

## 82

ANALYSE SIMULTANÉE DU CONTENU EN ADN ET DE L'EXPRESSION DES CYTOKÉRATINES PAR CYTOMÉTRIE EN FLUX DANS LE CANCER DU SEIN.

Ferrero M., Spyrtos F., Le Doussal V., Phillips E., Desplaces A.  
Centre René Huguenin, 35, rue Dailly, 92211, Saint-Cloud.

Nous avons développé dans le cancer du sein une technique de double marquage ADN et cytokératines (CK) par cytométrie en flux.

Nous avons étudié 5 anticorps monoclonaux anticytokératines : KL 1 qui reconnaît les CK 55-57 KD (Immunotech) des anticorps spécifiques des CK 7, 8 et 19 (Amersham) et RGE-53 anticorps spécifique de CK 18 (Eurodiagnostic). L'analyse du double marquage (ADN-CK) par cytométrie en flux a porté sur 14 tumeurs bénignes et 24 tumeurs malignes du sein. Pour les tumeurs malignes, les facteurs suivants étaient connus : le stade UICC, le grade histologique de Scarff et Bloom et Richardson (SBR), le nombre de ganglions histologiquement envahis, l'âge, l'état hormonal (pré-, post-ménopause), les récepteurs d'estrogènes et de la progestérone. On observe une agumentation significative de l'expression des CK 8 ( $p < 0,05$ ) et 19 ( $p < 0,01$ ) dans les tumeurs malignes du sein. Toutes les tumeurs bénignes sont diploïdes et 58 % des tumeurs malignes sont aneuploïdes. L'analyse en double marquage des tumeurs aneuploïdes permet de différencier les cellules diploïdes CK positives des cellules aneuploïdes CK+ ; ainsi on obtient une meilleure estimation du cycle cellulaire qui n'est plus perturbé par les cellules non épithéliales. L'analyse des tumeurs diploïdes est restreinte aux cellules CK positives.

Aucune différence significative de l'expression des CK n'est observée dans les groupes définis par l'envahissement ganglionnaire, le grade SBR, l'état hormonal et les récepteurs d'estrogènes et de la progestérone. Mais il semblerait que la dédifférenciation cellulaire soit associée à la diminution de l'expression des CK.

## 83

EFFETS DE LA 1,25 DIHYDROXYVITAMINE D3 SUR LA MORPHOLOGIE ET L'ACTIVITE PHOSPHATASE ALCALINE DES CELLULES OSTEOBLASTIQUES ROS 17/2.8 : INFLUENCE DU TEMPS ET DE LA DOSE.

Chavassieux P., Boivin G., Terrier C., Serre-Barioz C.M., Lagarde D., Meunier P.J.  
INSERM Unité 234, Faculté A. Carrel, Lyon, France.

Cette étude in vitro a été réalisée afin d'analyser les effets de la 1,25 dihydroxyvitamine D3 (1,25(OH)2D3) sur l'activité, la morphologie et l'aspect ultrastructural des cellules ostéoblastiques dérivées d'un ostéosarcome de rat (ROS 17/2.8). Ces cellules ont été ensemencées à une densité de 10 000 cellules/cm<sup>2</sup> dans un milieu Ham F12 avec 10 % de sérum de veau foetal. Après 24 heures, le milieu a été remplacé par un milieu sans sérum contenant de la 1,25(OH)2D3. Les cellules ont été exposées soit pendant 4 jours à des concentrations comprises entre 0,001 et 1000 nM soit pendant des durées variables de 1 à 21 jours à 10 nM. L'activité phosphatase alcaline (PA) des cellules a été mesurée et une étude morphologique a été réalisée en microscopie optique et électronique. L'activité PA des cellules augmente en fonction de la dose et atteint un maximum pour une concentration de 10 nM (+ 55 %). A des doses supérieures (100 et 1000 nM), la 1,25(OH)2D3 induit une diminution de l'activité PA de 40 %. Sous 10 nM de 1,25(OH)2D3, l'activité PA augmente dès le 1er jour (+ 20 %) puis croît pour atteindre un maximum après 8 jours (+ 130 %). Après 15 et 21 jours, on note une baisse de cette activité. Sous 1,25(OH)2D3, les cellules prennent d'abord une forme étoilée puis s'arrondissent. Cela s'accompagne de modifications ultrastructurales marquées par une redistribution des microfilaments et microtubules qui prédominent dans les régions périnucléaires. En somme, la 1,25(OH)2D3 induit une stimulation de l'activité PA des cellules ROS 17/2.8, proportionnelle au temps d'exposition et à la dose : cet effet est maximum après 8 jours d'exposition à 10 nM. Cela s'accompagne d'une modification de la morphologie des cellules et de la distribution des éléments du cytosquelette. A fortes doses, la 1,25(OH)2D3 a un effet toxique sur les cellules ROS 17/2.8.