

La recherche en chirurgie pédiatrique

Research in Pediatric Surgery

Juan A Tovar

*Professeur Émérite à la Faculté de Médecine - Université Autonome de Madrid.
Ancien Chef du département de chirurgie pédiatrique - Hôpital Universitaire La Paz, Madrid, Espagne.*

Mots clés

- ◆ Chirurgie Pédiatrique
- ◆ Étude prospective aléatoire
- ◆ Méta-analyse
- ◆ Révision systématique
- ◆ Série rétrospective
- ◆ Atrésie de l'œsophage
- ◆ Gène

Résumé

Ce travail montre à quel point la Chirurgie Pédiatrique a besoin de fonder ses attitudes thérapeutiques et ses opérations sur une recherche solide. Celle-ci est difficile, sur le plan clinique à cause de la baisse prévalence de la plupart des maladies qu'elle traite et du fait que ses malades soient mineurs et donc, incapables de donner un consentement informé pour des études aléatoires. Sur le plan de la recherche fondamentale, cette spécialité intéresse peu les chercheurs de base. Cette situation ne peut être améliorée que par la collaboration entre plusieurs hôpitaux et pays pour réunir des séries prospectives, ainsi que par la recherche fondamentale menée par ou avec la collaboration des chirurgiens pédiatres eux-mêmes. Pour illustrer cette démarche l'auteur décrit l'expérience de son groupe sur la recherche des mécanismes de l'atrésie de l'œsophage.

Keywords

- ◆ Pediatric Surgery
- ◆ Prospective randomized study
- ◆ Meta-analysis
- ◆ Systematic Review
- ◆ Retrospective series
- ◆ Esophageal atresia
- ◆ Gene

Abstract

The present study shows to which extent Pediatric Surgery needs to base its therapeutic attitudes and operations on a solid research background. This is particularly difficult on the field of clinical research because of the low prevalence of many of the conditions involved and also because of the fact that patients are minors that are not entitled to give informed consent by themselves for randomized studies. As regards laboratory research, this specialty is scarcely interesting for basic scientists. This situation can only be improved by prospective randomized studies performed in network collaboration with other hospitals/countries and by basic research conducted by pediatric surgeons or in association with other scientists. In order to illustrate this, the author summarizes the experience of his group on basic research on esophageal atresia/tracheoesophageal fistula.

L'exercice de la Médecine est nécessairement associé à la recherche car peu d'activités humaines sont, comme elle, basées sur des connaissances aussi incomplètes et changeantes. La Chirurgie Pédiatrique, spécialité relativement jeune et couvrant un très vaste domaine, a particulièrement besoin de la recherche pour deux raisons : en premier lieu, la variété des entités traitées et les classes d'âges de ses malades rendent très difficile d'établir les meilleures attitudes thérapeutiques avec une méthodologie rigoureuse. Deuxièmement, on connaît mal les origines et les mécanismes de la plupart de ces maladies. Dans ce travail nous allons considérer brièvement la recherche clinique et la recherche fondamentale dans cette spécialité.

Recherche clinique en chirurgie pédiatrique

Nous vivons une période de saine exigence de baser nos décisions sur l'évidence et pour cela, l'analyse des observations, les séries rétrospectives, l'éminence seule ne suffisent plus. Il faut produire de l'évidence scientifique surtout par des

études prospectives aléatoires et d'autres instruments comme des révisions systématiques ou des méta-analyses. Peu à peu, les études sur lesquels se sont basées pendant des décennies nos attitudes thérapeutiques perdent de leur valeur et il devient donc de plus en plus difficile de justifier pourquoi nous opérons avec des indications et des techniques particulières. Dans une étude sur les fondements scientifiques des opérations de notre spécialité en 1998, il est mis en évidence que seulement un quart de celles-ci sont basées sur des méthodologies convaincantes (1). Plus récemment, une autre étude de l'Université d'Oxford (2) qui compare les articles publiés dans la littérature scientifique sur des sujets chirurgicaux pédiatriques à quinze ans d'écart (1998 et 2013) a démontré que le progrès a été minime car, dans les deux périodes considérées, à peu près deux tiers des manuscrits correspondaient à des descriptions d'observations ou des séries rétrospectives d'une qualité d'évidence bien faible. Les études méthodologiquement plus strictes, des séries prospectives, des études aléatoires prospectives ou des méta-analyses avaient expérimenté un progrès de 2.3 % en 15 ans. Néanmoins, la proportion de révisions systématiques avait considérablement progressé, ce qui prouve une légère amélioration méthodologique.

Correspondance :

*Juan A Tovar, Universidad Autonoma de Madrid - Facultad de Medicina - Departamento de Cirugia Pediatrica Hospital Universitario La Paz - P. de la Castellana, 261 - 28046 Madrid, Espagne.
Tel : +34 635 990 057 / E-mail : juan.tovar@salud.madrid.org / jatovar44@telefonica.net*

Il est vrai que les limitations de notre branche de la chirurgie pour baser nos actions sur une évidence solide sont partagées par d'autres spécialités (3). La nature de maladies que nous traitons, les variables introduites par nos propres mains (difficiles à uniformiser) et d'autres facteurs mettent toujours les publications chirurgicales en infériorité.

Mais toutes les branches de la chirurgie doivent s'efforcer de s'adapter de plus en plus à ces méthodes plus astreignantes qui sont indispensables pour renforcer les bases sur lesquelles nous nous appuyons.

Recherche fondamentale en chirurgie pédiatrique

Du côté de la recherche fondamentale, sur des modèles animaux, sur des cellules ou des molécules, la chirurgie pédiatrique est aussi préteritée par l'intérêt limité que ces maladies peu fréquentes éveillent parmi les scientifiques de base. Certains aspects génétiques ou immunologiques de ces maladies, les transformations qui mènent au cancer ou d'autres points sur lesquelles la maladie adulte et celle de l'enfant coïncident sont parfois clarifiés par des recherches menées par eux. Mais, hélas, certaines de ces maladies n'intéressent que les chirurgiens pédiatres eux-mêmes. C'est pour cela que ceux-ci doivent prendre en main leur propre recherche fondamentale ou s'associer avec d'autres dans cette démarche.

Un nombre croissant de services universitaires de chirurgie pédiatrique bénéficie d'installations et du personnel dévoué à la recherche de laboratoire. Cela demande un effort humain et économique considérable. Trouver les fonds, les collaborations nécessaires, et surtout les jeunes personnes, souvent des candidats à un doctorat, n'est pas une tâche facile. Mais cela reste possible. Tout au long des derniers 25 ans nous avons pu développer dans notre institution un laboratoire où les moyens nécessaires pour la recherche sur des animaux, des tissus, des cellules, des molécules et des gènes ont été réunis. Et nous avons eu le privilège d'accueillir plus d'une vingtaine de jeunes gens en provenance de huit pays (en plus du nôtre), souvent des chirurgiens pédiatres en fin de formation ou déjà spécialistes, qui se sont efforcés pendant des périodes de deux ou trois ans d'éclairer quelques-unes de nos incertitudes. Les moyens matériels sont, certes, difficiles à obtenir car il faut entrer en concurrence avec des chercheurs et des laboratoires fondamentaux souvent très influents. Mais en Europe au moins il y a des fonds accessibles à travers les gouvernements, les universités, les hôpitaux et des fondations privées dont il faut savoir tirer parti. Pendant trente ans notre financement a été presque entièrement public...quoique les responsables de ces efforts ont passé une grande partie de leur temps à rédiger des projets, des mémoires et des budgets.

Les sujets de notre recherche ont été, bien sûr, les causes et les mécanismes des maladies dont nous nous occupons, et prioritairement les malformations congénitales.

Afin d'illustrer cette démarche, nous avons choisi de résumer pour vous notre recherche sur une maladie qui est emblématique de notre spécialité : l'atrésie de l'œsophage (AO).

Cette malformation qui apparaît dans une sur 3 500 naissances est donc une maladie rare mais néanmoins elle atteint à plus de 100 petits français chaque année. Elle consiste le plus souvent en une interruption de l'œsophage derrière la trachée avec une fistule entre celle-ci et l'œsophage distal. L'appareil respiratoire et l'appareil digestif sont donc atteints en même temps, mais d'autres organes sont aussi impliqués car un nombre considérable de malformations associées accompagnent la principale. Des anomalies du nombre ou de la forme des vertèbres ou des côtes, des malformations des membres, du système cardiovasculaire, respiratoire, digestif et urogénital sont observées chez une proportion considérable

de malades et quelques-unes, comme les malformations cardiaques, peuvent même entraîner la mort (4).

Il est donc vraisemblable que les mécanismes pathogéniques de l'AO soient le résultat d'une erreur du développement embryonnaire précoce. La cause précise est inconnue, mais la coïncidence des différentes malformations associées prouve que celle-ci frappe pendant la quatrième semaine de vie intra-utérine, au moment de la séparation trachéo-œsophagienne à partir de l'intestin rostral primitif. En même temps, les différentes parties de l'appareil digestif sont aussi en train de se former, ainsi que l'appareil uro-génital, la colonne et les membres.

Pour essayer d'expliquer ces phénomènes pathologiques, nous avons développé un modèle animal fondé sur les observations toxicologiques qui ont précédé la mise sur le marché du médicament anti-cancéreux doxorubicine ou adriamycine (5). En effet, l'administration de certaines doses de ce produit avant la séparation trachéo-œsophagienne chez le rat (J7, J8 et J9 de la gestation), cause à peu près dans la moitié de la fratrie une AO identique à celle de l'être humain qui, en plus, s'accompagne de toutes les malformations du spectre de celle-ci (6,7).

Nous avons ainsi pu décrire en détail l'embryogénèse de la maladie, c'est à dire, la morphologie de la séparation anormale de la trachée et de l'œsophage (8).

La notochorde craniale, la structure axiale qui parcourt le dos de l'embryon dont elle aide à organiser l'embryogenèse segmentaire en émettant des signaux moléculaires multiples, est dupliquée dans ce modèle sur le plan sagittal (9,10). Comme la notochorde devient finalement après sa régression chacun des noyaux pulpeux des corps vertébraux, l'on comprend aisément que ceux-ci soient malformés chez ces rats (10) comme chez les enfants avec AO. Il en est de même pour les membres supérieurs issus des métamères proches de la région cervico-thoracique.

La notochorde a un rôle dans la séparation trachéo-œsophagienne dû à l'action du gène *Sonic hedgehog*, *Shh*, (parmi d'autres comme *Nkx2.1*, *Sox 2*, *Noggin* et *BMP*) et elle détermine que la partie postérieure de l'intestin antérieur devienne un œsophage tandis que la partie antérieure se transforme en trachée (11). *Shh* agit aussi pour permettre le développement de l'arbre bronchique et du parenchyme pulmonaire. Ce gène agit sur *Ptc* qui, à son tour, libère *Smo* et déclenche la production des protéines *Gli2* et *Gli3* (12). L'épithélium respiratoire en ramification exprime fortement *Shh* tandis que le mésenchyme qui l'entoure exprime *Fgf 10*. L'interaction entre ces deux facteurs intègre la ramification de l'épithélium broncho-alvéolaire et la différenciation du mésenchyme pour aboutir au parenchyme pulmonaire (13).

Des souris mutantes chez qui on a effacé *Nkx2.1* (14), *Shh*, *Gli2* ou *Gli3* (15) portent une AO parmi d'autres malformations et ont des troubles du développement pulmonaire.

Étant donné que les enfants qui survivent à l'opération néonatale pour réparer une AO portent souvent des maladies respiratoires chroniques, nous avons décidé d'explorer la voie de signalisation du *Shh* dans notre modèle animal, et nous avons pu prouver que l'expression de ce gène est pauvre dans le poumon pendant la période embryonnaire du développement et tend à récupérer ultérieurement (16). Il en est de même pour les autres étages de cette signalisation, *Ptc*, *Smo*, *Gli2* et *Gli3*.

En ce qui concerne *Fgf 10*, il est augmenté pendant la même période (17). Ces observations expliquent que, au moins dans notre modèle, la ramification bronchique soit limitée, et le poumon soit modérément hypoplasique en termes de poids relatif et de contage alvéolaire radial (18). Nous avons aussi prouvé dans ce modèle animal de l'AO, un déficit d'innervation trachéo-bronchique qui pourrait avoir des conséquences fonctionnelles (19).

Bien que passer de ces observations animales à la maladie humaine soit difficile (20), il est certain qu'elles pourraient

expliquer une partie des séquelles respiratoires des survivants à ces opérations.

Finalement, nous avons essayé d'approfondir l'étiologie de l'AO en nous servant de notre modèle animal. L'observation de certains cas d'AO chez les enfants de mères présentant des troubles de la fonction thyroïdienne nous a conduit à induire un hypothyroïdisme ou alternativement un hyperthyroïdisme chez des rats en gestation pendant la période correspondante à la séparation trachéo-œsophagienne. Le traitement avec de l'adriamycine produisait plus de fœtus avec AO chez les mères hyperthyroïdiennes (21) ce qui nous permet de spéculer sur cette possible voie étiologique qui mérite une plus ample enquête épidémiologique en clinique humaine.

Conclusions

À travers la considération de ces deux volets de la recherche en chirurgie pédiatrique il est aisé de comprendre qu'il reste beaucoup à faire. En ce qui concerne la recherche clinique, il est clair que les méta-analyses et les révisions systématiques nous aideront à mieux définir le bien-fondé de nos actions mais, comment entreprendre des études prospectives aléatoires sur des maladies si rares chez des sujets mineurs ? La coopération entre hôpitaux d'un même pays et, mieux encore, entre plusieurs pays pour des études prospectives multicentriques s'avère nécessaire...mais fort difficile. Des efforts méritoires ont été déjà faits, particulièrement en France en désignant des centres hautement spécialisés pour certaines maladies, mais c'est probablement à travers les réseaux (networks) transnationaux qu'on avancera plus vite. Cela a été fait avec succès en oncologie pédiatrique et il n'y a pas de raison pour que cela ne se reproduise pas en chirurgie.

En ce qui concerne la recherche fondamentale, nous avons seulement exposé une partie limitée des efforts de notre service et de beaucoup d'autres pour clarifier l'origine et les mécanismes des maladies qui nous intéressent. Nous-mêmes avons longuement travaillé sur les hernies de coupes, les défauts de la paroi antérieure ou de l'axe neural ainsi que sur le phénomène du reflux gastro-œsophagien. D'autres groupes ont travaillé sur ces mêmes maladies et sur l'entérocolite nécrosante, la maladie de Hirschsprung et tant d'autres. Il est hautement souhaitable de diriger la passion et l'énergie des jeunes vers la recherche fondamentale pendant une période de leur vie. Il est, certes, difficile de combiner l'apprentissage long et dur de la spécialité avec celui de la recherche, mais il est, non seulement nécessaire, mais passionnant, de le faire.

La meilleure façon de motiver cet effort additionnel est sans doute de lier une période de recherche à la carrière universitaire en l'exigeant pour obtenir un poste d'enseignant. Les pays qui demandent une thèse de troisième cycle pour devenir professeur sont parmi ceux qui excellent dans la recherche.

Discussion en séance

Questions de J Dubouset

1-Malformations vertébrales acquises dans la période embryonnaire initiale ?

Réponse

Les malformations des vertèbres que je vous ai montrées sont sans doute dues à des anomalies très précoces de la notochorde, qui précèdent probablement au période de la segmentation. Les corps vertébraux se forment par ossification du mésenchyme autour du résidu de la notochorde segmentée qui en formera le noyau pulpeux. Que lesdites malformations soient ou non acquises dépend de l'origine de la maladie. Il y a des dysplasies vertébrales génétiques dans lesquelles le message transmis par la notochorde comme organisateur axial

est déjà anormal dès le départ, mais pour des maladies embryonnaires, comme la AO, qui n'a que rarement une origine génétique (trisomie 18, par exemple), il nous faut accepter qu'une cause inconnue agit sur l'embryon pendant la segmentation.

2-Atrésie œsophage est-elle acquise ?

Réponse

La plupart des AO sont sporadiques et donc acquises pendant l'embryogénèse précoce, mais quelques-unes sont génétiques.

Question d'O Reinberg

Thoracoscopie versus laparoscopie seulement depuis 2 ans. Recul de 15 ans = moitié de la durée de vie d'un chirurgien ?

Réponse

Tout à fait d'accord avec ce commentaire. Il est très difficile de comparer deux méthodes ou approches dû à la basse prévalence. D'un autre côté, il est difficile d'offrir une qualité chirurgicale uniforme permettant cette comparaison, car chaque chirurgien pédiatre est confronté chaque année à un nombre très limité de cas.

Références

1. Baraldini V, Spitz L, Pierro A. Evidence-based operations in paediatric surgery. *Pediatr Surg Int* 1998;13:331-5.
2. Allin B, Aveyard N, Campion-Smith T, Floyd E, Kimpton J, Swarbrick K, Williams E, Knight M. What Evidence Underlies Clinical Practice in Paediatric Surgery? A Systematic Review Assessing Choice of Study Design. *PLoS One* 2016;11:e0150864.
3. Allin BS, Tse WH, Marven S, Johnson PR, Knight M. Challenges of improving the evidence base in smaller surgical specialties, as highlighted by a systematic review of gastroschisis management. *PLoS One* 2015;10:e0116908.
4. Spitz L. Oesophageal atresia. *Orphanet J Rare Dis* 2007;2:24.
5. Thompson DJ, Molello JA, Strebing RJ, Dyke IL. Teratogenicity of adriamycin and daunomycin in the rat and rabbit. *Teratology* 1978;17:151-7.
6. Diez-Pardo JA, Baoquan Q, Navarro C, Tovar JA. A new rodent experimental model of esophageal atresia and tracheoesophageal fistula: preliminary report. *J Pediatr Surg* 1996;31:498-502.
7. Qi B, Diez-Pardo JA, Navarro C, Tovar JA. Narrowing the embryologic window of the adriamycin-induced fetal rat model of esophageal atresia and tracheoesophageal fistula. *Pediatr Surg Int* 1996;11:444-7.
8. Possogel AK, Diez-Pardo JA, Morales C, Navarro C, Tovar JA. Embryology of esophageal atresia in the adriamycin rat model. *J Pediatr Surg* 1998;33:606-12.
9. Possoegel AK, Diez-Pardo JA, Morales C, Tovar JA. Notochord involvement in experimental esophageal atresia. *Pediatr Surg Int* 1999;15:201-5.
10. Xia H, Migliazza L, Montedonico S, Rodriguez JI, Diez-Pardo JA, Tovar JA. Skeletal malformations associated with esophageal atresia: clinical and experimental studies. *J Pediatr Surg* 1999;34:1385-92.
11. Jacobs IJ, Ku WY, Que J. Genetic and cellular mechanisms regulating anterior foregut and esophageal development. *Dev Biol* 2012;369:54-64.
12. van Tuyl M, Post M. From fruitflies to mammals: mechanisms of signalling via the Sonic hedgehog pathway in lung development. *Respir Res* 2000;1:30-5.
13. Warburton D, Bellusci S, De Langhe S, Del Moral PM, Fleury V, Mailleux A, Tefft D, Unbekandt M, Wang K, Shi W. Molecular mechanisms of early lung specification and branching morphogenesis. *Pediatr Res* 2005;57:26R-37R.
14. Minoo P, Su G, Drum H, Bringas P, Kimura S. Defects in tracheoesophageal and lung morphogenesis in *Nkx2.1(-/-)* mouse embryos. *Dev Biol* 1999;209:60-71.
15. Kim PC, Mo R, Hui Cc C. Murine models of VACTERL syndrome: Role of sonic hedgehog signaling pathway. *J Pediatr Surg* 2001;36:381-4.
16. Fragoso AC, Martinez L, Estevao-Costa J, Tovar JA. Abnormal Sonic hedgehog signaling in the lung of rats with esophageal atresia induced by adriamycin. *Pediatr Res* 2014;76:355-62.
17. Fragoso AC, Aras-Lopez R, Martinez L, Estevao-Costa J, Tovar JA. Abnormal control of lung branching in experimental esophageal atresia. *Pediatr Surg Int* 2013;29:171-7.
18. Xiaomei L, Aras-Lopez R, Martinez L, Tovar JA. Lung hypoplasia in

- rats with esophageal atresia and tracheo-esophageal fistula. *Pediatr Res* 2012;71:235-40.
19. Liu XM, Aras-Lopez R, Martinez L, Tovar JA. Abnormal development of lung innervation in experimental esophageal atresia. *Eur J Pediatr Surg* 2012;22:67-73.
 20. Fragoso AC, Martinez L, Estevas-Costa J, Tovar JA. Lung maturity in esophageal atresia: Experimental and clinical study. *J Pediatr Surg* 2015;50:1251-9.
 21. Fragoso AC, Martinez L, Estevas-Costa J, Tovar JA. Maternal hyperthyroidism increases the prevalence of foregut atresias in fetal rats exposed to adriamycin. *Pediatr Surg Int* 2014;30:151-7.