigrees, nous avons pu établir les liens entre les différents chiens par le biais de LOF select mais la certitude de leur statut (sain ou atteint) a été la principale limite, car nous n'avons pas toujours eu confirmation du vétérinaire pour le phénotypage établi par les propriétaires.

Enfin, nous avons été confrontés à la difficulté de travailler sur du matériel biologique avec de nombreux intervenants, ce qui peut induire des erreurs (échange de prélèvements par exemple). Nous aurions également souhaité obtenir des prélèvements sur davantage de chiens pour atteindre des cohortes de plusieurs dizaines d'animaux sains et atteints. Les effectifs de la race en France sont faibles (environ 300 nouveaux inscrits par an selon la SCC) et donc de tels objectifs auraient été difficilement réalisables.

### 2.3.4 Perspectives d'avenir

Malgré ces limites, notre étude est encourageante car elle a permis de démarrer la création d'une cohorte de chiens sains et atteints et de construire un arbre généalogique assez large pour émettre des hypothèses sur le mode de transmission de la maladie.

Auprès du club de race et donc des éleveurs français de berger Kangal ainsi que des vétérinaires, nous souhaitons émettre l'hypothèse d'une hausse de la prévalence de l'affection au sein des individus en France, informer quant à la maladie et ses

conséquences et donc permettre un diagnostic et un traitement pour les chiens concernés. En revanche, étant donné le peu de conséquences cliniques de l'ankyloglossie chez les chiens atteints, il n'est pour l'heure pas recommandé de réaliser une sélection visant à écarter les chiens atteints de la reproduction ; le risque étant de diminuer la diversité génétique de la race et donc de sélectionner involontairement des allèles bien plus délétères. En parallèle, la réalisation de la frénotomie chez les chiens atteints n'étant pas un critère d'exclusion de la reproduction, il n'est donc pas étonnant de voir la fréquence de l'affection augmenter dans la race. Peut-être serait-il souhaitable d'éviter d'accoupler des chiens atteints entre eux et d'éviter d'accoupler des chiens ayant déjà eu un descendant atteint entre eux ; mais une fois encore, il ne faudrait pas appauvrir le pool génétique de cette race à petit effectif.

## **Conclusion**

L'ankyloglossie est une affection congénitale héréditaire. Chez le chien, cette affection n'est décrite que chez le berger Kangal, race dans laquelle la prévalence de l'affection semble augmenter au cours du temps en France. Cliniquement, cette affection n'a pas de conséquences lourdes sur les chiens atteints ; en outre, sa prise en charge n'est pas difficile techniquement et devrait être réalisée sur les chiens atteints pour améliorer leur confort de vie. L'établissement des mécanismes génétiques à l'origine de la transmission de l'ankyloglossie dans des familles de chiens doit être poursuivie avec l'étude de pedigrees supplémentaires. De plus, le prélèvement de nouveaux chiens dont l'ADN sera entré en biobanque permettra de poursuivre les analyses génétiques. L'identification d'un allèle majeur - s'il existe - impliqué dans cette affection chez le berger Kangal permettrait de développer un test génétique qui pourrait être utilisé par les éleveurs pour raisonner les accouplements et éviter la naissance de chiots atteints, tout en conservant une diversité génétique maximale dans la race.

## **Bibliographie**

Société Centrale Canine, [sans date]. [en ligne]. [Consulté le 13 juin 2022]. Disponible à l'adresse : <https://www.centrale-canine.fr/recherche/documents?searchQuery=&typeFilter=736&page=5>

ABITBOL, Marie, 2015. *Mode opératoire 131 : Extraction d'ADN génomique à partir de brochettes ou cotons-tiges buccaux avec l'automate Maxwell Promega*. 8 juin 2015. MO-EXP-BM-131

ACADÉMIE NATIONALE DE MÉDECINE, 2022. *Coup de frein à la frénotomie linguale chez les nouveaux-nés et les nourrissons !*

ACEVEDO, A.C., DA FONSECA, J.A.C., GRINHAM, J., DOUDNEY, K., GOMES, R.R., DE PAULA, L.M. et STANIER, P., 2010. Autosomal-dominant Ankyloglossia and Tooth Number Anomalies. *Journal of Dental Research*. février 2010. Vol. 89, n° 2, pp. 128-132. DOI 10.1177/0022034509356401.

ALKAN, Fahrettin, KOÇ, Yılmaz, TEPELI, Cafer, ALBASAN, Hasan et ALTAN, Semih, 2013. Management of complete and partial ankyloglossia in Anatolian shepherd dogs. . 2013. pp. 5.

ALTUNOK, N, KOBAN, Evren, CHIKHI, Lounès, SCHAFFER, Alison et PEDERSEN, Niels C, 2005. GENETIC EVIDENCE FOR THE DISTINCTNESS OF KANGAL DOGS. . 2005. pp. 6.

AMIR, Lisa H., JAMES, Jennifer P. et DONATH, Susan M., 2006. Reliability of the Hazelbaker Assessment Tool for Lingual Frenulum Function. *International Breastfeeding Journal*. 9 mars 2006. Vol. 1, n° 1, pp. 3. DOI 10.1186/1746-4358-1-3.

ANDRÉ, Catherine, 2007. Recherche des causes génétiques de génodermatoses chez le chien. . 2007. pp. 8.

ANWAR, S et PUROHIT, G N, 2012. Ankyloglossia and its surgical correction by frenuloplasty in a she-camel calf. *Open Veterinary Journal*. 2012. Vol. 2, pp. 4.

BAKER, Lauren, MUIR, Peter et SAMPLE, Susannah J., 2019. Genome-wide association studies and genetic testing: understanding the science, success, and future of a rapidly developing field. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 15 novembre 2019. Vol. 255, n° 10, pp. 1126-1136. DOI 10.2460/javma.255.10.1126.

BALLARD, Jeanne L., AUER, Christine E. et KHOURY, Jane C., 2002. Ankyloglossia: Assessment, Incidence, and Effect of Frenuloplasty on the Breastfeeding Dyad. *Pediatrics*. 1 novembre 2002. Vol. 110, n° 5, pp. e63-e63. DOI 10.1542/peds.110.5.e63.

BECKER, Sarah et MENDEZ, Magda D., 2021. Ankyloglossia. In : *StatPearls* [en ligne]. Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing. [Consulté le 21 septembre 2021]. Disponible à l'adresse : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482295/NBK482295>

BELMEHDI, Akram, EL HARTI, Karima et EL WADY, Wafaa, 2018. Ankyloglossia as an oral functional problem and its surgical management. *Dental and Medical Problems*. 30 juin 2018. Vol. 55, n° 2, pp. 213-216. DOI 10.17219/dmp/85708.

BRAYBROOK, Claire, DOUDNEY, Kit, MARÇANO, Ana Carolina B., ARNASON, Alfred, BJORNSSON, Arni, PATTON, Michael A., GOODFELLOW, Paul J., MOORE, Gudrun E. et STANIER, Philip, 2001. The T-box transcription factor gene TBX22 is mutated in X-linked cleft palate and ankyloglossia. *Nature Genetics*. octobre 2001. Vol. 29, n° 2, pp. 179-183. DOI 10.1038/ng730.

BRAYBROOK, Claire, LISGO, Steven, DOUDNEY, Kit et HENDERSON, Deborah, 2002. Craniofacial expression of human and murine TBX22 correlates with the cleft palate and ankyloglossia phenotype observed in CPX patients. . 2002. pp. 12.

Chien de berger kangal, 2018. [en ligne]. [Consulté le 16 mai 2022]. Disponible à l'adresse : <https://www.centrale-canine.fr/le-chien-de-race/chien-de-berger-kangal>

COBOURNE, Martyn T., ISEKI, Sachiko, BIRJANDI, Anahid A., ADEL AL-LAMI, Hadeel, THAUVIN-ROBINET, Christel, XAVIER, Guilherme M. et LIU, Karen J., 2019. How to make a tongue: Cellular and molecular regulation of muscle and connective tissue formation during mammalian tongue development. *Seminars in Cell & Developmental Biology*. juillet 2019. Vol. 91, pp. 45-54. DOI 10.1016/j.semcd.2018.04.016.

CORYLLOS, E., GENNA, Catherine et SALLOUM, A.C., 2004. Congenital tongue-tie and its impact on breastfeeding. *American Academy of Pediatrics Section on Breastfeeding*. 1 janvier 2004. pp. 1-6.

DAGGUMATI, Srihari, COHN, Jason E., BRENNAN, Matthew J., EVARTS, Marissa, MCKINNON, Brian J. et TERK, Alyssa R., 2019. Caregiver perception of speech quality in patients with ankyloglossia: Comparison between surgery and non-treatment. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. avril 2019. Vol. 119, pp. 70-74. DOI 10.1016/j.ijporl.2019.01.019.

DAHIYA, Vinay et BUCHNER, Johannes, 2019. Functional principles and regulation of molecular chaperones. In : *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology* [en ligne]. Elsevier. pp. 1-60. [Consulté le 24 mai 2022]. ISBN 978-0-12-815557-8. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1876162318300610>

DELLMANN, Horst-Dieter et BROWN, Esther Marie, 1976. *Textbook of veterinary histology*. Philadelphia : Lea & Febiger. ISBN 978-0-8121-0528-5. SF757.3 .T49

DEVASYA, Ashwin et SARPANGALA, Mythri, 2017. Familial Ankyloglossia -A Rare Report of three Cases in a Family. *Journal of Clinical and Diagnostic Research : JCDR*. février 2017. Vol. 11, n° 2, pp. ZJ03-ZJ04. DOI 10.7860/JCDR/2017/24035.9308.

EUBANKS, Diana L., 2007. Anatomy and Clinical Examination of the Tongue in the Dog. *Journal of Veterinary Dentistry*. décembre 2007. Vol. 24, n° 4, pp. 271-273. DOI 10.1177/089875640702400413.

EVANS, Howard E. et MILLER, Malcolm E., 2020. *Miller's anatomy of the dog*. Fifth edition. St.Louis, Missouri : Elsevier.

FEINGOLD, J., FELLOUS, Marc et SOLIGNAC, Michel, 1998. *Principes de génétique humaine*. Hermann. Paris.

FORBES, Simon A., BRENNAN, Lyndall, RICHARDSON, Michael, COFFEY, Alison, COLE, Charlotte G., GREGORY, Simon G., BENTLEY, David R., MUMM, Steven, MOORE, Gudrun E. et STANIER, Philip, 1996. Refined Mapping and YAC Contig Construction of the X-Linked Cleft Palate and Ankyloglossia Locus (CPX) Including the Proximal X-Y Homology Breakpoint within Xq21.3. *Genomics*. janvier 1996. Vol. 31, n° 1, pp. 36-43. DOI 10.1006/geno.1996.0006.

Gene: LGR5 (ENSG00000139292) - Summary - Homo\_sapiens - Ensembl genome browser 106, 2022. [en ligne]. [Consulté le 18 mai 2022]. Disponible à l'adresse : [https://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Gene/Summary?g=ENSG00000139292;r=12:71439798-71586310](https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?g=ENSG00000139292;r=12:71439798-71586310)

Gene: TBX22 (ENSG00000122145) - Summary - Homo\_sapiens - Ensembl genome browser 106, 2022. [en ligne]. [Consulté le 18 mai 2022]. Disponible à l'adresse :

[https://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Gene/Summary?g=ENSG00000122145;r=X:80014753-80031774](https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?g=ENSG00000122145;r=X:80014753-80031774)

GORSKI, Sharon M., ADAMS, Karen J., BIRCH, Patricia H., CHODIRKER, Bernard N., GREENBERG, Cheryl R. et GOODFELLOW, Paul J., 1994. Linkage analysis of X-linked cleft palate and ankyloglossia in Manitoba Mennonite and British Columbia Native kindreds. *Human Genetics* [en ligne]. août 1994. Vol. 94, n° 2. [Consulté le 5 décembre 2021]. DOI 10.1007/BF00202859. Disponible à l'adresse : <http://link.springer.com/10.1007/BF00202859>

GRUNDMANN, S. et HOFMANN, A., 2006. Ankyloglossie bei einem Anatolischen Hirtenhund (Kangal). *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*. 1 août 2006. Vol. 148, n° 8, pp. 417-420. DOI 10.1024/0036-7281.148.8.417.

HAN, Soo-Hyung, KIM, Min-Cheol, CHOI, Yun-Seok, LIM, Jin-Soo et HAN, Ki-Taik, 2012. A Study on the Genetic Inheritance of Ankyloglossia Based on Pedigree Analysis. *Archives of Plastic Surgery*. juillet 2012. Vol. 39, n° 4, pp. 329-332. DOI 10.5999/aps.2012.39.4.329.

HARRIS, Edward F., FRIEND, Gerald W. et TOLLEY, Elizabeth A., 1992. Enhanced Prevalence of Ankyloglossia with Maternal Cocaine Use. *The Cleft Palate-Craniofacial Journal*. janvier 1992. Vol. 29, n° 1, pp. 72-76. DOI 10.1597/1545-1569\_1992\_029\_0072\_epoawm\_2.3.co\_2.

HAUG, Ane Charlotte, MARKESTAD, Trond, TJORA, Erling et MOSTER, Dag, 2021. Tongue-tie in neonates. *Tidsskrift for Den norske legeförening* [en ligne]. 27 août 2021. [Consulté le 2 mai 2022]. DOI 10.4045/tidsskr.21.0515. Disponible à l'adresse : <https://tidsskriftet.no/en/2021/08/perspectives/tongue-tie-neonates>

HAYWARD, Jessica J., CASTELHANO, Marta G., OLIVEIRA, Kyle C., COREY, Elizabeth, BALKMAN, Cheryl, BAXTER, Tara L., CASAL, Margret L., CENTER, Sharon A., FANG, Meiyang, GARRISON, Susan J., KALLA, Sara E., KORNILIEV, Pavel, KOTLIKOFF, Michael I., MOISE, N. S., SHANNON, Laura M., SIMPSON, Kenneth W., SUTTER, Nathan B., TODHUNTER, Rory J. et BOYKO, Adam R., 2016. Complex disease and phenotype mapping in the domestic dog. *Nature Communications*. avril 2016. Vol. 7, n° 1, pp. 10460. DOI 10.1038/ncomms10460.

HENRY, Jean-Pierre et GOUYON, Pierre-Henri, 2008. *Précis de génétique des populations: cours, exercices et problèmes résolus*. Paris : Dunod. ISBN 978-2-10-051928-6.

HERR, Alexander, MEUNIER, Dominique, MÜLLER, Ines, RUMP, Andreas, FUNDELE, Reinald, ROPERS, H.-Hilger et NUBER, Ulrike A., 2003. Expression of mouse Tbx22 supports its role in palatogenesis and glossogenesis. *Developmental Dynamics*. 2003. Vol. 226, n° 4, pp. 579-586. DOI 10.1002/dvdy.10260.

HYTTEL, Poul, 2010. *Essentials of domestic animal embryology*. Edinburgh ; New York : Saunders/Elsevier. ISBN 978-0-7020-2899-1. SF767.5 .E43 2010

JAGANNATHAN, V., DRÖGEMÜLLER, C., LEEB, T., DOG BIOMEDICAL VARIANT DATABASE CONSORTIUM (DBVDC), AGUIRRE, Gustavo, ANDRÉ, Catherine, BANNASCH, Danika, BECKER, Doreen, DAVIS, Brian, EKENSTEDT, Kari, FALLER, Katerie, FORMAN, Oliver, FRIEDENBERG, Steve, FURROW, Eva, GIGER, Urs, HITTE, Christophe, HYTÖNEN, Marjo, LOHI, Hannes, MELLERSH, Cathryn, MICKELSON, James R., MURGIANO, Leonardo, OBERBAUER, Anita, SCHMUTZ, Sheila, SCHOENEBECK, Jeffrey, SUMMERS, Kim, STEENBEEK, Frank et WADE, Claire, 2019. A comprehensive biomedical variant catalogue based on whole genome sequences of 582 dogs and eight wolves. *Animal Genetics*. décembre 2019. Vol. 50, n° 6, pp. 695-704. DOI 10.1111/age.12834.

JUNQUEIRA, Marina Azevedo, CUNHA, Nayara Nery Oliveira, SILVA, Lidiane Lucas Costa e, ARAÚJO, Leandro Borges, MORETTI, Ana Beatriz Silveira, COUTO FILHO, Carlos Eduardo Gomes et SAKAI, Vivien



- Thiemy, 2014. Surgical techniques for the treatment of ankyloglossia in children: a case series. *Journal of Applied Oral Science*. 2014. Vol. 22, n° 3, pp. 241-248. DOI 10.1590/1678-775720130629.
- KAPOOR, Vishal, DOUGLAS, Pamela S, HILL, Peter S, WALSH, Laurence J et TENNANT, Marc, 2018. Frenotomy for tongue-tie in Australian children, 2006–2016: an increasing problem. *Medical Journal of Australia*. février 2018. Vol. 208, n° 2, pp. 88-89. DOI 10.5694/mja17.00438.
- KARAHAN, S. et ÇINAR KUL, B., 2009. Ankyloglossia in Dogs: A Morphological and Immunohistochemical Study. *Anatomia, Histologia, Embryologia*. avril 2009. Vol. 38, n° 2, pp. 118-121. DOI 10.1111/j.1439-0264.2008.00907.x.
- KEIZER, D. P. R., 1952. [Dominantly hereditary ankyloglossia]. *Nederlands Tijdschrift Voor Geneeskunde*. 6 septembre 1952. Vol. 96, n° 36, pp. 2203-2205.
- KILIC, Nuh et SARI, Murat, 2004. Surgical correction of a congenital ankyloglossia in an Anatolian Shepherd Dog. . novembre 2004.
- KLOCKARS, T. et PITKARANTA, A., 2009. Inheritance of ankyloglossia (tongue-tie). *Clinical Genetics*. janvier 2009. Vol. 75, n° 1, pp. 98-99. DOI 10.1111/j.1399-0004.2008.01096.x.
- KLOCKARS, Tuomas, 2007. Familial ankyloglossia (tongue-tie). *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. août 2007. Vol. 71, n° 8, pp. 1321-1324. DOI 10.1016/j.ijporl.2007.05.018.
- KOTLOW, L. A., 1999. Ankyloglossia (tongue-tie): a diagnostic and treatment quandary. *Quintessence International (Berlin, Germany: 1985)*. avril 1999. Vol. 30, n° 4, pp. 259-262.
- LENORMAND, Anaëlle, KHONSARI, Roman, CORRE, Pierre, PERRIN, Jean Philippe, BOSCHER, Cécile, NIZON, Mathilde, PICHON, Olivier, DAVID, Albert, LE CAIGNEC, Cedric, BERTIN, Helios et ISIDOR, Bertrand, 2018. Familial autosomal dominant severe ankyloglossia with tooth abnormalities. *American Journal of Medical Genetics Part A*. juillet 2018. Vol. 176, n° 7, pp. 1614-1617. DOI 10.1002/ajmg.a.38690.
- LISONEK, Michelle, LIU, Shiliang, DZAKPASU, Susie, MOORE, Aideen M, JOSEPH, K S, et FOR THE CANADIAN PERINATAL SURVEILLANCE SYSTEM (PUBLIC HEALTH AGENCY OF CANADA), 2017. Changes in the incidence and surgical treatment of ankyloglossia in Canada. *Paediatrics & Child Health*. 1 octobre 2017. Vol. 22, n° 7, pp. 382-386. DOI 10.1093/pch/pxx112.
- MAYA-ENERO, Silvia, PÉREZ-PÉREZ, Maria, RUIZ-GUZMÁN, Luis, DURAN-JORDÀ, Xavier et LÓPEZ-VÍLCHEZ, María Ángeles, 2021. Prevalence of neonatal ankyloglossia in a tertiary care hospital in Spain: a transversal cross-sectional study. *European Journal of Pediatrics*. mars 2021. Vol. 180, n° 3, pp. 751-757. DOI 10.1007/s00431-020-03781-7.
- MESSNER, Anna H., LALAKEA, M. Lauren, ABY, Janelle, MACMAHON, James et BAIR, Ellen, 2000. Ankyloglossia: Incidence and Associated Feeding Difficulties. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*. 1 janvier 2000. Vol. 126, n° 1, pp. 36. DOI 10.1001/archotol.126.1.36.
- MESSNER, Anna H., WALSH, Jonathan, ROSENFELD, Richard M., SCHWARTZ, Seth R., ISHMAN, Stacey L., BALDASSARI, Cristina, BRIETZKE, Scott E., DARROW, David H., GOLDSTEIN, Nira, LEVI, Jessica, MEYER, Anna K., PARIKH, Sanjay, SIMONS, Jeffrey P., WOHL, Daniel L., LAMBIE, Erin et SATTERFIELD, Lisa, 2020. Clinical Consensus Statement: Ankyloglossia in Children. *Otolaryngology–Head and Neck Surgery*. mai 2020. Vol. 162, n° 5, pp. 597-611. DOI 10.1177/0194599820915457.
- MILLS, Nikki, GEDDES, Donna T, AMIRAPU, Satya et MIRJALILI, S Ali, 2020. Understanding the Lingual Frenulum: Histological Structure, Tissue Composition, and Implications for Tongue Tie Surgery. *International Journal of Otolaryngology*. 2020. pp. 12.

MILLS, Nikki, KEOUGH, Natalie, GEDDES, Donna T, PRANSKY, Seth M et MIRJALILI, S Ali, 2019. Defining the anatomy of the neonatal lingual frenulum. . 2019. pp. 12.

MILLS, Nikki, PRANSKY, Seth M, GEDDES, Donna T et MIRJALILI, Seyed Ali, 2019. What is a tongue tie? Defining the anatomy of the in-situ lingual frenulum. . 2019. pp. 13.

MORITA, Hiroki, MAZERBOURG, Sabine, BOULEY, Donna M, LUO, Ching-Wei, KAWAMURA, Kazuhiro, KUWABARA, Yoshimitsu, BARIBAULT, Helene, TIAN, Hui et HSUEH, Aaron J W, 2004. Neonatal Lethality of LGR5 Null Mice Is Associated with Ankyloglossia and Gastrointestinal Distension. *MOL. CELL. BIOL.* 2004. Vol. 24, pp. 8.

MOROWATI, Saeid, YASINI2, Mobin, RANJBAR, Reza, PEIVANDI, Ali Asghar et GHADAMI, Mohsen, 2010. Familial Ankyloglossia (Tongue-tie): A Case Report. *Acta Medica Iranica.* 2010. pp. 123-124.

OMIA - Online Mendelian Inheritance in Animals, [sans date]. [en ligne]. [Consulté le 3 juin 2022]. Disponible à l'adresse : <https://www.omia.org/home/>

OSTRANDER, Elaine A. et COMSTOCK, Kenine E., 2004. The domestic dog genome. *Current Biology.* février 2004. Vol. 14, n° 3, pp. R98-R99. DOI 10.1016/j.cub.2004.01.012.

OSTRANDER, Elaine A, WANG, Guo-Dong, LARSON, Greger, VONHOLDT, Bridgett M, DAVIS, Brian W, JAGANNATHAN, Vidhya, HITTE, Christophe, WAYNE, Robert K et ZHANG, Ya-Ping, 2019. Dog10K: an international sequencing effort to advance studies of canine domestication, phenotypes and health. *National Science Review.* juillet 2019. Vol. 6, n° 4, pp. 810-824. DOI 10.1093/nsr/nwz049.

OSWALD, Franz, KLÖBLE, Patricia, RULAND, André, ROSENKRANZ, David, HINZ, Bastian, BUTTER, Falk, RAMLJAK, Sanja, ZECHNER, Ulrich et HERLYN, Holger, 2017. The FOXP2-Driven Network in Developmental Disorders and Neurodegeneration. *Frontiers in Cellular Neuroscience.* 26 juillet 2017. Vol. 11, pp. 212. DOI 10.3389/fncel.2017.00212.

RAMOSER, Gabriele, GUÓTH-GUMBERGER, Márta, BAUMGARTNER-SIGL, Sara, ZOEGGELER, Thomas, SCHOLL-BÜRGI, Sabine et KARALL, Daniela, 2019. Frenotomy for tongue-tie (frenulum linguae breve) showed improved symptoms in the short- and long-term follow-up. *Acta Paediatrica.* octobre 2019. Vol. 108, n° 10, pp. 1861-1866. DOI 10.1111/apa.14811.

RICE, Ritva, SPENCER-DENE, Bradley, CONNOR, Elaine C., GRITLI-LINDE, Amel, MCMAHON, Andrew P., DICKSON, Clive, THESLEFF, Irma et RICE, David P.C., 2004. Disruption of Fgf10/Fgfr2b-coordinated epithelial-mesenchymal interactions causes cleft palate. *Journal of Clinical Investigation.* 15 juin 2004. Vol. 113, n° 12, pp. 1692-1700. DOI 10.1172/JCI200420384.

SCHLATTER, Sara-Maria, SCHUPP, Wiebke, OTTEN, Jörg-Elard, HARNISCH, Sabine, KUNZE, Mirjam, STAVROPOULOU, Dimitra et HENTSCHEL, Roland, 2019. The role of tongue-tie in breastfeeding problems—A prospective observational study. *Acta Paediatrica.* décembre 2019. Vol. 108, n° 12, pp. 2214-2221. DOI 10.1111/apa.14924.

SMITH, Jim, 1999. T-box genes: what they do and how they do it. *Trends in Genetics.* avril 1999. Vol. 15, n° 4, pp. 154-158. DOI 10.1016/S0168-9525(99)01693-5.

STANIER, P., FORBES, S.A., ARNASON, A., BJORNSSON, A., SVEINBJORNSDOTTIR, E., WILLIAMSON, R. et MOORE, G., 1993. The Localization of a Gene Causing X-Linked Cleft Palate and Ankyloglossia (CPX) in an Icelandic Kindred Is between DXS326 and DXYS1X. *Genomics.* septembre 1993. Vol. 17, n° 3, pp. 549-555. DOI 10.1006/geno.1993.1370.

SWEAT, Y.Y., SWEAT, M., YU, W., SANZ-NAVARRO, M., ZHANG, L., SUN, Z., ELIASON, S., KLEIN, O.D., MICHON, F., CHEN, Z. et AMENDT, B.A., 2020. Sox2 Controls Periderm and Rugae Development to

Inhibit Oral Adhesions. *Journal of Dental Research*. novembre 2020. Vol. 99, n° 12, pp. 1397-1405. DOI 10.1177/0022034520939013.

TEMIZSOYLU, M. Doga et AVKI, Sirri, 2003. Complete ventral ankyloglossia in three related dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. novembre 2003. Vol. 223, n° 10, pp. 1443-1445. DOI 10.2460/javma.2003.223.1443.

WALSH, Jonathan et MCKENNA BENOIT, Margo, 2019. Ankyloglossia and Other Oral Ties. *Otolaryngologic Clinics of North America*. octobre 2019. Vol. 52, n° 5, pp. 795-811. DOI 10.1016/j.otc.2019.06.008.

WANG, Jiahe, YANG, Xiaoyu, HAO, Siyuan et WANG, Yan, 2022. The effect of ankyloglossia and tongue-tie division on speech articulation: A systematic review. *International Journal of Paediatric Dentistry*. mars 2022. Vol. 32, n° 2, pp. 144-156. DOI 10.1111/ipd.12802.

## Table des annexes

Annexe 1 : Questionnaire préliminaire en français.	87
Annexe 2 : Questionnaire préliminaire en anglais.	91
Annexe 3 : Fiche de renseignements à compléter pour la biobanque.	95
Annexe 4 : Protocole de prélèvement de l'ADN.	96
Annexe 5 : Protocole d'extraction de l'ADN à l'aide de l'automate Maxwell Promega.	97
Annexe 6 : Guide d'utilisation du Nanodrop™ One/C.	101

## **Ankyloglossie chez le berger de Kangal - étude préliminaire**

Bonjour,

Je suis étudiante en 4e année à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse et dans le cadre de ma thèse d'exercice vétérinaire, "Ankyloglossie chez le berger de Kangal, aspects cliniques et génétiques", je cherche à établir les mécanismes génétiques à l'origine de l'ankyloglossie (langue fixée partiellement ou totalement par le frein de la langue au plancher de la gueule) chez les bergers de Kangal. Cette étude génétique est gratuite, confidentielle et un rapport sera rendu au club de race (pas de résultats individuels).

Dans cette optique, nous souhaitons recenser les chiens sains, atteints ou apparentés à des animaux atteints (parents, descendants, frères et soeurs), leurs signes cliniques et leur pedigree, afin de réaliser un arbre généalogique nous informant sur la transmission génétique potentielle de cette affection.

En répondant à ce questionnaire, vous acceptez que les informations fournies soient utilisées dans le cadre d'une thèse d'exercice vétérinaire.

Un questionnaire correspond à un chien ; si vous avez plusieurs chiens, vous pouvez remplir plusieurs questionnaires ou me contacter à l'adresse mail suivante :  
ankyloglossieba@gmail.com

En vous remerciant par avance pour votre participation,

Fanny LAMBERT

Nom et prénom (facultatifs)

---

Adresse mail (facultatif)

---

Nom complet du chien concerné

---

Quel est le sexe du chien concerné ?

- Mâle

- o Femelle

## Etablissement du profil du chien

Si votre chien n'est pas atteint, ne répondez pas aux questions sur l'affection.

La langue est-elle attachée par le frein : (la photo montre une attache totale de la langue au plancher par le frein)



- o Normalement
- o Partiellement
- o Totalement

Pourriez-vous nous fournir une photographie du frein de la langue de votre chien ?

Votre chien présentait-il en parallèle une ou plusieurs des affections suivantes :

- Langue en W
- Déformations de la face
- Lingua bifida
- Non, pas d'autres malformations
- Autre

Quels signes cliniques votre chien présentait-il ?

- Difficultés à manger
- Difficultés à boire
- Salivation augmentée
- Amaigrissement
- Retard de croissance

- Difficultés à aboyer
- Aucun de ces signes
- Autre

A quel âge ces signes cliniques sont-ils apparus ? (en mois)

---

## Diagnostic

Si votre chien n'est pas atteint, ne répondez pas aux questions sur l'affection.

Cette affection a-t-elle été diagnostiquée chez un vétérinaire ?

- Oui
- Non

Coordonnées du vétérinaire qui a diagnostiqué l'ankyloglossie (si réalisé) :

---

## Généalogie

Pourriez-vous fournir le pedigree de votre chien ?

A votre connaissance, le père de votre chien était-il atteint par l'ankyloglossie ?

- Oui
- Non
- Ne sait pas

A votre connaissance, la mère de votre chien était-elle atteinte par l'ankyloglossie ?

- Oui
- Non
- Ne sait pas

A votre connaissance, les descendants de votre chien sont-ils atteints par l'ankyloglossie ?

Si oui, lesquels ? Préciser le statut du partenaire (sain ou atteint) pour chaque portée.

---

## Autorisations

Si vous souhaitez que l'on vous envoie un kit de prélèvement (écouvillon buccal) afin de réaliser une étude génétique sur l'ankyloglossie chez le berger de Kangal, veuillez nous indiquer votre nom et votre adresse postale :

---

J'ai compris que cette étude est gratuite et confidentielle, qu'aucun résultat ne sera fourni individuellement, seul un rapport sera rendu au club de race à la fin de l'étude. Aucun résultat ne peut être exigé.

- Oui



## Ankyloglossia in Kangal shepherd dogs

My thesis as a vet student consists in establishing the genetic mechanisms that may be the origin of ankyloglossia in Kangal shepherd dogs. This study is free, confidential and we will inform the breed club at the end of the study (there will be no individual answers).

Our aim is to identify healthy dogs, affected ones or linked to affected ones (mother and father, descendants, brothers and sisters), their clinical signs and pedigree, so that we can regroup this information in a genealogical tree to understand the potential genetic transmission of the disease.

By answering to this survey, you accept that the information given will be used for a veterinary thesis.

You must answer to one survey per dog ; if you want to tell us about several dogs, you can fill several surveys or you can contact me here : [ankyloglossieba@gmail.com](mailto:ankyloglossieba@gmail.com)

Thank you for your time and contribution to my work !

Fanny LAMBERT

First and last name (optional)

---

Email adress (optional)

---

Full name of the dog

---

Gender of the dog

- Male
- Female

### Profiling

If your dog is healthy, please do not answer these questions.

How much is the tongue fixed to the floor of the oral cavity : (the photo shows a tongue completely fixed to the floor of the oral cavity)



- Normally
- Partly
- Completely

Could you send us a photo showing the tongue of your dog ?

Did your dog have one or several of these malformations ?

- Tip of the tongue notched
- Face malformations
- Lingua bifida
- No, no other malformations
- Others

What were your dog's clinical signs ?

- Difficulties to eat
- Difficulties to drink
- Excessive drooling
- Weight loss
- Growth retardation
- Difficulties to bark
- None of these signs
- Others

How old was your dog when the clinical signs appeared ? (answer in months)

---

## Diagnosis

If your dog is healthy, please do not answer these questions.

Was the affection diagnosed by your vet ?

- Yes
- No

Contact information of the vet that diagnosed the affection (if diagnosed) :

---

## Généalogie

Could you send us the pedigree of your dog ?

As far as you know, was the father of your dog affected by ankyloglossia ?

- Yes
- No
- I don't know

As far as you know, was the mother of your dog affected by ankyloglossia ?

- Yes
- No
- I don't know

As far as you know, were the descendants of your dog affected by ankyloglossia ? If some were affected, which ones ? Please specify if the partner was affected or not by ankyloglossia.

---

## Consent

Please tell us your address if you want us to send you a sampling kit (mouth swab) so that we can do a genetic study on Kangal shepherd dogs :

---

I understand that this study is free and confidential, that no individual result will be given to me, and that only a report will be sent to the breed club at the end of the study.

- Yes

## RECHERCHE GÉNÉTIQUE CHEZ LE CHIEN ET LE CHAT



CRB-Anim EnvA  
7 avenue du Général de Gaulle  
94700 Maisons-Alfort  
[lucie.chevallier@vet-alfort.fr](mailto:lucie.chevallier@vet-alfort.fr)



Dans le cadre de recherches génétiques dans les différentes races canines et félines via le projet national de biobanque Cani-DNA, nous collectons des échantillons sanguins et buccaux de chiens et de chats appartenant à toutes les races.

### Comment procéder ?

- Remplir le **formulaire**,
- Joindre une **photocopie du pedigree** (sauf si disponible sur LOF select pour les chiens français),
- Joindre un prélèvement sanguin (**5 mL de sang sur tube EDTA**, conservé et envoyé à **température ambiante**, dans une enveloppe protégée, en tarif **lettre simple** ou **colissimo**) ou à défaut **2 à 3 brochettes buccales** (envoyées en lettre simple) portant le nom de l'animal et la date de prélèvement,

Les docteurs vétérinaires de l'EnvA ainsi que tous les membres du CRB-Anim et du projet Cani-DNA s'engagent à respecter une totale confidentialité sur les informations transmises.

### Identité de l'animal

(N° de dossier EnvA, s'il y a lieu : \_\_\_\_\_)

Nom : \_\_\_\_\_ Date de naissance : \_\_\_\_\_ Espèce : \_\_\_\_\_

Sexe :  M  F  stérilisé(e) Race : \_\_\_\_\_ N° d'identification : \_\_\_\_\_

Coordonnées du vétérinaire : \_\_\_\_\_

Affection(s) :

*Toute photocopie d'examens complémentaires est la bienvenue pour la compréhension et l'analyse du cas.*

Remarque(s) :

Adresse électronique : \_\_\_\_\_

Je consens au stockage et à l'utilisation de l'ADN de mon animal (décrit ci-dessus) à des fins de recherche génétique. Les informations et les prélèvements étant stockés de façon **strictement confidentielle**, je comprends que je ne pourrais pas recevoir de résultats individuels.

Date :

**Signature du propriétaire,**  
*précédée de la mention « lu et approuvé » :*

**Instructions pour l'utilisation des  
brossettes buccales chez le chien**



**IMPORTANT** : il ne doit pas y avoir de nourriture dans la bouche du chien lors du prélèvement. Si nécessaire, attendre 30 minutes après que le chien ait mangé avant de réaliser le prélèvement.

**Noter le nom du chien sur l'emballage** de chaque brosse.

Utiliser **2 ou 3 brosses par chien** (2 pour les chiens sains et 3 pour les atteints).

**Prélèvement**

Retirer la brosse de son emballage sans toucher l'extrémité. Relever le bord de la babine du chien puis placer la brosse entre la babine et la gencive. Plaquer une main sur la joue du chien pour maintenir la brosse entre la babine et la gencive si nécessaire. Frotter vigoureusement en tournant la brosse, avec la même pression que vous utiliseriez pour vous brosser les dents, pendant 20 à 30 secondes.

**Envoi**

Laisser les brosses sécher à l'air libre 10 secondes avant de les replacer dans leurs emballages, **sans les fermer**. Envoyer à température ambiante, en lettre simple.

Accompagner les prélèvements de la fiche de renseignement fournie.

## Annexe 5 : Protocole d'extraction de l'ADN à l'aide de l'automate Maxwell Promega.

	MODE OPERATOIRE 131	Réf : MO-EXP-BM- 131
	<b>Extraction d'ADN génomique à partir de brossettes ou cotons tiges buccaux avec l'automate Maxwell Promega</b>	

### 1. Objet et domaine d'application

Ce mode opératoire décrit le principe d'utilisation de l'extracteur d'acides nucléiques et de protéines de type « Maxwell » de la société Promega®, pour extraire de l'ADN génomique à partir d'un prélèvement de type brosse buccale ou cotons-tiges buccaux secs.

### 2. Documents de référence

Manuel technique de l'automate Maxwell : réf TM295.

Manuel technique du Kit Maxwell 16 LEV Blood DNA Kit and Maxwell 16 Buccal Swab LEV DNA Purification Kit : réf TM333.

Fiche de sécurité du Thiocyanate de guanidine N°CAS : 593-84-0.

Fiche de sécurité de l'Ethanol N°CAS : 67-65-0.

### 3. Liste de diffusion et si nécessaire niveau de confidentialité

Toute personne du groupe 3, équipe 10 de l'U955 Imrb ainsi que toute personne appartenant à un laboratoire partenaire ou collaborateur de la biobanque Cani-DNA, en vue de réaliser une extraction d'ADN à partir de brosse buccale ou cotons-tiges buccaux.

### 4. Hygiène et sécurité

Porter une blouse.

Porter des gants.

Eliminer les déchets solides contaminés par les cellules buccales (brossettes et cotons-tiges après extraction) et tous les consommables dans une poubelle DASRI.

### 5. Principe de la méthode

Le principe de cette méthode consiste à récolter l'ADN fixé sur des billes magnétiques après une lyse mécanique et des lavages, achevés par une élution finale sans précipitation de l'ADN.

### 6. Matériels nécessaires

- Blouse et gants à usage unique.
- Automate Maxwell.
- Centrifugeuse à microtubes tournant à minimum 10.000 tr/min.
- Kit Maxwell 16 LEV Blood DNA Kit and Maxwell 16 Buccal Swab LEV DNA Purification Kit (avec LEV Plungers, tubes d'élution (0,5 ml) et Clearing Columns).
- Bain-marie à sec agitant (à 56 °C).
- Pince coupante (type bricolage) si brosse buccale.
- Une paire de ciseaux si cotons tiges buccaux.
- Vortex de paillasse.
- Poubelle DASRI.
- Pipetman 1000 µl et 200 µl.
- Cônes 1000 µl et 20-200 µl.
- Tubes type Eppendorf de 1,5 ml.

	Rédacteur	Vérificateur	Approbateur
Nom :	Marie Abitbol	Lucie Chevallier	Laurent Tiret
Fonction :	EC	IR	Directeur d'unité
Visa :			



	MODE OPERATOIRE 131	Réf : MO-EXP-BM- 131
	Extraction d'ADN génomique à partir de brossettes ou cotons tiges buccaux avec l'automate Maxwell Promega	Version 2 Date : 08/06/2015 Page 2/4

## 7. Réactifs (chimiques et biologiques)

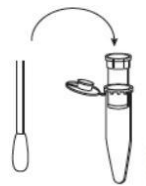
- Protéinase K en solution (incluse dans le kit, à conserver à température ambiante).
- Cartouches Maxwell de réactifs (Maxwell 16 LEV Cartridges, incluses dans le kit).
- Solution de lyse (Lysis buffer, inclus dans le kit).
- Solution d'éluion (Elution buffer, inclus dans le kit).

## 8. Contrainte de la méthode

Etre présent à la fin du cycle d'extraction (26 minutes) afin de sortir les tubes d'éluion et éviter leur évaporation.

## 9. Contenu du mode opératoire

01. Allumer le **bain marie agitant** à sec à 56 °C.
02. Numéroter (annoter) des **tubes 1,5 ml** type Eppendorf avec la référence de chaque prélèvement. Seize prélèvements peuvent être traités en même temps.
03. Placer une **Clearing Column** (colonne) dans chaque tube de 1,5 ml.
04. **Couper** chaque **coton tige** ou chaque **brossette à sa base**.
05. **Placer un coton tige** ou une **brossette** dans chaque **Clearing Column**. Pour les **brossettes**, les **plier en deux**. Remarque : si la brosse est conservée dans de l'alcool, il faudra au préalable la sécher.



06. Ajouter **30 µl de protéinase K** (du kit) sur chaque brosse ou coton tige.
07. Ajouter **300 µl de Lysis Buffer** (du kit) sur chaque brosse ou coton tige.
08. Fermer les tubes 1,5 ml contenant les colonnes et les brosses/cotons tiges, au besoin en coupant l'attache du bouchon sur le tube, souvent trop courte.
09. **Vortexer 10 secondes**.
10. Placer dans le **bain marie à sec à 56 °C** durant **1 à 2 heures**, agitation **1400 tr/min**.
11. Retirer du bain marie à sec, éteindre le bain marie.
12. **Centrifuger** les tubes à **minimum 10.000 tr/min** durant **2 minutes**.
13. Retirer les tubes de la centrifugeuse et jeter la colonne contenant la brosse ou le coton tige dans une poubelle DASRI.
14. **Annoter des tubes 0,5 ml** (du kit) avec les références de chaque prélèvement.
15. Préparer le **rack support LEV** (noir et métallique) contenant autant de cartouches que d'échantillons à traiter (16 au maximum). Les cartouches doivent être réparties sur la largeur si le nombre d'échantillon est inférieur à 16.

	Rédacteur	Vérificateur	Approbateur
Nom :	Marie Abitbol	Lucie Chevallier	Laurent Tiret
Fonction :	EC	IR	Directeur d'unité
Visa :			



	MODE OPERATOIRE 131	Réf : MO-EXP-BM- 131
	Extraction d'ADN génomique à partir de brossettes ou cotons tiges buccaux avec l'automate Maxwell Promega	Version 2 Date : 08/06/2015 Page 3/4

16. **Enlever le film** métallique qui ferme les cartouches (vérifier qu'il ne reste pas de film plastique).
17. Placer les tubes 0,5 ml en regard de chaque cartouche.
18. **Déposer 50 µl d'Elution Buffer** dans chaque tube 0,5 ml. Laisser les tubes ouverts, couvercle vers soi (voir dessin).
19. **Ajouter un Plunger** dans chaque alvéole n°8 (alvéole la plus proche de soi).
20. **Déposer le lysat** obtenu par centrifugation des colonnes (et contenu dans le tube 2 ml), dans chaque alvéole n°1 (la plus éloignée de soi).




21. Allumer l'automate Maxwell.
22. Vérifier que « LEV » et « Rsch » sont affichés à l'écran.
23. Dans les écrans suivants, naviguer à l'aide des boutons **flèches** et valider avec le bouton **Run/Stop**.  
.....Menu.....Run  
.....Menu.....DNA  
.....Menu.....FFPE/Cells
24. Si le menu est correct, valider en pressant Run.
25. Ouvrir la porte du Maxwell et presser Run pour faire sortir le plateau.
26. Vérifier que le support à tiges métalliques  **fines**  et  **peint en noir**  (LEV) est en place.
27. Placer le  **rack support LEV**  avec les cartouches et les tubes 0,5 ml sur le plateau.
28. Presser Run pour que le plateau se rétracte et fermer la porte. L'extraction commence automatiquement.
29. A la fin du processus, la machine émet 5 bips. Il est souhaitable d'ouvrir la porte et de récupérer les tubes 0,5 ml contenant l'ADN élué rapidement afin d'éviter son évaporation.
30. Ouvrir la porte et  **vérifier que des Plungers ne sont pas encore accrochés aux tiges métalliques** . Si le tiroir est sorti alors qu'ils sont encore sur les tiges, il y a un fort risque d'endommager de l'automate. Détacher alors les Plungers restants sur les tiges avant de presser Run pour faire sortir le plateau.

	Rédacteur	Vérificateur	Approbateur
Nom :	Marie Abitbol	Lucie Chevallier	Laurent Tiret
Fonction :	EC	IR	Directeur d'unité
Visa :			

	MODE OPERATOIRE 131	Réf : MO-EXP-BM- 131
	<b>Extraction d'ADN génomique à partir de brossettes ou cotons tiges buccaux avec l'automate Maxwell Promega</b>	Version 2 Date : 08/06/2015 Page 4/4

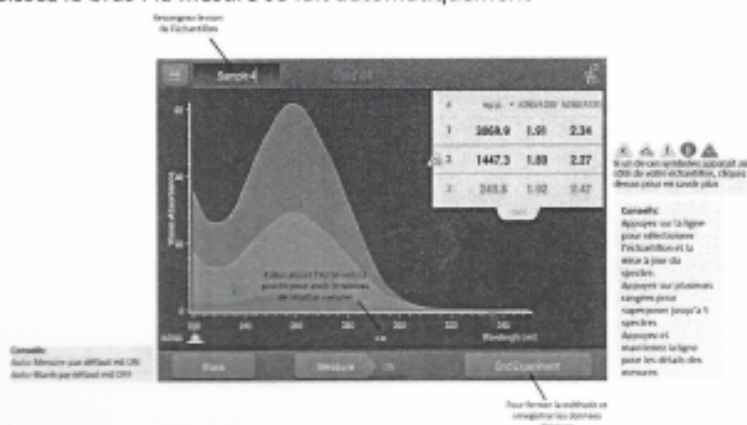
31. Presser **Run** pour **faire sortir le plateau**.
32. Récupérer les tubes 0,5 ml contenant l'ADN.
33. Jeter les cartouches avec les Plungers dans une poubelle DASRI.
34. Fermer la porte de l'automate et l'éteindre.
  
35. Ranger les tubes 0,5 ml dans une boîte, annoter la boîte.
36. Conserver les ADNs à +4 °C ou -20 °C.

	<b>Rédacteur</b>	<b>Vérificateur</b>	<b>Approbateur</b>
Nom :	Marie Abitbol	Lucie Chevallier	Laurent Tiret
Fonction :	EC	IR	Directeur d'unité
Visa :			

 <b>OZYME</b>	<b>UTILISATION DU NANODROP™ ONE/C</b>	28/04/2016
		<b>OZYME</b>
		page 2/2

L'appareil indique sur le bandeau haut « Blank OK ». Vous pouvez passer aux échantillons. Dans le cas contraire, refaire le blanc.

- Commencez les mesures.
- Nommez votre échantillon à l'aide de l'écran tactile puis déposer 1 µL du matériel à mesurer
- Abaissez le bras : la mesure se fait automatiquement



- Un graphe s'affiche à gauche ainsi que la concentration en matériel en haut à droite de l'écran (révélateur ou non de contamination phénolée ou protéique)
- Nettoyez les deux surfaces de mesure avant chaque nouvelle mesure.

Procédez de la même manière pour les autres échantillons

- Une fois toutes les mesures effectuées, faire « FIN DE L'EXPERIENCE »

Une fenêtre s'ouvre dans laquelle on peut enregistrer :

- o la date
- o le nom de l'analyse
- o y associer le nom d'un utilisateur

Il est possible d'exporter les résultats sur une clé USB (elle peut être enfichée au début ou fin d'expérience)

- Cliquer sur « EXPORTER LES DONNEES »

La fenêtre de chargement des données sur la clé et du choix de type d'exportation s'affiche ; faire « OK » pour valider.

Vous avez la possibilité d'exporter sous trois formats en cochant ceux voulus :

- o « .csv » : format à ouvrir sous Excel contenant les valeurs de concentration et ratio ainsi que les informations liées à Acclaro
- o « .tsv » : format à ouvrir sous Excel contenant les valeurs d'absorbances pour chaque longueur d'onde
- o « .sql » : format qui s'ouvre avec le logiciel NanoDrop™ One PC Viewer directement sur votre ordinateur. Ainsi vous revoyez vos résultats et spectres comme sur le NanoDrop™.

- La clé peut être enlevée lorsque le message indique que l'enregistrement est fini

**Bien nettoyer les deux surfaces de mesure avec le papier d'essuyage et abaisser le bras**

8- L'appareil revient à la page d'accueil et est prêt à être réutilisé ou éteint avec le bouton ON/OFF à l'arrière de l'appareil.

**Toulouse 2022 THESE : 2022– TOU 3 – 4085**

**Titre : Ankyloglossie chez le berger Kangal, une étude clinique et génétique**

**Directrice de thèse :** Dr Lucie Chevallier, Maître de conférences en Génétique moléculaire et médicale à l'ENVA

**Nom :** LAMBERT

**Prénom :** Fanny

Résumé : L'ankyloglossie est une affection congénitale héréditaire qui consiste en un raccourcissement du frein de la langue entraînant une diminution de mobilité linguale. La première partie bibliographique de cette thèse rappelle le développement embryonnaire de la langue puis fait un état des lieux concernant les gènes impliqués dans les voies de signalisation de ce développement. Ensuite, en rassemblant des pedigrees de chiens atteints ou apparentés à des chiens atteints, cette étude a permis d'étudier le ou les modes de transmission de l'ankyloglossie chez le berger Kangal. Des prélèvements biologiques (frottis buccal) ont également été réalisés dans l'optique de constituer une cohorte de bergers Kangal sains et atteints et de poursuivre les analyses génétiques à l'avenir.

Mots clefs : ankyloglossie, berger Kangal, mode de transmission héréditaire

**Title: Ankyloglossia in Kangal shepherd dogs, a clinical and genetic study**

Abstract: Ankyloglossia is a hereditary congenital disorder in which the lingual frenulum is shortened and the tongue mobility is reduced. The first part of our work reminds the tongue embryonic development and the genes involved in the signaling pathway of that development. Then, this study rules out the transmission mode(s) for ankyloglossia in dogs by collecting pedigrees of affected dogs and pedigrees of dogs linked to the affected ones. Biological samples (mouth swab) were also collected in order to constitute a healthy and affected bank of Kangal shepherd and to pursue genetic analysis in the future.

Key words: ankyloglossia, Kangal shepherd, mode of inheritance