

FCA passent respectivement de 0.32 à 0.57, et de 0.77 à 0.20. Cela confirme que les CA sélectionnent des familles à sur-risque de CCR, y compris en l'absence d'identification d'un gène majeur. Cependant, on observe une variation inter familiale de ce sur-risque. Ainsi, la moyenne de G dans le groupe FCA varie d'une famille à l'autre de +/- 0.34, alors que cet écart-type est de 0.40 dans la population. L'hétérogénéité inter familiale est donc presque aussi importante dans le groupe FCA que dans la population. Discussion : Les familles HNPCC négatives constituent une population hétérogène vis-à-vis du risque de CCR : certaines familles ont un sur-risque réel alors que d'autres ne sont pas plus exposées que la population générale ; l'agrégation de CCR étant du au hasard (ici représenté par E). Ces résultats suggèrent que l'estimation d'un sur-risque moyen de CCR dans les familles HNPCC négatives (type SIR) masque probablement une hétérogénéité inter familiale, ce qui la rend peu utiles pour la prise en charge. Conclusion : Nos résultats confirment que les CA, bien qu'ils soient très restrictifs, ne sélectionnent pas des familles HNPCC homogènes vis-à-vis du risque de CCR. Notre travail de simulation montre la nécessité de prendre en compte (en plus du biais causé par l'utilisation des CA) la variabilité de l'exposition à des facteurs de risque inconnus, dans une approche plus individualisée du risque.

**Mots-clés :** syndrome HNPCC, modélisation, facteurs de risque.

#### ■P544 / 668. EFFETS DU LYCOPÈNE SUR 3 LIGNÉES CONTINUES DE CELLULES TUMORALES PROSTATIQUES PAR CYTOMÉTRIE EN FLUX

E. Boulay (1, 3), G. Dagouret (1, 3), A. Bergerat (1, 3), N. Chalabi (1, 3), N. Rabiau (1, 3), L. Delort (1, 3), S. Satih (1, 3), Y.J. Bignon (1, 2, 3), D.J. Bernard-Gallon (1, 3)

(1) Département d'Oncogénétique du Centre Jean-Perrin, Centre Biomédical de Recherche et de Valorisation, 28 place Henri-Dunant, BP 38, 63001 Clermont-Ferrand Cedex 01, France ; (2) Université Clermont I, Faculté de Médecine, 28 place Henri-Dunant, 63001 Clermont-Ferrand Cedex 01, France ; (3) CNRH, 58 rue Montalembert, 63009 Clermont-Ferrand Cedex 01, France ; (4) CHU Gabriel-Montpied, 58 rue Montalembert, BP 392, 63001 Clermont-Ferrand Cedex 01, France

Introduction : Le cancer de la prostate est la deuxième cause de mortalité par cancer dans les pays développés après le cancer du poumon. Cette pathologie touche environ 40 000 hommes par an en France et est responsable de près de 10 000 décès. La consommation journalière d'un micronutriments contenu principalement dans la tomate, le lycopène, aurait un effet préventif sur l'incidence du cancer de la prostate. Outre son fort pouvoir antioxydant, le lycopène permettrait de bloquer les cellules en phase G1/S du cycle cellulaire. Matériel et méthodes : Les cellules traitées par le lycopène appartiennent à la lignée continue DU-145 provenant d'une métastase cérébrale d'un carcinome de la prostate, à la lignée continue LNCaP provenant d'une métastase ganglionnaire d'un carcinome de la prostate prélevée sur le ganglion supra-claviculaire gauche, à la lignée continue PC-3 provenant d'une métastase osseuse d'un adénocarcinome de la prostate. Ces cellules ont été traitées par du lycopène aux concentrations 5 µM, 10 µM, 20 µM, 30 µM. Elles ont été analysées par cytométrie en flux dans le but de définir le temps d'exposition et la concentration en lycopène ayant un effet sur le cycle cellulaire. Résultats : Les résultats obtenus montrent un blocage du cycle cellulaire en phase G1/S pour un temps d'incubation de 48 h et pour une concentration en lycopène de 30 µM pour les DU 145 et les LNCaP. Pour les PC 3, l'effet était déjà retrouvé à 10 µM. Perspectives : Une fois déterminées, les concentrations en lycopène ayant un effet de blocage du cycle cellulaire. Nous pourrions envisager une étude transcriptomique de l'effet du lycopène sur les cellules prostatiques tumorales en lignée continue.

**Mots-clés :** lignées continues de cellules tumorales prostatiques, lycopène, cytométrie en flux.

#### ■P545 / 694. INSTABILITÉ CHROMOSOMIQUE ET ANEUPLOÏDIE DANS LES GLIOMES

M. Gadjji (1), D. Fortin (2), A.-M. Tsanaclis (3), R. Drouin (1)

(1) Service de Génétique, Département de Pédiatrie, Faculté de Médecine et des Sciences de la Santé, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada J1H 5N4 ; (2) Service de Neurochirurgie, Département chirurgie ; (3) Département de Pathologie

L'instabilité chromosomique et l'aneuploïdie sont des caractéristiques fréquentes des tumeurs solides et, en particulier, les gliomes ou tumeurs cérébrales primaires. Considérées très tôt comme la cause des cancers, elles ont été très rapidement oubliées principalement à cause du manque d'outils d'investigation adéquats à l'époque. Cependant, elles ont repris un regain d'intérêts ces dernières années, et des signatures chromosomiques

spécifiques de tumeurs ont vu le jour. Nous avons entrepris d'étudier les tumeurs cérébrales primaires rencontrées au CHUS, pour rechercher des signatures chromosomiques qui seraient responsables de ces tumeurs et seraient corrélées à leur degré de malignité à savoir l'invasion et l'angiogenèse en vue de trouver de nouvelles cibles thérapeutiques. Nous avons utilisé des techniques de cytogénétique et 50 tumeurs ont été cultivées avec succès. Ces tumeurs sont composées de 13 oligodendrogliomes à différents grades (I et II) pures ou mixtes et 37 astrocytomes à différents grades aussi (I, II, III et IV). À ce jour, les caryotypes de 14 de ces tumeurs composés de 8 oligodendrogliomes et de 6 astrocytomes ont été étudiés après marquage GTG. Une polyploïdie (60 à 96 chromosomes) a été observée dans 6 cas composés de 5 oligodendrogliomes anaplasiques et de 1 glioblastome. L'aneuploïdie a été notée chez 5 tumeurs dont 4 glioblastomes et 1 oligoastrocytome anaplasique. Trois cas avaient un contenu diploïde en ADN. Selon nos résultats préliminaires, le changement du contenu en ADN (ploïdie) serait un signe de progression des oligodendrogliomes, comme le serait l'aneuploïdie qui résulterait de la polyploidisation dans les astrocytomes. L'utilisation de la cytogénétique moléculaire comme le MFISH (hybridation in situ en fluorescence multicouleur) et le SKY (caryotype spectral) nous permettra de mieux caractériser les anomalies chromosomiques spécifiques et de définir des signatures chromosomiques.

**Mots-clés :** Instabilité chromosomique, Aneuploïdie, Tumeurs cérébrales.

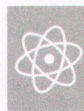
## Physiopathologie

#### ■P546 / 93. MUTATIONS DANS *FGD4*, CODANT LA RHO GEF, FRABIN, SONT RESPONSABLES DE CMT4H, UNE FORME AUTOSOMALE RÉCESSIVE DE CMT DÉMYÉLINISANT

V. Delague (1), A. Jacquier (2), T. Hamadouche (1, 4), Y. Poitelon (1), C. Baudot (1), I. Boccaccio (1), E. Chouery (3), M. Chaouch (5), N. Kassouri (5), R. Jabbour (3), D. Grid (6), A. Mégarbané (3), G. Haase (2), N. Lévy (1, 7)

(1) INSERM U910, Université de la Méditerranée, Faculté de Médecine de la Timone, 13385 Marseille, France ; (2) INSERM, Université de la Méditerranée, Institut de Neurobiologie de la Méditerranée (INMED), Equipe AVENIR, Marseille, France ; (3) Unité de Génétique Médicale, Université Saint-Joseph, Beyrouth, Liban ; (4) Laboratoire de Biologie Moléculaire, Institut Pasteur, Algiers, Algérie ; (5) Service de Neurologie, Centre Hospitalier Universitaire Ben Aknoun, Algiers, Algérie ; (6) Généthon III, Evry, France ; (7) Département de Génétique et Biologie Cellulaire, Hôpital d'enfants Timone, Marseille, France

Introduction : La maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT) désigne un groupe extrêmement hétérogène de maladies du système nerveux périphérique, tant sur le plan clinique, génétique, ou encore histo-pathologique. Leur prévalence est estimée à 1/2500 et tous les modes de transmission existent. Les CMTs sont classiquement divisés en deux groupes : les atteintes démyélinisantes (CMT1) et axonales (CMT2). À l'heure actuelle, environ 50 loci sont identifiés, dont 30 gènes identifiés. En 2005, en utilisant une stratégie « d'homozygosity mapping » dans deux familles consanguines Libanaise et Algérienne, nous avons pu localiser le gène responsable de CMT4H, une nouvelle forme CMT à transmission autosomique récessive (AR-CMT), en 12p11.21-q13.11. Très récemment, nous avons identifié le gène *FGD4* comme responsable de cette forme de CMT. Résultats : *FGD4* code la protéine FGD4/FRABIN, facteur d'échange GDP/GTP (RhoGEF) pour la RhoGTPase Cdc42, et protéine de liaison à l'actine. Les RhoGTPases sont des switchs moléculaires, qui contrôlent une grande variété de voies de transduction de signaux dans les cellules eucaryotes, incluant la régulation du cytosquelette, la polarité, la prolifération et la migration cellulaires. FRABIN est une protéine de 766 AA possédant 5 domaines fonctionnels, dont un domaine de liaison à l'actine, un domaine DH responsable de l'échange GDP/GTP, et trois domaines impliqués dans des interactions avec différentes formes de polyphosphoinositides. Les deux mutations identifiées affectent le même codon : il s'agit d'une mutation d'épissage p.Met298fsX8, prédite pour résulter en une protéine prématurément tronquée de 305 acides aminés (AA), et une mutation faux-sens p.Met298Thr. Elles sont situées dans le domaine DH, et affectent donc probablement l'activation de Cdc42. Nous avons réalisé des études fonctionnelles pour la forme tronquée (mimant la mutation humaine p.Met298fsX8), qui, si elle est produite, est dépourvue des 3 derniers domaines fonctionnels et d'une partie du domaine DH. La surexpression des formes normales de la protéine dans des motoneurones de rat a permis de montrer que Frabin induisait la formation de microspikes et co-localisait avec l'actine au niveau des cônes de croissance. À l'inverse, la surexpression de la forme tronquée induit significativement moins de microspikes que la forme sauvage. Des résultats similaires ont été obtenus par



surexpression de formes normales et tronquées dans des cellules de Schwann RT4 de rat. Discussion : Tous ces éléments sont en faveur d'un effet pathogénique de la mutation, de type perte de fonction. L'identification, par une autre équipe, de trois autres mutations tronquantes dans *FGD4* confirme la pathogénicité de nos mutations et l'importance de *FGD4* dans la physiopathologie des CMT. Différentes hypothèses concernant la physio-pathologie de la maladie peuvent être émises, entre autres la perte d'activation de Cdc42, entraînant une désorganisation du cytosquelette

**Mots-clés :** Charcot-Marie-Tooth Rho GEF Rho GTPase.

**■P547 / 145. LE BEZAFIBRATE, UN AGONISTE PPAR, AMÉLIORE SIGNIFICATIVEMENT LES MANIFESTATIONS CLINIQUES ET MÉTABOLIQUES DE LA FORME MUSCULAIRE DU DÉFICIT EN CARNITINE PALMITOYLTRANSFERASE 2.**

F. Djouadi (1), J. Bastin (1), P. Laforet (3), F. Aubey (1), A. Mogenet (4), A. Behin (3), S. Romano (5), A. Vassault (5), S. Gobin (2), B. Eymard (3), J. Bresson (4), J.-P. Bonnefont (2)

(1) CNRS UPR 9078 ; (2) INSERM U781, université Paris-Descartes et hôpital Necker ; (3) Institut de Myologie, hôpital de la Pitié ; (4) CIC Necker, (5) Unité de biochimie métabolique, hôpital Necker ; Paris, France

Les carnitine palmitoyltransferase 1 et 2 (CPT2) sont des enzymes-clé de la régulation de l'oxydation mitochondriale des acides gras du fait de leur action de contrôle de l'entrée des acides gras à chaîne longue (AGLC) dans la mitochondrie. Le déficit héréditaire en CPT2, de transmission autosomique récessive, se manifeste sous 2 formes. La forme néonatale/infantile est une maladie grave, de présentation hépato cardio musculaire, et souvent létale. La forme de l'adulte, maladie très invalidante, se manifeste par des accès récurrents de rhabdomyolyse déclenchés par l'effort physique et le jeûne, exposant à une insuffisance rénale aigue, voire à une mort subite. Cette variabilité d'expression de la maladie est corrélée au niveau d'activité CPT2 résiduelle, à la profondeur du déficit de l'oxydation des AGLC qui en résulte, et à la nature et localisation des mutations du gène *CPT2*. La prise en charge des patients, fondée sur la prévention des situations de catabolisme, la limitation de l'apport lipidique alimentaire et de l'exercice physique, est en pratique d'une efficacité limitée. Afin d'améliorer cette prise en charge, nous avons évalué les effets d'une molécule, le bezafibrate, chez 6 patients adultes atteints de déficit en CPT2. Le bezafibrate est un agent hypo lipidémiant largement prescrit dans les situations d'hyperlipidémie en pratique médicale courante. Il s'agit d'un agoniste PPAR (« peroxisome proliferator activated receptor »), qui augmente l'expression des gènes codant pour de nombreuses enzymes impliquées dans l'oxydation des acides gras, dont la CPT2. Dans un premier temps, nous avons montré que le bezafibrate avait la capacité de corriger le défaut d'oxydation des AGLC dans les fibroblastes et myoblastes de patients atteints de la forme adulte du déficit en CPT2. Nous avons alors entrepris un essai clinique chez les 6 patients auxquels a été administré du bezafibrate à la dose de 600 mg par jour pendant 6 mois. Aucun effet indésirable n'a été détecté, en dehors d'une légère élévation du taux d'homocystéine plasmatique. L'état clinique a été considérablement amélioré chez tous les patients, avec une diminution franche de l'intensité et de la fréquence des myalgies, et une amélioration nette de la tolérance à l'effort et de la qualité de vie. Ces données cliniques sont corroborées par les analyses *in vitro*, réalisées avant la mise en route du traitement et à la fin de l'essai. Ainsi, l'oxydation des AGLC, mesurée sur mitochondries isolées de muscle, est fortement augmentée chez tous les patients. Nous avons montré que cet effet est médié par une augmentation de l'expression du gène *CPT2*. Ces données montrent, pour la première fois dans le cadre d'une anomalie héréditaire de l'oxydation des acides gras, l'efficacité d'une approche pharmacologique ciblant la cause de la maladie et non ses conséquences.

**Mots-clés :** thérapie, carnitine palmitoyltransferase 2, fibrates.

**■P548 / 184. DOSAGE SYSTÉMATIQUE DU COMPLEXE V DE LA CHAÎNE RESPIRATOIRE MITOCHONDRIALE DANS DES PRÉLÈVEMENTS MUSCULAIRES DE PATIENTS ATTEINTS DE MALADIES MITOCHONDRIALES**

K. Fragaki (1), C. Caruba (2), A.-M. Soummer (2), J.-C. Lambert (1), V. Paquis-Flucklinger (1)

(1) Service de Génétique Médicale, Centre de référence des pathologies mitochondriales, CHU de Nice ; (2) Service de Biochimie, CHU de Nice

Le complexe V (ATP synthase ou ATPase) est une des enzymes de la chaîne respiratoire mitochondriale. Il est essentiellement composé d'un secteur catalytique matriciel, la sous-unité F<sub>1</sub>, et d'un secteur membranaire, le canal F<sub>0</sub> inséré dans la membrane interne des mitochondries. Il

joue un rôle clé dans la production d'énergie chez les mammifères sous forme d'ATP, suivant une réaction de phosphorylation de l'ADP en présence de phosphate inorganique. Cette réaction est couplée à l'entrée de protons dans la matrice mitochondriale, consécutive à la mise en place d'un gradient électrochimique, généré dans l'espace intermembranaire par les complexes I, III et IV de la chaîne respiratoire. Au vu de son rôle capital dans la production d'énergie, les déficits du complexe V sont hautement délétères et se manifestent principalement chez les enfants très rapidement après la naissance. Il est donc nécessaire de disposer d'un dosage précis, mais aussi systématique de l'activité de cette enzyme dans le cadre du diagnostic des maladies mitochondriales. Le dosage du complexe V s'effectue en utilisant deux réactions couplées. La première consiste en la transformation du phosphoenolpyruvate en pyruvate grâce à la pyruvate kinase. Par la suite, et en présence de lactate deshydrogénase, le pyruvate précédemment formé se transforme en lactate. Cette deuxième étape nécessite du NADH qui s'oxyde en NAD<sup>+</sup>. L'activité du complexe V est estimée à partir du taux d'oxydation du NADH à 340 nm après soustraction de l'activité mesurée en présence d'oligomycine, inhibiteur spécifique du complexe V, permettant ainsi la distinction de l'activité de l'ATPase mitochondriale des autres ATPases présentes également dans la préparation protéique. À ce jour, le dosage du complexe V s'effectue de manière sporadique car l'inhibition de l'oxydation du NADH par l'oligomycine n'est pas systématique, limitant ainsi l'exploration fonctionnelle complète de la chaîne respiratoire mitochondriale dans le cadre du diagnostic des maladies mitochondriales. Dans le but d'être le plus exhaustif possible dans l'approche du diagnostic de ces maladies, nous avons cherché à adapter le protocole actuel de manière à nous permettre de doser systématiquement l'ATPase mitochondriale. Nous avons analysé un groupe de 50 patients pour lesquels l'activité ATPasique n'avait pas pu être mesurée dans un homogénat musculaire avec le protocole habituel. Nous avons montré qu'en diminuant d'environ 80 % la quantité de protéines utilisée habituellement pour ce dosage, nous sommes dans les conditions nous permettant une mesure fiable de l'activité ATPasique spécifiquement mitochondriale. Cette observation importante permet aujourd'hui à notre laboratoire de proposer le dosage systématique du complexe V. Elle ouvre des perspectives intéressantes dans la connaissance de l'implication de ce déficit dans des dossiers complexes restés sans diagnostic à ce jour. Elle permettra également de déterminer l'incidence réelle des déficits en complexe V au sein des pathologies mitochondriales.

**Mots-clés :** déficit de la chaîne respiratoire, complexe V (ATP synthase), enzymologie.

**■P549 / 640. DYSREGULATION OF DOPAMINERGIC MARKERS IN PERIPHERAL CELLS FROM LESCH-NYHAN DISEASE PATIENTS**

M. Kelly, L. Mockel, L. Boutaud, I. Ceballos-Picot  
Laboratoire de Biochimie métabolique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

Background: Lesch-Nyhan disease (LND) is an X-linked recessive disorder caused by mutations in the gene encoding the purine salvage enzyme, hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HPRT). LND patients have an over-production of uric acid and characteristic neurological problems including mental retardation, motor disability and self injurious behaviour. Recent studies show that LND is associated with loss of striatal dopamine. Several authors suggest that platelets could be a good synaptic model and that they express many dopaminergic markers. Also, previous studies on other diseases such as Parkinson's disease use peripheral blood lymphocytes to show differential expression of dopaminergic markers. Objectives/Methods : The present study evaluates the expression of a large number of dopaminergic markers by quantitative PCR in peripheral blood lymphocytes in four LND patients compared to four healthy volunteers. We also studied several genes involved in the purine metabolism. Results: As expected, HPRT expression was significantly decreased in lymphocytes from LND patients. Interestingly, the expression of other purine metabolism genes such as APRT, ADSL, PRPS1 and PRPS2 were also significantly decreased. Several genes involved in the dopaminergic system were significantly up-regulated in LND lymphocytes compared to controls : DAT, Nurr1. A significant down regulation was observed for COMT, parkin and POLG. GCH1 and MAOB expression were variable depending on the LND patient. Conclusion: These results suggest that peripheral blood cells could be a good model for studying dopaminergic modifications in LND and could help elucidate the mechanisms that lead to their neurological problems and self injurious behaviour.

**Mots-clés :** Maladie de Lesch-Nyhan, marqueurs dopaminergiques, HPRT.

---

**■P550 / 672. L'ÉMAIL DENTAIRE, UN MARQUEUR DE DYS-FONCTIONNEMENT RÉNAL ?**

B. Richard (1, 2), A. Bloch-Zupan (3), M.-C. Manière (3), B. Llanas (4), D. Lacombe (2, 5)

(1) *Service de Génétique, CHU Pellegrin, Enfants, Bordeaux* ; (2) *Faculté d'Odontologie, Bordeaux* ; (3) *Centre de référence des manifestations odontologiques des maladies rares, CHU Strasbourg* ; (4) *Département de Pédiatrie, CHU Pellegrin, Enfants, Bordeaux* ; (5) *Centre de référence pour les anomalies génétiques du développement, CHU Pellegrin, Enfants, Bordeaux*

Un grand nombre de maladies génétiques incluent dans leur tableau clinique une composante orofaciale. Ainsi, des anomalies de la structure de l'émail dentaire sont parfois associées à une pathologie rénale ; la relation entre ces deux manifestations restant cependant obscure et peu documentée. C'est le cas en particulier de deux syndromes : Le syndrome néphrotique finlandais (OMIM 256300), transmis selon le mode autosomique récessif, est caractérisé par une fuite protidique qui débute pendant la vie fœtale, les enfants atteints présentant à la naissance un syndrome néphrotique sévère et des symptômes en rapport avec la carence protidique. L'anomalie de structure de l'émail dentaire, anecdotique par rapport à la gravité de cette pathologie et peu rapportée, est cependant bien présente. Le gène défectueux responsable de ce syndrome est le gène *NPHSI* qui code pour une protéine transmembranaire, la néphrine. Le deuxième syndrome est

l'association d'une amélogenèse imparfaite et de néphrocalcinose, ou syndrome émail-rein (OMIM 204690). L'anomalie du développement de l'émail dentaire est dans ce cas le premier signe à apparaître, la néphrocalcinose ne se manifestant que tardivement et parfois secondairement à une polykystose rénale. La transmission se fait le plus souvent sur le mode autosomique récessif. Les amélogenèses imparfaites présentent cependant des formes cliniquement et génétiquement hétérogènes, et seuls certains types sont susceptibles de s'accompagner d'une néphropathie. À ce jour, le gène responsable de cette entité clinique n'a pas été découvert. Au delà des conséquences médicales et psychologiques importantes de ces pathologies, l'association de signes intéressant ces deux organes est source de questionnements : en effet, le rein et la dent connaissent le même type de développement sous la dépendance d'interactions épithélio-mésenchymateuses réciproques, empruntant même des mécanismes moléculaires communs (BMP, TNS-ALP, CaSR, calbindin 28 kDa, NKCC1...). Les mêmes événements moléculaires sont-ils impliqués dans les anomalies des deux tissus ? La pathologie dentaire apparaît-elle secondairement au dysfonctionnement rénal ? L'observation clinique de patients présentant l'un de ces deux syndromes servira de base à une réflexion sur les mécanismes potentiellement en jeu.

**Mots-clés :** néphropathie, anomalie de l'émail, mécanismes physiopathologique.