

ANNEXE 1

Prélèvements en vue des études biologiques et génétiques

Études biologiques

Les études peuvent porter sur les fluides biologiques (sang, urine, liquide céphalo-rachidien), les cheveux et différents tissus, en particulier cérébraux et adipeux.

Les prélèvements biologiques sont à recueillir dans les 8 heures au maximum après le décès. Les échantillons biologiques sont congelés à -80°C ou en azote liquide, sauf les cheveux (température ambiante).

Tissus cérébraux*

Paramètres	Quantité (mg)	Méthodologie	Sites de recherche Coûts
Récepteurs			
5-HT _{1A}	100	<i>Binding</i>	HAMON M
5-HT _{2A}	100	<i>Binding</i>	Inserm U 677
5-HT _{2C}	100	<i>Binding</i>	CHU Pitié-Salpêtrière, Paris
5-HT ₃	100	<i>Binding</i>	
5-HT ₇	50-100	ARNm (HIS, qRT-PCR)	
Transporteurs			
5-HTT, NAT, DAT	100x3	<i>Binding</i>	MAROTEAUX L, GASPARD P Inserm U 616 Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris 500 € x 3 paramètres = 1 500 €
5-HTT, NAT, DAT, GluT VMATs (vésiculaires) (amygdale, hippocampe, nucleus accumbens, cortex frontal)	100	Immuno-localisation Immuno-localisation	MAROTEAUX L, GASPARD P Inserm U 616 Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris 400 € x 5 paramètres = 2 000 €
Enzymes			
MAO A	100	Activité enzymatique	Pr PARINI A Inserm U 388, Toulouse
MAO B		Quantification ARNm	Pr PARINI A Inserm U 388, Toulouse

COMT (nucleus accumbens, striatum, substance noire pars compacta)	50	Activité enzymatique	Pr COSTENTIN J Pharmacologie CHU, Rouen 40 € par échantillon
Couplage protéines G			
^[35S] GTP-gamma-S	50	Autoradiographie	HAMON M Inserm U 677 CHU Pitié-Salpêtrière, Paris
Neurotransmetteurs			
Kynurénine-tryptophane (IDO)	20	CLHP-EC	SPREUX-VAROQUAUX O, MANEGLIER B
5-HT, 5-HIAA, DA, DOPAC-3-OMD,			
HVA	100	CLHP-EC	Pharmacologie PIFO
Glutamate/GABA	100	CLHP-EC	Hôpital de Versailles, Le Chesnay 40 € x 3 paramètres = 120 €

* Raphé, nucleus accumbens, hippocampe, amygdale, hypothalamus, striatum, cortex préfrontal médian, cortex orbito-préfrontal, cortex préfrontal dorsolatéral, cervelet, substance noire pars compacta
5-HT : 5-hydroxytryptamine ou sérotonine ; NA : Noradrénaline ; DA : Dopamine ; MAO : Monoamine oxydase ; VMAT : Transporteurs vésiculaires des monoamines ; COMT : Catéchol-O-méthyltransférase ; 5-HIAA : Acide 5 hydroxy-indolacétique ; DOPAC : Acide dihydroxyphénylacétique ; 3-OMD : 3-O-méthyl dopamine ou 3-méthoxytyramine ; HVA : Acide homovanillique ; IDO : Indolamine-2,3-dioxygénase ; GABA : Acide gamma-aminobutyrique
PIFO : Faculté de Médecine Paris-Ile de France-Ouest, Université de Versailles, St Quentin en Yvelines (UVSQ) ; HIS : Hybridation *in situ* ; qRT-PCR : *Quantitative Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* ; CLHP-EC : Chromatographie liquide à haute performance avec détection électrochimique

Autres milieux biologiques

Paramètres	Quantité	Méthodologie	Sites de recherche Coûts
Liquide céphalo-rachidien			
5-HIAA, HVA	1-3 ml	CLHP-EC	SPREUX-VAROQUAUX O
5-HT		CLHP-EC	Pharmacologie PIFO Hôpital de Versailles, Le chesnay 40 € x 2 paramètres = 80 €
Sang			
5-HT plaquettaire	17 à 27 ml		
Kynurénine/	1 ml	CLHP-EC	SPREUX-VAROQUAUX O, MANEGLIER B
Tryptophane (IDO)	1 ml (100 ml plasma)	CLHP-EC	Pharmacologie PIFO
5-HIAA, HVA	2 ml (500 ml plasma)	CLHP-EC	Hôpital de Versailles,
Cotinine	3 ml (1 ml plasma)	CLHP-UV	Le Chesnay 40 € x 4 paramètres = 160 €

Médicaments psychotropes, stupéfiants et éthanol	10 à 20 ml	LC-MS/MS, GC/MS et LC/BD	ALVAREZ JC Pharmacologie PIFO Hôpital Raymond Poincaré Garches B 900 = B 800 = B 120 (B = 0,27 €)
Urines	10-20 ml		
5-HT	500 ml	CLHP-EC	SPREUX-VARQUAUX O
5-HIAA, HVA	250 ml	CLHP-EC	Pharmacologie PIFO
Catécholamines (A+NA+DA)	5 ml (3 ml dosage)	CLHP-EC	Hôpital de Versailles, Le Chesnay
Métanéphrines + 3-OMD (COMT)	3 ml (2 ml dosage)	CLHP-EC	40 € x 5 paramètres = 200 €
PEA	2 ml (1 ml dosage)	CLHP-F	
Cheveux			
Stupéfiants/ benzodiazépines/ antidépresseurs	3 mèches de l'épaisseur d'un crayon coupées au ras du cuir chevelu (dernier mois) et attachées côté racine avec une cordelette	LC-MS/MS (bzip) GC/MS (stup)	ALVAREZ JC Pharmacologie PIFO Hôpital Raymond Poincaré Garches B 400 par substance (opiacé, benzodiazépine...)
Tissu adipeux sous-cutané et interne			
MAO A MAO B SSAO	1 g de tissu adipeux sous-cutané pris dans la région abdominale à 10 cm environ de l'ombilic et à 1 cm de profondeur (ne prélever que du tissu jaune d'aspect très gras, peu conjonctif, et éviter de mettre de la peau) Si possible, prélever également environ 1 gramme de tissu intra-abdominal, soit près du tube digestif soit près du rein	Activité enzymatique	CARPENE C Inserm U 586 Toulouse 100 € par individu (3 mesures)

5-HT : 5-hydroxytryptamine ou sérotonine ; A : Adrénaline ; NA : Noradrénaline ; DA : Dopamine ;
MAO : Monoamine oxydase ; COMT : Catéchol-O-méthyltransférase ; 5-HIAA : Acide 5 hydroxy-indolacétique ;
3-OMD : 3-O-méthyldopamine ou 3-méthoxytyramine ; HVA : Acide homovanillique ; IDO : Indolamine-2,3-dioxygénase ; PEA : Phényléthylamine ; SSAO : Semicarbazide-sensitive amine oxidase
PIFO : Faculté de Médecine Paris-Ile de France-Ouest, Université de Versailles, St Quentin en Yvelines (UVSQ) ;
HIS : Hybridation *in situ* ; CLHP : Chromatographie liquide à haute performance ; CLHP-EC : Chromatographie liquide à haute performance avec détection électrochimique ; CLHP-UV : Chromatographie liquide à haute performance avec détection ultra-violet ; CLHP-F : Détection en fluorescence ; GC/MS : Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse ; LC-BD : Chromatographie en phase liquide couplée à une détection par barrette de diodes ; LC-MS/MS : Chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse en tandem

Études génétiques

Ces études concernent des investigations sur l'ADN du sujet pour l'identification de gènes spécifiques et sur l'ARN pour l'analyse du niveau d'expression de ces gènes.

Constitution de banque d'ADN en vue d'analyses de gènes candidats

L'ADN peut être extrait à partir de quasiment tous les tissus biologiques (y compris les cheveux). Le rendement et les difficultés techniques de ces extractions sont cependant très variables d'un tissu à un autre. Le sang total est le milieu biologique offrant le meilleur rendement et le moins de difficultés techniques d'extraction. Le prélèvement doit être réalisé dans les 24 h maximum suivant le décès :

- 20 ml de sang total sur EDTA (éthylène diamine tétra-acétate) pour permettre l'extraction d'ADN simple ;
- 20 ml de sang total sur ACD (*Acid citrate dextrose*, un anticoagulant) pour une mise en culture cellulaire, qui offre une source d'ADN inépuisable.

Une fois prélevés, les échantillons doivent être traités dans les 24 h.

Études du profil d'expression (ARN) de gènes candidats dans les tissus cérébraux

Ces études nécessitent :

- des prélèvements parfaitement caractérisés du point de vue anatomique. En effet, les études s'intéressent aux profils d'expression dans des structures cérébrales précises. Ceci rend le plus souvent nécessaire le prélèvement du cerveau dans son ensemble ;
- des prélèvements dans les 8 h suivant le décès.

Le coût s'élève à 3 € par gène, soit 30 à 300 € par individu, en fonction des polymorphismes étudiés.