

Communications orales du 27^e congrès de la SFE[☆]

Gonades

Communications orales 1

CO01

Prévalence des inclusions surrénaliennes et des anomalies du spermogramme chez des hommes présentant une HCS

A. Bachelot, J. Dulon, R. Renard-Penna, M. Polak, P. Touraine

Introduction.– Des inclusions surrénaliennes intratesticulaires ont été décrites chez les patients présentant une hyperplasie congénitale des surrénales (HCS) par déficit en 21-hydroxylase, pouvant être responsables d'altérations de la fonction testiculaire.

Objectif.– Étude de la prévalence des inclusions surrénaliennes et des anomalies du spermogramme chez des hommes présentant une HCS.

Patients et méthodes.– Étude transversale portant sur 23 hommes (âge moyen : 25,9 ± 7,9 ans, 18 avec une forme classique, 5 avec une forme non classique révélée dans l'enfance). La dose cumulée de glucocorticoïdes (DCG) reçue depuis l'enfance a été calculée.

Résultats.– Des inclusions surrénaliennes étaient retrouvées chez 10/23 patients (tous avec une forme classique). Sur ces 10 patients, 87 % présentaient des anomalies du spermogramme, 60 % un profil d'insuffisance gonadotrope et 80 % un mauvais contrôle de leur maladie. Sur les 13 patients indemnes d'inclusions, 71 % présentaient des anomalies du spermogramme ($p = \text{NS}$), 7 % un profil d'insuffisance gonadotrope ($p < 0,05$) et 38 % un mauvais contrôle de leur maladie ($p < 0,05$). La DCG ($n = 15$) totale ou reçue au cours des 2 premières années de vie ne différait pas entre les deux groupes.

Conclusion.– Les altérations de la spermatogenèse ainsi que la présence d'inclusions sont donc fréquentes chez les patients présentant une forme classique d'HCS. La présence d'inclusions semble liée non pas à la dose totale de glucocorticoïdes reçue mais plutôt au contrôle hormonal de la maladie. Cela souligne l'importance de la transition enfant–adulte permettant une prise en charge précoce et un suivi à long terme de ces patients qui devrait permettre d'améliorer la fertilité de ces patients.

CO02

Le récepteur membranaire aux estrogènes GPER (GPR30) est surexprimé par les cellules séminomateuses humaines et pourrait intervenir comme promoteur sous l'effet de certains xéno-estrogènes

N. Chevalier, A. Bouskine, A. Vega, M. Nebout, J. Michiels, M. Benahmed, P. Fenichel

Objectif.– GPER (GPR30) est un récepteur membranaire couplé aux protéines G qui participe à l'activation de la voie non génomique des estrogènes. Nous avons étudié son implication dans l'estrogénodépendance du cancer germlinal testiculaire et le contrôle de la prolifération des cellules séminomateuses sous l'effet des xéno-estrogènes.

Matériel et méthodes.– Expression (rapportée à l'actine) évaluée par RT-PCR et *western blot*, et localisation en immunofluorescence sur testicule sain et tumeurs germinales ($n = 15$) ; rôle promoteur déterminé par étude de la prolifération *in vitro* sur cellules séminomateuses (JKT-1) et non-séminomateuses (NCCIT).

Résultats.– GPER est exprimé dans le testicule sain au niveau des tubes séminifères, par les cellules germinales (surtout les spermatogonies) et les cellules de Sertoli, et dans les tumeurs germinales testiculaires. Son expression est amplifiée dans le séminome ($p = 0,03$) et dans JKT-1 où il colocalise à la membrane avec E2-BSA. E2-BSA, G1 (agoniste de GPER) et le bisphénol A stimulent la prolifération de JKT-1 à doses très faibles (nM et pM). Cet effet promoteur est inhibé par G15 (antagoniste de GPER) et PTX mais non par ICI182780 (antagoniste pur de ER). À ces doses, E2 n'est pas actif sur GPER mais sur ER bêta avec, comme le distilbène, un effet suppresseur neutralisé par ICI182780.

Discussion.– GPER est surexprimé par les cellules séminomateuses. E2, à doses physiologiques, ne représente pas son ligand naturel. Certains xéno-estrogènes, comme le bisphénol A, pourraient, par exposition fœtale à doses faibles, présentes dans l'environnement, favoriser la transformation maligne des gonocytes et/ou des spermatogonies via ce récepteur.

CO03

Un herbicide à base de glyphosate induit la nécrose et l'apoptose des cellules testiculaires de rats matures

É. Clair, R. Mesnage, S. Gress, C. Travert, G. Seralini

Introduction.– La reproduction et la fonction testiculaire sont les cibles de xéno-biotiques. Le Roundup, herbicide majeur du monde, est composé de glyphosate et d'adjuvants. Les résidus à base de glyphosate sont parmi les principaux contaminants des eaux de surface. L'utilisation du Roundup augmente en particulier sur les plantes génétiquement modifiées qui ont été conçues pour le tolérer. Il a été démontré par notre équipe comme perturbateur endocrinien des récepteurs aux estrogènes et androgènes, et de l'aromatase (Gasnier et al. Toxicology 2009). Il provoque *in vivo* des troubles de la reproduction.

Objectifs.– Nous avons testé des doses sub-agricoles sur des cellules testiculaires de rats matures de 70 jours.

Méthodes.– Nous avons évalué les dégradations membranaires par la mesure de l'adénylate kinase. Les activités caspases 3/7 évaluent les dommages cellulaires. Ce travail a été effectué sur des cultures primaires de Leydig, Sertoli, et des cellules germinales isolées.

Résultats.– Nous montrons au bout de 24 et 48 heures que le Roundup est toxique à des doses sub-agricoles, contrairement au glyphosate seul. Les cellules de Leydig et Sertoli apparaissent plus sensibles que les cellules germinales.

[☆] Communications orales du 27^e congrès de la Société française d'endocrinologie, Deauville, du 29 septembre au 2 octobre 2010.

Conclusion.– Le Roundup (généralement utilisé dans l'agriculture à 1–2 %) est plus toxique que son principe actif supposé, le glyphosate, suggérant que le mélange avec les adjuvants a un impact cellulaire important. Toutefois, la législation prend en compte essentiellement les effets chroniques de l'ingrédient «actif» *in vivo*. La perturbation endocrine peut donc être liée à des effets combinés sous-estimés des résidus de pesticides.

CO04

L'hypogonadisme hypogonadotrope congénital chez l'homme : une cause de carence en œstradiol

S. Trabado, L. Maione, S. Baron, S. Salenave, F. Galland, A. Guiochon-Mantel, S. Brailly-Tabard, J. Young

Contexte.– L'hypogonadisme hypogonadotrope congénital (HHC) chez l'homme est une pathologie rare, associée à une carence sévère en testostérone ainsi qu'à un déficit de l'acquisition de la masse osseuse et une ostéoporose.

Objectif.– Évaluer précisément le degré de carence en œstradiol (E2) dans une population d'hommes adultes atteints d'HHC.

Méthodologie.– Nous avons mesuré, avec une technique RIA très sensible, l'œstradiol sérique total (TE2), sa fraction biodisponible (BE2) chez 72 hommes HHC non traités, comparativement à 60 hommes normaux et 45 sujets avec syndrome de Klinefelter d'âge similaire, et aussi déterminé la SHBG et la fraction libre de l'œstradiol (FE2).

Résultats.– Chez les HHC, TE2 ($7,6 \pm 4,3$ vs $17,6 \pm 6,6$ pg/mL), BE2 ($5,1 \pm 3,6$ vs $13,7 \pm 5,7$ pg/mL) et FE2 ($0,21 \pm 0,13$ vs $0,60 \pm 0,23$ pg/mL) étaient significativement ($p < 0,0001$) plus bas que chez les témoins, et que chez les sujets atteints du syndrome de Klinefelter. Pour les patients HHC, la concentration de TE2 était positivement corrélée à celle de testostérone totale ($r = 0,35$, $p = 0,003$). Chez l'ensemble des sujets, la concentration de TE2 était très positivement corrélée aux taux de LH ($r = 0,57$, $p < 0,0001$). Ceci suggère une relation causale, chez les hommes avec HHC, entre les concentrations basses d'œstradiol et la sévérité du déficit en testostérone, lui-même induit par le déficit en LH.

Conclusion.– L'hypogonadisme chez les hommes HHC est clairement associé avec une carence profonde en œstradiol. Les effets bénéfiques des traitements par testostérone et hCG sur TE2, BE2 et FE2 seront montrés.

CO05

Conséquences de l'inactivation de l'AMPK alpha1 sur la fonction testiculaire chez la souris

P. Tartarin, E. Guibert, C. Ouiste, J. Dacheux, B. Delaleu, J. Dupont, J. Brillard, B. Viollet, P. Froment

La 5' AMP-activated protein kinase, ou AMPK, est une protéine kinase clé du métabolisme de la cellule en étant un « indicateur des réserves énergétiques de l'organisme ». En effet, un déficit en ATP, un stress cellulaire ou des signaux d'origine hormonale conduisent à son activation en la phosphorylant. L'AMPK est exprimée dans plusieurs tissus (pancréas, foie, tissu adipeux, muscle squelettique, hypothalamus, gonades). Elle entraîne l'activation des métabolismes glucidique, lipidique et protéique de la cellule, générant ainsi la synthèse d'ATP, et freinant les voies anaboliques consommatrices d'ATP. Récemment, plusieurs études lui ont également attribué un rôle dans le contrôle du fonctionnement ovarien, mais son implication au sein du testicule n'a que très peu été étudiée. L'objectif de notre travail a été de caractériser la fonction de l'AMPK au sein du testicule à l'aide de souris invalidées pour le gène de la sous-unité catalytique $\alpha 1$ de l'AMPK.

L'inactivation de l'AMPK $\alpha 1$ est associée à une baisse du poids testiculaire et du diamètre des tubes séminifères. Tous les types de cellules germinales sont présents, suggérant une spermatogenèse complète. Bien que la production de spermatozoïdes soit identique entre les animaux témoins et les animaux invalidés, des anomalies de structure des spermatozoïdes et de mobilité sont augmentées chez les souris mutées. Par ailleurs, ces animaux présentent une hyperandrogénie trois fois plus importante que les souris témoins associée à une hyperplasie des cellules de Leydig. En conclusion, les souris déficientes en AMPK $\alpha 1$ présentent une baisse de fertilité associée à un dysfonctionnement des cellules somatiques.

Communications orales 6

CO06

Analyse de la pulsatilité de la LH chez les patientes présentant une forme classique d'HCS par déficit en 21-hydroxylase

A. Bachelot, Z. Chakhtoura, G. Plu-Bureau, C. Coussieu, Y. Badachi, J. Dulon, Y. Morel, C. Bellanné-Chantelot, P. Touraine

Introduction.– Les troubles du cycle menstruel sont fréquents chez les femmes présentant une forme classique d'hyperplasie congénitale des surrénales (HCS) par déficit en 21-hydroxylase, ceci pouvant être la conséquence d'un mauvais équilibre de la maladie, en rapport avec une interférence possible des androgènes et/ou de la progestérone avec l'axe gonadotrope.

Objectif.– Comparer des profils de pulsatilité de la LH chez les patientes présentant une HCS à une population de femmes témoins.

Patients et méthodes.– Étude transversale comparative de la pulsatilité de la LH dans une population de 16 femmes présentant une HCS, âgées de 18 à 40 ans, et une population témoin appariée pour l'âge.

Résultats.– La comparaison de l'amplitude et de la fréquence de la pulsatilité de LH a retrouvé une différence entre les deux groupes avec une diminution de l'amplitude et de la fréquence des pulses de la LH chez les patientes présentant une HCS. La relation entre l'équilibre hormonal et les paramètres de la pulsatilité est en cours d'évaluation, les résultats préliminaires semblant montrer un profil évocateur d'une altération de la commande gonadotrope plus qu'un profil évoquant un syndrome des ovaires polykystiques.

Conclusion.– Les résultats de cette étude suggèrent la présence d'anomalies de la pulsatilité de la LH chez les patientes présentant une HCS, à l'origine de troubles du cycle, source d'infertilité. Une analyse plus approfondie des facteurs responsables de ces anomalies devrait permettre une amélioration de la fonction ovarienne de ces patientes en redéfinissant les objectifs thérapeutiques hormonaux précis chez ces patientes.

CO07

Analyse fonctionnelle de mutations du facteur de transcription NOBOX associé à l'insuffisance ovarienne prématurée

J. Bouilly, A. Bachelot, I. Broutin, P. Touraine, N. Binart

L'insuffisance ovarienne prématurée (IOP) est une maladie rare, de cause variée mais le plus souvent idiopathique. Dans quelques cas, une origine génétique de cette maladie a été retrouvée avec des anomalies au niveau d'autosomes (mutation du récepteur de la FSH, NR5A1...) et ou du chromosome X. Chez la souris, Newborn Ovary Homeobox (NOBOX) a été identifié comme facteur de transcription essentiel aux premières étapes de la folliculogénèse. La recherche de mutations de ce gène dans une cohorte de patientes atteintes d'IOP a permis de mettre en évidence 3 mutations faux-sens et 1 mutation non-sens, à l'état hétérozygote. Ces 4 variants ont été identifiés chez 8 patientes âgées en moyenne de 32 ans (28–38) présentant une aménorrhée primaire (1) ou secondaire (7), sans antécédents familiaux d'IOP, et absents de la cohorte contrôle. Des études fonctionnelles des protéines sauvages et mutées ont été réalisées afin d'étudier leurs conséquences biologiques. Les tests *in vitro* de retard sur gel et d'activité transcriptionnelle (essai luciférase) ont mis en évidence pour tous ces mutants, une altération de l'interaction homéodomaine/promoteur de GDF9, un gène cible, confirmée par modélisation de la structure 3D. Une étude immunohistochimique révèle une forte expression de NOBOX dans les cellules folliculaires suggérant que ce facteur jouerait un rôle clé dans le dialogue ovocyte/cellule de la granulosa. Cette étude contribue à une meilleure compréhension du rôle de ce facteur au cours de la folliculogénèse, des mutations de NOBOX pouvant aboutir à un épauement folliculaire précoce.

CO08

Régulation hormonale d'EG-VEGF et ses récepteurs par l'hCG dans le placenta humain

S. Brouillet, P. Hoffmann, S. Chamboredon, A. Salomon, J. Schaal, J. Feige, N. Alfiady

EG-VEGF pour « endocrine gland-derived vascular endothelial growth factor » est un nouveau facteur de l'angiogenèse placentaire. Dans des publications récentes de notre laboratoire, nous avons montré que :

- EG-VEGF et ses récepteurs PROKR1 et PROKR2 sont fortement exprimés dans le placenta ;
- EG-VEGF présente un pic d'expression au premier trimestre de la grossesse ;
- il est régulé par l'hypoxie ;
- il inhibe l'invasion trophoblastique ;
- ses niveaux circulants sont augmentés dans la toxémie gravidique (TG), la plus grande pathologie de la grossesse.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'étude de sa régulation de par l'hCG (*human chorionic gonadotrophin*), hormone clé de la placentation et qui semble aussi être dérégulée dans la TG. Au cours du premier trimestre de la grossesse, hCG et EG-VEGF présentent le même profil sécrétoire suggérant une régulation physiologique entre le facteur et l'hormone. Nous avons utilisé, à la fois les cultures primaires de cellules trophoblastiques et les explants placentaires. Nos résultats montrent que :

- le LH/CGR, récepteur de l'hCG est exprimé par les trophoblastes ;
- l'hCG augmente l'expression en ARNm et protéine d'EG-VEGF, PROKR1 et PROKR2 ;
- l'hCG augmente la sécrétion d'EG-VEGF par des explants placentaires ;
- l'effet de l'hCG est transcriptionnel et implique la voie AMPc, ceci a été vérifié par le clonage du promoteur et son activation par le 8-bromo AMPc et la Forskoline.

L'ensemble de ses résultats montrent l'existence d'une nouvelle boucle de régulation physiologique entre l'hormone hCG et le facteur de croissance EG-VEGF, acteur majeur du développement placentaire.

CO09

Expression et rôle des *bone morphogenetic proteins* et de leurs récepteurs chez les femmes présentant un syndrome d'ovaire polykystiques (SOMPCK)

M. Khalaf, J. Morera, A. Bourret, P. Leroy, Y. Resnik, A. Benhaim, C. Denoual, M. Herlicoviez, H. Mitre

Du fait du rôle avéré des BMP dans la folliculogénèse, un dysfonctionnement du système des Bone Morphogenetic Proteins (BMP) pourrait être impliqué chez la femme dans le syndrome des ovaires micropolykystiques (SOMPCK).

Nous avons étudié l'expression des protéines BMP 4, BMP 6, BMP 7 et de leurs récepteurs, BMPR-IA, BMPR-IB et BMPR-II dans les cellules de granulosa de 11 femmes présentant un SOMPCK. Nous avons également étudié sur ces cellules en culture en présence d'androstènedione, l'effet de ces BMP sur la production d'estradiol basale ou stimulée par FSH. Le groupe contrôle est constitué de cellules de granulosa provenant de 7 femmes sans pathologie ovarienne. Le taux des ARNm est évalué par RT-PCR en temps réel et l'estradiol est dosé par radio-immunologie. Nos résultats montrent une augmentation non significative de l'expression des BMP ainsi que du récepteur BMPR-IA chez les femmes SOMPCK. Cependant, l'augmentation de BMP6 et BMPR-IA devient significative chez les femmes SOMPCK avec un IMC > 25 (OPKob). Sur des cellules de granulosa en culture, on observe une activité aromatasé basale élevée chez les femmes SOMPCK alors qu'en présence de FSH la sécrétion d'estradiol est identique dans les deux populations. Les BMP ont une action inhibitrice prononcée sur l'activité aromatasé stimulée par la FSH uniquement sur les cellules de granulosa du groupe SOMPCK mais aucun effet sur la synthèse d'estradiol basale des deux groupes. Ces résultats préliminaires tendent à montrer l'implication des BMP dans le SOMPCK. La surexpression des BMP observée chez les OPKob pose la question de son lien avec l'hyperinsulinisme et les anomalies métaboliques du SOMPCK.

CO10

Microenvironnement œstrogénique et spermatogénèse chez l'homme

I. Galeraud-Denis, H. Bouraima, S. Lambla, L. Sibert, N. Rives, S. Carreau

Lors de la prise en charge thérapeutique des patients azoospermiques, la présence de spermatozoïdes dans les biopsies testiculaires est dépendante du contexte

pathologique (hypospermatogénèse, arrêt de maturation des cellules germinales [GCA], syndrome du Sertoli Cell-Only [SCO]). L'objectif de l'étude est d'identifier les types cellulaires présents dans les formes pures et mixtes définies par l'analyse histologique sur un fragment de biopsie et d'étudier ensuite le microenvironnement œstrogénique (aromatase, récepteurs aux œstrogènes alpha/bêta, récepteur membranaire GRP 30) en fonction des marqueurs cellulaires pour permettre une meilleure approche diagnostique et pronostique. Une analyse histologique et une extraction d'ARN suivie d'une quantification de transcrits par Q-RT-PCR ont été pratiquées sur 98 prélèvements. L'analyse de l'expression des transcrits de la vimentine, de STaR, de la protamine 1 (PRM1) et de l'histone1 testiculaire (H1t), rapportée à l'expression de deux gènes de référence (*GAPDH* et *S16*), permet l'identification respective des cellules de Sertoli et de Leydig, du stade spermatide-spermatozoïde et du spermatozyte pachytène ainsi que la définition de profils caractéristiques des formes pures d'hypospermatogénèse, de GCA et de SCO comparativement à des azoospermies obstructives (spermatogénèse normale). Un degré élevé d'expression de PRM1 et du rapport PRM1/H1t est en faveur de la présence systématique de spermatozoïdes dans les biopsies. L'expression de GRP30 semble augmentée dans le groupe GCA. Celle des récepteurs aux œstrogènes est élevée dans les groupes contrôle et hypospermatogénèse et reliée au taux d'expression de PRM1, donc au nombre de cellules germinales post-méiotiques suggérant un rôle local des œstrogènes dans la spermiogénèse.

Thyroïde – Parathyroïde – Calcium

Communications orales 2

CO11

Prévalence du déficit en vitamine D dans l'hyperparathyroïdie primaire : effet sur le métabolisme osseux dans une cohorte française

F. Velayoudom-Cephise, L. Foucan, C. Cardot-Bauters, M. Vantghem, M. d'Herbomez, F. Tison-Muchery, J. Wemeau

Asymptomatique dans 80 % des cas, l'hyperparathyroïdie primaire (HPP) constitue un facteur de raréfaction osseuse à laquelle contribue aussi le déficit en vitamine D.

Objectif. – Le but de notre étude a été de préciser la prévalence de la carence en vitamine D et son influence sur l'état osseux dans la population atteinte d'HPP.
Méthodes. – Étude prospective d'une cohorte de patients souffrant d'HPP biologiquement caractérisée, avec évaluations métaboliques et ostéodensitométriques avant et 6 mois après substitution par une vitaminothérapie D naturelle.

Résultats. – Parmi 75 patients avec HPP indemnes d'atteinte rénale, 38 étaient déficitaires (25OH D < 30 ng/L), soit une prévalence du déficit vitaminiq ue D de 51 %. Dans le groupe carencé, constitué de sujets plus âgés, calcémie et phosphatémie étaient similaires ; en revanche les taux de PTH, ostéocalcine et téloptéide étaient significativement plus élevés ; calciurie et T score fémoral étaient significativement plus bas. Après 6 mois de substitution, chez les 16 patients de ce groupe réévalués, calcémies totale et ionisée s'étaient significativement réduites, comme la PTH et les marqueurs du remodelage osseux ; l'augmentation de la calciurie était discrète et non significative ; une atténuation significative de la raréfaction osseuse avait été obtenue.

Conclusion. – Cette enquête, originale en France, souligne qu'un déficit en vitamine D atteint la moitié des patients atteints d'HPP, contribue à l'accroissement du remodelage osseux et à l'ostéopénie. Sa correction par une vitaminothérapie D naturelle est efficace et bien tolérée, sans risque lithiasique ou de majoration de l'hypercalcémie.

CO12

Surexpression de phosphatases spécifiques de ERK dans les carcinomes papillaires de la thyroïde

C. Buffet, L. Bricaire, A. Gallet Dierick, F. Tissier, M. Catelli, K. Perlemoine Hecale, X. Bertagna, J. Bertherat, J. Knauf, J. Fagin, L. Groussin

Introduction.– Différentes anomalies moléculaires (réarrangements *RET/PTC*, mutations de *RAS* ou *BRAF*), activant la voie des MAPK, sont à l'origine des cancers papillaires de la thyroïde (CPT). Ces altérations géniques ont pour conséquence la phosphorylation en aval de la protéine kinase ERK. Cette dernière peut être régulée négativement par des phosphatases.

Objectifs.– Étudier l'expression et la régulation de deux phosphatases spécifiques de ERK (DUSP5 et DUSP6, « dual specificity phosphatase ») dans les CPT.

Résultats.– L'analyse par RT-PCR quantitative de 25 CPT humains a permis de mettre en évidence une surexpression de ces deux phosphatases, indépendamment de l'anomalie moléculaire présente.

Leur régulation a été étudiée dans trois lignées de thyroïde de rat exprimant de façon inducible les oncogènes *RET/PTC3*, *H-RAS^{V12}* ou *BRAF^{V600E}*. Dans ces lignées, l'activation de la voie MAPK s'accompagnait d'une augmentation des ARNm de DUSP5 et DUSP6. Un traitement par un inhibiteur pharmacologique de la voie des MAPK prévenait leur induction. La transfection transitoire du promoteur de DUSP5 ou DUSP6, nous a permis de montrer une régulation transcriptionnelle par la voie des MAPK. L'étude de DUSP6 en Western Blot a révélé des divergences entre les niveaux protéiques et d'ARNm. La quantification de l'ARNm des phosphatases semble être un bon indicateur de l'activation de la voie des MAPK.

Conclusion.– DUSP5 et DUSP6 sont surexprimées dans la majorité des CPT humains. La voie des MAPK régule leur niveau d'expression. Il semble s'agir d'une boucle de rétrocontrôle négatif permettant de contrôler finement le niveau de phosphorylation de ERK.

CO13

L'inactivation de PITX2 dans les cellules thyroïdiques entraîne un retard de croissance

F. Castinetti, M. Brinkmeier, D. Gordon, J. Kerr, C. Ridgway, T. Brue, S. Camper

PITX2 est un facteur de transcription à homéodomaine de type païré, nécessaire au développement hypophysaire. Plusieurs arguments suggèrent un rôle de PITX2 dans le développement des cellules thyroïdiques : la majorité des cellules thyroïdiques expriment PITX2 à l'âge adulte ; les souris avec inactivation de PITX2 présentent une diminution d'expression de TSH β et des facteurs de transcription nécessaires au développement des cellules thyroïdiques ; PITX2 est capable d'activer le promoteur de TSH β et de POU1F1. Nous avons développé un modèle de souris transgéniques *Tg(TSH β -cre)* exprimant une recombinase Cre sous contrôle du promoteur de la TSH β . En croisant des souris transgéniques *Pitx2^{lox/lox}* avec des souris *Pitx2^{+/-}* ; *Tg(TSH β -cre)*, nous avons obtenu des souris avec inactivation de Pitx2 spécifiquement dans les cellules thyroïdiques (*Pitx2^{lox/-}* ; *Tg(TSH β -cre)*).

Les souris *Pitx2^{lox/-}* ; *Tg(TSH β -cre)* présentent un retard de croissance, visible dès 3 semaines d'âge (courbe de poids avec une diminution de 10 à 20 % par rapport aux souris de génotype sauvage). Il existe des différences mineures en comparaison avec les souris de génotype sauvage en termes de thyroïde (diminution de volume modérée) et d'hypophyse (diminution du nombre de cellules thyroïdiques). Cependant, les niveaux de T4 (Elisa) et de TSH (évalués par qRT-PCR) ne sont pas différents à 4 et 8 semaines d'âge. Nous évaluons actuellement les niveaux de TSH des souris transgéniques par rapport aux souris de génotype sauvage après induction d'une hypothyroïdie par méthimazole. Notre hypothèse est que l'augmentation des taux de TSH pourrait être plus faible si PITX2 est nécessaire à l'expansion du secteur thyroïdique.

CO14

Étude Orchidée : observatoire de la prise en charge de l'hypothyroïdie en France par le médecin généraliste et/ou l'endocrinologue

B. Delemer, F. Landron, J. Aubert, P. Nys, S. Bouée

Objectif.– Décrire les modalités de la prise en charge initiale de l'hypothyroïdie. Les patients ont été recrutés par un échantillon représentatif de 120 endocrinologues et de 500 généralistes. Les investigateurs ont docu-

menté la prise en charge initiale de la pathologie, depuis le diagnostic jusqu'au contrôle de la première TSH après instauration du traitement.

L'âge moyen des patients était de 53 ans (84,4 % de femmes).

Les étiologies de l'hypothyroïdie étaient : thyroïdite auto-immune (59 %), chirurgie (14,5 %), iode 131 (2,4 %), utilisation conjointe d'ATS (2,7 %), traitements combinés (2,9 %), iatrogène (7 %) (essentiellement amiodarone).

Les signes cliniques les plus fréquents étaient : fatigue (89 %), prise de poids (53,4 %), signes digestifs (34,7 %), intolérance au froid (33,2 %).

Le taux moyen de TSH avant traitement était de $23 \pm 97,2$ mUI/L. Les autres examens réalisés étaient : les anticorps anti-TPO (64 %), les anticorps antithyroglobuline (50 %), la T4-L (55 %), une échographie (75 %) et une scintigraphie (14 %). Le Lévothyrox[®] était le médicament le plus fréquemment prescrit (98,3 % des patients). La posologie initiale était de $57 \mu\text{g/j}$ en moyenne avec des paliers d'augmentation en moyenne autour de 10 à 15 $\mu\text{g/j}$ à chaque titration, la durée moyenne entre 2 titrations étant de 6 semaines. La conduite du traitement a abouti à l'obtention d'un taux de TSH à 3 mois de $6,8$ mUI/L.

Conclusion.– Il s'agit de la première étude française sur les modalités de prise en charge initiale de l'hypothyroïdie. Les pratiques décrites, bien que conformes aux recommandations françaises, semblent montrer un excès d'examen d'imagerie et de dosage de T4L.

CO15

Hyperthyroïdie infraclinique (HIC) : quelle serait la préférence des patients (traitement ou surveillance) ? Les premiers résultats de l'étude multicentrique randomisée PIRHATES

B. Goichot, S. Vinzio, F. Luca, J. Kuhn, M. Ladsous, E. Proust-Lemoine, P. Caron, O. Schneegans, B. Catargi, F. Archambeaud, M. Rodier, M. Klein, J. Orgiazzi, P. Lecomte, C. Martin, L. Millot, L. Leenhardt, R. Marechaud, S. Hadjadj, H. Koussa, A. Hecart, C. Schwartz

Introduction.– La prise en charge de l'HIC reste débattue, en l'absence d'essai clinique démontrant l'efficacité d'un traitement antithyroïdien sur le risque de fibrillation auriculaire (FA). Les patients peuvent être réticents à un traitement radical qui va aboutir à une hypothyroïdie définitive. Le contexte d'un essai thérapeutique où l'information délivrée est la plus standardisée possible et où le contexte d'incertitude est clairement exposé est une situation idéale pour mesurer la perception des patients du risque de FA et des inconvénients liés au traitement.

Méthodes.– PIRAHATES (place de l'iode radioactif dans l'hyperthyroïdie subclinique) est un essai randomisé multicentrique français (PHRC 2006) comparant le traitement par iode 131 et une attitude de surveillance régulière chez des patients de plus de 50 ans ayant une HIC. Après avoir donné leur consentement et avant la randomisation, les patients sont interrogés sur leur préférence entre les deux attitudes. Ils sont ensuite suivis tous les 4 mois avec une évaluation clinique, biologique, ECG et une évaluation de la qualité de vie (QdV, questionnaire SF36), des symptômes anxieux et dépressifs (HADS) et des symptômes de dysthyroïdies.

Nous présentons les résultats des 82 premiers patients inclus.

Résultats.– L'âge moyen est de $65,5 \pm 8,9$ ans, la TSH à $0,09 \pm 0,09$ mUI. La QdV est similaire à celle de la population générale. Sur l'échelle HADS, ils ne sont ni déprimés ni anxieux (respectivement $4,3 \pm 3,8$ et $8,6 \pm 3,7$). 54,9 % des patients ont des symptômes liés à la température (thermophobie, etc.), 29,3 % ont des symptômes cardiaques, 56,1 % ont des symptômes liés au poids ou au système digestif, 89 % ont des symptômes musculaires et 89 % des symptômes neuropsychiatriques. Il n'y a pas de corrélation entre concentrations hormonales, symptômes, QdV ou score HADS mais il y a une association entre présence de symptômes et altération de la QdV ou présence d'anxiété ou de dépression. 62,2 % des patients préféreraient ne pas être traités, 35,4 % être traités et 2,4 % ne répondent pas.

Conclusion.– La présence de symptômes dans l'HIC n'est pas liée à la « sévérité » biologique mais est associée à une diminution de la QdV. Deux tiers des patients qui acceptent de participer à un essai randomisé sur l'HIC préfèrent ne pas être traités. Cela signifie que dans une situation d'incertitude scientifique, les inconvénients d'une hypothyroïdie iatrogène apparaissent aux patients supérieurs au bénéfice de la prévention de la FA.

Communications orales 7

CO16

Chirurgie robotique thyroïdienne par voie axillaire

P. Aidan, B. Cohen, Y. Chung

Introduction.– Les auteurs rapportent leur expérience du premier cas français de thyroïdectomie par voie axillaire à l'aide du robot Da Vinci (*intuitive surgery*).

Objectif.– Présenter une nouvelle technique chirurgicale apportant plus de sécurité pour les nerfs récurrents et les parathyroïdes, ainsi que l'absence de cicatrice cervicale médiane.

Observation.– Il s'agissait d'une patiente présentant un nodule de 4 cm du lobe thyroïdien droit dont la ponction cytologique était peu contributive. L'intervention de type lobo-isthmectomie droite a été réalisée par voie axillaire droite avec le robot Da Vinci (Société Intuitive surgery, US). Il s'agit d'une voie d'abord dissimulée qui après une dissection cutanée et musculaire permet une vue sur la loge thyroïdienne. Les trois bras du robot sont introduits dans la loge thyroïdienne ainsi que l'optique 30° haute définition. La vision en 3D avec l'optique haute définition permet une vision précise des structures vasculonerveuses et glandulaires.

Discussion.– Cette nouvelle technique chirurgicale nécessite une formation adaptée à la chirurgie robotique thyroïdienne, de plus, les indications sont limitées au thyroïde de taille moyenne avec des nodules inférieurs à 5 cm.

Conclusion.– La chirurgie robotique par voie axillaire, en dehors de la voie d'abord dissimulée, apporte une précision chirurgicale et donc une sécurité plus importante pour les nerfs récurrents et les parathyroïdes. Ces indications sont cependant limitées.

CO17

Mémorisation et interprétation par le malade de l'information préopératoire concernant les risques de la thyroïdectomie

O. Laccourreye, A. Werner, R. Cauchois

Étude prospective conduite dans un centre hospitalo-universitaire sur une cohorte de 280 malades consécutivement informés par un même chirurgien. Analyse du degré de mémorisation des risques chirurgicaux (immobilité laryngée unilatérale, hypocalcémie, immobilité laryngée bilatérale, risques communs à tout acte chirurgical et risque vital) et de la perception par le malade de cette information. Étude statistique à la recherche du rôle de diverses variables sur la mémorisation et la perception de cette information.

En raison des risques chirurgicaux encourus, 14,6 % des malades refusent l'intervention et 5 % réfléchissent plusieurs mois avant de se faire opérer. Au sein des 215 malades opérés : 0,9 % mémorise les cinq risques chirurgicaux encourus, 17,2 % trois ou quatre, 61,4 % un ou deux et 20,4 % aucun. Les trois risques chirurgicaux les mieux mémorisés sont l'immobilité laryngée unilatérale, le décès et l'immobilité laryngée (respectivement 76,7 ; 33,9 et 23,7 % des cas). En post-opératoire immédiat : 85,5 % des malades perçoivent l'information délivrée sur les risques chirurgicaux encourus de façon positive, 45,1 % la perçoivent de façon négative et 35,3 % ont une perception mixte à la fois positive et négative. En analyse monovariée : (i) trois variables (l'année de l'étude, l'âge et l'état d'activité professionnelle du malade) modifient de façon statistiquement significative le taux de mémorisation de certains des risques chirurgicaux et (ii) deux variables (le nombre de consultations avec le chirurgien et le délai entre la consultation et l'intervention) modifient de façon statistiquement significative la perception par le malade de l'information délivrée.

Cette étude souligne que la mémorisation par le malade de l'information sur les risques chirurgicaux encourus lors d'une thyroïdectomie est faible et que cette information génère un stress important chez le malade qui, dans un nombre non négligeable de cas, ne suit pas le conseil de son chirurgien.

CO18

Y a-t-il un intérêt à traiter les cancers différenciés thyroïdien avec Tg stimulée indétectable au moment de l'ablation par I-131

C. Nascimento, I. Borget, A. Al Ghuzlan, D. Deandreis, L. Chami, J. Travagli, D. Hartl, J. Lumbroso, E. Baudin, M. Schlumberger, S. Leboulloux

Contexte.– L'indication d'ablation par I-131 dans les cancers différenciés thyroïdien (CDT) ne prend pas en compte la thyroglobuline stimulée (stim-Tg) au moment de l'ablation alors qu'une stim-Tg indétectable est un critère majeur de guérison.

Objectif.– Évaluer rétrospectivement la fréquence et les facteurs de risque de scintigraphie corps entier post-thérapeutique (SCE) anormale et de rechute ultérieure chez les patients avec CDT et stim-Tg indétectable (< 1 ng/mL) en l'absence d'anticorps anti-Tg (AcTg) au moment de l'ablation.

Patients.– Parmi 1031 patients, 242 patients consécutifs répondaient aux critères d'inclusion.

Résultats.– La SCE était anormale chez 7 patients, tous pN1. En plus de pN1, la taille tumorale était le seul facteur de risque de SCE anormale ($p=0,01$).

Parmi les 203 avec SCE normale et un suivi supérieur à 6 mois, le bilan 6–18 mois après l'ablation a montré une stim-Tg indétectable en l'absence d'AcTg dans 173 cas, indétectable avec AcTg dans 1 cas et à 1,2 ng/mL dans 1 cas, une échographie cervicale normale dans 138 et faussement positive dans 3 cas. Après un suivi moyen de 4 ans, 2 rechutes ont été observées, chez 2 patients avec un sous-type agressif de CDT. Le seul facteur de risque indépendant de récurrence était un sous-type agressif de CDT ($p=0,03$).

Conclusions.– Une stim-Tg indétectable en l'absence d'AcTg au moment de l'ablation est fréquemment observée. Chez ces patients, le contrôle de stim-Tg 6–18 mois après l'ablation est inutile et l'ablation par I-131 pourrait être évitée en l'absence de pN1 et de sous-type agressif.

CO19

La régulation de la biogenèse mitochondriale comme cible thérapeutique des cancers folliculaires thyroïdiens

D. Prunier-Mirebeau, S. Le Pennec, C. Jacques, R. Houlgatte, R. Mahatsanghy, Y. Malthiery, F. Savagner

La biogenèse mitochondriale est régulée au niveau transcriptionnel par des facteurs qui coordonnent l'expression des génomes mitochondriaux et nucléaires. Ces facteurs de transcription (NRF-1, NRF-2, ESRRA) interagissent avec la famille PGC-1 de coactivateurs (PGC-1 α , PGC-1 β et PRC) afin de contrôler la fonction énergétique en réponse aux stimuli endogènes ou environnementaux. Dans les cancers thyroïdiens différenciés, la biogenèse mitochondriale est favorisée, plus spécifiquement par l'intermédiaire de PRC, seul coactivateur dont l'expression est coordonnée aux phases du cycle cellulaire. Aucune interférence fonctionnelle entre PRC et ESRRA n'a été décrite à ce jour.

Nous avons exploré l'efficacité de la fonction mitochondriale liée aux interactions des facteurs ESRRA et PRC dans 3 lignées folliculaires thyroïdiennes (FTC-133, XTC.UC1 et RO 82W-1), de richesse en mitochondries variable. L'identification des gènes cibles de la régulation PRC-dépendante a été réalisée dans le modèle XTC.UC1 par profil d'expression après invalidation de PRC et vérification du retentissement mitochondrial par RT-PCR quantitative et western blot. La voie ESRRA-PRC a été explorée par invalidation ou surexpression de chacun de ces facteurs dans les lignées FTC-133 et RO82W-1 et mesure de leur impact sur la fonction et la biogenèse mitochondriale ainsi que sur le métabolisme cellulaire selon les phases du cycle cellulaire.

Nous avons identifié le rôle clé du facteur PRC dans le contrôle de l'homéostasie mitochondriale. Nous avons montré que le complexe ESRRA-PRC modulait la croissance cellulaire selon le métabolisme de la cellule tumorale. Nos résultats suggèrent que les thérapeutiques modifiant l'interaction ESRRA-PRC peuvent avoir des propriétés antiproliférative pour les tumeurs folliculaires thyroïdiennes.

CO20

Évaluation de l'expression de TP53INP1 dans les cancers médullaires de la thyroïde : une aide pour guider l'étendue de la chirurgie initiale ?

D. Taïeb, F. Sebag, S. Giusiano-Courcambeck, C. De Micco, N. Dusetti, J. Iovanna, J. Henry, S. Garcia

Objectifs.— Les cancers médullaires de la thyroïde (CMT) sont caractérisés par une extension ganglionnaire précoce qui est un obstacle majeur à la guérison. L'ATA a remis en cause le curage prophylactique du compartiment latéral. Toutefois, l'imagerie ne permet pas toujours d'exclure une atteinte ganglionnaire. Ainsi, l'évaluation d'autres outils corrélés à l'extension de la maladie est importante. Comme les mutations de p53 sont rares, nous avons évalué l'expression de sa protéine cliente TP53INP1 (*Tumor protein p53-induced nuclear protein 1*) impliquée en tumorigénèse.

Matériels et méthodes.— L'immunoexpression de TP53INP1 a été évaluée dans 38 CMT sporadiques et dans des tissus contrôles.

Résultats.— TP53INP1 était exprimée dans les cellules C normales et les HCC. Elle n'était exprimée que dans 57,9 % des CMT. La proportion de CMT avec atteinte ganglionnaire était corrélée au score de marquage. Avec un seuil de 50 % de cellules TP53INP1+, le taux de patients N1 était significativement plus faible dans le groupe 1 (0–< 50 %) comparé au groupe 2 (≥ 50 %) 18,8 % et 63,6 % respectivement ($p=0,009$). Les CMT du groupe 1 avaient aussi un nombre plus faible de ganglions atteints par patient (2,7 % de ganglions métastatiques vs 22,9 %, $p<0,001$). Les patients métastatiques à distance étaient dans le groupe 2. Le taux de rémission était de 100 % dans le groupe 1 vs 55,5 % dans le groupe 2. L'évaluation semi-quantitative de TP53INP1 est faisable en cytologie.

Conclusions.— L'expression de TP53INP1 est un prédicteur d'atteinte ganglionnaire. Son évaluation après cytoponction pourrait compléter les données de l'imagerie préopératoire pour décider ou non d'un curage prophylactique.

Hypophyse – Neuroendocrinologie

Communications orales 3

CO21

Retentissement et prise en charge initiale de la maladie de Cushing (MC) : étude d'une cohorte française multicentrique de 430 patients

C. Baudry, M. Martinie, M. Fathallah-Sahnoun, B. Gatta-Cherifi, R. Bou Khalil, L. Guignat, E. Gay, G. Raverot, T. Brue, A. Tabarin, O. Chabre, J. Bertherat

Objectif.— Décrire les caractéristiques démographiques, cliniques et la prise en charge initiale d'une cohorte multicentrique de patients ayant une MC.

Patients et méthodes.— Quatre cent trente patients présentant une MC prouvée ou probable diagnostiquée entre 1996 et 2009, dans 5 centres français (Bordeaux, Grenoble, Lyon, Marseille, Paris-hôpital Cochin).

Résultats.— La cohorte comprend près de 80 % de femmes (342). L'âge moyen au diagnostic est de $41 \pm 14,9$ ans, le délai diagnostique de $34,4 \pm 38,5$ mois. Les explorations initiales ($n=303$) comprennent un test de stimulation à la CRH et au dDAVP dans respectivement 73 % et 59 % des cas, un freinage fort à la dexaméthasone dans 35 % et un cathétérisme des sinus pétreux dans 31 %. L'IRM hypophysaire a visualisé un adénome dans 63 % des cas. Les complications et manifestations de la MC avant traitement sont : obésité (33 %) et surpoids (29 %), hypertension artérielle (50 %), diabète (25 %) et intolérance au glucose (20 %), troubles psychiatriques (33 %), hypogonadisme clinique (38 %), fractures (25 %) et hypokaliémie (12 %). Trois cent quarante-deux patients (79,5 %) ont eu une chirurgie hypophysaire par voie transphénoïdale en première intention, avec une histologie positive dans 78 %. Dans les 6 mois postopératoires ($n=237$), 84,8 % des patients sont en rémission.

Conclusion.— Cette large cohorte multicentrique a permis de caractériser la démographie et le retentissement de la MC, et de décrire les explorations réalisées, ainsi que les résultats immédiats de la chirurgie hypophysaire. L'étude de cette cohorte permettra de préciser le devenir après traitement des complications de la MC et leurs déterminants.

CO22

Étude génétique et anatomopathologique du syndrome de McCune-Albright chez l'adulte

A. Beckers, M. Burlacu, A. Thiry, E. Livadariu, G. Tamagno, M. Tichomirowa, M. Silvy, A. Thonnard, A. Daly, A. Enjalbert, A. Barlier

Le syndrome de McCune-Albright est une association clinique d'anomalies endocriniennes et non-endocriniennes multiples causées par la mutation post-zygotique du gène *GNAS1* menant à l'activation de la sous-unité α de la protéine G.

Nous rapportons les résultats de l'autopsie d'un adulte mâle atteint du syndrome de McCune-Albright. À notre connaissance, il s'agit de la première étude anatomopathologique et génétique complète d'un adulte porteur de cette mutation. Le diagnostic a été posé à l'âge de six ans sur les bases de l'association de tâches café-au-lait et d'une dysplasie fibreuse polyostotique. Durant la période adulte sont apparus un gigantisme, une hyperprolactinémie, un hypogonadisme hypogonadotrope et une hyperparathyroïdie. Le patient est décédé à l'âge de 39 ans d'une embolie pulmonaire. L'analyse macroscopique et microscopique était combinée avec des tests génétiques sur plusieurs organes dans le but d'établir une corrélation entre le phénotype et le génotype. Les mutations sont retrouvées dans les tissus endocriniens et non-endocriniens affectés. Elles sont distribuées selon un modèle mosaïque de telle façon que toutes les cellules d'un organe affecté ne sont pas atteintes.

Cette étude permet pour la première fois d'établir une corrélation précise entre l'aspect anatomopathologique et la présence de la mutation dans de nombreux organes d'un patient atteint.

CO23

Rôle des co-represseurs TLE1 et TLE3 au cours du développement hypophysaire

F. Castinetti, M. Brinkmeier, L. Carvalho, T. Brue, B. Ellsworth, S. Camper

L'hypopituitarisme congénital est lié à des mutations de facteurs de transcription hypophysaires. Au cours du développement hypophysaire, le facteur de transcription HESX1 interagit avec le co-represseur TLE1, membre de la famille Groucho, pour inhiber l'action de PROP1 sur le promoteur de POU1F1. L'interaction de HESX1 et TLE3 n'a jamais été rapportée. Notre premier objectif était de déterminer le rôle *in vitro* des co-represseurs TLE1 et TLE3 sur PROP1 et HESX1. Nos résultats démontrent que (1) TLE3 potentialise l'action répressive de HESX1 sur PROP1 ; (2) TLE1 et TLE3 sont capables d'inhiber l'action de PROP1 sur le promoteur de POU1F1 indépendamment de HESX1, via une interaction protéine-protéine. Notre deuxième objectif était de déterminer l'impact d'une surexpression ectopique de TLE3 au cours du développement hypophysaire. Les souris de type Ames, porteuses d'une mutation spontanée de PROP1, présentent en effet une surexpression de HESX1 et du co-represseur TLE3 : ces souris présentent une anomalie de différenciation somato-lactotrope et thyrotrope, mais le rôle respectif de l'inactivité de PROP1 ou de la sur-expression de HESX1 et TLE3 dans ce phénotype n'a pas été identifié. Nous avons généré 2 modèles de souris transgéniques avec expression permanente de HESX1 ou TLE3 dans les cellules thyrotropes et gonadotropes. La différenciation terminale de ces cellules n'est pas possible en absence de HESX1, mais s'effectue normalement en absence de TLE3. Nos données modifient le modèle classiquement admis du développement hypophysaire : le co-represseur TLE3 a probablement un rôle plus important en tant qu'inhibiteur direct de PROP1, qu'en association avec HESX1.

CO24

L'inactivation de TAC3 et de TACR3 entraîne un hypogonadisme hypogonadotrope congénital d'origine hypothalamique chez l'homme

J. Young, J. Bouligand, B. Francou, M. Raffin-Sanson, S. Gaillez, M. Jeanpierre, M. Grynberg, P. Kamenicky, S. Trabado, P. Chanson, S. Brailly-Tabard, A. Guiochon-Mantel

Introduction.– Des mutations faux-sens de *TAC3* et de *TACR3*, gènes respectifs de la neurokinine B (NKB) et de son récepteur, ont récemment été décrites chez des familles présentant un hypogonadisme hypogonadotrope congénital (HHC) isolé, démontrant le rôle fondamental de cette voie sur l'axe gonadotrope humain. Nous avons voulu étudier les conséquences sur l'axe gonadotrope d'une délétion complète de *TAC3* et d'une troncation de *TACR3* chez des adultes présentant un HHC complet.

Résultats.– Nous avons identifié 3 patients non apparentés présentant la même substitution homozygote du site accepteur d'épissage de l'intron 3 de *TAC3* (c.209-1G>C) et 3 frères et sœurs présentant une mutation homozygote du site accepteur d'épissage de l'intron 2 de *TACR3* (c.738-1G>A). Nous avons démontré respectivement que ces mutations délètent totalement la neurokinine B et tronquent son récepteur NK3R. Chez plusieurs patients, nous avons observé une dissociation entre un taux de LH très bas et un taux de FSH presque normal, cette dernière répondant de manière excessive à la GnRH. Ce profil hormonal particulier suggère la possibilité d'une anomalie neuroendocrine spécifique chez ces patients présentant une altération de la signalisation de la neurokinine B. Enfin, chez ces patients, l'administration pulsatile de GnRH normalise les stéroïdes sexuels circulants ainsi que la libération de LH et a restauré la fertilité chez une patiente.

Conclusion.– Nos résultats démontrent l'origine hypothalamique du déficit en gonadotrophines dans ces formes génétiques d'HHC normosmique. La neurokinine B et son récepteur jouent donc un rôle crucial dans la libération de la GnRH chez l'homme.

CO25

Transfert du récepteur somatostatinergique Sst2 in vitro dans les adénomes hypophysaires non fonctionnels humains

A. Mohamed, T. Cuny, A. Germanetti, H. Dufour, A. Enjalbert, A. Barlier, A. Saveanu

Dans les adénomes hypophysaires non fonctionnels (NFPA), la chirurgie est le traitement de première intention, mais la récurrence est fréquente. La présence des récepteurs somatostatinergergiques (Sst2-Sst3) et dopaminergique (D2DR) a justifié l'essai d'agonistes Sst2 (octréotide) et D2DR (cabergoline). Néanmoins, le niveau d'expression de ces récepteurs est plus faible dans les NFPA que dans les adénomes lactotropes (AL) et somatotropes (AS), expliquant un contrôle antitumoral dans moins de 20 % des cas. Notre équipe a montré que la surexpression de Sst2 dans les AS et les AL s'associe à une meilleure action antisécrétoire et antiproliférative de l'octréotide.

Objectifs.– Analyser dans les NFPA l'effet de la surexpression de Sst2 par un vecteur adénoviral (Ad-Sst2), en présence ou pas d'octréotide, de cabergoline et d'un agoniste chimérique Sst2-D2DR (dopastatine).

Méthodes.– Culture in vitro de 9 NFPA. Validation de la surexpression de Sst2 par QPCR et immunohistochimie. Étude de la prolifération cellulaire après effet dose croissants des drogues.

Résultats.– Surexpression efficace de Sst2 (50 copy ARNm/copy BGus) :– une forte surexpression de Sst2, indépendamment de l'activation par un ligand, induit une diminution de la viabilité cellulaire ($-50 \pm 5\%$) par apoptose caspase dépendante ;– dans 5/6 tumeurs, la surexpression de sst2 améliore la sensibilité de l'octréotide, de la dopastatine et de la cabergoline (3/6 tumeurs) sur le paramètre de prolifération cellulaire.

Conclusion.– À forte charge virale, la simple surexpression de sst2 induit une mort cellulaire suggérant une activité constitutive de ce récepteur. À faible charge virale, la surexpression de Sst2 améliore l'effet antiprolifératif de l'octréotide, de la cabergoline et de la dopastatine.

Communications orales 8

CO26

Élaboration d'un dispositif micro-invasif de biopsie moléculaire adapté au repérage peropératoire du microadénome hypophysaire corticotrope

R. Montessuy, D. Ratel, F. Berger, O. Chabre, M. Cosnier, M. Martinie, J. Passagia, J. Issartel, E. Gay

Introduction.– Le repérage du microadénome corticotrope est un enjeu majeur de la chirurgie transphénoïdale de la maladie de Cushing. Notre objectif est d'étudier la faisabilité d'un dispositif d'assistance peropératoire basé sur la capture d'ACTH intratissulaire par des surfaces de silicium chimiquement modifiées.

Matériels et méthodes.– La fixation de l'ACTH sur les différentes surfaces de silicium est étudiée dans l'optique d'une utilisation peropératoire après une phase de mise au point comparant une technique de spectrométrie de masse SELDI-TOF au dosage radio immunologique sur des solutions d'ACTH commerciales et des tissus hypophysaires issus de chirurgie. Le cahier des charges pour la conception de l'instrument chirurgical adapté est élaboré.

Résultats.– Nous affirmons la présence d'un pic de masse imputable à l'ACTH sur nos surfaces chromatographiques, en affirmant l'intérêt de leurs microstructuration et modifications chimiques. Le protocole d'utilisation est précisé (temps de contact, lavages, paramètres de spectrométrie). L'apposition de tissus est validée et un profil adénomateux est identifié. La réalisation du prototype de l'instrument ainsi que des tests mécaniques et anatomiques préliminaires sont détaillés.

Discussion.– L'utilisation de ces méthodes ex vivo apporte des preuves de faisabilité nécessitant d'être confirmées sur le vivant.

Conclusion/perspectives.– L'utilisation de l'outil développé dans cette indication est envisageable, moyennant des évolutions techniques et une validation in vivo, comme des tests de toxicité. L'intégration d'un système de guidage et l'optimisation de la lecture spectrométrique sont les autres objectifs imminents.

CO27

Caractéristiques cliniques et réponses thérapeutiques des patients avec adénome hypophysaire mutés pour AIP : étude internationale sur 96 cas

A. Beckers, A. Daly, P. Petrossians, M. Tichomirowa, E. Heliövaara, M. Jaffrain-Rea, A. Barlier, L. Naves, T. Ebeling, A. Karhu, L. Cazabat, E. De Menis, C. Montanana, G. Raverot, R. Weil, T. Sane, D. Maiter, S. Negggers, A. Thonnard, M. Yaneva, A. Tabarin, E. Verrua

Les mutations du gène *AIP* peuvent survenir dans un cadre familial (FIPA pour *familial isolated pituitary adenomas*) ou moins souvent dans les cas sporadiques. Nous avons caractérisé cliniquement et étudié la réponse thérapeutique des adénomes hypophysaires *AIP* positifs. Cette étude internationale réalisée dans 36 centres de référence concerne 96 patients avec mutation *AIP* et adénome hypophysaire. Deux cent trente-deux acromégales *AIP* négatifs ont servi de contrôle. 63,6 % des cas *AIP* positifs étaient des hommes. Les premiers symptômes survenaient dans l'enfance ou l'adolescence dans 50 % des cas. Au diagnostic, 93,3 % des tumeurs étaient des macroadénomes fréquemment invasifs. Les adénomes à GH constituaient 78,1 % de la série. Il y avait aussi des prolactinomes ($n=13$), des adénomes non sécrétants ($n=7$) et un adénome à TSH. Les adénomes à GH *AIP* positifs étaient plus grands, avaient un GH plus élevée et étaient beaucoup moins faciles à contrôler sur le plan thérapeutique. Ils survenaient 2 décennies avant ceux des contrôles. Le gigantisme était plus fréquent. Les prolactinomes mutés pour *AIP* survenaient plus souvent chez des jeunes hommes et nécessitaient souvent chirurgie et radiothérapie.

En conclusion.– Les adénomes hypophysaires *AIP* positifs ont des caractéristiques cliniques qui ont un impact négatif sur l'efficacité du traitement. La prédisposition à donner naissance à des tumeurs agressives chez des patients jeunes ou dans un climat familial suggère que des stratégies permettant un diagnostic plus précoce des adénomes *AIP* mutés pourraient avoir des conséquences cliniques intéressantes.

CO28

Traitement par témozolomide des tumeurs agressives et des carcinomes hypophysaires : résultats d'une étude multicentrique française

G. Raverot, S. Sturm, F. De Fraipont, M. Muller, S. Salenave, P. Caron, O. Chabre, P. Chanson, C. Cortet-Rudelli, B. Delemer, R. Assaker, H. Dufour, S. Gaillard, P. Francois, E. Jouanneau, J. Passagia, M. Bernier, A. Cornélius, D. Figarella-Branger, J. Trouillas, F. Borson-Chazot, T. Brue

Contexte.– Dix-huit patients porteurs de tumeurs agressives ou de carcinomes hypophysaires traités par témozolomide ont été rapportés dans la littérature. L'expression de la O6-méthylguanine-ADN-méthyltransférase (MGMT) a été proposée comme prédictive de la résistance au témozolomide.

Objectifs.– Décrire l'efficacité antitumorale du témozolomide chez ces patients et préciser si la méthylation du promoteur de la MGMT et son expression protéique a une valeur prédictive de son efficacité.

Patients.– Neufs patients, cinq carcinomes hypophysaires (3 PRL et 2 ACTH) et quatre tumeurs hypophysaires agressives (1 PRL et 3 ACTH) ont été traités par témozolomide (4 à 24 cycles de 200 mg/j ; 5 jours/28j).

Méthodes.– L'expression de la MGMT a été évaluée par immunohistochimie et la méthylation de son promoteur par pyroséquençage.

Résultats.– Quatre des neuf patients (3 ACTH et 1 PRL) ont répondu au témozolomide avec une réduction de la taille tumorale et une diminution de la sécrétion hormonale. Trois cycles de témozolomide ont permis d'identifier les patients répondeurs. Des cycles supplémentaires n'ont pas amélioré l'efficacité du traitement chez les patients non-répondeurs. L'expression de la MGMT, positive chez un répondeur et négative chez deux non-répondeurs et la méthylation du promoteur de MGMT (3/7 tumeurs) ne semblent pas prédictives de la réponse au témozolomide. La tolérance au traitement a été généralement bonne.

Conclusion.– Le traitement par témozolomide est une option efficace pour certaines tumeurs agressives et certains carcinomes hypophysaires. La réponse à trois cycles de traitement semble suffisante pour identifier les répondeurs et plus informative que l'analyse du statut de la MGMT des tumeurs.

CO29

R271W, un dominant négatif du facteur de transcription Pit1 pour cibler les cellules tumorales somatolactotropes

C. Roche, R. Rasolonjanahary, S. Thirion, T. Brue, A. Enjalbert, A. Barlier

Le traitement des tumeurs somatolactotropes résistantes aux agonistes somatostatinerigiques ou dopaminergiques reste un problème majeur en pathologie hypophysaire.

Dans le cadre d'une stratégie alternative par thérapie génique et pour cibler spécifiquement ces tumeurs, nous avons choisi un gène codant pour un facteur de transcription crucial dans la prolifération cellulaire et dans la régulation de la sécrétion hormonale, exprimé spécifiquement dans l'hypophyse au stade adulte et pour lequel il existe un mutant dominant négatif R271W responsable des déficits hypophysaires chez l'homme : le facteur de transcription Pit1 (POU1F1). Après transfert par un vecteur lentiviral *in vitro*, le mutant dominant négatif R271W induit une diminution de la sécrétion hormonale de GH et prolactine corrélée à une diminution des ARN messagers de ces hormones, dans les lignées cellulaires somatolactotropes de rat (GH4C1) et dans des cellules adénomateuses humaines lactotropes et somatotropes en culture primaire.

Une diminution de la viabilité cellulaire par un mécanisme apoptotique est également observée dans ces modèles cellulaires.

In vivo, l'expression du mutant bloque la prolifération tumorale de xénogreffes obtenues après injection de GH4C1 dans des souris nude.

La stratégie consistant à utiliser un mutant dominant négatif d'un facteur contrôlant la prolifération cellulaire et la sécrétion hormonale et exprimé exclusivement dans l'hypophyse semble prometteuse pour le traitement des tumeurs hypophysaires et pourrait être étendue à d'autres types de tumeurs conservant leurs caractères différenciés.

CO30

Caractéristiques des prolactinomes résistant aux agonistes dopaminergiques

L. Vroonen, G. Tamagno, L. Naves, L. Vilar, J. Bitu, P. Chanson, P. Petrossians, A. Daly, T. Brue, A. Barlier, B. Delemer, A. Tabarin, M. Jaffrain-Rea, P. Caron, P. Beck-Peccoz, F. Borson-Chazot, A. Beckers

Introduction.– La prévalence des adénomes hypophysaires de l'ordre de 1 : 1000, dont 60 % sont des adénomes à prolactine. Le sex-ratio des prolactinomes sporadiques est de 10 femmes pour un homme. Les agonistes dopaminergiques constituent le traitement de première intention, permettant un contrôle biologique dans la majorité des cas. Cependant, une résistance peut survenir. Cette

étude caractérise une population de prolactinomes considérés comme résistants. **Méthode.**– Les données de 80 prolactinomes résistants ont été collectées dans 9 centres et étudiées rétrospectivement. La résistance aux agonistes dopaminergiques a été définie comme l'incapacité de normaliser les taux de PRL (<500 µU/mL) ou de diminuer la taille de l'adénome d'au moins 50 %.

Résultats.– La prévalence de la résistance est de 1 % des prolactinomes. Plus de la moitié des 80 prolactinomes étudiés sont retrouvés chez des femmes (55 %). On retrouve 68 macroadénomes (85 %), dont 12 géants. Au diagnostic, les hommes présentent un macroadénome dans 97,2 % des cas et les femmes dans 75 % des cas. Les taux médians de PRL au diagnostic sont supérieurs chez les hommes (55 000 µU/mL) que chez les femmes (10 120 µU/mL). Une résistance secondaire (après une réponse initiale) est retrouvée chez 8 patients (10 % des cas). Seulement 16 cas sont contrôlés biologiquement et radiologiquement au dernier suivi. Comme dans l'acromégalie, la chirurgie (*debunking*) permet un meilleur contrôle des paramètres biologiques par le traitement médicamenteux. Une atteinte génétique est retrouvée dans 11 % des cas avec 4 cas de FIPA (2 mutations AIP), 3 cas de NEM 1 et 3 carcinomes à prolactine.

Conclusion.– Comparés aux prolactinomes sporadiques, les adénomes résistants sont retrouvés principalement chez les hommes et se présentent comme des macroadénomes. Les taux de PRL sont plus élevés chez les hommes au diagnostic. La prévalence de la résistance de 1 % est inférieure à celle précédemment rapportée. Une résistance secondaire est présente dans 10 % des cas de notre série. Le *debunking* permet un meilleur contrôle des paramètres biologiques par le traitement médicamenteux. Une atteinte génétique particulière est présente dans 11 % des prolactinomes résistants.

Métabolisme, Diabète

Communications orales 4

CO31

La résistance à l'obésité des souris invalidées pour le récepteur de la prolactine révèle une transdifférenciation adipocytaire

J. Auffret, S. Viengchareun, A. Muscat, B. Feve, M. Lombes, N. Binart

Au-delà de son rôle dans la lactation et la reproduction, la prolactine (PRL) régule la balance énergétique et cible directement le tissu adipeux via des récepteurs spécifiques. Nous avons montré qu'à la naissance, les souris déficientes en récepteur PRL (PRLR KO) ont une hypotrophie du tissu adipeux brun, et à l'âge adulte une baisse significative de la masse des différents tissus adipeux blancs par rapport aux souris sauvages. Il est donc important de mieux comprendre le rôle physiologique et physiopathologique de la PRL et de sa signalisation dans la plasticité de l'adipocyte. Des souris mâles sauvages et PRLR KO âgées de 8 semaines ont été soumises à un régime standard ou enrichies en lipides (régime H) pendant 16 semaines. La forte résistance à la prise de poids observée chez les souris PRLR KO en régime H est corrélée à la diminution de l'indice de masse grasse mesuré par absorptiométrie. La quantification des ARNm du tissu adipeux péri-rénal montre une augmentation des facteurs de différenciation (ZFP423, PPAR γ 2, CEBP α) et des marqueurs spécifiques du tissu adipeux brun (PRDM16, UCP1, PGC1 α) chez les souris PRLR alors que sous régime standard, ces différents facteurs sont très bas comparés aux souris sauvages. Cette transdifférenciation adipocytaire blanc-brun rend compte de la résistance à l'obésité observée chez les souris PRLR KO. Cette découverte ouvre ainsi de nouvelles voies vers la compréhension de l'impact de la signalisation prolactinique et de ses cibles dans les troubles métaboliques et l'obésité (financé par un contrat ANR blanc # 0246-01).

CO32

Syndromes lipodystrophiques : l'interleukine 7 (IL7) est corrélée au rapport graisse intrapéritonéale/IMC

L. Dieudonné, A. Balavoine, O. Ernst, G. Lion, J. Laurent, P. Pigny, C. Vigouroux, J. Wémeau, I. Wolowczuk, M. Vantghem

La physiopathologie des lipodystrophies reste mal connue. La cytokine IL7 a récemment été proposée comme régulateur quantitatif et qualitatif de l'adiposité (Macia et al. PloSOne 2010). Notre but était de comparer le profil métabolique, la répartition du tissu adipeux et les taux d'IL7 de différentes lipodystrophies.

Méthodes.– Nous avons comparé 25 patients avec mutation *LMNA*, 14 apparentés non mutés, 15 lipomatoses et 16 patients lipodystrophiques HIV négatifs non mutés (LDNM). Les caractéristiques cliniques, métaboliques, le pourcentage de masse grasse (% MG) en DEXA, les quantités de graisse abdominale totale (GT) et intrapéritonéale (GIP) en IRM et l'IL7 ont été déterminées. **Résultats.**– La fréquence du diabète, les médianes d'IMC, HbA1C, glycémie et insulïnémie à jeun, leptinémie, % MG totale et tronculaire et volume de GT différaient significativement entre les groupes. Les « mutés » présentaient un IMC, une leptinémie et des rapports % MG tronculaire/IMC et GT/IMC inférieurs aux LDNM ($p < 0,05$) mais une insulïnémie supérieure ($p < 0,01$). L'IL7 ne différait pas entre les groupes, mais était positivement corrélée au rapport GIP/IMC, et négativement au rapport GT/GIP, à l'inverse de la leptine.

Conclusion.– Devant une lipodystrophie, un IMC < 25, un diabète avec hyperinsulinisme à jeun, une leptinémie < 10 ng/mL, un rapport MG tronculaire/IMC $\leq 1,2$ (DEXA) et un rapport GT/IMC < 12 (IRM) orientent vers une laminopathie. De plus, la quantité proportionnellement supérieure de GIP chez les mutés expliquerait la sévérité de l'insulïnorésistance, tandis que l'IL7 apparaîtrait comme un senseur de l'équilibre graisse intrapéritonéale/graisse totale.

CO33

Étude de l'impact de la surcharge martiale sur la fonction gonadotrope des sujets avec hépatosidérose dysmétabolique

A. Gautier, F. Lainé, C. Massart, L. Pergola-Sandret, Y. Deugnier, F. Bonnet

Objectifs.– Un hypogonadisme hypogonadotrope partiel peut être retrouvé chez des sujets avec syndrome métabolique. Les mécanismes physiopathologiques de ce déficit ne sont pas connus. En particulier, le rôle de la surcharge martiale associée à l'insulïnorésistance n'a pas été étudié.

Patients et méthodes.– Nous avons comparé les taux de testostérone totale et biodisponible (RIA), LH et SHBG de 50 hommes avec hépatosidérose dysmétabolique (ferritine moyenne = 696 $\mu\text{g/L}$) avec ceux de 20 hommes de même âge sans hyperferritinémie ni insulïnorésistance. La moitié des sujets hyperferritinémiques a été saignée jusqu'à normalisation de la ferritinémie avec une nouvelle évaluation hormonale à l'issue de ce traitement.

Résultats.– Aucun des sujets non hyperferritinémiques ne présentait un déficit gonadotrope et 14 % des participants avec hépatosidérose dysmétabolique avaient un déficit gonadotrope partiel défini par une testostérone biodisponible.

Conclusion.– Dans cette étude pilote, un déficit gonadotrope était observé chez 14 % des sujets avec hépatosidérose dysmétabolique. La correction complète du déficit gonadotrope après déplétion martiale par saignées suggère une implication directe de la surcharge en fer dans la physiopathologie de cet hypogonadisme partiel.

Les auteurs ne déclarent pas de conflit d'intérêt.

CO34

La surexpression du récepteur minéralocorticoïde entraîne une dysfonction β -pancréatique et altère la physiologie adipocytaire : implication pour le syndrome métabolique

E. Kuhn, D. Le Menuet, A. Muscat, S. Viengchareun, B. Fève, M. Lombès

En dehors de son action rénale, il a été démontré que le récepteur minéralocorticoïde (MR) est un facteur pro-adipogénique et anti-thermogénique, possiblement impliqué dans la pathogenèse du syndrome métabolique. Pour évaluer *in vivo* l'impact métabolique du MR, nous avons comparé le phénotype métabolique de souris transgéniques surexprimant le MR à celui de souris sauvages soumises à un régime normal ou hyperlipidique durant 16 semaines. Les explorations métaboliques (poids, masse grasse, tests de tolérance au glucose et de sensibilité à l'insuline) révèlent que les souris transgéniques sous régime hyperlipidique, malgré une moindre prise de poids, ont une intolérance au glucose avec des rapports insuline/glycémie inappropriés, témoignant d'une dysfonction β pancréatique. En parallèle, l'analyse par PCR quanti-

tative de l'expression d'acteurs clés de la physiologie adipocytaire, met en évidence une diminution significative des transcrits de PPAR γ 2, du récepteur β 3-adrénérge, du récepteur glucocorticoïde et de la 11 β -hydroxystéroïde deshydrogénase de type I au niveau du tissu adipeux périrénal des souris transgéniques, suggérant une altération des processus de développement et de lipomobilisation. De façon paradoxale, sous régime normal, les souris transgéniques sont plus maigres et sont hypersensibles à l'insuline avec une hypoglycémie prolongée, révélant une contre-régulation insulïnique déficiente, possiblement en rapport avec une réponse inadaptée de l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien, notamment glucocorticoïde, que nous sommes en train de documenter. Nos résultats sont en faveur d'une implication du MR dans l'homéostasie énergétique, ciblant la cellule β -pancréatique et l'adipocyte, deux acteurs essentiels du contrôle métabolique. Nos études ouvrent des perspectives pharmacologiques intéressantes dans la prise en charge des désordres métaboliques.

CO35

Épidémiologie de l'adénomatose hépatique dans les familles de diabète MODY 3 : dépistage de 174 sujets

A. Rod, C. Bellanné-Chantelot, J. Riveline, J. Gautier, J. Timsit, S. Laboureau-Soares-Barbosa, L. Chaillous, R. Valero, E. Larger, F. Moreau, J. Wilhelm, M. Popelier, P. Guillausseau, C. Thivolet, P. Lecomte, P. Benhamou, L. Chiche, Y. Reznik

L'adénomatose hépatique est une affection rare caractérisée par le développement de multiples adénomes dans le parenchyme hépatique et le risque de rupture hémorragique. Décrite dans des familles de diabétiques MODY3, elle résulte de l'inactivation bi-allélique du gène codant pour le facteur transcriptionnel HNF1A au niveau hépatique. La prévalence de cette affection est inconnue.

Le but de l'étude était de préciser la fréquence de l'adénomatose chez les sujets MODY3 et de décrire les caractéristiques des lésions hépatiques observées.

Cent soixante-quatorze patients issus de 74 familles MODY3 suivies dans 15 CHU français ont participé à l'étude. Un dépistage systématique de l'adénomatose hépatique a été réalisé par échographie avec confirmation IRM, scanner ou anatomique en cas de lésions suspectes.

Sur 137 sujets porteurs de la mutation familiale *HNF1A*, 9 nouveaux cas d'adénomatose hépatique ont été dépistés. Les mutations d'*HNF1A* ont été retrouvées sur l'ensemble de la séquence codante. Les caractéristiques des patients : âge moyen 32,8 ans (11–56 ans), sex-ratio H/F 2/7, diabète chez 7/9, traité par antidiabétiques oraux (4/7) ou insuline (3/7). Les circonstances du diagnostic de l'adénomatose étaient l'enquête familiale (5/9), une découverte fortuite (3/8) et une complication par hémopéritoine (1/9). Les lésions visualisées par échographie et IRM/TDM étaient de 2 à plus de 30 adénomes, micronodulaires < 10 mm (1/9) ou macronodulaires (15–90 mm) chez 8/9. Cinq femmes ont mené à terme 10 grossesses sans complication ni progression des lésions hépatiques. Tous les adénomes avaient une composante stéatosique.

La fréquence de l'adénomatose retrouvée chez 5,4 % des sujets étudiés et le risque potentiel de complication sévère justifient son dépistage systématique dans les familles MODY3.

Communications orales 9

CO36

Estradiol par voie orale, génotype de NFE2L2 et risque thrombotique au cours du traitement hormonal substitutif de la ménopause

J. Bouligand, O. Cabaret, M. Canonico, L. Dubert, C. Verstuyft, L. Becquemont, A. Guiochon-Mantel, P. Scarabin

L'administration d'estradiol par voie orale augmente le risque de thrombose veineuse au cours de la ménopause (effet de premier passage hépatique). Il a été montré que l'augmentation du métabolisme hépatique, par le CYP3A5, enzyme de « phase-1 » qui bioactive l'estradiol, potentialise ce risque. L'altération de la bio-inactivation de l'estradiol par les enzymes de « phase 2 » pourrait donc augmenter de façon similaire le risque de thrombose. Nous avons donc étudié

l'influence d'un polymorphisme génétique de *NFE2L2* qui altère l'expression des gènes de phase-2.

Nous avons utilisé les données de l'étude cas-contrôle ESTHER. Le polymorphisme génétique de *NFE2L2* a été évalué chez 161 cas de thrombose veineuse profonde et 474 contrôles appariés sur le centre, l'âge et la date d'admission. La fréquence de l'allèle muté est 12,4 % chez les cas et 9,5 % chez les contrôles. L'administration d'estradiol par voie orale augmente de 17,9 fois (IC 95 % : 3,7–85,7) le risque de thrombose veineuse profonde chez les femmes porteuses du polymorphisme contre une augmentation de seulement un facteur 2,5 (95 % CI : 1,3–4,8) chez les femmes non mutées (test d'interaction, $p = 0,01$). À l'opposé, il n'y a pas d'interaction quand la voie transdermique est utilisée pour administrer l'estradiol.

Ces résultats apportent des éléments nouveaux impliquant le métabolisme hépatique dans l'augmentation du risque de thrombose après administration orale d'estradiol au cours du traitement hormonal substitutif de la ménopause. Si ces résultats sont confirmés, il pourrait être pris en compte pour prévoir le risque thromboembolique après administration orale d'estrogènes.

CO37

Effet de la prise alimentaire sur les concentrations plasmatiques et salivaires d'endocannabinoïdes

B. Gatta, I. Matias, A. Tabarin, G. Marsicano, P. Piazza, D. Cota

Introduction.– Le système endocannabinoïde (SEC) est un système clé de la régulation de la balance énergétique. Quelques travaux rapportent des taux plasmatiques d'endocannabinoïdes (EC), anandamide (AEA) et 2-arachidonoyl glycerol (2-AG), élevés dans l'obésité. La cinétique prandiale des EC n'est pas connue chez l'Homme. La mesure des taux salivaires d'EC n'a jamais été rapportée.

Méthodes.– Les taux plasmatiques et salivaires d'EC ont été mesurés chez 12 sujets normopondéraux (IMC : $21,0 \pm 0,37 \text{ kg/m}^2$) et 12 patients obèses (IMC $42,05 \pm 1,40 \text{ kg/m}^2$) à jeun, une heure avant, 10 min avant et une heure après le déjeuner.

Résultats.– À jeun, les obèses ont des taux plasmatiques et salivaires d'AEA plus élevés que les normopondéraux ($1,07 \pm 0,12$ vs $0,46 \pm 0,05 \text{ pmol/mL}$).

Discussion.– Nous mettons en évidence une cinétique prandiale des EC plasmatiques chez l'Homme. Les obèses ont un excès d'EC circulants et une cinétique prandiale perturbée suggérant une hyperactivité du SEC. Les EC salivaires peuvent être un outil non invasif d'étude du SEC chez l'Homme.

CO38

Évolution du profil lipidique de patients obèses, diabétiques et non diabétiques, traités au long cours pour syndrome d'apnées du sommeil

M. Pinget, J. Chambe, S. Mage, E. Ruppert, J. Hubbard, L. Ratheau, P. Bourgin

Introduction.– La prévalence élevée du syndrome d'apnée obstructive du sommeil (SAOS) dans le diabète et l'hypertension artérielle est connue de longue date, comme l'effet bénéfique sur ces facteurs de risque du traitement au long cours du SAOS par pression positive continue (PPC). L'objectif de ce travail est d'analyser si ce traitement peut aussi avoir un effet bénéfique sur le profil lipidique.

Méthode.– Les données rétrospectives extraites du registre de l'unité fonctionnelle de pathologie du sommeil concernent 373 patients obèses : 265 non diabétiques (groupe 1) et 108 diabétiques (groupe 2) présentant un SAOS (index d'apnée/hypopnée ≥ 5 évènements/heure). Le LDL-cholestérol, le HDL-cholestérol et les triglycérides ont été dosés lors du diagnostic initial et après traitement PPC au long cours (5 ou 10 ans), en l'absence de traitement hypolipémiant.

Résultats.– Les taux de LDL-cholestérol diminuent après 5 ans de traitement PPC chez les patients diabétiques ($p < 0,0001$) et non diabétiques ($p < 0,0001$) et après 10 ans ($p < 0,0001$ et $p = 0,0004$, respectivement). Les taux de HDL-cholestérol augmentent dans les mêmes conditions (groupe 1 : $p < 0,0001$ à 5 et 10 ans et groupe 2 : $p = 0,005$ à 5 ans et $p < 0,0001$ à 10 ans). Les taux de triglycérides sont restés stables, et ce dans les deux populations.

Conclusion.– Le profil lipidique des patients obèses s'améliore lors du traitement au long cours du SAOS, aussi bien chez les diabétiques que chez les non diabétiques, évoquant une autre voie de réduction du risque cardiovasculaire par le traitement chronique du SAOS.

CO39

Rôle spécifique de la stéatose et de l'hypoadiponectinémie sur l'hypertriglycéridémie et le taux bas de HDL-cholestérol, au cours du diabète de type 2

B. Vergès, B. Guiu, J. Cercueil, I. Robin, P. Buffier, B. Bouillet, M. Brindisi, A. Poussier, J. Petit

Il a été montré que l'hypoadiponectinémie était associée, chez les patients diabétiques de type 2, à l'hypertriglycéridémie et aux taux bas de HDL-cholestérol. Par ailleurs, une association significative entre stéatose et hypertriglycéridémie a été rapportée, au cours du diabète de type 2. Cependant, comme il existe une relation forte entre hypoadiponectinémie et stéatose, le rôle spécifique de chacun des facteurs, hypoadiponectinémie et stéatose, sur l'hypertriglycéridémie et le taux bas de HDL-cholestérol, dans le diabète de type 2, demeure non précisé. Ceci nous a conduits à réaliser une étude chez 195 patients (101 femmes, 94 hommes) diabétiques de type 2, non traités par glitazones, incluant des dosages d'adiponectine et de leptine plasmatiques ainsi que la mesure précise du contenu en graisse hépatique par spectroscopie photonique et de la graisse viscérale et sous-cutanée par résonnance magnétique. Les triglycérides plasmatiques étaient corrélés positivement avec le contenu en graisse hépatique, l'indice de masse corporelle (IMC), la graisse viscérale, l'HbA1c et négativement avec le HDL-cholestérol et l'adiponectine. Le HDL-cholestérol était corrélé positivement avec l'adiponectine, la leptine et négativement avec les triglycérides, l'IMC, la graisse viscérale et l'HbA1c. En analyse multivariée, les triglycérides étaient significativement associés au contenu en graisse hépatique (positivement, p).

En conclusion.– Bien qu'il existe une association forte entre l'hypertriglycéridémie et le taux bas de HDL-cholestérol, au cours du diabète de type 2, chacune de ces deux anomalies lipidiques est associée à un facteur spécifique : l'hypertriglycéridémie avec la stéatose et le HDL-cholestérol bas avec l'hypoadiponectinémie. Ces données suggèrent deux mécanismes indépendants en cause dans la dyslipidémie diabétique : la stéatose dans l'hypertriglycéridémie, d'une part, et l'hypoadiponectinémie dans le taux abaissé de HDL-cholestérol, d'autre part.

CO40

Un nouveau syndrome lipodystrophique avec insulino-résistance extrême associée à des troubles du métabolisme adipocytaire

Y. Reznik, C. Vigouroux, J. Morera, C. Le Dour, S. Gandotra, O. Lascols, D. Savage, J. Magré, Groupe d'étude des lipodystrophies

Les syndromes lipodystrophiques sont associés à des perturbations du métabolisme glucidique et lipidique. Le tissu adipeux blanc joue un rôle central dans le stockage des triglycérides sous forme de gouttelettes lipidiques, dont les constituants exercent des fonctions régulatrices de l'adipogenèse et de la lipolyse. Nous avons identifié au sein d'une famille plusieurs membres présentant une insulino-résistance extrême et un diabète, une hypertriglycéridémie associée à une stéatose hépatique. Le cas index, une femme initialement explorée à 25 ans, présentait une dystrophie ovarienne avec hyperandrogénie sévère et acanthosis nigricans. Elle a développé dès 26 ans un diabète modéré associé à une insulino-résistance extrême démontrée par une perfusion insulinique à très haut débit (25 U/h) pour obtenir la normoglycémie. Dans sa 5^e décennie, la patiente a développé un diabète sévère non contrôlé (HbA1c 9 %) par une infusion S/C continue d'insuline par pompe (280 U/24 h), une hypertriglycéridémie majeure (6,5 g/L) et une stéatose hépatique. La patiente présentait une hypertrophie musculaire et une atrophie des graisses sous-cutanées. Sa sœur présentait un diabète et une hypertrophie musculaire, et son père un diabète, une hypertriglycéridémie, une HTA et des accidents coronariens précoces. Un screening génétique chez le cas-index a permis d'exclure une mutation des gènes connus

impliqués dans les lipodystrophies, mais en revanche a identifié une mutation d'un gène codant pour une protéine impliquée dans le stockage des triglycérides du tissu adipeux blanc. Des études fonctionnelles ont caractérisé les conséquences de la mutation familiale sur le stockage des triglycérides et la lipolyse adipocytaires.

Onco-endocrinologie – Surrénales – Autres

Communications orales 5

CO41

Les mutations activatrices de CTNNB1 sont fréquentes dans les adénomes corticosurrénaux et responsables de tumeurs plus volumineuses et moins différenciées

S. Bonnet, S. Gaujoux, P. Launay, C. Baudry, I. Chokri, F. René-Corail, A. Audebourg, M. Vacher-Lavenu, L. Groussin, X. Bertagna, B. Dousset, J. Bertherat, F. Tissier

Introduction.– La voie Wnt/b-caténine est activée dans un certain nombre de tumeurs corticosurrénales par l'intermédiaire de mutations activatrices du gène codant b-caténine (*CTNNB1*).

Objectif.– Étudier l'implication de la voie Wnt/b-caténine dans la tumorigénèse des adénomes corticosurrénaux (AC).

Matériel et méthodes.– Cent AC consécutifs (score de Weiss ≤ 2 , hors adénomes de Conn) étudiés sur le plan clinique, en immunohistochimie (IHC) à l'aide d'un anticorps anti b-caténine et séquencés pour l'exon 3 de *CTNNB1*.

Résultats.– Trente-cinq AC étaient non sécrétants (NS), 19 AC pré-toxiques (PT) et 46 AC toxiques (T). Trente-six tumeurs présentaient une mutation de *CTNNB1*. Les tumeurs mutées étaient majoritairement non sécrétantes (61,1 % NS, 22,2 % PT, 16,7 % T) alors que les tumeurs non mutées étaient majoritairement toxiques (20,3 % NS, 17,2 % PT, 62,5 % T) (p b-caténine en IHC) contre seulement 23,4 % ($n = 15$) des tumeurs non mutées. La taille et le poids moyens étaient respectivement de 4,2 cm ($\pm 1,2$) et 28,4 g ($\pm 21,1$) pour les tumeurs mutées contre 3,4 cm ($\pm 0,9$) et 18,2 g ($\pm 8,1$) pour les tumeurs non mutées ($p < 0,01$).

Conclusion.– Les mutations somatiques activatrices de *CTNNB1* sont retrouvées dans environ un tiers des AC. Le profil clinique des tumeurs mutées suggère un rôle de b-caténine dans le phénotype tumoral sous forme de tumeurs plus volumineuses et moins différenciées.

CO42

Analyse des facteurs pronostiques des corticosurrénaux métastatiques traités par l'association mitotane-cisplatine incluant les taux plasmatiques de mitotane, l'expression d'ERCC1 et de la réponse objective

P. Malandrino, A. Al Ghuzlan, M. Castaing, J. Young, B. Caillou, J. Travagli, E. Dominique, T. De Baere, C. Dromain, P. Chanson, M. Schlumberger, S. Leboulleux, E. Baudin

Introduction.– L'objectif de cette étude était de progresser dans l'établissement de règles de prescription de la première ligne de chimiothérapie des corticosurrénaux métastatiques (CSM) par l'analyse de l'ensemble, des facteurs pronostiques et prédictifs de réponse au traitement, individualisés à ce jour.

Matériel et méthode.– Les dossiers de 131 patients adressés pour CSM, entre 1993 et 2007, ont été revus. Les critères d'inclusion étaient : (1) relecture du Weiss faite ; (2) l'association mitotane-cisplatine en première ligne ; (3) suivi complet tous les 2 mois par critères RECIST ; (4) un CS stade III–IV. L'ensemble des paramètres (univariée puis multivariée) influençant la survie globale ont été étudiés à partir de l'initiation du cisplatine : âge, sexe, traitements antérieurs (chirurgie, R), nombre d'organes métastatiques, score de Weiss, sécrétions hormonales, taux de mitoses, délais entre le diagnostic et l'apparition des métastases et entre la prescription de mitotane et du cisplatine, taux plasmatique de mitotane, l'expression d'ERCC1 (sous-groupe), la réponse objective antitumorale (RECIST).

Résultats.– Nous avons mis en évidence une réponse objective à l'association mitotane-cisplatine chez 27 % des 55 CSM analysés. La survie médiane était de 12 mois. En analyse multivariée, un taux plasmatique de mitotane > 14 mg/L ou une réponse objective à la polychimiothérapie à 2 mois étaient indépendamment associés à la survie ($p = 0,03$ et $0,001$).

Conclusion.– La survie des CSM lors de l'initiation de l'association mitotane-cisplatine dépend essentiellement de la mitotanémie et de l'obtention d'une réponse objective précoce. En leur absence ainsi qu'en cas de progression rapide < 6 mois et un nombre d'organe métastatique > 2 , une alternative thérapeutique doit être discutée.

CO43

Le dépistage systématique in vivo révèle une fréquence élevée de régulation aberrante de l'aldostérone chez des patients avec hyperaldostéronisme primaire

S. Grunenwald, T.L. Mazzuco, L.M. Mermejo, I. Bourdeau, A. Lacroix

Introduction.– Par analogie avec le syndrome de Cushing ACTH-indépendant, l'expression aberrante de récepteurs hormonaux couplés aux protéines G a récemment été identifiée comme pouvant réguler la production d'aldostérone chez des patients avec hyperaldostéronisme primaire (HAP) secondaire à des adénomes de Conn (AC) ou à un hyperaldostéronisme idiopathique (HAI).

Objectif.– Étudier in vivo la régulation aberrante d'aldostérone chez des patients ayant un HAP.

Patients et méthodes.– Vingt-cinq patients (9F, 16H) atteints d'HAP (14 AC, 11 HAI) ont été étudiés. Le protocole de dépistage in vivo, réalisé sous suppression à la dexaméthasone, comprend la mesure de l'aldostérone, du cortisol, de l'ACTH et de l'activité de la rénine lors de différents tests de stimulation. Une augmentation de l'aldostérone de plus de 50 % était considérée comme une réponse positive.

Résultats.– Les données ont été étudiées chez 20 patients dont l'ACTH était correctement supprimée par la dexaméthasone. Quatre-vingt-cinq pour cent des patients avaient au moins une réponse aberrante de l'aldostérone. Les réponses aberrantes de l'aldostérone les plus fréquentes ont été observées après la posture debout (11/15), l'administration de vasopressine (12/18) et celle de GnRH (8/17). Un patient sur 8 a eu une réponse de l'aldostérone à l'administration de LH ; un autre à l'infusion d'isoproterenol. Une augmentation de l'aldostérone après un repas mixte, du glucose oral et l'infusion de GIP a été observée chez un patient. L'administration de TRH a augmenté l'aldostérone chez 2/15 patients.

Conclusion.– La régulation aberrante de l'aldostérone est fréquente dans l'HAP secondaire à un AC ou à un HAI. L'identification de récepteurs aberrants pourrait conduire à de nouvelles stratégies d'investigation et de traitements.

CO44

Un nouveau marqueur tumoral pour le carcinome parathyroïdien ? Résultats observés chez 24 patients

E. Cavalier, A. Daly, D. Betea, P. Stubbs, P. Delanaye, A. Bradwell, J. Chapelle, A. Beckers

Introduction.– Il n'est pas évident de différencier le carcinome parathyroïdien (PCa) de l'adénome au moment du diagnostic. Une forme récemment découverte de PTH (amino-PTH) est particulièrement sécrétée chez les patients souffrant de PCa. Cette amino-PTH n'est pas reconnue par les dosages de PTH de 2^e génération mais bien par ceux de 3^e génération : le rapport PTH 3^e génération/2^e génération devrait toujours être < 1 .

Patients et méthodes.– Nous avons évalué ce rapport chez 24 patients PCa et avons comparé les résultats avec des témoins : hémodialysés ($n = 73$), transplantés rénaux ($n = 60$), patients âgés ($n = 82$) et patients souffrant d'hyperparathyroïdie primaire ($n = 30$) avec le PTH Duo de Scantibodies.

Résultats.– La moyenne du rapport PTH 3^e génération/PTH 2^e génération était de $0,58 \pm 0,10$ (dialysés), $0,54 \pm 0,10$ (greffés), $0,54 \pm 0,12$ (personnes âgées) et $0,68 \pm 0,11$ (hyperparathyroïdiens). Aucune inversion du rapport n'a été observée chez ces patients. Par contre, nous avons observé un rapport > 1 chez 20/24 patients PCa.

Conclusions.– La majorité des patients souffrant d'un carcinome parathyroïdien à un stade avancé présentent une inversion du rapport PTH 3^e génération/PTH

2^e génération alors que cela n'est pas le cas parmi les 245 contrôles. Comme marqueur tumoral, un rapport > 1 présente une sensibilité de 83,3 % et une spécificité de 100 %. En tenant compte des quelques autres résultats publiés, sensibilité et spécificité sont respectivement de 75,8 et 98,9 %. L'étude de ce rapport pourrait se révéler utile pour identifier plus rapidement les patients souffrant de PCa, pour détecter les patients à risque de développer un PCa ou encore ceux présentant une récurrence.

CO45

Traitement par surrénalectomie unilatérale de l'hypercortisolisme ACTH indépendant associé à une hyperplasie macronodulaire bilatérale

M. Benoît, E. Lobinet, S. Salenave, A. Tabarin, M. Rodier, P. Caron, J. Young, O. Chabre

Introduction.— L'hyperplasie macronodulaire bilatérale des surrénales (HMBS) est une étiologie rare de syndrome de Cushing ACTH-indépendant. Le traitement de référence est actuellement la surrénalectomie bilatérale, qui règle le problème de l'hypercortisolisme au prix d'une insuffisance surrénalienne totale et définitive. Cependant, plusieurs travaux suggèrent que la surrénalectomie unilatérale est un traitement alternatif efficace.

Objectifs.— Évaluer l'efficacité de la surrénalectomie unilatérale pour le traitement de l'hypercortisolisme et déterminer son risque d'insuffisance surrénalienne postopératoire.

Patients et méthodes.— Étude rétrospective multicentrique portant sur 29 patients porteurs d'une HMBS et ayant bénéficié d'une surrénalectomie unilatérale (15 patients en hypercortisolisme vrai, 14 en hypercortisolisme infraclinique). Les critères de jugement étaient pour les patients en hypercortisolisme avéré : rémission de l'hypercortisolisme et survenue d'une insuffisance surrénalienne ; pour les patients en hypercortisolisme infraclinique : survenue d'une insuffisance surrénalienne.

Résultats.— Chez les patients en hypercortisolisme vrai, on note une rémission en postopératoire chez 14/15 patients (CLU des 24 h postopératoire $94,8 \pm 81,6$ nmol/24 h vs $538 \pm 293,2$ nmol/24 h, $p=0,002$) et 8/15 cas d'insuffisance surrénalienne (53 %).

Chez les patients en hypercortisolisme infraclinique, on retrouve une insuffisance surrénalienne dans 4/14 cas (28 %).

Conclusion.— Nous démontrons que la surrénalectomie unilatérale est un traitement efficace des hypercortisolismes vrais secondaires à une HMBS, au prix d'une insuffisance surrénalienne (glucocorticoïde mais non minéralocorticoïde) postopératoire dans 53 % des cas.

Chez les patients en hypercortisolisme infraclinique, la survenue d'une insuffisance surrénalienne dans 28 % des cas après surrénalectomie unilatérale doit faire nuancer les indications chirurgicales dans la mesure où le bénéfice en termes de réduction de l'hypercortisolisme et de ses complications reste à démontrer.

Communications orales 10

CO46

Identification d'une nouvelle cible pharmacologique pour le traitement du syndrome de Cushing ACTH-indépendant lié aux hyperplasies surrénaliennes macronodulaires

G. Assié, E. Louiset, N. Sturm, F. Rene-Corail, L. Groussin, J. Bertherat, H. Lefebvre, J. Feige, E. Clauser, O. Chabre, N. Cherradi

Introduction.— La stimulation de la sécrétion de cortisol via l'expression anormale de récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) est caractéristique des hyperplasies surrénaliennes macronodulaires bilatérales (AIMAH). L'intérêt clinique de cette expression illégitime de RCPG est d'offrir des cibles pharmacologiques pour le traitement du syndrome de Cushing lié aux AIMAH. Cependant, peu d'antagonistes des récepteurs illégitimes connus à l'heure actuelle sont disponibles.

Objectif.— Identifier de nouveaux RCPG cibles du traitement pharmacologique du syndrome de Cushing.

Matériel et méthodes.— Une analyse transcriptomique de l'expression des RCPG a été réalisée sur des puces contenant 865 séquences nucléotidiques. Les ARNm ont été extraits à partir de 3 surrénales normales, 18 AIMAH, 4 surrénales de patients atteints de maladie de Cushing et 13 adénomes sécrétant du cortisol provenant de la banque nationale COMETE. Un groupe de gènes caractérisé par une surexpression ou une sous-expression dans les AIMAH par rapport au tissu normal ont été étudiés par RT-PCR quantitative. L'analyse par western blot et immunohistochimie ainsi que l'étude de la fonction de RCPG sélectionnés ont été effectuées.

Résultats.— Le récepteur à l'ACTH MC2R est sous-exprimé dans 15/18 AIMAH tandis que plusieurs RCPG qui n'avaient jusqu'ici pas été rapportés sont surexprimés dans un sous-groupe d'AIMAH, tels que les récepteurs de la Motiline (MNL, 3/18 AIMAH), de l'acide gamma aminobutyrique (GABBR1, 5/18 AIMAH) et le récepteur adrénérgique alpha2A (ADRA2A, 13/18 AIMAH) que nous avons particulièrement étudié. L'analyse par western blot et immunohistochimie montre que ADRA2A est présent dans plusieurs AIMAH alors qu'il est absent du tissu corticosurrénalien normal. De façon intéressante, la clonidine, un agoniste de ADRA2A, stimule la sécrétion de cortisol basale ainsi que celle induite par l'ACTH ou la forskoline dans les cellules AIMAH en culture. La yohimbine, un antagoniste de ADRA2A, inhibe l'augmentation de cortisol induite par la clonidine.

Conclusion.— Nous avons identifié une nouvelle cible potentielle pour le traitement pharmacologique du syndrome de Cushing surrénalien, qui demande à être testée dans des études cliniques.

CO47

Traitement anticortisolique combiné à effet rapide chez 10 patients avec syndrome de Cushing grave. Une alternative à la surrénalectomie de sauvetage

P. Kamenicky, C. Droumaguet, S. Salenave, S. Trabado, S. Leboulloux, E. Baudin, P. Chanson, J. Young

Contexte.— Le mitotane est un anticortisolique efficace mais ayant un délai d'action de plusieurs mois donc inappropriée dans les syndrome de Cushing graves (SCG). En cas d'impossibilité de traitement étiologique, l'association du mitotane à des anticortisoliques à action rapide (métopirone et kétoconazole) pourrait permettre de traiter efficacement et sans délais un SCG et d'attendre la pleine efficacité du mitotane afin d'éviter une surrénalectomie de sauvetage. Dix patients, avec SCG (6 SE-ACTH, 4 MC ; cortisol libre urinaire (CLU) entre 853 à 5687 mg/24 h (Nle < 50) ont été traités par une association de métopirone (3 à 4,5 g/j), kétoconazole (800 à 1000 mg/j) et mitotane (3 à 6 g/j).

Résultats.— Chez tous les sujets traités, le CLU et le cortisol plasmatique se normalisaient 24–48 h après l'instauration du traitement : CLU entre 5 et 58 mg/24 h et cortisol plasmatique entre 1 et 10 mg/dL. Deux mois après ; le CLU restait normalisé (entre 5 et 68 mg/24 h). L'arrêt de la métopirone et du kétoconazole a été possible entre 2 et 4,5 mois après l'initiation de la thérapie, avec toujours une normalisation des CLU (5 et 60 mg/24 h) sous mitotane seul. Dans tous les cas, une amélioration spectaculaire de l'état clinique des patients était observée. La tolérance clinique et hépatique étaient correctes.

Conclusion.— En cas de SCG, cette thérapie combinée permet d'éviter une surrénalectomie en urgence et d'attendre la pleine efficacité du mitotane seul. Dans 5 cas, un traitement étiologique a été possible tout en évitant l'insuffisance surrénale à vie.

CO48

Phénotype du complexe de Carney (CNC) dû à une mutation de PRKAR1A et variations du gène PDE11A4 (phosphodiesterase 11A)

R. Libé, A. Horvath, A. Fratticci, D. Vezzosi, J. Coste, K. Perlemino, B. Ragazzon, M. Guillaud-Bataille, L. Groussin, E. Clauser, M. Raffin-Sanson, X. Bertagna, C. Stratakis, J. Bertherat

Introduction.— Le CNC, dont les atteintes surrénalienne (PPNAD) et testiculaire (LCCSCT) sont fréquentes, est une maladie autosomique dominante due à des mutations germinale inactivatrices de la sous-unité R1a de la protéine kinase A (PRKAR1A). Des mutations inactivatrices de la PDE11A ont été identifiées

chez les patients porteurs de PPNAD isolée.

But de l'étude.— Évaluer le rôle de la *PDE11A* chez des patients avec CNC dû à une mutation de *PRKARIA*.

Méthodes.— Le séquençage du gène de la *PDE11A* a été effectué chez 150 patients avec CNC et mutation de *PRKARIA* et chez 279 sujets contrôles sans tumeur endocrine.

Résultats.— Chez les patients avec CNC a été retrouvée une fréquence significativement plus élevée de mutations de *PDE11A* par rapport aux sujets contrôles (25,3 vs 6,8 %, $\chi^2 = 29$, $p < 0,00001$). De plus, la fréquence des mutations de *PDE11A* était significativement plus élevée chez les patients avec CNC et PPNAD par rapport aux patients avec CNC sans PPNAD (30 vs 13 %, $p = 0,025$) et significativement plus élevée chez les patients avec CNC et LCCSCT par rapport aux patients sans LCCSCT (50 vs 10 %, $p = 0,025$).

L'inactivation simultanée de *PRKARIA* et de *PDE11A* par siRNA dans les cellules HEK 293 conduit à une augmentation de l'activité luciférase d'un rapporteur contenant des éléments de réponse à l'AMPc(CRE).

Conclusion.— Ces résultats suggèrent un effet des variants de *PDE11A* sur le développement de la PPNAD et des LCCSCT dans le CNC. Ceci suggère une synergie entre les mutations inactivatrices de *PRKARIA* et les variants de *PDE11A*, tous deux éléments de la voie AMPc.

CO49

Facteurs pronostiques de la survie sans progression après thyroïdectomie chez 170 enfants de moins de 21 ans présentant un CMT héréditaire

V. Rohmer, G. Vidal-Trecan, A. Bourdelot, P. Niccoli, A. Murat, J. Wemeau, F. Borson-Chazot, C. Schwartz, A. Tabarin, O. Chabre, G. Chabrier, P. Caron, P. Rodien, M. Schlumberger, E. Baudin

Contexte.— Le carcinome médullaire de la thyroïde héréditaire (CMTh) est une maladie rare due à des mutations germinales du gène *RET*. La chirurgie prophylactique est le seul traitement curatif possible ; il convient de définir précisément l'étendue de la résection et le moment de sa réalisation.

Objectifs.— Identifier et décrire les facteurs pronostiques associés à la survie sans progression (SSP) chez les enfants de familles CMTh.

Méthodes.— Au sein du groupe français d'étude des tumeurs endocrines, nous avons réalisé l'analyse rétrospective d'une cohorte de 170 patients âgés de moins de 21 ans au moment de la chirurgie : les données démographiques, cliniques, génétiques et biologiques (calcitonine de base : CTb et stimulée CT/Pg) ainsi que le stade TNM ont été étudiés. La SSP a été analysée en fonction de la CTb. Les courbes de Kaplan-Meier, les modèles de Cox et de régression logistique ont été utilisés pour déterminer les facteurs associés à la SSP et au stade TNM.

Résultats.— Le diagnostic de CMT défini par un diamètre ≥ 10 mm (OR : 6,1 ; IC à 95 % : 1,8–20,2) et le stade N1 (OR : 20,5 ; IC à 95 % : 3,8–109,1) étaient les seuls facteurs associés de façon indépendante avec la SSP. La CTb préopératoire > 10 ng/L (OR : 11,2 ; IC à 95 % : 4,9–25,3) était indépendamment associée au CMT. Une CTb préopératoire > 30 ng/L et un âge > 10 (OR : 15,3 ; IC à 95 % : 1,6–147,3) ainsi que le génotype de niveau 3 (OR : 224,0 ; IC à 95 % : 19,3–2599,9) étaient indépendamment associés au stade N1. La CT/Pg préopératoire n'est pas plus prédictive que la CTb préopératoire pour la guérison. Cependant, la récurrence ou la non guérison n'est observée que chez les enfants avec une CT/Pg > 100 ng/L.

Conclusion.— Chez les patients CMTh de moins de 21 ans, le meilleur facteur prédictif de SSP est le stade TNM. L'âge, le génotype et la CTb représentent des éléments clés pour déterminer le moment optimal pour la chirurgie.

CO50

Valeur pronostique du rapport procalcitonine/calcitonine dans les cancers médullaires de la thyroïde lors du diagnostic, du suivi et sous traitements

M. D'Herbomez, C. Do Cao, S. Aubert, L. Leclerc, C. Bateurs, A. Berdelou, M. Vantghem, B. Carnaille, P. Carpentier, J. Wémeau

Contexte.— Calcitonine (CT) et procalcitonine (PCT) sont deux marqueurs potentiels des cancers médullaires de la thyroïde (CMT). Les tumeurs endocrines peu différenciées produisent, en général, plus d'hormones précurseurs que les tumeurs bien différenciées. Le rapport PCT/CT peut être un facteur pronostique indépendant des CMT.

Le **but de cette étude** prospective est d'évaluer la valeur pronostique du rapport PCT/CT (R) chez les patients atteints de CMT.

Patients et méthodes.— Soixante-six patients avec CMT histologiquement prouvés ont été introduits (33 femmes et 33 hommes). Le suivi moyen est de 3,1 ans. Quatorze patients ont été guéris par la chirurgie. Parmi les 51 patients non guéris, 15 ont été perdus de vue ou sont décédés. Les 36 patients éligibles ont été séparés en deux groupes selon les critères RECIST : pathologie stabilisée ($n = 24$, gr1) et pathologie progressive ($n = 12$, gr2). Parmi tous les patients inclus, 25 ont eu un bilan préopératoire et 5 ont bénéficié de traitements par les inhibiteurs de tyrosine kinase. Le rapport PCT (pg/mL)/CT (pg/mL) a été évalué 223 fois avec une moyenne de 3 par patient, des extrêmes à 1 et 12. Les dosages de CT et PCT utilisés ont été Elsa CT Cis Bio et CT sur Immulite Siemens et PCT Kryptor (BRAHMS).

Résultats.— La valeur moyenne de $R \pm DS$ a été évaluée respectivement dans les groupes préopératoire, gr1 et gr2 à $5,1 \pm 3,5$ versus $5,8 \pm 5,2$ versus $32,2 \pm 46,5$. La valeur R la plus élevée rencontrée est à 208. Il n'a pas été trouvé de différence significative entre les groupes préopératoire et 1. Par contre une différence significative a été mise en évidence ($p < 0,01$) entre le gr2 et les deux autres groupes. Lors du suivi des patients traités par inhibiteurs de tyrosine kinase, le rapport R a été parfois mieux corrélé aux variations tumorales évaluées par imagerie que le seul dosage de CT.

Conclusion.— Le rapport PCT/CT est un nouvel outil pronostique des cancers médullaires de la thyroïde. Il amène des informations complémentaires dans le suivi des patients non guéris. Son évaluation, à plus grande échelle, lors des futurs essais thérapeutiques doit être envisagée.

Endocrinopédiatrie

Communications orales 11

CO51

Évaluation du bisphénol-A libre au sang du cordon chez des nouveaux-nés avec ou sans cryptorchidie congénitale

P. Fenichel, H. Dechaud, C. Harthe, P. Ferrari, K. Wagner, A. Bongain, M. Pugeat, F. Brucker-Davis

La toxicité du bisphénol-A (BPA), un perturbateur endocrinien faiblement estrogénique largement répandu dans l'environnement (plastiques, emballages, biberons, canettes, etc.), fait actuellement l'objet d'une controverse en raison d'un coté, d'effets délétères observés chez les rongeurs à l'âge adulte après exposition fœtale et, d'autre part, une pharmacocinétique supposée protectrice dans l'espèce humaine, avec rapide inactivation par glucurono- ou sulfo- conjugaison et élimination urinaire.

À l'aide d'un dosage radio-immunologique après extraction, validée par la méthode de référence (HPLC-MS), le taux de BPA libre a été évalué au sang du cordon de 154 garçons nés à terme (≥ 34 SA) avec ou sans cryptorchidie idiopathique (78 cas, 86 témoins appariés pour l'âge gestationnel, le poids et la date de naissance). Le BPA libre était présent dans tous les sangs du cordon testés (limite de détection 0,04 ng/mL) à des taux de 0,1 à 4,8 ng/mL (médiane 0,9 ; moyenne \pm écart-type : $1,2 \pm 1$ ng/mL) corrélés au poids de naissance, au terme et à la testostérone totale (p).

Bien qu'il ne semble pas impliqué dans la cryptorchidie idiopathique, le BPA libre est retrouvé dans tous les sangs de cordon testés (action probable des sulfatases et glucuronidases placentaires) à des taux entraînant expérimentalement des effets significatifs chez les rongeurs après exposition fœtale, ou un effet promoteur sur des lignées cancéreuses humaines in vitro. Il convient par conséquent de poursuivre l'évaluation de sa possible toxicité dans l'espèce humaine.

CO52

Prévalence du déficit primaire en IGF-I chez les enfants prépubères de plus de deux ans avec retard de croissance

N. Faure-Galon, R. Reynaud

Le concept du déficit primaire en IGF-I (DP-IGF-I) est apparu chez les enfants avec un retard de croissance idiopathique depuis une vingtaine d'année, défini par l'association d'un *retard statural sévère*, d'un *taux plasmatique d'IGF-I* abaissé et l'absence de cause secondaire. Un traitement est alors possible par IGF-I recombinante hors ATU depuis 2007.

La prévalence du DP-IGF-I est mal connue. C'est pourquoi, une étude monocentrique a été menée chez des patients explorés pour retard statural.

Soixante-dix-sept patients de plus de 2 ans ont été explorés pour une taille inférieure à $-2,5$ SDS). Trente-trois pour cent présentent un déficit en GH, 20 % un DP-IGF-I, 26 % une cause secondaire de retard statural (maladie génétique ou maladie chronique), 8 % un RCIU isolé (sans GHD, DP-IGF-I ni maladie génétique sous-jacente), 5 % un retard pubertaire. Cinq pour cent ont donc une petite taille idiopathique.

Seize enfants ont un DP-IGF-I (âge moyen : $9,7 \pm 4,6$ ans ; taille moyenne : $-3,3 \pm 0,9$ SDS) dont 9 avec indication de traitement (taille ≤ -3 SDS). Un traitement par IGF-I recombinante a été entrepris sans efficacité pour 2 patients.

La stratégie thérapeutique n'est pas codifiée du DP-IGF-I partiel. Un traitement par GH pourrait être proposé en première intention. En cas d'échec, une analyse génique puis un traitement par IGF-I recombinant serait alors indiqués.

Ce travail a été réalisé avec le soutien de Ipsen Pharma.

CO53

Anomalies du gène *SHOX* chez des enfants présentant une petite taille idiopathique ou atteints de dyschondroostéose de Léri-Weill au sein de la population française

M. Rosilio, C. Huber, H. Sapin, J. Carel, W. Blum, V. Cormier-Daire

La prévalence des anomalies du gène *SHOX* chez les enfants évalués pour une petite taille idiopathique (PTI) varie selon les études (2 à 15 %).

Nous décrivons les résultats de l'analyse du gène *SHOX* chez une série d'enfants de petite taille inclus dans le module *SHOX* de l'étude observationnelle GeNeSIS. Le dépistage génétique a été effectué dans un laboratoire central après l'évaluation de routine et élimination des autres causes de PT dans des centres d'endocrinologie pédiatrique français.

L'étude moléculaire comprenait une analyse des marqueurs microsatellites sur le gène *SHOX* et la région PAR 1, ainsi que le séquençage direct du gène si aucune délétion n'était détectée.

Les analyses statistiques étaient descriptives.

Des données cliniques étaient disponibles pour 216 patients (62 % de filles) dépistés dans 38 centres cliniques (jan 2003–oct 2007).

L'âge moyen (ET) était de 10,6 (3,5) ans et la taille moyenne de $-2,4$ (0,9) SDS. Avant la réalisation de l'analyse génétique, le médecin avait soit identifié une dyschondroostéose de Léri-Weill (LW, $n = 119$), soit considéré que le patient présentait une petite taille idiopathique (PTI, $n = 97$), c.-à-d. petite taille sans signes dysmorphiques évidents (par ex. déformation de Madelung). Une anomalie du gène *SHOX* a été identifiée chez 87 patients (40,3 % / groupe LW = 60,5 % et groupe PTI = 15,5 %).

Notre étude confirme la fréquence élevée d'anomalies de la région du gène *SHOX* chez les patients avec dyschondroostéose de Léri-Weill, mais également chez les patients présentant une petite taille apparemment « idiopathique ».

CO54

L'expression rénale du récepteur minéralocorticoïde est indépendante de l'hyperaldostéronisme néonatal : démonstration chez l'homme et les souris déficientes en aldostérone-synthase

L. Martinerie, S. Viengchareun, K. Hyung-Suk, J. Luther, M. Lombès

La perte urinaire sodée est un problème majeur chez les nouveau-nés et prématurés. Nous avons démontré qu'il existait à la naissance une résistance physiologique à l'aldostérone responsable de ces déséquilibres hydroélectrolytiques, associant un hypoaldostéronisme fonctionnel et une suractivation du système rénine-angiotensine-aldostérone. Cette insensibilité hormonale s'accompagne d'une expression rénale effondrée du récepteur minéralocorticoïde (MR) à la naissance, chez la souris et chez l'homme. Afin d'étudier l'impact de l'hyperaldostéronisme néonatal sur la régulation de l'expression rénale du MR, nous avons comparé l'évolution des transcrits du MR, par PCR quantitative, chez les souris sauvages ou invalidées pour le gène de l'aldostérone-synthase (ASKO). Nous démontrons qu'il existe une expression significativement faible du MR à la naissance comparativement à j8 dans les deux génotypes, mais aucune différence statistique à j0 entre les souris ASKO et sauvages, suggérant que l'aldostérone n'est pas impliquée dans la régulation du MR en période néonatale. À l'inverse, l'aldostérone est indispensable pour l'induction post-natale optimale du canal épithélial à sodium, gène cible du MR et crucial pour la réabsorption sodée, confirmant un rôle essentiel de l'aldostérone et du MR dans l'homéostasie hydrosodée. Ces résultats sont en accord avec la perte urinaire de sel des patients déficitaires en aldostérone synthase ou avec une mutation inactivatrice du MR. Nous explorons actuellement les mécanismes régulant l'expression du MR dans des cultures organotypiques de reins de souris nouveau-nés, et sur des cellules tubulaires distales différenciées. La compréhension de ces mécanismes régulateurs permettra une meilleure prise en charge des désordres hydroélectrolytiques des nouveau-nés et prématurés.

CO55

Expression du CD 133, un marqueur de cellules souches cancéreuses, dans le cancer thyroïdien différencié de l'enfant et de l'adulte jeune

M. Decaussin-petrucci, G. Sassolas, Z. Hafdi-Nejjari, N. Berger, N. Sturm, M. Lavérierre, J. Dumollard, J. Scoazec, A. Poulet, F. Borson-Chazot, H. Sartelet

De nombreux cancers comportent une petite sous-population de cellules souches cancéreuses (CSC). La présence de ces CSC peut expliquer la récurrence et l'agressivité des cancers. Les cancers thyroïdiens du jeune sont rares et plus agressifs que chez l'adulte. Le but de cette étude est d'analyser l'expression du CD 133, l'un des marqueurs des CSC, dans les carcinomes thyroïdiens de l'enfant et l'adulte, et de voir si cette expression est corrélée aux facteurs pronostiques cliniques.

Un tissu microarrays a été construit avec 239 tumeurs thyroïdiennes, incluant 27 cas de l'enfant. L'expression du CD 133 a été évaluée par immunohistochimie. L'expression du CD133 a été retrouvée chez 44 % des cancers de l'adulte et 37 % des tumeurs de l'enfant. Le niveau d'expression du CD 133 était toujours faible (< 10 %). Chez l'enfant, l'expression du CD 133 était plus fréquente (1) chez les jeunes de moins de 10 ans (60 %) que ceux plus âgés (31 %), (2) chez les garçons (50 %) que chez les filles (34 %) et (3) dans les cancers avec une extension extrathyroïdienne (50 %) que ceux localisés (31 %). Néanmoins, la différence n'était pas significative. Chez l'adulte, l'expression du CD133 était corrélée avec les métastases ganglionnaires ($p = 0,04$).

Cette étude démontre la présence de CD133, un marqueur de CSC, dans les cancers thyroïdiens. Chez l'enfant, l'existence de CSC semble corrélée avec l'agressivité tumorale. Chez l'adulte, l'expression du CD 133 est corrélée avec les métastases ganglionnaires. Dans certains cancers thyroïdiens agressifs, les CSC pourraient ainsi être de nouvelles cibles thérapeutiques intéressantes.