
UNIVERSITÉ DE NANTES
FACULTÉ DE MÉDECINE

Année 2008

N° 166

THÈSE
pour le

DIPLOME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

D.E.S DE BIOLOGIE MÉDICALE

par

Jérôme CAGIN

Né le 24/11/1978 à Vierzon

Présentée et soutenue publiquement le 12 novembre 2008

**Diagnostic biologique des hyperplasies congénitales des
surrénales au CHU de Nantes : analyse rétrospective sur 8 années**

Président : Monsieur le Professeur Patrick LUSTENBERGER

Directeur de Thèse : Madame le Docteur Kalyane BACH

SOMMAIRE

| | |
|---|----|
| LISTE DES ABRÉVIATIONS | 4 |
| LISTE DES FIGURES | 5 |
| LISTE DES TABLEAUX | 7 |
| INTRODUCTION..... | 8 |
| GÉNÉRALITÉS..... | 9 |
| I. Physiologie des hormones surrénaliennes..... | 9 |
| I.1 Synthèse | 9 |
| I.1.1 Etapes communes | 9 |
| I.1.2 Voie de synthèse des glucocorticoïdes | 12 |
| I.1.3 Voie de synthèse des hormones sexuelles..... | 13 |
| I.1.4 Voie de synthèse des minéralocorticoïdes | 14 |
| I.2 Catabolisme des hormones stéroïdiennes..... | 14 |
| I.2.1 Catabolisme des glucocorticoïdes | 15 |
| I.2.2 Catabolisme des minéralocorticoïdes..... | 16 |
| I.2.3 Catabolisme des hormones sexuelles | 16 |
| I.2.4 Catabolisme des métabolites intermédiaires | 17 |
| I.3 Régulation de la biosynthèse stéroïdienne | 17 |
| I.3.1 Glucocorticoïdes..... | 17 |
| I.3.2 Minéralocorticoïdes..... | 18 |
| I.4 Rôles physiologiques..... | 19 |
| I.4.1 Hormones glucocorticoïdes..... | 19 |
| I.4.2 Hormones minéralocorticoïdes..... | 20 |
| I.4.3 Hormones sexuelles..... | 20 |
| II. Surrénales fœtales | 20 |
| II.1 Développement embryonnaire des surrénales..... | 20 |
| II.1.1 Formation de l'ébauche corticale surrénalienne..... | 21 |
| II.1.2 Evolution de l'ébauche corticale surrénalienne..... | 21 |
| II.1.3 Migration embryonnaire..... | 22 |
| II.2 Stéroïdogénèse au sein de l'unité fœto-placentaire..... | 22 |
| II.3 Rôle de la stéroïdogénèse dans la différenciation sexuelle masculine..... | 24 |
| II.4 Immaturité enzymatique du prématuré..... | 25 |
| III. Hyperplasies congénitales des surrénales | 26 |
| III.1 HCS avec atteinte de la synthèse des stéroïdes sexuels | 27 |
| III.1.1 Défaut de conversion du cholestérol en prégnénolone..... | 27 |
| III.1.2 Déficit en 3 β -hydroxystéroïde oxydoréductase de type 2 (HSD3B2) | 28 |
| III.1.3 Déficit en 17 α -hydroxylase (CYP17A1) | 29 |
| III.1.4 Déficit en P450-oxydoréductase (POR)..... | 30 |
| III.2 HCS sans atteinte de la synthèse des stéroïdes sexuels..... | 32 |
| III.2.1 Déficit en 11 β -hydroxylase (CYP11B1)..... | 32 |
| IV. Hyperplasie congénitale des surrénales par déficit en 21-hydroxylase..... | 33 |
| IV.1 Formes cliniques | 34 |
| IV.1.1 Formes classiques..... | 35 |
| IV.1.2 Forme non classique..... | 37 |
| IV.2 Epidémiologie | 39 |

| | | |
|----------------------------|---|----|
| IV.3 | Traitements..... | 39 |
| IV.4 | Gène CYP21A2..... | 40 |
| IV.4.1 | Locus CYP21 | 41 |
| IV.4.2 | Liaison au HLA..... | 42 |
| IV.4.3 | Mutations et réarrangements à l'origine du déficit en 21-hydroxylase..... | 42 |
| IV.5 | Traitement prénatal | 47 |
| IV.5.1 | Efficacité chez le fœtus | 49 |
| IV.5.2 | Effets secondaires chez la mère..... | 50 |
| IV.5.3 | Effets secondaires chez l'enfant | 51 |
| IV.6 | Diagnostic biologique | 52 |
| IV.6.1 | Diagnostic prénatal..... | 52 |
| IV.6.2 | Dépistage néonatal | 54 |
| IV.6.3 | Diagnostic biologique | 55 |
| V. | Question posée | 59 |
| MATÉRIELS ET MÉTHODES..... | | 60 |
| I. | Critères de sélection des patients | 60 |
| II. | Techniques de dosages | 61 |
| II.1 | Technique de dosage de la 17OHP sérique au CHU de Nantes..... | 61 |
| II.2 | Technique de dosage de la Δ 4-androstènedione sérique au CHU de Nantes..... | 62 |
| II.3 | Technique de dosage de la testostérone sérique au CHU de Nantes..... | 62 |
| III. | Statistiques | 63 |
| RÉSULTATS | | 64 |
| I. | Caractéristiques cliniques des patients..... | 64 |
| II. | Patients atteints d'hyperplasie congénitale des surrénales..... | 64 |
| II.1 | Sexe, terme et poids des enfants hyperplasiques..... | 64 |
| II.2 | Circonstances diagnostiques et pathologies néonatales | 65 |
| II.3 | Délai d'instauration du traitement..... | 66 |
| II.4 | Génotypes..... | 66 |
| III. | Patients non atteints d'hyperplasie congénitale des surrénales..... | 68 |
| III.1 | Sexe, terme et poids des enfants non hyperplasiques..... | 68 |
| III.2 | Circonstances diagnostiques et pathologies néonatales | 68 |
| III.3 | Concentrations de 17OHP, de Δ 4-androstènedione et de testostérone obtenues chez les patients non hyperplasiques | 69 |
| III.4 | Relations entre concentration de 17OHP et pathologies néonatales | 71 |
| III.4.1 | Terme de naissance | 71 |
| III.4.2 | Poids de naissance | 73 |
| III.4.3 | Corticothérapie anténatale..... | 74 |
| III.4.4 | Toxémie gravidique..... | 75 |
| III.4.5 | Détresse respiratoire | 75 |
| III.4.6 | Sepsis..... | 76 |
| III.4.7 | Immaturité hépatique..... | 77 |
| DISCUSSION | | 79 |
| CONCLUSIONS..... | | 86 |
| BIBLIOGRAPHIE | | 88 |

LISTE DES ABRÉVIATIONS

| | |
|------------------------------|---|
| ACTH | AdrenoCorticoTropin Hormone (hormone corticotrope hypophysaire) |
| CRH | Corticotropin Releasing Hormone (hormone corticotrope hypothalamique) |
| DHEA | Déhydroépiandrostérone |
| DHEAS | Sulfate de déhydroépiandrostérone |
| DOC | 11-désoxycorticostérone |
| EqSA | Equivalent semaine d'aménorrhée |
| HCS | Hyperplasie Congénitale des Surrénales |
| HSD3B1 | 3 β -hydroxystéroïde oxydoréductase de type 1 |
| HSD3B2 | 3 β -hydroxystéroïde oxydoréductase de type 2 |
| HTA | Hypertension artérielle |
| OGE | Organes Génitaux Externes |
| PCR | Polymeric Chain Reaction |
| Preg | Prégnènone |
| Pro | Progestérone |
| RIA | Radio Immuno Analyse |
| SA | Semaine d'Aménorrhée |
| SV | Simple Virilization / Forme virilisante pure |
| SW | Salt Wasting / Forme avec perte de sel |
| 17OHP | 17 α -hydroxyprogestérone |
| 17OHPreg | 17 α -hydroxyprégnènone |
| 21OH | 21-hydroxylase |
| Δ4A | Δ 4-androstènedione |

LISTE DES FIGURES

| | |
|---|----|
| Figure 1 : Conversion du cholestérol en prégnénolone. | 10 |
| Figure 2 : Voie $\Delta 4$ et $\Delta 5$ de la formation de la 17α -hydroxyprogesterone. | 10 |
| Figure 3 : Précurseurs des trois types d'hormones surrénaliennes. | 12 |
| Figure 4 : Voie de synthèse des glucocorticoïdes. | 13 |
| Figure 5 : Schéma de la stéroïdogénèse au sein du cortex surrénalien. B : corticostérone DOC : 11-désoxycorticostérone. 18OH-B : 18-hydroxy-corticostérone. S : 11- désoxycortisol (D'après Krone 2007. "Congenital adrenal hyperplasia and P450 oxidoreductase deficiency"). | 14 |
| Figure 6 : Taille comparée de la surrénale (en haut) et du rein fœtal (en bas) (D'après Goto 2006 "In humans, early cortisol biosynthesis provides a mechanism to safeguard female sexual development"). | 21 |
| Figure 7 : Stéroïdogénèse au sein de l'unité fœto-placentaire (D'après White 2006 "Ontogeny of adrenal steroid biosynthesis: why girls will be girls"). | 22 |
| Figure 8 : Cinétique de la sécrétion surrénalienne de cortisol et de DHEAS de la conception à l'âge adulte (D'après White 2006 "Ontogeny of adrenal steroid biosynthesis: why girls will be girls"). | 24 |
| Figure 9 : Cinétique de la différenciation des OGE au cours du développement embryonnaire (D'après Hughes 2002). | 25 |
| Figure 10 : Voie accessoire de synthèse des androgènes dans le déficit en P450- oxydoréductase (D'après Krone 2007 "Congenital adrenal hyperplasia and P450- oxidoreductase deficiency"). | 31 |
| Figure 11 : Classification des anomalies des OGE chez la fille selon Prader. | 36 |
| Figure 12 : Spectre clinique des différentes formes de déficit en 21-hydroxylase (D'après New 2006 "Extensive clinical experience : non classical 21-hydroxylase deficiency"). | 38 |
| Figure 13 : Cartographie du gène CYP21A2 (D'après Expert reviews in Molecular Medicine 2007). | 41 |
| Figure 14 : Localisation des principales mutations du gène CYP21A2 et les formes cliniques associées (D'après Nimkarn 2007). | 44 |
| Figure 15 : Sévérité des différentes mutations du gène CYP21A2. PS : perte de sel. VP : virilisante pure. NC : non classique (D'après Krone 2007). | 45 |
| Figure 16 : Arbre décisionnel du traitement prénatal utilisant la détermination de sexe fœtal précoce. PVC : ponction de villosités chorionales (D'après Rijnders 2004). | 48 |
| Figure 17 : Aspect des organes génitaux de filles traitées pendant la grossesse et jusqu'au terme par rapport à leurs aînées atteintes d'HCS (D'après Nimkarn 2007). | 49 |
| Figure 18 : Structure chimique de la 17OHP (à gauche) et de la 17OHPreg (à droite). | 57 |
| Figure 19 : Devenir des extractions de 17OHP pratiquées au CHU de Nantes sur la période 2003-2007, chez des patients de moins de 90 jours de vie. | 58 |
| Figure 20 : Concentrations médianes de 17OHP chez les enfants atteints et non atteints d'HCS. Concentrations lors du premier dosage sérique. * Test de Mann-Whitney | 69 |

| | |
|---|----|
| Figure 21 : Concentrations de $\Delta 4$ -androstènedione chez les enfants atteints et non atteints d'HCS. Concentrations lors du premier dosage sérique.* Test de Mann-Whitney | 70 |
| Figure 22 : Concentrations de testostérone chez les enfants atteints et non atteints d'HCS. Concentrations lors du premier dosage sérique.* Test de Mann-Whitney | 70 |
| Figure 23 : Concentrations de 17OHP en fonction du terme exprimé en équivalent semaine d'aménorrhée chez les enfants non atteints d'HCS.* Test de Spearman..... | 71 |
| Figure 24 : Concentrations de 17OHP lors du premier prélèvement, en fonction de l'importance de la prématurité. | 72 |
| Figure 25 : Concentrations de $\Delta 4$ -androstènedione en fonction du terme exprimé en équivalent semaine d'aménorrhée chez les enfants non atteints d'HCS.* Test de Spearman..... | 73 |
| Figure 26 : Concentrations de testostérone en fonction du terme exprimé en équivalent semaine d'aménorrhée chez les enfants non atteints d'HCS.* Test de Spearman..... | 73 |
| Figure 27 : Concentrations de 17OHP en fonction de la présence ou non d'une hypotrophie à la naissance chez les patients non atteints d'HCS.* Test de Mann-Whitney..... | 74 |
| Figure 28 : Concentrations de 17OHP en cas de corticothérapie anténatale chez les enfants non atteints d'HCS.* Test de Mann-Whitney | 74 |
| Figure 29 : Concentrations de 17OHP en fonction de la présence d'une HTA maternelle pendant la grossesse chez les enfants non atteints d'HCS.* test de Mann-Whitney..... | 75 |
| Figure 30 : Concentrations de 17OHP en fonction de l'existence d'une détresse respiratoire néonatale (DR) chez les patients non atteints d'HCS.* Test de Mann-Whitney..... | 76 |
| Figure 31 : Concentrations de 17OHP en fonction de l'existence d'un état septique.* Test de Mann-Whitney | 76 |
| Figure 32 : Concentrations de 17OHP en fonction de la bilirubinémie totale chez les enfants non atteints d'HCS. | 77 |
| Figure 33 : Concentrations de 17OHP en fonction de la présence d'une immaturité hépatique chez les enfants non atteints d'HCS. Groupe A : bilirubinémie inférieure à 17 $\mu\text{mol/L}$. Groupe B : bilirubinémie supérieure à 17 $\mu\text{mol/L}$. * Test de Mann-Whitney | 77 |

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|--|----|
| Tableau 1 : Fréquences des mutations communes du gène CYP21A2 en Europe de l'ouest (D'après Nike 2003)..... | 44 |
| Tableau 2 : Pourcentage de réactivité croisée de la méthode de dosage de la 17 α -hydroxyprogestérone pour différents stéroïdes. Données fournisseur..... | 57 |
| Tableau 3 : Pourcentage de réactivité croisée de la méthode de dosage de la Δ 4-androstènedione pour différents stéroïdes. Données fournisseur. | 62 |
| Tableau 4 : Caractéristiques cliniques des patients avec une concentration de 17OHP supérieure à 2 ng/ml dans les 90 premiers jours de vie..... | 64 |
| Tableau 5 : Circonstances diagnostiques des cas d'HCS (2000-2007). | 65 |
| Tableau 6 : Concentrations de 17OHP, de Δ 4-andostènedione et de testostérone observées chez les 16 patients atteints d'HCS. | 66 |
| Tableau 7 : Mutations du gène CYP21A2 des patients atteints d'hyperplasie congénitale des surrénales au CHU de Nantes (2000-2007)..... | 67 |
| Tableau 8 : Génotypes des patients atteints d'hyperplasie congénitale des surrénales au CHU de Nantes (2000-2007). | 67 |
| Tableau 9 : Circonstances ayant motivé le dosage sérique de 17OHP chez les enfants non atteints d'HCS. | 68 |
| Tableau 10 : Concentrations de 17OHP, de Δ 4-andostènedione et de testostérone sériques chez les patients non atteints d'HCS. | 69 |
| Tableau 11 : Concentrations de 17OHP chez les enfants nés prématurés et chez les enfants nés à terme. | 72 |

INTRODUCTION

L'hyperplasie congénitale des surrénales (HCS) est due à un déficit de l'une des cinq enzymes nécessaires à la synthèse du cortisol, à partir du cholestérol, au sein des corticosurrénales. Dans 95% des cas, un déficit en 21-hydroxylase est en cause. Les conséquences hormonales d'un tel déficit sont une diminution des taux de minéralocorticoïdes et de glucocorticoïdes et une augmentation des concentrations de 17 α -hydroxyprogestérone (17OHP) et d'androgènes surrénaliens. Dans les formes classiques d'HCS, ces anomalies conduisent à une perte de sel au niveau rénal, pouvant conduire au décès par déshydratation du nouveau-né et/ou à une virilisation chez les filles, pouvant amener à un mauvais assignement de sexe. Les formes non classiques d'HCS se manifestent plus tardivement dans l'enfance, ou chez l'adulte jeune, et se présentent avec des symptômes liés à l'hyperandrogénie.

L'augmentation de la 17OHP, précurseur situé immédiatement en amont du bloc enzymatique en 21-hydroxylase, permet de faire le diagnostic. Ce paramètre est utilisé comme marqueur lors du dépistage néonatal systématique de l'HCS sur papier buvard. Au CHU de Nantes, la 17OHP est dosée dans le sérum par une méthode radio-immunologique pour confirmer le diagnostic chez les enfants ayant un dépistage positif.

Nous avons constaté que de nombreux nouveau-nés présentent des concentrations de 17OHP sériques augmentées alors qu'ils ne souffrent pas d'HCS.

Dans un premier temps, ce travail étudie les cas d'HCS diagnostiqués au CHU de Nantes sur une période de huit ans (2000-2007).

Dans un second temps, sur la même période, il est procédé à l'examen des dossiers des nouveau-nés non atteints d'HCS, et ayant néanmoins des concentrations augmentées de 17OHP, le but de ce travail rétrospectif était de rechercher les étiologies de ces taux anormalement élevé de 17OHP.

GÉNÉRALITÉS

I. Physiologie des hormones surrénaliennes

I.1 Synthèse

Les hormones stéroïdiennes sont indispensables à la vie. Elles sont synthétisées au sein de la corticosurrénale, qui est divisée en trois zones histologiques et fonctionnelles distinctes, correspondant aux trois catégories d'hormones stéroïdiennes : les minéralocorticoïdes, les glucocorticoïdes et les stéroïdes sexuels.

Toutes ces hormones, dont le noyau de base est le noyau stérane, sont issues du cholestérol d'origine hépatique apporté par la circulation sanguine. Les surrénales sont capables de synthétiser du cholestérol à partir de précurseurs dicarbonés, du β -sitostérol ou du desmostérol. La principale source de cholestérol pour la stéroïdogénèse reste néanmoins le cholestérol hépatique [1].

L'étape limitante dans la synthèse des stéroïdes est l'importation du cholestérol des stocks cellulaires vers la membrane interne mitochondriale où se trouve le système de clivage de la chaîne latérale. Ce processus est sous la dépendance d'une protéine "StAR" (Steroidogenic Acute Regulatory) dont la synthèse augmente en quelques minutes sous l'effet de la stimulation par l'hormone adrénocorticotrope (ACTH). Cette protéine StAR possède un peptide signal qui la destine à une localisation mitochondriale.

I.1.1 Etapes communes

La première étape est la conversion du cholestérol en prégnénolone par l'action de la P450_{scc} (side-chain clivage), codée par le gène CYP11A, qui possède plusieurs activités enzymatiques (Fig.1). Cette enzyme fait partie des cytochromes P450 de type I. La prégnénolone est obtenue par une 20 α -hydroxylation conduisant à la formation du 20 α -hydroxy-cholestérol (1) puis par une 22-hydroxylation avec l'obtention du 20 α , 22-dihydroxycholestérol (2) et enfin par la coupure de la chaîne latérale de ce dernier pour aboutir à la formation de Δ 5 prégnénolone (Δ 5Preg) par une activité 20, 22 lyase (3).

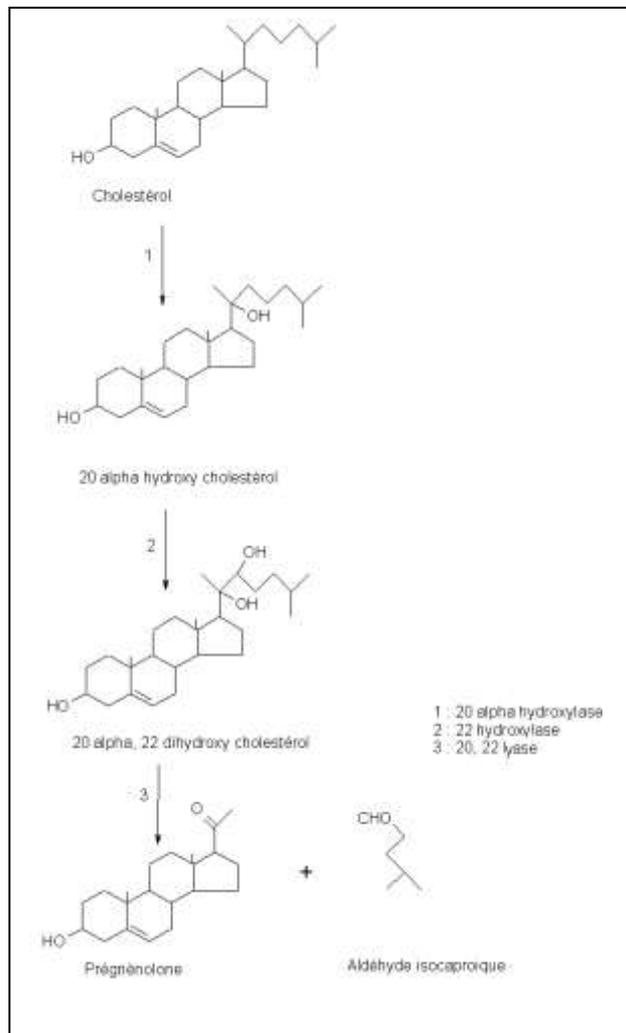


Figure 1 : Conversion du cholestérol en prégnénolone.

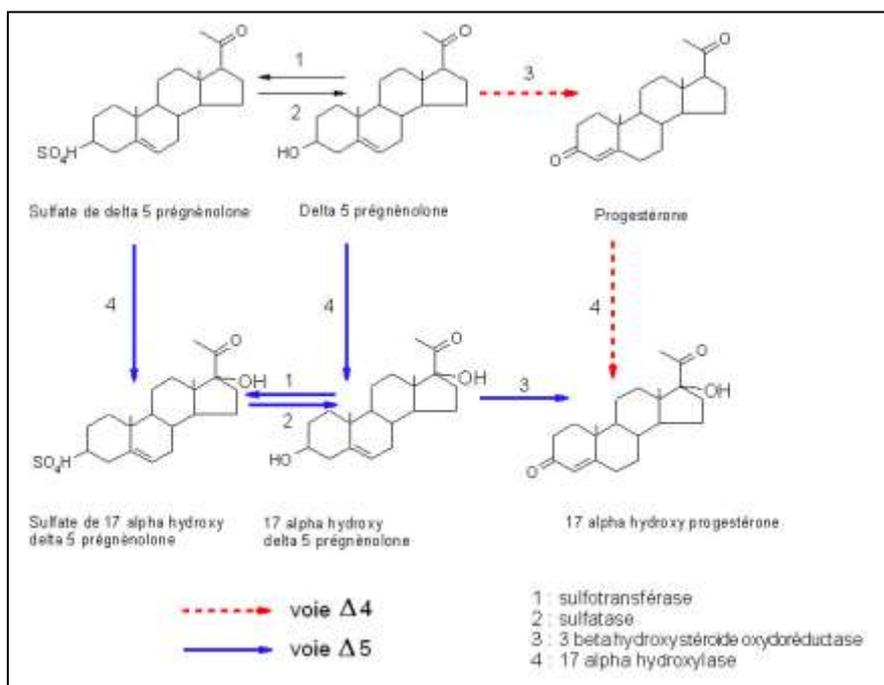


Figure 2 : Voie $\Delta 4$ et $\Delta 5$ de la formation de la 17α -hydroxyprogéstérone.

La deuxième étape est la conversion de la $\Delta 5$ Preg en 17OHP (Fig.2). Deux voies sont possibles pour cette deuxième étape :

- la voie $\Delta 5$ est la plus importante :

La $\Delta 5$ -Preg est d'abord transformée en 17α -hydroxy- $\Delta 5$ Preg (17OHPreg) sous l'action d'une 17α -hydroxylase (4). Ce composé subit ensuite l'action de la 3β -hydroxystéroïde oxydoréductase de type II (HSD3B2) qui catalyse la conversion des C19 et C21 stéroïdes en leurs dérivés analogues $\Delta 4$ et $\Delta 3$ cétostéroïdes (3).

- la voie $\Delta 4$ est moins importante physiologiquement :

Elle fait d'abord intervenir la HSD3B2 transformant la $\Delta 5$ Preg en progestérone (Pro), puis la 17α -hydroxylase aboutissant à la formation de 17OHP.

Les différentes enzymes intervenant dans cette deuxième étape sont donc :

- la 17α -hydroxylase située dans les microsomes des zones fasciculée et réticulée des glandes surrénales et absente de la zone glomérulée. Elle est codée par le gène CYP17A1, et fait partie du groupe des cytochromes P450 de type II. Elle possède également l'activité C17-C20 lyase.

- La HSD3B2 située dans les microsomes des cellules surrénales, des tissus gonadiques et placentaires, des phéochromocytomes intra- et extra surrénaux.

Parallèlement à la voie $\Delta 5$, il existe une voie sulfatée. La $\Delta 5$ -Preg peut être conjuguée à l'acide sulfurique par une sulfotransférase pour conduire à la formation de sulfate de $\Delta 5$ -Preg. Par une hydroxylation sur le carbone 17, ce dernier peut être converti en sulfate de 17OHPreg. Ce dernier peut également provenir de la 17OHPreg par l'action d'une sulfotransférase. A chaque étape, il existe une réaction d'équilibre entre la formation de dérivés sulfatés, par action d'une sulfotransférase, et le retour aux dérivés non sulfo-conjugués, formes libres à l'aide d'une sulfatase.

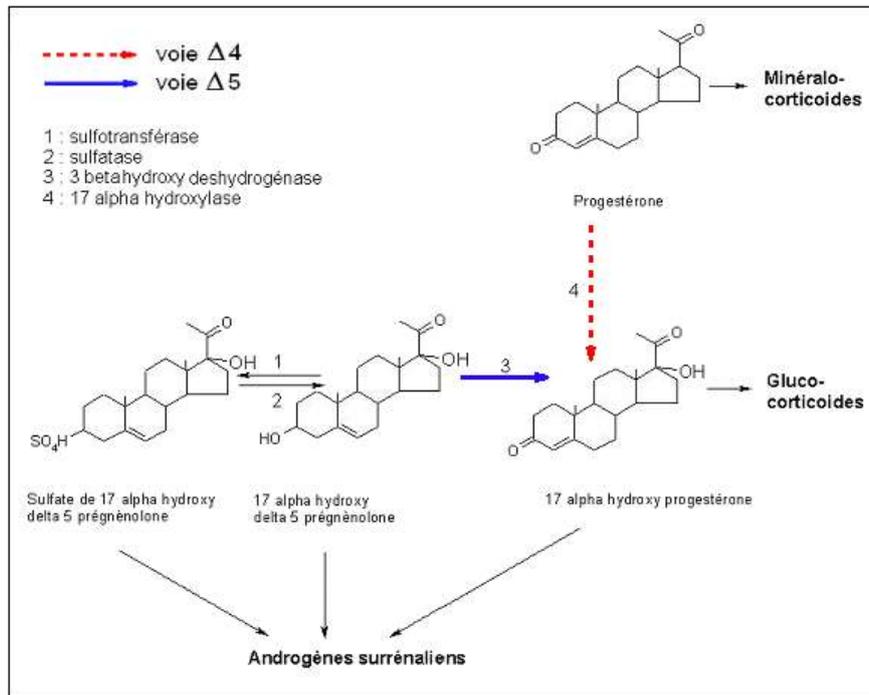


Figure 3 : Précurseurs des trois types d'hormones surrénaliennes.

Au terme de cette deuxième étape, les précurseurs des trois grandes familles de stéroïdes sont synthétisés (Fig.3) :

- la progestérone aboutissant aux minéralocorticoïdes.
- la 17OHP aboutissant aux glucocorticoïdes.
- la 17OHPreg et son sulfate ainsi que la 17OHP aboutissant aux androgènes.

I.1.2 Voie de synthèse des glucocorticoïdes

La voie de synthèse des glucocorticoïdes est schématisée dans la figure 4. La 17OHP va subir successivement l'action de deux enzymes. La 21-hydroxylase (1) codée par le gène CYP21A2 qui transforme la 17OHP en 11-désoxycortisol (composé S), puis la 11 β -hydroxylase (2) codée par le gène CYP11B1 qui transforme le composé S en cortisol (composé F).

La 21-hydroxylase n'est présente que dans les surrénales. Elle se situe au niveau microsomal, et fait partie du groupe des cytochromes P450 de type II : le transfert d'électron est assuré par le NADPH via un donneur d'électron, la P450 oxydoréductase. La 11 β -hydroxylase est située au niveau de la membrane interne des mitochondries.

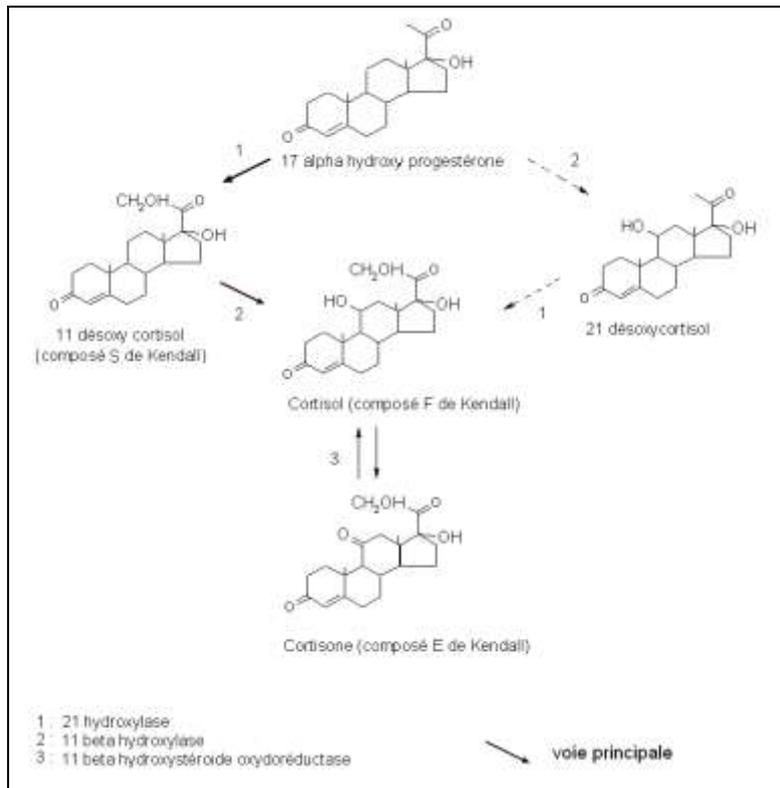


Figure 4 : Voie de synthèse des glucocorticoïdes.

De façon mineure, la 17OHP peut également subir d'abord l'action de la 11β -hydroxylase conduisant à la formation de 21-déoxycortisol, qui est converti en cortisol après action de la 21-hydroxylase.

Par l'intermédiaire de la 11β -hydroxystéroïde oxydoréductase de type II (3), le cortisol est en équilibre d'oxydoréduction avec la cortisone (composé E).

I.1.3 Voie de synthèse des hormones sexuelles

Les androgènes surrénaliens sont nombreux et ont une activité biologique plus ou moins importante. Ainsi, la Δ^4 -Androstènedione (Δ^4 A) et la testostérone (T) sont responsables de 90% de l'activité androgénique totale, contre 10 % pour l'ensemble déhydroépiandrostérone (DHEA) / Δ^5 Androstènediol.

La DHEA et son sulfate (DHEAS) proviennent de la 17OHPreg grâce à l'action C17-C20 lyase. La Δ^4 A provient de la 17OHP grâce à l'activité C17-C20 lyase.

I.1.4 Voie de synthèse des minéralocorticoïdes

La progestérone, précurseur de cette famille de stéroïdes, va subir trois hydroxylations successives et une oxydation.

La première hydroxylation est menée grâce à la 21-hydroxylase et transforme la progestérone en 11-désoxycorticostérone (DOC).

L'hydroxylation suivante, assurée par la 11 β -hydroxylase codée par le gène CYP11B1, conduit à la formation de corticostérone (composé B). La corticostérone est ensuite hydroxylée en C18 via l'activité 18 hydroxylase de l'aldostérone synthétase. L'aldostérone synthétase, exprimée dans la zone glomérulée, est régulée par le système rénine angiotensine, et possède une activité 18-hydroxylase et 18-oxydase. Elle est codée par le gène CYP11B2. Enfin, la 18-hydroxy-corticostérone est convertie en aldostérone par l'action 18-oxydase de l'aldostérone synthétase.

Le schéma global de la stéroïdogénèse avec les gènes impliqués est décrit dans la Figure 5.

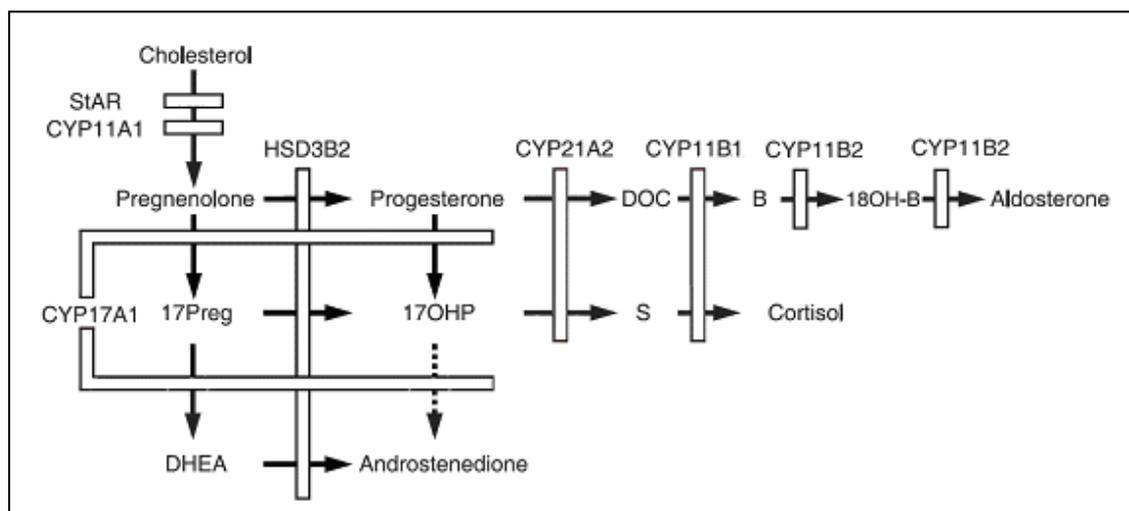


Figure 5 : Schéma de la stéroïdogénèse au sein du cortex surrénalien. B : corticostérone
DOC : 11-désoxycorticostérone. 18OH-B : 18-hydroxy-corticostérone. S : 11-désoxycortisol
(D'après Krone 2007. "Congenital adrenal hyperplasia and P450 oxidoreductase deficiency").

I.2 Catabolisme des hormones stéroïdiennes

Le catabolisme des hormones stéroïdiennes est essentiellement hépatique et s'accompagne d'une perte d'activité biologique de ces composés. Il consiste en des réactions de réduction aboutissant à la formation de dérivés di-, tétra- et hexahydrogénés, les deux dernières catégories étant ensuite conjuguées et excrétées par le rein. L'excrétion biliaire, inférieure à

10%, est suivie d'une réabsorption intestinale intense qui rend l'élimination fécale négligeable par un cycle entérohépatique.

Les deux premières réactions du catabolisme des stéroïdes sont des réactions de réduction communes à toutes les familles de stéroïdes.

La première sature la double liaison $\Delta 4-5$ donnant les dihydrodérivés, la deuxième transforme la fonction cétone en C3 en fonction alcool, aboutissant à la formation des tétrahydrodérivés.

I.2.1 Catabolisme des glucocorticoïdes

Plusieurs voies d'importances inégales sont possibles. La voie majeure passe par la formation, après des réductions successives, de dérivés de la série 5β , excrétés dans l'urine sous forme de tétra- et hexahydrodérivés, glucuroconjugués sur l'hydroxyle en C3.

Le cortisol et la cortisone sont en équilibre d'oxydo-réduction grâce à la 11β -hydroxystéroïde oxydoréductase de type II. Ils ont un catabolisme parallèle, dont les produits sont également en équilibre d'oxydo-réduction.

Les principaux catabolites excrétés dans les urines sont le tétrahydrocortisol (THF) et la tétrahydrocortisone (THE).

Une petite fraction du cortisol échappe au catabolisme et se retrouve dans les urines, libre ou conjuguée. Une fraction minime du cortisol est hydroxylée en 6β et éliminée dans les urines sans conjugaison car ce dérivé est très hydrosoluble. Cette excrétion est accrue au cours de la grossesse, de l'insuffisance hépatocellulaire, du traitement par l'OP'DDD et par les inducteurs enzymatiques.

Le 11-désoxycortisol subit les deux réactions de réduction et son principal catabolite est le tétrahydro-11-désoxycortisol (THS).

Le 21-désoxycortisol suit une voie parallèle à celle du 11-désoxycortisol avec prépondérance des réductions en 5β et 3α . Son catabolite majeur est le tétrahydro-21-désoxycortisol, appelé plus couramment prégnanetriolone.

Au total, on trouve principalement les 17-hydroxystéroïdes dans les urines : cortisol non dégradé libre ou conjugué, 6β -hydroxycortisol, les tétrahydrodérivés avec notamment le tétrahydrocortisol (THF), la tétrahydrocortisone (THE) et le tétrahydro-11-désoxycortisol (THS).

I.2.2 Catabolisme des minéralocorticoïdes

Le catabolisme des précurseurs de l'aldostérone fait intervenir les mêmes enzymes que celui du catabolisme des glucocorticoïdes. Ces composés subissent une réduction en C5 (dihydrodérivés alpha ou bêta), puis en C3 (OH en α ou β). Comme dans le catabolisme des glucocorticoïdes, les réductions prédominent en 5β et en 3α .

Les tétrahydrodérivés de chaque précurseur obtenus sont: la tétrahydrodésoxycorticostérone, la tétrahydro-18-hydroxydésoxycorticostérone, la tétrahydroxycorticostérone, la corticostérone, la tétrahydro-18-hydroxycorticostérone et la tétrahydro-11-déhydrocorticostérone.

L'aldostérone subit un catabolisme classique (réductions), si ce n'est qu'une fraction importante (5 à 10 %) est directement glucuroconjuguée au niveau de l'hydroxyle semi-acétalique en C18. Le principal catabolite est la tétrahydroaldostérone, éliminée sous forme de glucuroconjugué.

Au niveau urinaire, il est donc possible de retrouver de l'aldostérone libre (0,2 %), de la tétrahydroaldostérone, catabolite majeur (30 à 55 %) éliminé sous forme de glucuroconjugué et les dérivés tétrahydrogénés de ses précurseurs.

I.2.3 Catabolisme des hormones sexuelles

De même que le cortisol et la cortisone, la $\Delta 4A$ et la testostérone sont en équilibre d'oxydoréduction (mais ici grâce à la 17β -hydroxystéroïde oxydoréductase). Elles ont un catabolisme parallèle, dont les produits sont également en équilibre d'oxydoréduction.

La $\Delta 4A$ et la testostérone subissent une saturation de la double liaison $\Delta 4-5$ qui donne la 5α - et 5β -androstanedione, la 5α -dihydrotestostérone (5α -DHT) et la 5β -dihydrotestostérone (5β -DHT), les deux dérivés 5α étant des androgènes biologiquement actifs. Chacun de ces 4 catabolites est soumis à l'action d'une 3α - ou 3β -hydroxystéroïde réductase (activité 3α -réductase prédominante chez l'homme). On obtient finalement 8 catabolites.

Les dérivés hydroxylés en 3β sont essentiellement sulfoconjugués, les dérivés hydroxylés en 3α glucuroconjugués.

Une fraction de la testostérone est excrétée dans les urines, sous forme glucuroconjuguée ou sulfoconjuguée.

Finalement, 25 % de la testostérone est catabolisée en androstanediols, une partie est excrétée sous forme conjuguée dans les urines, les autres catabolites sont communs avec ceux de la $\Delta 4A$ et possèdent une fonction cétone en C17, les principaux étant l'androstérone et l'étiocolanolone.

I.2.4 Catabolisme des métabolites intermédiaires

I.2.4.1 Progestérone et 17α -hydroxyprogestérone

La progestérone et la 17OHP subissent un catabolisme identique avec la double réduction classique, on obtient ainsi les dérivés 5β et 3α correspondants :

- la prégnanolone pour la progestérone
- la prégnanediolone pour la 17OHP.

Ces deux dérivés tétrahydrogénés subissent une dernière réduction en C20 pour donner respectivement le pregnanediol et le prégnanetriol.

I.2.4.2 Prégnénolone et 17α -hydroxyprégnénolone

La prégnénolone et la 17OHPreg sont des stéroïdes où les deux réductions classiques en C3 et C5 n'interviennent pas. Seule une réduction de la fonction cétone en C20 est possible.

On obtient ainsi le $\Delta 5$ -prégnènediol pour la prégnènenolone et le $\Delta 5$ -prégnènetriol pour la 17OHPreg.

I.3 Régulation de la biosynthèse stéroïdienne

I.3.1 Glucocorticoïdes

Le corticotropine releasing factor (CRF) ou CRH (corticotropine releasing hormone) hypothalamique est libéré dans l'éminence médiane. Il est à l'origine des variations nyctémérales de la sécrétion d'ACTH et de son augmentation lors de stress.

L'hormone régulant la biosynthèse des glucocorticoïdes est l'ACTH. C'est une hormone polypeptidique sécrétée au niveau de l'antéhypophyse par les cellules corticotropes. Elle provient de la pro-opiomélanocortine qui contient les séquences d'acides aminés de l'ACTH et

de la β -lipotropine. Ces deux hormones, à leur tour, contiennent des peptides biologiquement actifs (mélanotropines, α -lipotropine, endorphines, méthionine-enképhaline et corticotropine like intermediate lobe peptide).

L'ACTH est constituée de 39 acides aminés. Les acides aminés 1-24 et 34-39 sont communs à toutes les espèces. Les acides aminés 25-33 sont spécifiques d'espèce. Il existe un rythme circadien qui se met en place au cours de la première année de vie. Le taux est élevé le matin et faible pendant la nuit, avec un nadir à minuit. Sa demi vie est de 20 à 30 minutes.

L'ACTH se fixe sur des récepteurs membranaires au niveau de son site actif. Elle agit sur le système adénylcyclase-AMP cyclique et régule l'importation de cholestérol au niveau mitochondrial via la protéine StAR.

Elle a une action trophique sur les surrénales, entraînant une augmentation de l'irrigation sanguine, une augmentation du volume de la surrénale par synthèse protéique et une multiplication cellulaire. L'ACTH augmente surtout la sécrétion de cortisol et de corticostérone. Elle a un effet moindre sur les androgènes et un effet encore plus faible sur l'aldostérone (mais non nul).

Le cortisol régule la sécrétion de CRF et d'ACTH par un mécanisme de rétrocontrôle négatif.

I.3.2 Minéralocorticoïdes

L'angiotensine II est le plus important stimuli de la synthèse d'aldostérone. Comme l'ACTH, son action se situe précocement dans la biosynthèse de l'aldostérone, lors de la transformation du cholestérol en Δ^5 -prégnénolone. Sa production se fait sous le contrôle de la rénine qui est le principal régulateur de la synthèse d'aldostérone.

La rénine est une enzyme synthétisée dans les cellules de l'appareil juxtaglomérulaire du rein, situées au pôle vasculaire des glomérules dans la paroi de l'artère afférente. Elle est stockée sous forme de granules. Après sécrétion elle agit localement, dans le sang, sur son substrat l'angiotensinogène, α globuline hépatique, le convertissant en angiotensine I. C'est finalement l'enzyme de conversion qui convertira l'angiotensine I en angiotensine II au niveau pulmonaire.

Seule la rénine constitue le facteur régulateur de ce processus de biosynthèse. La sécrétion de rénine, et donc d'aldostérone, augmente s'il y a diminution du capital sodé, diminution de la volémie ou diminution de la pression de perfusion du rein. Les sécrétions de rénine et d'aldostérone diminuent dans les conditions inverses.

Un autre facteur agit directement sur la sécrétion d'aldostérone. Il s'agit de l'hyperkaliémie qui produit une augmentation de la sécrétion d'aldostérone par action directe sur la zone glomérulée.

I.4 Rôles physiologiques

I.4.1 Hormones glucocorticoïdes

L'hormone la plus importante est le cortisol.

Les glucocorticoïdes facilitent la néoglucogénèse hépatique à partir des acides aminés, des lactates et des lipides. Ils stimulent la synthèse d'enzymes nécessaires à la néoglucogénèse telle que la glucose-6-phosphatase, la phosphoénolpyruvate-carboxykinase, la fructose-1-6-diphosphatase et la pyruvate carboxylase. Ils diminuent l'absorption du glucose par les tissus périphériques en inhibant la sécrétion d'insuline et en diminuant la sensibilité des tissus périphériques à l'insuline. Ils stimulent la sécrétion de glucagon. En cas d'insuffisance surrénalienne, il apparaît donc une hypoglycémie pendant les périodes de jeûne.

Sur le métabolisme des lipides, ils favorisent la libération d'acides gras à partir des triglycérides du tissu adipeux. A forte concentration, ils favorisent une nouvelle répartition des graisses sur le haut du corps.

Sur le métabolisme des protides, ils sont anabolisants à doses physiologiques, et catabolisants à doses supraphysiologiques. Du fait de leur action protéolytique, ils diminuent la trame collagène de l'os. Un hypercorticisme entraîne une ostéoporose avec risque de fractures spontanées et accélère la maturation du cartilage de croissance chez l'enfant. Ils produisent une hypocalcémie avec hypercalciurie. Une amyotrophie peut également être observée.

Les glucocorticoïdes exercent déjà à doses physiologiques une action anti-inflammatoire. Cette action est cependant surtout mise en évidence à doses pharmacologiques. Ils retardent ou empêchent la cicatrisation de la peau du fait de l'action catabolique sur les fibroblastes, ils inhibent la croissance des fibroblastes et la synthèse des mucopolysaccharides.

Ils inhibent la sécrétion d'hormone de croissance et diminuent la sécrétion de thyroestimuline.

Enfin, à forte dose, le cortisol a un effet voisin de celui de l'aldostérone. Il provoque une rétention sodée avec fuite urinaire de potassium et d'ions H⁺, entraînant une alcalose avec hypokaliémie. Cette action est minime par rapport à celle de l'aldostérone.

I.4.2 Hormones minéralocorticoïdes

L'action minéralocorticoïde est le fait de la désoxycorticostérone et surtout de l'aldostérone.

Au niveau cellulaire, l'aldostérone assure le maintien de l'homéostasie du sodium et du potassium avec rejet du sodium vers l'extérieur de la cellule au niveau des cellules rénales du tube distal, des glandes salivaires, intestinales et sudorales.

Au niveau du rein, elle favorise la réabsorption du sodium par la branche épaisse de l'anse de Henlé, le tube contourné distal et le tube collecteur, et l'excrétion de potassium et de protons.

I.4.3 Hormones sexuelles

Le rôle biologique des androgènes surrénaliens est négligeable chez l'homme adulte. Chez l'enfant et la femme, l'effet virilisant des androgènes surrénaliens, lié à leur production en excès lors d'un défaut enzymatique ou à des tumeurs sécrétrices, est dû à leur conversion périphérique en testostérone.

A la naissance, leur taux est élevé, il diminue ensuite, puis il y a un pic prépubertaire expliquant le développement de la pilosité axillaire et pubienne chez la fille et chez le garçon.

II. Surrénales fœtales

II.1 Développement embryonnaire des surrénales

L'ébauche médullaire des surrénales provient de cellules neuro-ectodermes, issues des crêtes neurales. L'ébauche corticale est d'origine mésodermique.

II.1.1 Formation de l'ébauche corticale surrénalienne

A partir de la troisième semaine de vie fœtale, apparaissent des îlots de cellules mésodermiques, provenant de l'épithélium cœlomique dorsal, qui forment un blastème indifférencié près du mésonéphros. Jusqu'à sept semaines de vie fœtale, le blastème indifférencié est nettement séparé de l'ébauche médullaire qui lui est adjacente. Vers la septième semaine de vie fœtale, les cellules médullaires commencent à migrer vers l'intérieur de l'ébauche corticale pour y former une masse centrale qui donnera la médullosurrénale.

Une seconde génération de cellules d'origine cœlomique vient entourer les cellules corticales de première génération pour former une zone mince correspondant au cortex "adulte" entourant une zone plus épaisse, le cortex "fœtal".

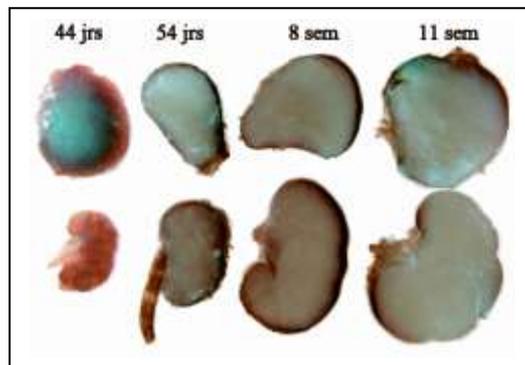


Figure 6 : Taille comparée de la surrénale (en haut) et du rein fœtal (en bas) (D'après Goto 2006 "In humans, early cortisol biosynthesis provides a mechanism to safeguard female sexual development").

II.1.2 Evolution de l'ébauche corticale surrénalienne

A partir du 33^e jour, le cortex surrénalien est distinct de la gonade. Il augmente rapidement de poids, ce dernier étant multiplié par 10 entre la 8^e et la 10^e semaine de grossesse [2]. La croissance des surrénales fœtales est exponentielle et leur volume est supérieur à celui du rein en milieu de gestation (Fig.6). Le poids des surrénales à la naissance est voisin du poids des surrénales d'un adulte (environ 8 grammes), soit 15 à 20 fois plus grosses si on rapporte ce chiffre au poids total, comparativement à l'adulte.

Le cortex est divisé en deux zones distinctes dès 8-10 semaines de vie fœtale. Le cortex "fœtal", qui représente 80% de l'ensemble du cortex surrénalien du fœtus, dégénère rapidement et disparaît approximativement 6 semaines après la naissance par apoptose [3]. Cette régression se produit malgré un taux relativement constant d'ACTH plasmatique [2]. Le cortex "adulte" se développe et commence à se différencier en zone glomérulée et fasciculée

pendant la vie fœtale. Par contre, la zone réticulée n'apparaît qu'au cours de la première année de vie.

A la naissance, le cortex fœtal représente la plus grande partie de la masse de la glande. Son involution rapide réduit de moitié le volume des surrénales à l'âge d'un mois. Le volume global des surrénales diminue jusqu'à l'âge de 2-3 mois en raison de la régression du cortex "fœtal" et malgré le développement du cortex "adulte". Enfin, après trois mois, la surrénale croît parallèlement à la croissance somatique [4]. Vers un an, le poids des surrénales est de l'ordre d'un gramme.

II.1.3 Migration embryonnaire

Initialement juxta-gonadiques, les surrénales migrent vers les pôles supérieurs des reins à la fin de la huitième semaine. Ceci explique la présence d'éventuelles surrénales accessoires le long de ce tractus et d'inclusions surrénaliennes au niveau testiculaire.

II.2 Stéroïdogénèse au sein de l'unité fœto-placentaire

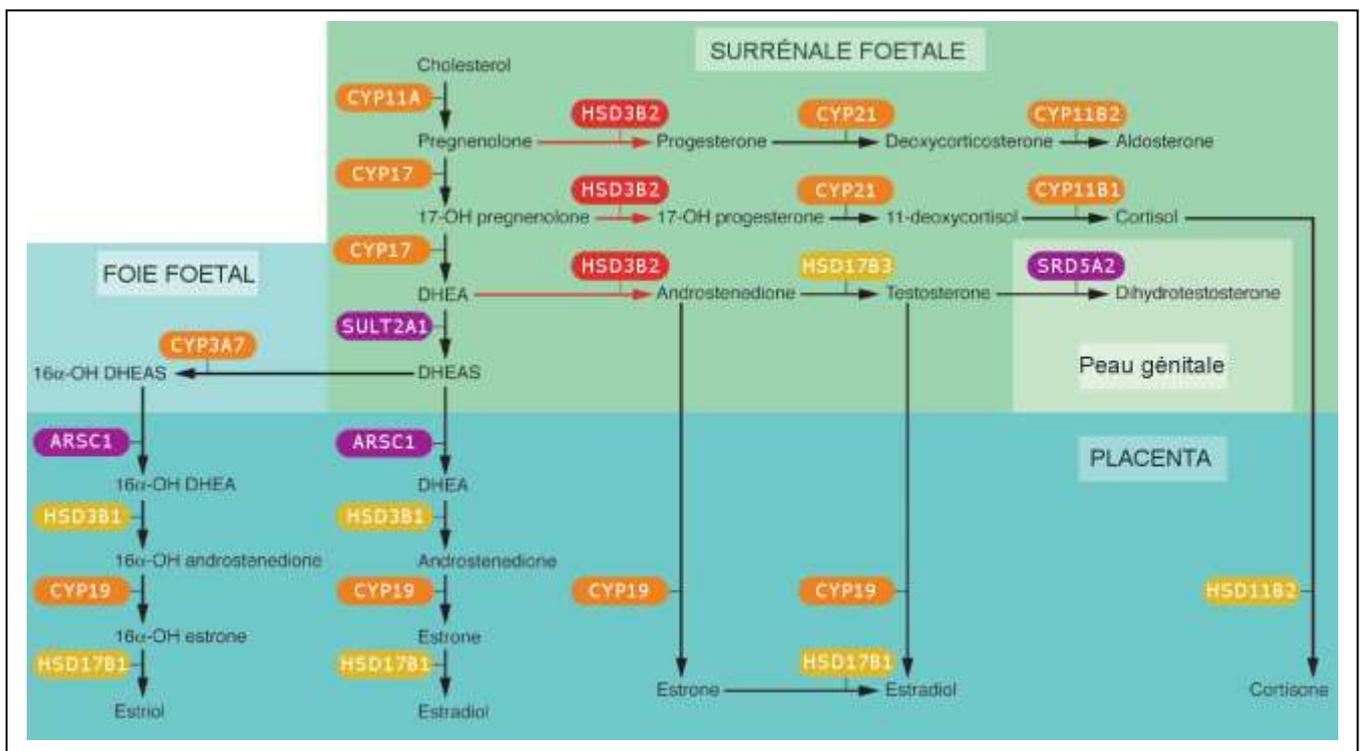


Figure 7 : Stéroïdogénèse au sein de l'unité fœto-placentaire (D'après White 2006 "Ontogeny of adrenal steroid biosynthesis: why girls will be girls").

Au début de la gestation, l'œstradiol, nécessaire au maintien de la grossesse, est délivré par le corps jaune maternel. Après la huitième semaine de grossesse, la majorité de l'œstradiol est synthétisée par l'unité fœto-placentaire (Fig.7). Le cholestérol est converti en DHEAS via les cytochromes CYP11A, CYP17 et la stéroïde sulfotransférase (SULT2A1) au sein du cortex fœtal, puis oxydé dans le foie fœtal en 16 α -hydroxy-DHEAS.

Dans le placenta, la stéroïde sulfatase (nommée également arylsulfatase ARSC1) reconvertit le DHEAS en DHEA qui est transformé en androstènedione par la 3 β -hydroxystéroïde oxydoréductase de type 1 (HSD3B1). La HSD3B1 est une isoenzyme placentaire distincte de la 3 β -hydroxystéroïde oxydoréductase de type 2 (HSD3B2), présente au sein du cortex surrénalien. L'androstènedione est aromatisée en œstrone par le cytochrome CYP19 (aromatase) puis convertie en œstradiol par la 17 β -hydroxystéroïde oxydoréductase de type 1 (HSD17B1). Le 16 α -hydroxy-DHEAS provenant du foie fœtal est converti en œstriol par les mêmes enzymes que celles impliquées dans la synthèse de l'œstradiol. La DHEAS est le stéroïde le plus sécrété par le cortex fœtal pendant la grossesse.

Le cortisol d'origine fœtale est nécessaire en fin de gestation pour la maturation pulmonaire en induisant la sécrétion de surfactant, ce mécanisme ne devant pas se produire trop tôt car le taux de surfactant dans le liquide amniotique détermine le moment de l'accouchement. A noter que le cortisol maternel n'atteint pas le fœtus car il est oxydé en cortisone inactive, au niveau placentaire, par la 11 β -hydroxystéroïde oxydoréductase de type II (HSD11B2).

Le ratio entre synthèse de cortisol et sécrétion de DHEAS est modulé par l'expression variable de la HSD3B2 au niveau du cortex fœtal au cours de l'évolution du terme de la grossesse. La HSD3B2 est présente dès le 50^e jour, à l'interface entre les zones fœtales et définitives. Son expression est particulièrement importante à 8 semaines pour diminuer ensuite et disparaître à 14 semaines de gestation. Elle réapparaît ensuite à partir de 20 semaines et ce jusqu'à la naissance (fig.8).

A partir du second trimestre de grossesse, la DHEA d'origine surrénalienne peut être un précurseur des androgènes. A ce terme, le fœtus féminin est protégé grâce à l'aromatase placentaire qui convertit cet androgène en œstrogène. Pendant le premier trimestre l'aromatase placentaire a une faible activité. C'est le cortisol, synthétisé de façon précoce par l'expression de la HSD3B2, qui inhibe la production d'ACTH au niveau de l'hypophyse et qui freine la production de DHEAS [5].

L'axe semble fonctionnel dès la huitième semaine, pendant la période critique de développement du bourgeon génital [2]. Le modèle d'un axe fonctionnel est le support du traitement prénatal par la dexaméthasone.

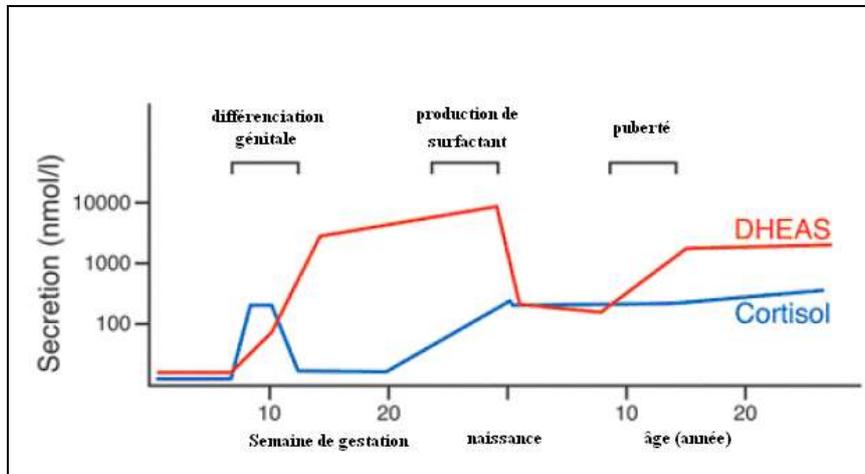


Figure 8 : Cinétique de la sécrétion surrénalienne de cortisol et de DHEAS de la conception à l'âge adulte (D'après White 2006 "Ontogeny of adrenal steroid biosynthesis: why girls will be girls").

II.3 Rôle de la stéroïdogénèse dans la différenciation sexuelle masculine

La cinétique de différenciation des organes génitaux externes (OGE) au cours du développement embryonnaire est décrite dans la Figure 9.

A trois semaines de développement embryonnaire, les gonades sont visibles. A ce stade précoce, les gonades masculines et féminines ont le même aspect. Le développement sexuel interne et externe est constitutivement de type féminin. A partir de sept semaines, la différenciation, soit en ovaire, soit en testicule, débute. L'élément clef est l'expression du gène SRY sur le chromosome Y dans les cellules destinées à se différencier en cellules de Sertoli testiculaires. De façon concomitante, l'hormone anti-müllerienne, synthétisée par les cellules de Sertoli, oriente vers une différenciation masculine: elle induit la régression des canaux de Müller mésonéphriques, précurseurs des trompes de Fallope, de l'utérus et du tiers supérieur du vagin. L'étape suivante de la différenciation masculine est le développement des cellules de Leydig. La sécrétion d'androgènes par les cellules de Leydig est nécessaire à la présence des organes génitaux internes de type masculin (développement des structures de Wolf sous l'influence de la testostérone). La testostérone est convertie en dihydrotestostérone, l'androgène présentant la plus forte affinité pour le récepteur aux androgènes, par la 5 α -reductase de type II.

En l'absence de ces facteurs de différenciation orientant vers un phénotype masculin, les organes génitaux seront de phénotype féminin, le sexe par défaut [6]. En effet, le développement d'un phénotype féminin ne nécessite pas la présence d'oestrogènes [7].

L'excès d'androgènes surrénaliens chez le fœtus féminin pendant la période critique de développement des OGE aboutira à un phénotype de type masculin. C'est ce mécanisme qui est à l'origine des anomalies de développement des OGE chez les filles atteintes d'HCS [8]. Pendant le second trimestre, le potentiel d'une virilisation plus poussée, même en présence d'un excès d'androgènes, est limité pour deux raisons :

- L'expression fœtale de La P450 aromatasase (CYP19) convertit l'androstènedione et la testostérone respectivement en oestrone et en 17β -oestradiol, ces derniers occupant le récepteur aux androgènes.
- L'expression du récepteur aux androgènes au niveau des OGE féminins décroît après le premier trimestre, hormis au niveau du clitoris, qui conserve une expression de ce récepteur et peut continuer à avoir une croissance androgène-dépendante [6].

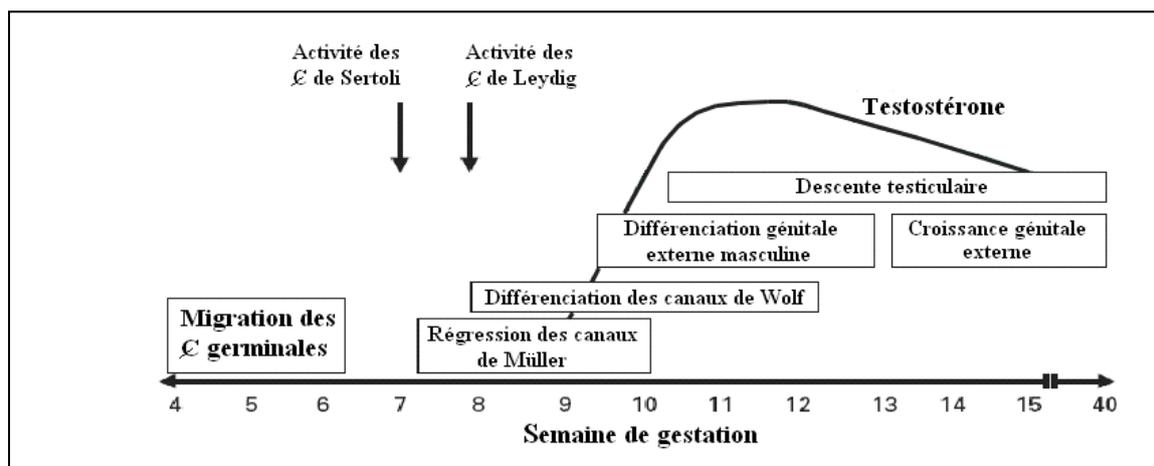


Figure 9 : Cinétique de la différenciation des OGE au cours du développement embryonnaire (D'après Hughes 2002).

II.4 Immaturité enzymatique du prématuré

La maturation de la fonction corticosurrénalienne chez le nouveau-né est intimement liée à l'âge gestationnel [9]. Le dosage du cortisol plasmatique après une stimulation par l'injection intra-veineuse d'une dose de $1\mu\text{g}/\text{Kg}$ d'ACTH montre que les enfants prématurés ont une réponse surrénalienne inférieure aux enfants nés à terme. La sécrétion de cortisol est d'autant plus faible que l'âge gestationnel est faible [9]. Cela suggère une maturation incomplète de la

corticosurrénale chez les nouveau-nés prématurés qui ont une capacité de synthèse de cortisol moindre et/ou une réponse plus faible à l'ACTH.

L'augmentation des concentrations de 11-désoxycortisol et de 17OHP et les faibles concentrations de cortisol plasmatique chez le prématuré né avant 32 semaines d'aménorrhée (SA) sont en faveur d'une immaturité au niveau de l'activité 21-hydroxylase et/ou 11 β -hydroxylase [10, 11].

La faible synthèse de la protéine de transport plasmatique du cortisol, la CBG (Corticostéroïde Binding Globulin) liée à l'immaturité de la synthèse hépatique, participerait aux faibles concentrations de cortisol observées chez certains prématurés [12].

De plus, l'immaturité hépatique et rénale induisent une diminution de la clairance des stéroïdes surrénaliens [13-15].

III. Hyperplasies congénitales des surrénales

L'hyperplasie congénitale des surrénales est un terme incluant une famille d'anomalies héréditaires toutes autosomiques récessives, entraînant un déficit complet ou partiel d'une des cinq enzymes impliquées dans la synthèse du cortisol à partir du cholestérol au niveau du cortex surrénalien. Le déficit héréditaire à l'origine de chaque forme est connu. Une forme consiste en l'association de plusieurs déficits par atteinte d'un transporteur d'électrons. Il existe six entités au sein des HCS.

Le point commun de toutes ces formes est la levée du rétrocontrôle négatif exercé par le cortisol sur l'axe hypothalamo-hypophysaire, entraînant une sécrétion accrue d'ACTH et provoquant une hyperplasie surrénalienne. Les surrénales sont donc hypertrophiées, mais avec une architecture conservée [16, 17].

On peut classer les HCS en deux groupes en fonction de l'atteinte ou non de la synthèse des stéroïdes sexuels :

- Atteinte de la synthèse des stéroïdes sexuels : déficit de conversion du cholestérol en prégnénolone, déficit en 3 β -hydroxystéroïde oxydoréductase et déficit en 17 α -hydroxylase. Dans ces déficits, les filles présentent des OGE normaux et les garçons des anomalies de développement de leurs OGE (hypovirilisation). Le déficit en P450 oxydoréductase entraîne des anomalies de développement des OGE chez le garçon et quelquefois chez la fille.

- Sans atteinte de la synthèse des stéroïdes sexuels : déficit en 21-hydroxylase (CYP21A2) et déficit en 11 β -hydroxylase (CYP11B1). Les enfants de sexe masculin ont des OGE normaux dans ces deux pathologies. A contrario, les filles présentent une virilisation des OGE.

III.1 HCS avec atteinte de la synthèse des stéroïdes sexuels

III.1.1 Défaut de conversion du cholestérol en prégnénolone

III.1.1.1 Hyperplasie lipoïde des surrénales

L'hyperplasie lipoïde des surrénales est la forme la plus sévère des HCS. Elle résulte d'un déficit en protéine StAR, normalement exprimée dans le cortex surrénalien et les gonades mais absente du tissu placentaire [18]. L'hyperplasie lipoïde est caractérisée par une absence de synthèse de toutes les hormones stéroïdiennes au sein des testicules et du cortex surrénalien par défaut de conversion du cholestérol en prégnénolone, précurseur commun aux trois classes d'hormones. L'accumulation de cholestérol et d'ester de cholestérol dans les cellules où a lieu la stéroïdogénèse aboutit à l'aspect lipoïde des surrénales, qui donne le nom de ce déficit enzymatique. L'ovaire n'a pas d'activité stéroïdogénique *in utero*, il est donc "protégé" de l'excès de cholestérol cytotoxique pendant la période embryonnaire. Les sujets 46,XX développent spontanément des caractères sexuels secondaires avant que la stimulation par les hormones gonadotropes n'entraîne l'accumulation progressive de cholestérol au niveau ovarien et l'altération de la stéroïdogénèse ovarienne [19].

C'est la plus rare des HCS en Europe avec 35 cas décrits [4]. Son incidence est plus élevée dans les populations japonaises et coréennes, concernant environ 5% des cas d'HCS [20]. Son incidence est aussi plus importante dans la population palestinienne [21].

La présentation est, en règle générale, celle d'un enfant avec des OGE de phénotype féminin et qui fait une crise de perte de sel dans la première année de vie, souvent dans les deux premiers mois. En l'absence de traitement précoce, l'hyperplasie lipoïde est rapidement fatale du fait de l'insuffisance surrénalienne profonde. Seulement 11 des 35 cas clairement décrits ont survécu [4].

III.1.1.2 Déficit en protéine P450_{scc}

La P450_{scc} est la seule enzyme connue qui catalyse la transformation du cholestérol en prégnénolone. Elle est exprimée au niveau du cortex surrénalien, des gonades et du tissu placentaire [22]. Le gène CYP11A codant la P450_{scc} est localisé sur le chromosome 15 et six mutations ponctuelles sont décrites [22]. Son déficit empêche la synthèse de prégnénolone et donc de la progestérone par le syncytiotrophoblaste, en relais du corps jaune. Or la progestérone étant indispensable au maintien d'une grossesse évolutive, il ne devrait donc pas y avoir de grossesses menées à terme en cas de déficit en P450_{scc}. Actuellement, six cas de patients porteurs d'un déficit en P450_{scc} sont décrits [22]. La présentation clinique est identique au déficit en protéine StAR. En revanche, il n'existe pas d'hyperplasie massive avec un aspect lipoïde des surrénales. La corrélation génotype / phénotype est mauvaise et la naissance, à terme, de deux enfants ayant une activité enzymatique résiduelle nulle n'a pas actuellement d'explication claire.

III.1.2 Déficit en 3 β -hydroxystéroïde oxydoréductase de type 2 (HSD3B2)

L'HCS due au déficit en 3 β -hydroxystéroïde oxydoréductase (HSD3B2) est rare et les données sur la prévalence de cette atteinte sont peu nombreuses. Le gène HSD3B2 se situe sur le chromosome 1p13-1. La HSD3B2, également nommée Δ 4/ Δ 5 isomérase, catalyse trois réactions de la stéroïdogénèse surrénalienne et joue un rôle dans la formation des trois classes de stéroïdes. Elle assure la conversion des Δ 5-stéroïdes (prégnénolone, 17-hydroxyprégnénolone et DHEA), en Δ 4-stéroïdes (progestérone, 17-hydroxyprogestérone et androstenedione). Ce déficit affecte donc les trois voies de synthèse, glucocorticoïdes, minéralocorticoïdes et stéroïdes sexuels.

Il existe un large spectre de présentation clinique de cette affection, allant de la perte de sel sévère à des formes sans perte de sel, avec présence ou non d'anomalies de développement des OGE (chez les garçons), un tableau de prématurité pubarche isolé chez les enfants atteints (dans les deux sexes), ou bien hirsutisme et troubles menstruels avec infertilité (chez la fille). A l'image du déficit en 21-hydroxylase, une catégorisation en formes classiques et formes non classiques tardives peut être utilisée [4].

Dans la forme classique, les garçons présentent un défaut de virilisation de leurs OGE avec perte de sel. En cas de cryptorchidie bilatérale associée, le phénotype est identique à celui d'une fille atteinte de forme classique de déficit en 21-hydroxylase. L'augmentation de la

17OHP à la naissance contribue à cette erreur diagnostic. Le diagnostic de déficit en HSD3B2 est souvent retardé en l'absence d'anomalies des OGE et de perte de sel. De plus, ces enfants peuvent être diagnostiqués à tort comme étant atteints d'un bloc en 21-hydroxylase [23].

Le diagnostic biologique est fait devant une augmentation des $\Delta 5$ -stéroïdes comme la DHEA et la 17-hydroxyprégnénolone. Le prégnétriol urinaire est augmenté. Un rapport entre les métabolites urinaires $\Delta 5/\Delta 4$ augmenté est fortement évocateur de ce déficit enzymatique. Deux groupes ont affiné les critères hormonaux de diagnostic du déficit en HSD3B2 : le taux de 17-hydroxyprégnénolone ainsi que le ratio 17-hydroxyprégnénolone / cortisol, à l'état basal et après stimulation par l'ACTH, sont les valeurs les plus discriminantes pour ce diagnostic [23]. Certains proposent comme arguments diagnostiques un taux de 17-hydroxyprégnénolone trois fois plus élevé que la limite supérieure et un rapport 17-hydroxyprégnénolone / 17-hydroxyprogestérone supérieur à 15 [4].

Tout diagnostic de déficit en HSD3B2 doit être confirmé par biologie moléculaire.

III.1.3 Déficit en 17 α -hydroxylase (CYP17A1)

Le déficit en 17 α -hydroxylase (CYP17A1) est également une forme d'HCS rare. Sa prévalence est estimée à 1% de tous les cas d'HCS avec 150 cas rapportés dans la littérature [4]. La plupart des cas sont observés au sein de familles consanguines.

Le déficit en CYP17A1 se traduit par un défaut de synthèse des glucocorticoïdes et des stéroïdes sexuels. Il existe également une accumulation de précurseurs minéralocorticoïdes, tels que la désoxycorticostérone et la corticostérone, qui ont une faible activité glucocorticoïde. Les patients souffrant d'un déficit en CYP17A1 ne présentent donc pas nécessairement une crise d'insuffisance surrénalienne aiguë.

L'accumulation de désoxycorticostérone et de corticostérone entraîne une augmentation de l'activité minéralocorticoïde, à l'origine d'une hypertension par rétention hydro-sodée avec hypokaliémie.

Le déficit de l'activité 17,20 lyase et le défaut de synthèse de stéroïdes sexuels entraînent des troubles de la virilisation chez le sujet 46,XY à la naissance et une aménorrhée primaire chez la fille 46,XX. Dans les deux sexes, il existe une absence de puberté par hypogonadisme hypergonadotrope.

Du fait de l'absence de crise aiguë chez les patients non traités, le diagnostic est souvent fait de façon tardive à l'adolescence devant un retard pubertaire, ou bien chez l'adulte jeune lors d'un bilan d'hypertension avec hypokaliémie.

Les concentrations sériques de 11-désoxycorticostérone, de corticostérone, de prégnénolone et de progestérone sont augmentées et présentent une augmentation exagérée sous ACTH. Les concentrations urinaires de tétrahydro-désoxycorticostérone, de tétrahydro-corticostérone, de prégnènediol et de prégnanediol sont augmentées. Le taux d'aldostérone est variable, le plus souvent effondré du fait de l'effet freinateur de la désoxycorticostérone sur le système rénine-angiotensine-aldostérone.

Le traitement par hydrocortisone à dose physiologique permet de freiner la sécrétion de désoxycorticostérone et ainsi de contrôler l'hypertension artérielle. Ce traitement démasque un hypo-aldostéronisme avec hyponatrémie qui se corrige très progressivement.

Le déficit en 17,20 lyase requiert une substitution en androgènes ou œstrogènes pour déclencher la puberté. Une chirurgie est nécessaire pour mettre en adéquation l'aspect des OGE avec le sexe d'élevage des sujets 46,XY avec une castration si élevage dans le sexe féminin.

III.1.4 Déficit en P450-oxydoréductase (POR)

Il entraîne un déficit en 21-hydroxylase, en 17 α -hydroxylase et en aromatasase.

Le gène POR est situé sur le chromosome 7q11, il code pour la protéine POR qui permet le transport d'électrons du NADPH à 3 cytochromes P450 microsomaux : CYP17A1, CYP21A2 et CYP19A1. C'est un déficit en transporteur d'électrons plus qu'un déficit enzymatique proprement dit [24].

La transmission est autosomique récessive et il existe une association avec le syndrome d'Antley-Bixter lorsque ce dernier est de type 2. Cette association n'est pas expliquée actuellement. Le syndrome d'Antley-Bixter regroupe une craniosynostose avec hypoplasie de l'étage moyen de la face, une synostose radio-humérale, une incurvation fémorale et des contractures articulaires avec fractures néonatales dans les cas les plus sévères. 41 cas ont été décrits [25]. Les marqueurs sériques qui sont augmentés comprennent la prégnénolone, la progestérone et la 17 α -hydroxyprogestérone. Au niveau urinaire, il existe une excrétion accrue du prégnènediol, du prégnanediol et de la 17-hydroxyprégnanolone.

Contrairement à toutes les autres formes d'HCS, ce déficit entraîne des anomalies de développement des OGE dans les deux sexes. Les filles affectées peuvent présenter un virilisation importante des OGE, indiquant une hyperandrogénie prénatale. Cette hyperandrogénie peut également viriliser la mère pendant la grossesse [24]. Les garçons atteints sont parfois hypovirilisés, avec des degrés variables allant du micropénis à

l'hypospade périnéoscrotal. Il existe donc des signes d'hyperandrogénie prénatale chez les filles mais aussi des signes d'hypoandrogénie prénatale chez le garçon. Il n'y a pas de progression de la virilisation des filles en postnatal. Les taux d'androgènes plasmatiques sont diminués ou sub-normaux dans les deux sexes après la naissance.

L'hypothèse pour expliquer cette contradiction est l'existence d'une voie de synthèse des androgènes accessoire, au sein de la surrénale fœtale uniquement, qui court-circuite la DHEAS (Fig.10).

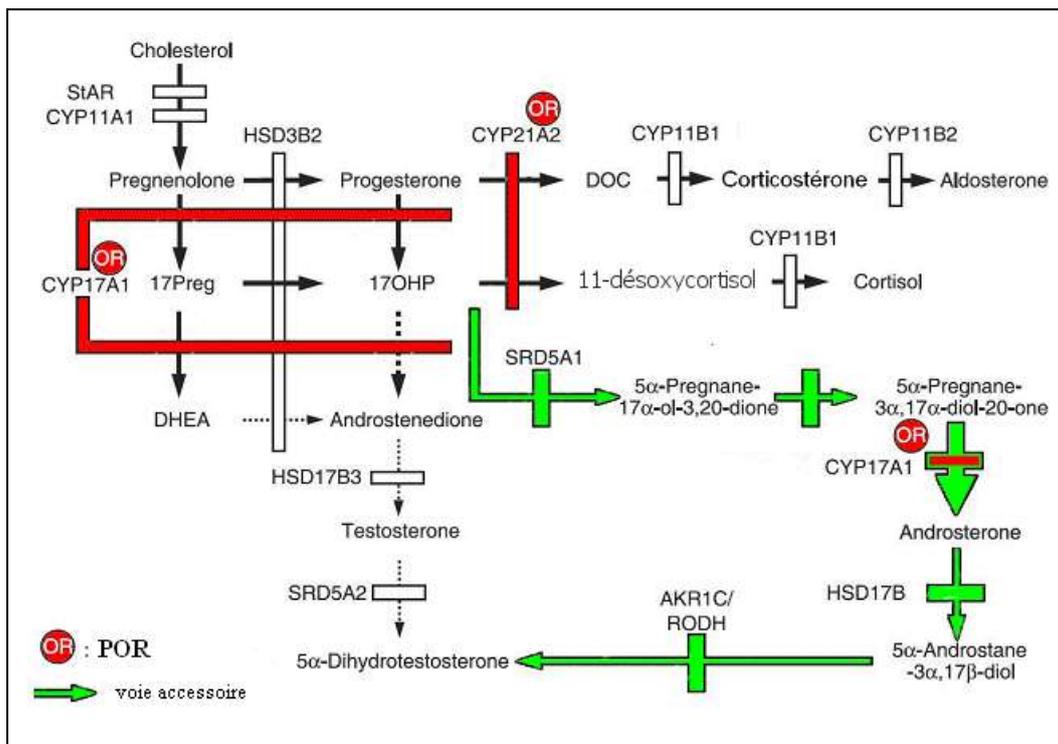


Figure 10 : Voie accessoire de synthèse des androgènes dans le déficit en P450-oxdoréductase (D'après Krone 2007 "Congenital adrenal hyperplasia and P450-oxidoreductase deficiency").

La première étape de cette voie alternative est la conversion de la 17OH en 5 α -pregnane-3 α ,17 α -diol-20-one par l'action séquentielle de la 5 α -réductase de type 1 (SDR5A1) puis de la 3 α -hydroxystéroïde oxydoréductase. La 5 α -pregnane-3 α ,17 α -diol-20-one via l'activité 17,20 lyase de CYP17A1 peut être convertie en androstérone qui est transformée en androgènes actifs.

Le déficit partiel de l'activité de CYP17A1 dans cette voie est compensé par la plus forte affinité de la 5 α -pregnane-3 α ,17 α -diol-20-one en tant que substrat pour cet enzyme. En effet, il est montré que la 5 α -pregnane-3 α ,17 α -diol-20-one a une affinité bien supérieure à la 17-

hydroxyprégnénolone pour le CYP17A1. De même, l'affinité de la 5 α -pregnane-3 α ,17 α -diol-20-one est 100 fois plus importante vis-à-vis de l'activité de CYP17A1 que celle de la 17OHP.

La disparition de cette voie alternative à la naissance, probablement par disparition de l'expression de SDR5A1 au profit de SDR5A2, qui ne peut pas convertir la 17OHP en 5 α -pregnane-3 α ,17 α -diol-20-one, expliquerait les taux d'androgènes bas observés chez ces enfants 46,XX avec des OGE virilisés [6].

Le déficit combiné en CYP17A1 et CYP21A2 aboutit à un déficit en glucocorticoïdes dans la majorité des cas. Comme il n'existe plus d'hyperandrogénie en postnatal, les doses de glucocorticoïdes nécessaires au traitement de cette pathologie sont inférieures à celles nécessaires lors du déficit en 21-hydroxylase. En l'absence de substitution par l'hydrocortisone, ces enfants peuvent développer une crise d'insuffisance surrénale aiguë. La voie minéralocorticoïde n'est généralement pas touchée, l'activité rénine plasmatique et le taux plasmatique d'aldostérone sont normaux. Quelques cas ont montré une excrétion augmentée de métabolites minéralocorticoïdes avec augmentation de la tension artérielle [24].

III.2 HCS sans atteinte de la synthèse des stéroïdes sexuels

III.2.1 Déficit en 11 β -hydroxylase (CYP11B1)

La 11 β -hydroxylase catalyse la dernière étape de la synthèse du cortisol via la conversion du 11-désoxycortisol en cortisol. Elle est impliquée également dans la transformation de la désoxycorticostérone en corticostérone.

Approximativement 5 à 8% des cas d'HCS sont dus à un déficit en 11 β -hydroxylase [26], soit une incidence de 1 cas pour 50 000 à 100 000 naissances vivantes [20]. Une incidence plus forte est observée en Israël au sein d'une population immigrée du Maroc (1 cas pour 5000 à 1 cas pour 7000 naissances vivantes) [27]. Ce déficit est le plus fréquent après le déficit en 21-hydroxylase.

Deux cytochromes ont une activité 11 β -hydroxylase dans le cortex surrénalien : la 11 β -hydroxylase, exprimée dans la zone fasciculée, et l'aldostérone synthétase, exprimée dans la zone glomérulée, et qui possède également une activité 18-hydroxylase et 18-oxydase. L'aldostérone synthétase catalyse la formation d'aldostérone à partir de la corticostérone.

Le déficit en 11 β -hydroxylase entraîne une baisse de la sécrétion de cortisol et une accumulation de 11-désoxycortisol (précurseur glucocorticoïde), et de désoxycorticostérone (précurseur minéralocorticoïde). La majorité des patients présente donc une hypertension artérielle car les taux élevés de désoxycorticostérone activent le récepteur des minéralocorticoïdes. Il n'existe aucune perte de sel.

Les précurseurs accumulés sont déviés vers la voie des androgènes. L'hyperandrogénie qui en résulte est la cause de la virilisation sévère généralement observée chez les foetus 46,XX. Dans les deux sexes, cette hyperandrogénie est la cause d'une puberté précoce combinée à une croissance somatique accélérée avec avance d'âge osseux et une petite taille finale à l'âge adulte. Une forme non classique est possible, mais extrêmement rare, avec absence de trouble du développement des OGE chez la fille et présence de signes d'hyperandrogénie dans l'enfance ou à l'âge adulte (hirsutisme et oligoménorrhées) [28].

Le gène CYP11B1 codant pour la 11 β -hydroxylase se trouve sur le chromosome 8q21, approximativement à 40 kb du gène hautement homologue CYP11B2 de l'aldostérone synthétase [29].

Ce gène est constitué de 9 exons. Les mutations inactivatrices sont distribuées sur l'ensemble de la région codante du gène. Un cluster est reporté au sein des exons 2, 6, 7 et 8 mais il n'y a pas de "hot spot". Il est difficile de retrouver des mutations dans les formes non classiques (fille non virilisée à la naissance). Aucune mutation du gène CYP11B1 responsable du déficit en 11 β -hydroxylase n'a été retrouvée dans le gène CYP11B2.

L'hyperandrogénie importante nécessite des doses élevées d'hydroxycortisone pour réprimer l'axe corticotrope chez ces patients. De plus, le traitement par glucocorticoïde ne suffit pas toujours à contrôler l'hypertension artérielle et un traitement anti-hypertenseur est, dans ce cas, nécessaire.

IV. Hyperplasie congénitale des surrénales par déficit en 21-hydroxylase

La physiopathologie du déficit en 21-hydroxylase est étroitement liée au degré de l'activité enzymatique résiduelle. Le déficit en 21-hydroxylase entraîne une insuffisance de synthèse de cortisol, avec ou sans déficit minéralocorticoïde, et une hyperandrogénie.

Le déficit en cortisol aboutit à une augmentation compensatrice de la CRH hypothalamique et de l'ACTH hypophysaire du fait de la disparition du rétrocontrôle négatif exercé par le cortisol sur ces hormones corticotropes. Ceci induit une hyperplasie de la glande et une

accumulation des précurseurs en amont du bloc enzymatique. Ces précurseurs sont déviés vers la voie de biosynthèse des androgènes. L'accroissement de la sécrétion des androgènes surrénaliens à partir de la huitième semaine de grossesse et leur transformation périphérique en testostérone et dihydro-testostérone entraîne une virilisation des OGE chez le fœtus 46,XX. L'hyperandrogénie est par la suite responsable d'une puberté précoce avec croissance somatique accélérée aboutissant à une petite taille adulte.

L'insuffisance de synthèse d'aldostérone est variable et la perte de sel au niveau rénal résulte de deux composantes : l'hypoaldostéronisme d'une part et d'autre part l'effet anti-aldostérone de la progestérone et de la 17OHP présentes en excès.

L'existence d'une perte de sel est parfois difficile à déterminer, notamment chez les enfants traités après un dépistage positif.

IV.1 Formes cliniques

Il existe un spectre continu de manifestations phénotypiques associées au déficit en 21-hydroxylase. Ces manifestations dépendent du taux d'activité résiduelle de l'enzyme et sont liées aux types de mutations présentes sur le gène CYP21A2.

Classiquement, il est décrit trois formes selon la clinique, le profil hormonal et des critères génétiques : deux formes sévères dites "classiques", l'une avec perte de sel, l'autre sans perte de sel (virilisante pure) et une forme modérée, dite forme "non classique" ou "tardive".

Le classement des patients dans les trois catégories "perte de sel", "virilisation simple" et "non classique" sur des arguments clinico-biologiques est parfois difficile à faire. Le critère majeur pour classer un patient dans le groupe "forme classique" est la survenue d'une crise de perte de sel. Une fille sera classée en forme "non classique" en cas d'absence de virilisation, si les symptômes cliniques apparaissent rapidement après la naissance et si le taux de cortisol n'est pas trop abaissé. Les autres cas sont difficiles à catégoriser, particulièrement pour les enfants dépistés à la naissance qui sont substitués en minéralocorticoïde avant toute crise clinique de perte de sel.

IV.1.1 Formes classiques

IV.1.1.1 Forme classique avec perte de sel

Cette présentation clinique est rencontrée dans 2/3 des cas de formes "classiques". Au déficit sévère en cortisol s'ajoute un déficit en aldostérone. Ces enfants sont incapables de maintenir l'homéostasie sodée, aboutissant, entre une semaine et un mois de vie, à une crise de perte de sel avec hyponatrémie, hyperkaliémie et hypovolémie. En l'absence de traitement adapté, le décès survient par choc hypovolémique. Des signes non spécifiques accompagnent la crise : léthargie, mauvaise tétée, vomissements et hypotonie.

Chez le fœtus 46,XX l'hyperandrogénie présente *in utero*, caractéristique de la forme "classique", est à l'origine d'une virilisation des OGE à un degré variable. En cas de virilisation sévère (stade V de Prader) et d'une cryptorchidie bilatérale associée, le mauvais assignement du sexe d'élevage à la naissance est possible.

Chez le fœtus 46,XY l'excès d'androgènes surrenaliens est sans conséquence sur le développement des OGE et leur masculinisation est normale, même si une macrogénitosomie peut être observée avec une hyperpigmentation [30]. L'absence de signes visibles à la naissance chez les garçons atteints faisait méconnaître le diagnostic avant l'avènement du dépistage néonatal [31].

IV.1.1.2 Forme virilisante pure

La forme virilisante pure représente 1/4 à 1/3 des cas de formes classiques d'HCS. Dans cette forme, l'activité de la 21-hydroxylase n'est pas complètement nulle et du fait de la stimulation de la zone glomérulée par le système rénine-angiotensine, des niveaux d'aldostérone adéquats sont générés, permettant une réabsorption du sodium rénal. De même, la stimulation par les concentrations augmentées d'ACTH permet une sécrétion de cortisol, mais de façon insuffisante. L'accumulation des précurseurs de synthèse du fait du déficit partiel entraîne, comme dans la forme avec perte de sel, une hyperandrogénie conduisant à la masculinisation variable des fœtus féminins.

La virilisation peut aller d'une hypertrophie clitoridienne modérée à un aspect de type masculin complet. Les différents stades de virilisation des OGE sont décrits par la classification de Prader (Fig.11).

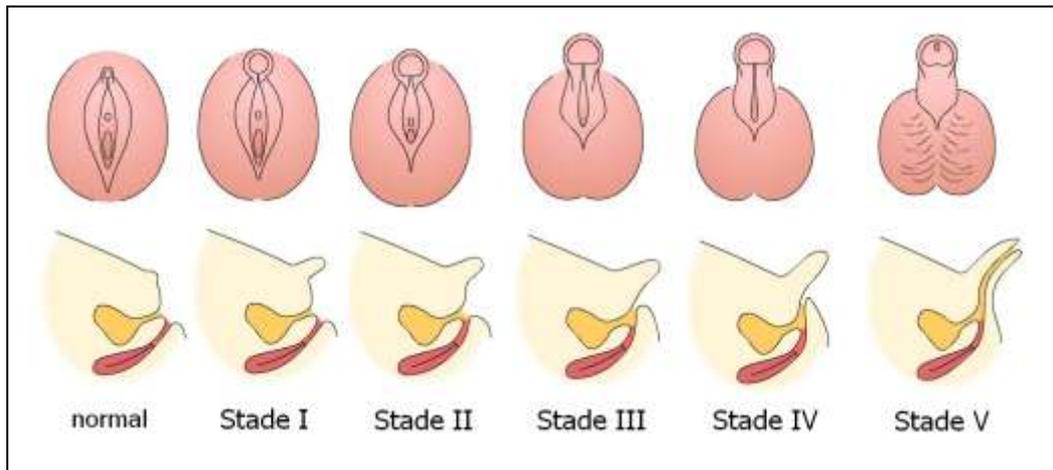


Figure 11 : Classification des anomalies de développement des OGE chez la fille selon Prader
Stade I : vulve normale avec hypertrophie clitoridienne. **Stade II** : large vestibule en entonnoir s'ouvrant à la base du clitoris (sinus urogénital à 2 orifices séparés pour l'urètre et le vagin). Grandes lèvres séparées ou partiellement soudées. **Stade III** : clitoris volumineux à la base duquel s'ouvre l'orifice unique d'un sinus urogénital étroit dans lequel se jettent urètre et vagin. Grandes lèvres partiellement soudées. **Stade IV** : aspect de garçon avec verge hypoplasique et souvent coudée. Hypoplasie périnéale, orifice unique d'allure urétrale s'ouvrant à la face inférieure (hypospadias) correspondant à un sinus urogénital dans lequel s'abouche à quelques centimètres du méat un vagin hypoplasique. Grandes lèvres soudées. Dans le stade IV bis, le vagin ne communique pas avec le sinus et ne peut donc pas être démontré par la génitographie. **Stade V** : aspect de garçon cryptorchide. Le vagin s'abouche très haut dans l'urètre. Dans le stade V bis, le vagin ne communique pas avec l'urètre.

Au cours de leur croissance, les enfants non traités atteints de forme virilisante pure et de forme avec perte de sel, présenteront des signes d'hyperandrogénie incluant généralement une apparition précoce des poils pubiens, suivi du développement de la pilosité axillaire, d'acné, d'une pilosité faciale, d'une croissance somatique rapide avec une avance d'âge osseux et une fusion prématurée des cartilages de croissance.

Les filles non traitées ont une puberté anormale et présentent un élargissement du clitoris, de l'hirsutisme, une calvitie de type masculine, des kyste ovariens, une aménorrhée ou des règles irrégulières et par conséquent, une hypofertilité primaire. Des taux de grossesses spontanées de 7 à 60% et de 60 à 80 % sont observés, respectivement, pour les formes classiques avec perte de sel et pour les formes virilisantes pures. Aux désordres hormonaux s'ajoutent l'impact de la reconstruction génitale éventuelle et une tendance à l'homosexualité chez les patientes atteintes de forme classique [32, 33].

Les garçons en période prépubertaire présentent un élargissement du pénis malgré des petits testicules et peuvent souffrir par la suite d'une hypofertilité [34]. Cette hypofertilité peut résulter de la présence de tissu surrénalien ectopique au sein des testicules, conduisant à une oligozoospermie et à une défaillance des cellules de Leydig [35].

IV.1.2 Forme non classique

La forme "non classique" est caractérisée par l'absence de signe d'hyperandrogénie à la naissance. Les filles n'ont donc pas d'anomalies des OGE à la naissance. La sécrétion d'aldostérone est normale et il n'y a jamais de crise de perte de sel.

La forme non classique a été découverte lors de l'étude de familles atteintes de forme classique où des membres complètement asymptomatiques ont été trouvés porteurs de mutations sur le locus du gène de la 21-hydroxylase. Les marqueurs hormonaux confirmaient une diminution de l'activité de la 21-hydroxylase. Par la suite, ces sujets sont devenus symptomatiques avec des signes d'hyperandrogénie. Les mutations spécifiques de la forme non classique ont alors été décrites.

Dans la forme non classique, le déficit partiel en 21-hydroxylase entraîne un excès d'androgènes en période post-natale qui se manifeste de manière variable dans l'enfance et/ou à l'âge adulte. La figure 12 résume les différents symptômes retrouvés en fonction de l'âge au cours des formes non classiques.

Dans les deux sexes, ces patients peuvent présenter une puberté précoce avec une croissance somatique accélérée et une petite taille adulte finale. Ces patients sont de grands enfants mais de petits adultes. Dans une cohorte de 45 patients, 69% des cas prouvés génétiquement avaient une avance d'âge osseux de 2 ans ou plus à l'âge de 12 ans [36]. Chez les enfants présentant une puberté précoce, il est retrouvé une forme non classique de déficit en 21-hydroxylase dans 5 à 10% des cas [30]. Une seule étude décrit un pourcentage plus important avec 30% des pubertés précoces dues à ce déficit partiel [36].

L'hirsutisme est le signe d'hyperandrogénie présent de façon isolée chez la majorité des patientes (60% des cas), suivi par l'oligo-aménorrhée (54%), puis l'acné (33%).

Dans 40% des cas, les femmes porteuses d'une forme non classique développeront un syndrome des ovaires polykistiques. L'hypofertilité est moins fréquente dans cette forme et le taux de grossesse avant traitement est de 50%, atteignant 93 à 100% après traitement [37]. Néanmoins, les études sur la fertilité de ces patients ne portent que sur les cas ayant présenté des signes d'hyperandrogénie et ne reflètent donc probablement pas le taux de grossesse de l'ensemble (plus large) de tous les cas de forme non classique. Au total, dans ces formes non classiques, l'hypofertilité ne se manifeste que chez 13% des femmes atteintes. De plus, la prévalence des formes non classiques de déficit en 21-hydroxylase n'est pas plus importante chez les patients consultant pour un trouble de la fertilité par rapport à la population générale

[38]. De même, des études moléculaires ne montrent pas de corrélation entre le génotype et la fertilité [36].

Chez les hommes, l'hyperandrogénie peut induire une oligospermie et une hypofertilité retrouvées dans plusieurs études [36]. Du tissu surrénalien ectopique au sein des testicules est également possible. Une étude n'a néanmoins pas mis en évidence de dysfonctionnement gonadique chez les hommes atteints de cette forme avec des comptes spermatisques sensiblement normaux [30].

De plus, les études familiales montrent que l'excès d'androgènes n'est pas constant chez les sujets atteints de forme non classique. Ainsi, des formes totalement asymptomatiques existent [30].

Parfois, la distinction entre forme virilisante pure et forme non classique est difficile à faire chez le garçon. En effet, les symptômes d'hyperandrogénie peuvent ne pas être diagnostiqués à la naissance. Ces enfants sont alors diagnostiqués tardivement et à tort comme souffrant d'une forme non classique [20]. Ce retard diagnostique est problématique car le traitement retardé est associé à des difficultés de contrôle de l'axe hormonal, aboutissant à une puberté précoce avec petite taille finale adulte [34].

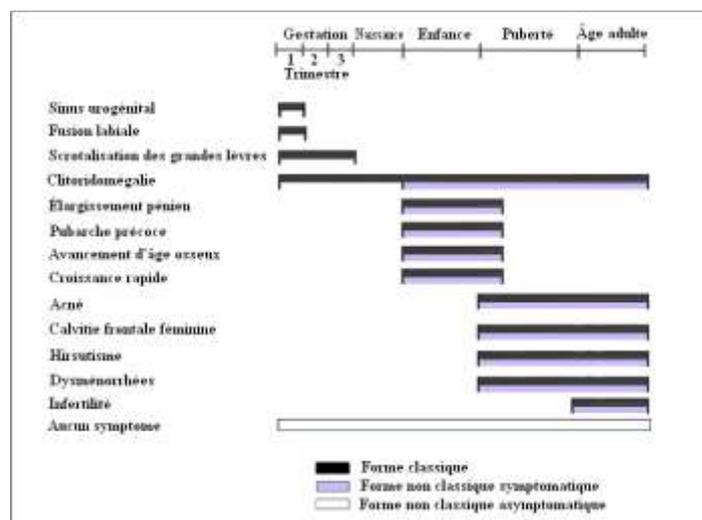


Figure 12 : Spectre clinique des différentes formes de déficit en 21-hydroxylase (D'après New 2006 "Extensive clinical experience : non classical 21-hydroxylase deficiency").

IV.2 Epidémiologie

Les données issues des programmes de dépistage effectués dans 13 pays (USA, France, Italie, Nouvelle Zélande, Japon, Royaume Uni, Brésil, Suisse, Suède, Allemagne, Portugal, Canada, et Espagne) montrent que cette pathologie est commune. L'incidence moyenne est de 1/15 000 naissances vivantes pour la forme classique dans la population caucasienne (1/10000 - 1/25000) [30]. En France, l'incidence de 1/15 956 en métropole est peu différente de celle des Antilles (1/18 455). Par contre, elle est plus importante (1/6097) à la Réunion. Une perte de sel est observée dans 67% des cas chez les patients atteints [31].

L'incidence varie selon les ethnies et les zones géographiques. Les taux les plus élevés de formes classiques sont observés au sein de deux populations isolées géographiquement : chez les esquimaux Yupic en Alaska (1/280) et chez les habitants de l'île de la Réunion. Des incidences élevées sont rapportées également au Brésil (1/7000) et aux Philippines (1/7000). Aux Etats-Unis, l'incidence est plus faible au sein de la population afro-américaine (1/42000) par rapport à la population caucasienne (1/16000 - 1/10000).

La fréquence des hétérozygotes pour la forme classique est de 1 pour 60 individus dans la population générale [30].

La forme non classique est estimée comme étant plus fréquente que la forme classique. Le dépistage néonatal dont les résultats donnent des valeurs voisines du seuil de rappel n'est pas performant pour les formes non classiques. La prévalence estimée de la forme non classique au sein de la population caucasienne est de 1/1000 [30]. Cette forme non classique est plus fréquente chez les Juifs Ashkenaze (1/27), en Espagne (1/40) et en Yougoslavie (1/60) [39].

IV.3 Traitements

La prise en charge de l'HCS est une urgence thérapeutique lorsqu'il existe un déficit en minéralocorticoïdes pouvant entraîner une perte de sel urinaire. Le traitement consiste donc à fournir un apport sodé journalier (1 à 3g/jour) ainsi que de la 9 α -fluorocortisone, comme minéralocorticoïde de substitution.

Le second versant du traitement de l'HCS est la suppression de l'hypersécrétion d'androgènes surrénaliens par l'administration d'hydrocortisone. Cette suppression doit être suffisante pour empêcher l'apparition d'une hypervirilisation, sans toutefois amputer la croissance staturale et le développement d'une puberté normale. L'équilibre est particulièrement difficile à obtenir pendant la puberté [40].

En cas de stress, il est classiquement recommandé de doubler voire de tripler les doses journalières jusqu'à la fin de l'épisode aigu.

La substitution à des doses physiologiques en corticoïdes et en minéralocorticoïdes ne réussit pas à reproduire ni la relation fine existante entre les sécrétions de CRH et d'ACTH, ni la sécrétion nyctémérale du cortisol.

L'hypocorticisme intra-utérin affecte en post natal la sensibilité du mécanisme du rétrocontrôle inhibiteur, le rendant moins sensible à la thérapeutique. Ainsi, la plupart des patients nécessitent des doses supraphysiologiques de glucocorticoïdes pour éteindre l'hyperproduction d'androgènes par la corticosurrénale. La conjugaison de l'hypercorticisme iatrogénique avec une jugulation imparfaite de l'hyperandrogénie ampute la taille finale des patients et peut induire une insulino-résistance, un syndrome métabolique et une infertilité [30].

Des protocoles utilisant des anti-androgènes et des anti-aromatases en association avec des doses réduites de corticoïdes semblent efficaces. Des protocoles utilisant des agonistes de GnRH et de l'hormone de croissance sont également à l'étude [40].

Les gestes chirurgicaux, clitoridoplastie, vaginoplastie et périnéoplastie, sont effectués lors d'anomalies de développement des OGE chez la fille. La correction chirurgicale est habituellement programmée entre l'âge de 2 et 6 mois.

IV.4 Gène CYP21A2

L'HCS est une maladie héréditaire qui se transmet sur le mode monogénique autosomal récessif.

Le gène CYP21A2 codant pour la 21-hydroxylase a été découvert en 1984 [41]. Il est présent sous forme dupliquée avec un pseudogène hautement homologue situé dans la même région. Ce pseudogène inactif est le siège de nombreuses mutations sévères à l'origine d'une enzyme non fonctionnelle. L'échange de matériel génétique entre ces deux gènes homologues est relativement fréquent, expliquant pourquoi le déficit en 21-hydroxylase est plus fréquent que les autres blocs enzymatiques surrénaliens.

La fréquence d'un allèle déficient pour la 21-hydroxylase dans la population générale est estimée à 2% [1].

IV.4.1 Locus CYP21

Le gène CYP21A2 (également appelé CYP21 ou CYP21B), est localisé sur le bras court du chromosome 6 dans la région 6p21.3 (région du HLA de classe III). A environ 30 kilobases du gène CYP21A2 se trouve son pseudogène homologue CYP21A1P (nommé également CYP21P et CYP21A). Ces deux gènes présentent 98% d'homologie au niveau de leurs dix exons et 96% au niveau de leurs introns. Le gène CYP21A1P est inactif du fait de la présence de mutations délétères.

Le gène et le pseudogène sont inclus dans une région nommée RCCX selon une disposition bimodale (RCCX-RCCX), composée de deux groupes de quatre gènes qui sont en tandem (Fig.13) : RP1-C4A-CYP21A1P-TNXA et RP2-C4B-CYP21A2-TNXB. Les gènes C4A et C4B codent pour le quatrième composant du complément. RP1 code pour une protéine nucléaire et RP2 est une copie tronquée non fonctionnelle de RP1. TNXB code pour une protéine extracellulaire matricielle (la tenascine X) et chevauche le gène CYP21A2 sur le brin d'ADN opposé. De même, le gène TNXA est une copie tronquée du gène TNXB et chevauche CYP21A1P également sur le brin opposé.

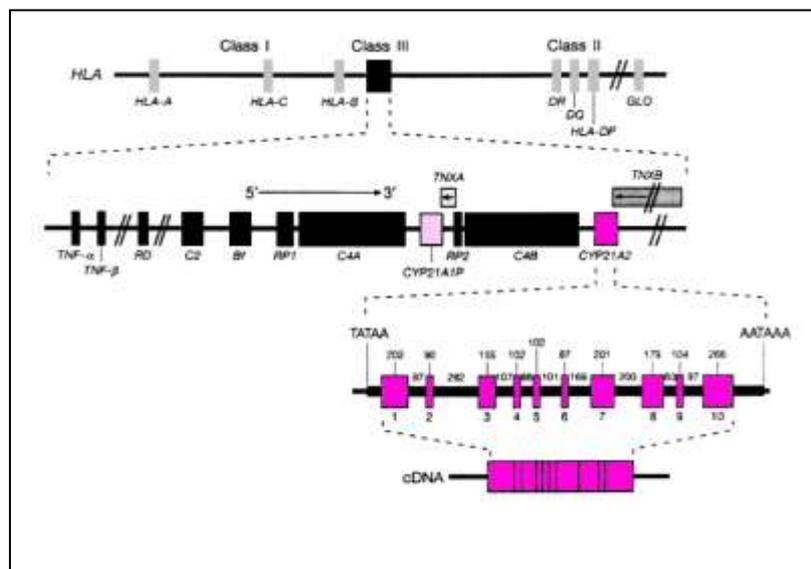


Figure 13 : Cartographie du gène CYP21A2 (D'après *Expert reviews in Molecular Medicine* 2007).

IV.4.2 Liaison au HLA

Le gène CYP21A2 est intimement lié au système HLA. Certaines formes particulières de déficit en 21-hydroxylase sont donc associées à des haplotypes HLA particuliers. Ce trait est la conséquence d'un déséquilibre de liaison génétique. Ainsi, la forme classique avec perte de sel est plutôt associée au HLA A3; Bw47; DR7 particulièrement dans la population nord européenne. La forme non classique est plutôt associée avec le HLA B14; DR1 chez la population d'Europe de l'Est. Cet haplotype est associé à la mutation V281L au sein du gène CYP21A2.

Ce déséquilibre de liaison a été utilisé pour le diagnostic prénatal par la technique du typage HLA du cas index.

IV.4.3 Mutations et réarrangements à l'origine du déficit en 21-hydroxylase

En juin 2007, la banque de données "Human Gene Mutation Database" (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>) dénombre 106 mutations pour le gène CYP21A2 : 96 donnent une forme classique et 4 donnent une forme non classique. 6 mutations sont asymptomatiques.

IV.4.3.1 Réarrangements

La fréquence des recombinaisons entre CYP21A1P et CYP21A2 est expliquée par deux phénomènes :

1/ La localisation de ces gènes dans le système du complexe majeur d'histocompatibilité dans lequel le fort taux de recombinaison, permettant une diversification de la réponse immune, a été favorisée au cours de l'évolution.

2/ La grande homologie entre les fragments RCCX dupliqués, longs de 35 kilobases.

Des crossing-over inégaux durant la méiose donnent une large variété de réarrangements en fonction du point de cassure, comme des duplications de gènes ou de grandes délétions incluant les gènes C4 et CYP21A2. La large délétion impliquant CYP21A2 et C4B représente approximativement 20% à 45% des allèles chez les patients atteints de forme classique dans la plupart des pays [42], mais sont plus rares (environ 10%) dans d'autres pays comme le Portugal, le Mexique ou l'Égypte [1, 43]. Il est décrit des allèles avec duplication du gène

CYP21A2. Ces duplications compliquent l'analyse des mutations : une des copies dupliquées peut avoir une mutation détectée par les méthodes traditionnelles, tandis que la seconde copie peut être dépourvue de toute mutation et rendre cet allèle parfaitement fonctionnel.

Sont également décrites des petites ou des grandes conversions dans lesquelles les mutations du gène CYP21A1P (qui empêchent toute transcription) sont transférées au gène CYP21A2. Les grandes conversions géniques aboutissent à des chimères CYP21A1P/CYP21A2. Une séquence de longueur variable de CYP21A1P se trouve alors dans la région 5' du gène CYP21A2. Ce gène chimère ne code pas pour une 21-hydroxylase fonctionnelle pour deux raisons : d'une part, la présence de mutations délétères dans la région 5' occupée par CYP21A1P et d'autre part, le promoteur du pseudogène ne possède que 20% de l'activité transcriptionnelle comparativement à celui du gène CYP21A2.

IV.4.3.2 Mutations ponctuelles

Il existe huit mutations fréquemment décrites dans le gène CYP21A2 : g.655A/C>G (épissage anormal de l'intron 2), g.999T>A (p.I172N), g.1683G>T (p.V281L), g.1994C>T (p.Q318X), g.89C>T (p.30L), g.707_714delGAGACTAC (p.G110_Y112delfs), g.2108C>T (p.R356W) et g.2578C>T (p.453S) [1]. Excepté pour la dernière, ces mutations sont toutes présentes sur le pseudogène CYP21A1P et sont présumées avoir été transférées lors de courts réarrangements de gène.

Les deux mutations les plus fréquentes sont g.655A/C>G (épissage anormal de l'intron 2) et g.999T>A (p.I172N) dans la plupart des pays [20]. Néanmoins, en Tunisie la mutation la plus fréquente est g.1994C>T (p.Q318X) [20] et d'autres mutations particulières sont retrouvées dans l'île de la Réunion [4].

Parmi les allèles à l'origine d'une forme non classique, la mutation la plus fréquente est g.1683G>T (p.V281L) au sud de l'Europe et en Afrique du nord. La fréquence de cette mutation est la plus importante dans la population juive Ashkenaze avec une prévalence de plus de 10% [20].

Des mutations *de novo* peuvent également se produire au niveau du gène actif CYP21A2 mais représentent un faible pourcentage, bien que paraissant plus importantes que précédemment décrit [44]. Les mutations non issues de conversions (non présentes sur le pseudogène CYP21A1P) représentent 5 à 10% des allèles déficitaires dans la population générale. La plus fréquente, p.453S, semble liée à un polymorphisme occasionnel.

Le tableau 1 ci-dessous, présente les fréquences des mutations les plus communes en Europe de l'ouest.

| | Pays bas (n = 370) | Suisse (n = 400) | Finlande (n = 102) | Danemark (n = 136) | Royaume uni (n = 284) | Allemagne (n = 310) | Autriche (n = 158) | France (n = 258) | Italie (n = 146) | Espagne (n = 76) |
|------------|-----------------------|---------------------|-----------------------|-----------------------|--------------------------|------------------------|-----------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Del/conv | 31,9 | 32,2 | 43,1 | 36,0 | 45,0 | 27,4 | 31,0 | 19,0 | 20,0 | 19,7 |
| P30L | 0,3 | 1,6 | | 2,2 | | 2,6 | 3,2 | | 2,7 | 2,6 |
| I2G | 28,1 | 26,6 | 11,8 | 33,8 | 30,3 | 30,3 | 22,8 | 20,5 | 19,9 | 22,4 |
| G110d8nt | 4,3 | 1,1 | | | | 1,6 | | 2,7 | 1,4 | 3,9 |
| I172N | 12,4 | 19,8 | 29,4 | 10,3 | 7,0 | 19,7 | 15,8 | 8,9 | 6,2 | 1,3 |
| cluster E6 | 3,0 | 1,1 | | 1,5 | | 1,0 | 1,9 | 5,0 | | |
| V281L | 2,2 | 5,7 | 2,9 | 4,4 | | 2,9 | 12,0 | 16,7 | 11,0 | 15,8 |
| F306 | 0,3 | <1,0 | | 0,7 | | ,3 | | 1,2 | | 1,3 |
| Q318X | 3,5 | 2,4 | 2,0 | 8,8 | | 4,8 | 2,5 | 3,9 | 8,2 | 3,9 |
| R356W | 8,4 | 3,0 | | 2,2 | 9,8 | 4,5 | 3,2 | | | 3,9 |
| R408C | 0,3 | | | | | | | | | |
| P453S | 0,5 | <1,0 | | | | 0,3 | 1,3 | | | |
| R483P | 0,8 | <1,0 | | | | | 0,6 | 5,0 | | |
| R483d1nt | 0,3 | <1,0 | | | | | | 0,8 | | |
| autres | 1,8 | <5,0 | 10,8 | 0,1 | 7,9 | 4,6 | 5,7 | 16,3 | 30,6 | 25,2 |
| total (%) | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

n, nombre d'allèles indépendants

Tableau 1 : Fréquences des mutations communes du gène CYP21A2 en Europe de l'ouest (D'après Nike 2003).

IV.4.3.3 Corrélation génotype/phénotype.

Dans la majorité des cas, le phénotype d'un patient concorde avec la sévérité du génotype [45]. La connaissance des mutations du gène permet donc de prédire le phénotype classique ou non classique.

La localisation des principales mutations du gène CYP21A2 et les phénotypes associés sont décrits dans les Figures 14 et 15.

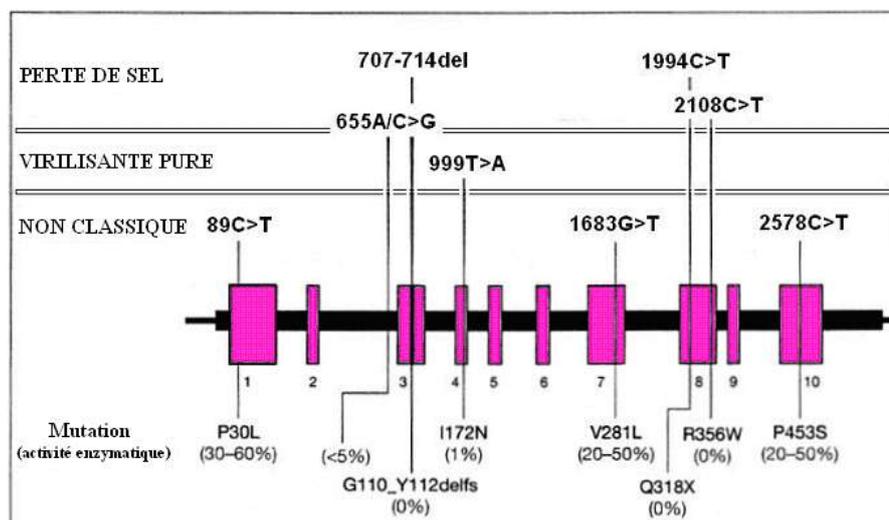


Figure 14 : Localisation des principales mutations du gène CYP21A2 et les formes cliniques associées (D'après Nimkarn 2007).

En se basant sur l'étude de l'activité enzymatique résiduelle *in vitro*, les mutations les plus sévères entraînant une activité enzymatique nulle sont :

- Délétion et conversions géniques
- Mutations non sens : 707-714del (délétion de 8pb dans l'exon 3)
- Insertion de T dans l'exon 7 (non représenté sur la figure)
- 1994C>T (codon stop G318X dans l'exon 8)
- double mutation dans l'exon 10 (R483X) et délétion de G (non représentée)
- triple mutation dans l'exon 6 (I236N,V237G,M239L)
- présence de plusieurs mutations sur un allèle

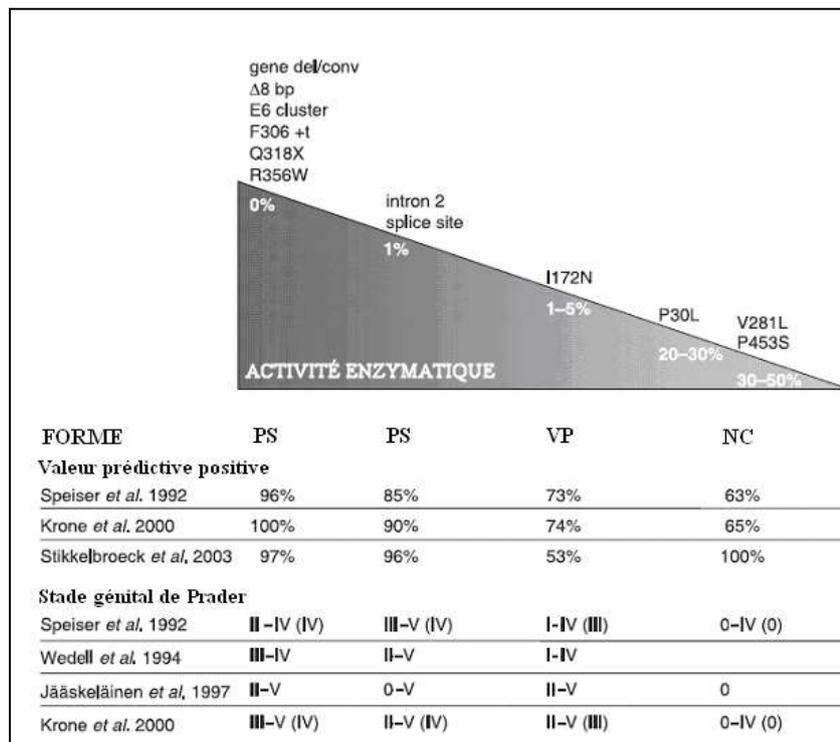


Figure 15 : Sévérité des différentes mutations du gène CYP21A2. PS : perte de sel. VP : virilisante pure. NC : non classique (D'après Krone 2007).

La mutation 655A/C>G, située dans l'intron 2, entraîne un épissage anormal et donne une activité enzymatique résiduelle *in vitro* de 0 à 5%. Elle devrait donner un phénotype avec perte de sel. De façon surprenante, sous forme homozygote, elle est observée dans les formes classiques avec perte de sel, mais se retrouve plus fréquemment dans les formes virilisantes pures [4].

La mutation 999T>A (I172N) donne une protéine avec une activité résiduelle de 3 à 7%. Elle est retrouvée dans les formes virilisantes pures.

Les mutations peu sévères diminuent l'activité enzymatique d'environ 40 à 70% et permettent une synthèse d'aldostérone suffisante pour prévenir les pertes de sel :

- Lésion du promoteur du pseudogène
- 89C>T (p.30L) dans l'exon 1
- 1683G>T (V281L) dans l'exon 7
- 2578C>T (P453S) dans l'exon 10

La majorité des patients hyperplasiques sont hétérozygotes composites pour au moins deux mutations ou plus.

La maladie étant autosomale récessive, le phénotype observé devrait refléter la mutation engendrant le moindre déficit enzymatique. La mutation la moins sévère détermine la gravité de la maladie.

Cette approche prédictive du phénotype est correcte dans 80 à 100% des cas en présence de mutations sévères pour les formes avec perte de sel, et pour la mutation p.V281L dans les cas de formes non classiques [20].

La corrélation n'est plus parfaite pour les mutations comme p.I172N, g.655A/C>G, ou p.30L, qui *in vivo* produisent une 21-hydroxylase ayant une activité variable.

La mauvaise prédiction de forme peut avoir pour origine :

- L'existence de plusieurs mutations sur le même allèle ou sur les allèles distincts,
- Des altérations considérées comme un polymorphisme (p.K102R et p.S268T) qui auraient un rôle synergique lorsqu'elles sont présentes sur le même allèle et diminueraient l'activité enzymatique,
- La présence de mutation modifiant l'expression du gène CYP21A2,
- L'altération d'autres gènes qui perturbent la fonction ou l'expression de la 21-hydroxylase.

De plus, le diagnostic génétique peut être mis en défaut. L'analyse par screening des mutations connues méconnaît les mutations *de novo*. La possibilité du phénomène d'allèle "drop out", où un allèle est préférentiellement amplifié par la PCR, donnera un génotype d'allure homozygote chez un patient qui peut être en fait hétérozygote simple ou composite.

Il existe en outre une variabilité intra et inter familiale. Un cas de fœtus féminin, atteint d'une forme classique d'HCS, démontré par l'étude du locus du gène CYP21 sur ponction de villosités choriales devant un antécédent familial, et traité tardivement après 18 SA par la dexaméthasone (après l'embryogénèse des OGE), est né avec des OGE normaux. Ce cas montre les limites de la prédiction du phénotype sur la base de la sévérité du génotype en ce qui concerne la virilisation des OGE. L'étude génétique ne dispense pas d'un examen échographique poussé pour surveiller le développement des OGE [46].

IV.5 Traitement prénatal

Il est basé sur l'hypothèse que l'hyperproduction d'androgènes est la conséquence de l'élévation de l'ACTH secondaire au déficit en cortisol dans l'HCS. La correction du déficit en glucocorticoïde peut prévenir la masculinisation du fœtus féminin [47].

Le principe est d'administrer, via l'organisme maternel, un glucocorticoïde au fœtus dans le but de supprimer l'activité de l'axe corticotrope et ainsi faire disparaître l'hypersécrétion d'androgènes surrénaliens par la glande fœtale. Ceci permet d'éviter la nécessité d'un geste chirurgical traumatisant de reconstruction des OGE dans l'enfance.

Le glucocorticoïde de synthèse utilisé est la dexaméthasone. Contrairement à l'hydrocortisone, elle ne se lie pas à la Cortisol Binding Globulin dans le sang maternel et échappe à l'inactivation par la HSD11B2 lors de la traversée placentaire.

Le mécanisme d'action de la dexaméthasone n'est actuellement pas totalement clair. Bien que l'ACTH régule partiellement la stéroïdogénèse après la 14^{ème} SA, sa présence précoce détectée par immunologie n'a jamais été corrélée avec la fonction surrénalienne. En effet, chez le fœtus anencéphale, des surrénales apparaissent au cours du premier trimestre. De plus, la sécrétion de DHEA à partir du milieu de la gestation n'est pas corrélée aux taux d'ACTH circulant chez le fœtus [2].

Pour être efficace, ce traitement doit être instauré très rapidement au cours du premier trimestre de grossesse, avant la 9^{ème} SA [48], car la virilisation du bourgeon génital débute dès la 8^{ème} SA sous l'effet des androgènes sécrétés par le cortex fœtal. En pratique, cette prise de dexaméthasone doit débiter dès que la grossesse est confirmée.

Ce délai nécessite de traiter avant que la détermination du sexe fœtal et le diagnostic prénatal ne soient possibles. Par conséquent, sept enfants sur huit seront inutilement exposés à la dexaméthasone.

La dose de dexaméthasone communément administrée est de 20 µg par jour et par kilogramme de poids maternel avant grossesse, répartie en deux ou trois prises, avec un maximum de 1,5 mg par jour [49-52]. Cette posologie a été choisie afin de permettre une normalisation des taux de 17OHP dans le liquide amniotique au milieu du terme [52].

Certains auteurs ont prévenu avec succès une masculinisation d'un fœtus féminin atteint d'une forme classique en administrant des doses plus faibles au cours de l'évolution du terme de la grossesse : de 23 µg/Kg/jour à 11 SA puis 11.5 µg/Kg/jour à 23 SA et 5 µg/Kg/jour à 25 SA. Les dosages des métabolites urinaires du cortisol confirmaient le maintien d'une suppression de l'axe corticotrope [53].

La dose minimale efficace pour éteindre la sécrétion d'ACTH semble moindre que celle nécessaire à diminuer le taux de 17OHP en milieu de grossesse et reste à définir de façon optimale.

Le traitement est poursuivi jusqu'au terme chez les fœtus féminins atteints. La surveillance de la mère porte sur la tension artérielle, le poids, la glycosurie et le dosage de l'HbA1c. Le bilan hormonal surveille le cortisol plasmatique, le DHEAS et la Δ4-androstenedione tous les deux mois. Le dosage urinaire ou plasmatique de l'oestriol peut être effectué après 17-22 SA dans le but de confirmer l'extinction de la sécrétion surrénalienne fœtale et ainsi de s'assurer de la compliance maternelle [54].

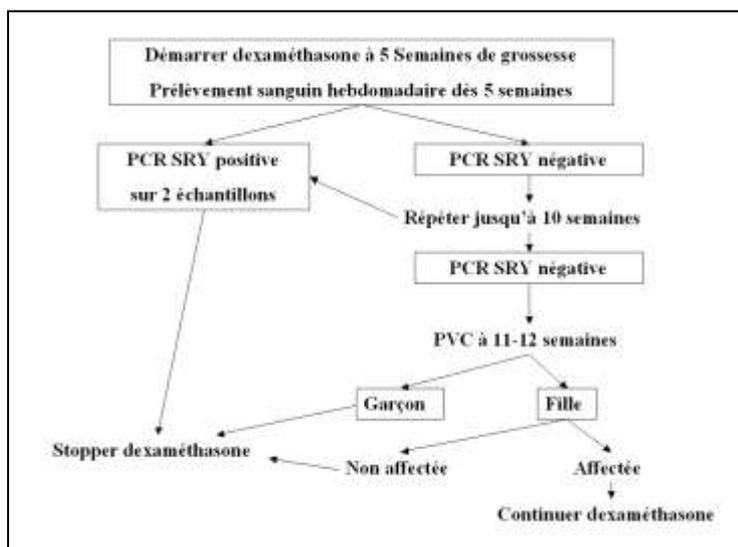


Figure 16 : Arbre décisionnel du traitement prénatal utilisant la détermination de sexe fœtal précoce. PVC : ponction de villosités choriales (D'après Rijnders 2004).

Les indications de ce traitement sont :

- Un premier enfant ou un parent au premier degré atteint de forme classique d'hyperplasie avec des mutations responsables identifiées par étude directe de l'ADN,
- Parents hétérozygotes pour une mutation sévère,
- Une probabilité raisonnable que le père soit le même que celui du cas index,
- La disponibilité d'un plateau technique permettant une analyse génétique fiable et rapide,
- Une bonne compréhension des bénéfices et des risques du traitement pour obtenir une bonne compliance de la mère [54].

IV.5.1 Efficacité chez le fœtus

Le premier cas de traitement avec succès par la dexaméthasone pendant la grossesse dans le but de prévenir la masculinisation d'un fœtus féminin atteint d'HCS a été publié en 1984 [51]. Suite à ce traitement donné pendant la grossesse, la cadette d'une fille atteinte d'une forme classique d'HCS avec une virilisation sévère des OGE, est née atteinte d'une forme classique également mais avec des OGE normaux.

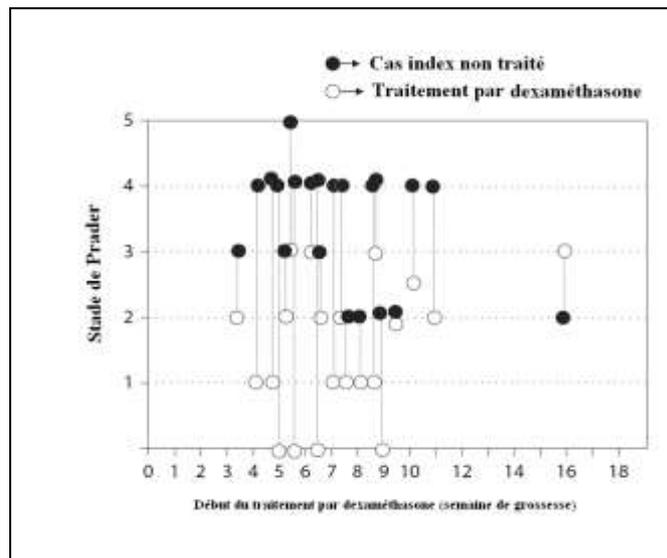


Figure 17 : Aspect des organes génitaux de filles traitées pendant la grossesse et jusqu'au terme par rapport à leurs aînées atteintes d'HCS (D'après Nimkarn 2007).

Plus de 200 cas de fœtus féminins atteints de forme classique et ayant bénéficié d'un traitement par dexaméthasone jusqu'au terme et plus de 1000 cas traités partiellement sont rapportés [54]. Les doses données vont de 0,5 à 2 mg/jour, réparties en une à quatre prises. Les traitements ont débuté au plus tôt à 6 SA et au plus tard à 18 SA. Certains traitements ont

été suspendus pendant 5 à 7 jours avant une amniocentèse. Dans quelques cas, le traitement a été discontinué entre la 23^{ème} et la 29^{ème} SA. Le traitement est considéré comme étant efficace dans 75 à 85% des cas de fœtus féminins atteints traités, nés vivants [54, 55], avec dans un tiers des cas, des OGE normaux et dans deux tiers des cas une masculinisation modérée (clitoridomégalie et/ou fusion partielle des grandes lèvres inférieure à celle observée chez le cas index). Moins d'un quart des filles sont nées avec une virilisation marquée des OGE [55].

La variabilité des résultats est attribuée à de multiples facteurs : posologie inadéquate, interruption de traitement, début de traitement trop tardif, variabilité interindividuelle dans le métabolisme placentaire et la clairance de la dexaméthasone, sensibilité variable aux androgènes et non compliance au traitement sont évoqués [56]. Il est à noter qu'il n'existe pas de données publiées sur les taux sériques de dexaméthasone chez le fœtus.

IV.5.2 Effets secondaires chez la mère

Les effets secondaires observés résultent de l'hypercorticisme provoqué. Ils peuvent être sérieux et durables et comprennent un gain pondéral trop important, des œdèmes, une irritabilité, de la nervosité, des douleurs épigastriques chroniques, un aspect cushingoïde de la face, une augmentation de la pilosité faciale ainsi que des vergetures sévères avec cicatrices permanentes [57]. Une hypertension et une intolérance aux glucides peuvent apparaître mais aucune différence n'a été mise en évidence par rapport aux mères non traitées [55, 58, 59].

Environ un tiers des femmes traitées présentent des effets secondaires liés au traitement, le plus fréquent étant l'excès de gain pondéral (25% des cas). Ces effets secondaires peuvent conduire à une réduction de posologie voire à une interruption de traitement avec un résultat non optimal sur les OGE.

Ce traitement est vécu de façon variable par les parturientes : certains auteurs rapportent qu'un quart des femmes ayant bénéficié d'un traitement par dexaméthasone ne reprendrait pas ce traitement au cours d'une grossesse ultérieure [59]. D'autres ont rapporté une adhésion totale avec une déclaration de reprise de dexaméthasone pour une future grossesse dans la totalité des cas [58].

IV.5.3 Effets secondaires chez l'enfant

IV.5.3.1 A court terme

La durée de la grossesse et les pertes fœtales ne sont pas différentes en cas de traitement. Il n'est pas observé d'effet tératogène. De même, le poids, la taille et le périmètre crânien à la naissance sont identiques, que l'enfant ait été traité ou non. Aucun effet secondaire grave n'a pu être clairement attribué au traitement par la dexaméthasone [49]. Le nombre de cas avec anomalies est faible et les pathologies observées sont diverses, incluant un déficit mental (rare), des anomalies métaboliques et un retard de croissance. L'innocuité du traitement est prouvée sur le court terme pour ces enfants exposés [58].

IV.5.3.2 A long terme. Question éthique : primum non nocere

La sécurité de l'exposition pendant la période prénatale à de fortes doses de dexaméthasone n'est actuellement pas complètement établie.

L'étude chez le rat montre que l'exposition à de fortes doses de glucocorticoïde interfère avec le développement cérébral, donne des troubles de la régulation tensionnelle, favorise l'apparition de kystes rénaux et réduit le nombre de néphrons. Une fente palatine, une dégénération placentaire et une mort fœtale ont été observées dans un modèle d'HCS chez le rat [60]. De façon similaire, l'administration de fortes doses pendant le troisième trimestre chez le singe aboutit à une réduction de la taille de l'hippocampe. A l'inverse, une même exposition chez la brebis ne semble pas entraîner ces complications. La pertinence de ces modèles animaux par rapport à la physiologie humaine n'est pas connue [61].

Le traitement inutile de sept enfants sur huit pendant plusieurs semaines en cas de parents hétérozygotes a créé un problème éthique pour lequel il n'y a pas de réponse claire. Les parents doivent être informés de la forte probabilité d'une exposition inutile à la dexaméthasone et à l'absence d'étude sur les conséquences à long terme d'une telle exposition.

La plupart des travaux sur modèle animal ont étudié les conséquences des glucocorticoïdes lors d'une exposition au cours du dernier trimestre de la grossesse. Il y a peu de travaux sur modèle animal portant sur les effets d'une courte corticothérapie pendant le premier trimestre de grossesse de 6 à 11 semaines de gestation. Il reste à définir si la plasticité du cerveau fœtal est capable de compenser les effets potentiellement néfastes d'une exposition courte à la dexaméthasone pendant le premier trimestre.

Les données sur le suivi à long terme des cas humains sont peu nombreuses. Une étude pilote, utilisant un questionnaire donné aux mères, décrit que les enfants non atteints exposés à la dexaméthasone en prénatal sont plus timides [62]. Un examen par des neuropsychologues de 26 cas montre que les enfants non atteints d'HCS et exposés *in utero* à la dexaméthasone sur une courte durée, ont des troubles de la mémoire verbale et une anxiété sociale augmentée [63]. Des suivis d'enfants sur le long terme sont en cours pour conclure définitivement à l'innocuité de ce traitement en terme de développement psychologique et somatique ainsi que de comportement, notamment avec l'étude PREDEX [49].

Le rapport bénéfice / risque est actuellement communément jugé comme favorable mais doit être confirmé sur le long terme par des équipes spécialisées.

IV.6 Diagnostic biologique

IV.6.1 Diagnostic prénatal

A partir de 1965, pour la fratrie du cas index, le diagnostic prénatal est réalisé dans le liquide amniotique par dosages de 17 cétostéroïdes et de pregnanetriol [64], puis plus tard, de 17OHP et de $\Delta 4$ -androstènedione [65]. Ces dosages nécessitant de stopper la dexaméthasone quelques jours avant la réalisation de l'amniocentèse, il en résultait une virilisation du fœtus, l'interruption du traitement pendant seulement quelques jours étant associé à une masculinisation des OGE [66]. Seules les formes classiques avec perte de sel sont ainsi diagnostiquées. En cas de formes virilisantes pures, ou en cas de traitement par corticoïdes chez la mère, ces dosages sont mis en défaut.

A partir de 1979, la forte liaison du gène codant la 21-hydroxylase (CYP21A2) avec le système majeur d'histocompatibilité (HLA) sur le chromosome 6 a été utilisé pour le diagnostic. Le typage HLA (antigènes B et DR) est utilisé pour reconnaître l'allèle atteint chez les parents hétérozygotes [67]. L'amniocentèse pratiquée au milieu de la grossesse, vers 14-18 SA, était suivie du caryotype et du typage HLA sur culture d'amniocytes : au cours d'une grossesse, si le fœtus a le même typage HLA que le cas index, il est déclaré atteint. Le fœtus qui partage un haplotype parental avec le cas index est déclaré hétérozygote vecteur, et le fœtus avec les deux haplotypes différents de ceux du cas index est déclaré non atteint. Malheureusement, cette approche a donné lieu à des erreurs diagnostiques du fait de

l'existence possible d'une double hétérozygotie cryptique chez l'un des parents et à l'existence de partage d'haplotypes et de recombinaisons [58].

Le délai diagnostique a été raccourci en 1994 par la généralisation de la ponction des villosités chorales, réalisable à partir de 12 SA [68], le typage HLA étant effectué sur des cellules trophoblastiques en culture. Actuellement, l'analyse moléculaire directe du locus du gène CYP21 permet la caractérisation des mutations parentales et permet un diagnostic prénatal plus fiable.

De plus, la combinaison de différentes techniques de biologie moléculaire (PCR spécifique d'allèle par hybridation d'oligonucléotides ou la recherche de la mutation chez le cas index et analyse en southern blot) permet l'identification de 95 à 98% des mutations en cause, que ce soient de larges réarrangements ou des mutations ponctuelles. Le séquençage peut venir compléter l'étude en cas de génotype incertain. De rares cas de faux négatifs sont décrits par non détection de mutation, par phénomène d'allèle "drop out" ou par contamination de l'ADN fœtal par l'ADN maternel [60]. La détermination des micro-satellites flanquant le gène CYP21A2 semble augmenter la performance du diagnostic prénatal [44].

La non concordance possible entre génotype et phénotype complique la catégorisation des patients en forme classique (pour qui le traitement est indiqué) et forme non classique (pour qui le traitement n'est pas indiqué).

Parallèlement au diagnostic biologique, le diagnostic du sexe fœtal est un élément important pour décider de l'opportunité de poursuivre le traitement prénatal. L'échographie n'est pas fiable dans une pathologie où des OGE de phénotype masculin peuvent apparaître chez un fœtus féminin atteint de forme classique. Pour cela, le sexe fœtal est déterminé soit par caryotype sur culture de cellules amniotiques, soit par l'étude du gène SRY par amplification sur l'ADN extrait à partir de ponction de villosités chorales. En 1997, la découverte d'ADN fœtal extracellulaire dans le sang maternel a ouvert la voie à un résultat de sexe fœtal encore plus précoce par recherche du gène SRY. Cette technique est utilisée comme outil de diagnostic prénatal depuis 2002 [69]. En effet l'ADN fœtal apparaît dans le sang maternel très tôt au cours de la grossesse et augmente avec le terme. Cet ADN fœtal est détecté dès le 22^{ème} jour après un transfert d'embryon dans le cadre d'une assistance médicale à la procréation [70]. Actuellement, la détermination du sexe fœtal peut être fait à partir de 6 SA [70]. Cette technique a le grand avantage d'être non invasive et non entachée du risque de mort fœtale comme peuvent l'être l'amniocentèse et la ponction de villosités chorales, avec un risque, au minimum, de 0,5% [71]. De plus, les performances du diagnostic de sexe fœtal

par cette technique sont bonnes avec une spécificité de 100% retrouvée, quelles que soient les équipes.

L'étape de diagnostic de sexe fœtal vers 6 SA permet de ne plus traiter les fœtus de sexe masculin tout en évitant un geste invasif dans 50% des cas. Seuls les fœtus féminins nécessiteront une ponction de villosités choriales pour étude du gène CYP21A2.

IV.6.2 Dépistage néonatal

Le marqueur biologique principal du déficit en 21-hydroxylase est la 17OHP, située juste en amont du bloc enzymatique. Le prélèvement sérique ne doit pas être trop précoce du fait de l'interférence des stéroïdes d'origine placentaire ni se faire sur sang de cordon, qui contient plus de 80% de sang veineux placentaire. Après trois jours de vie, une concentration sérique augmentée de 17OHP chez le nouveau-né signe le diagnostic.

La 17OHP est mesurée lors du dépistage systématique de l'HCS à trois jours de vie sur le test dit de Guthrie, à partir de sang prélevé par prélèvement capillaire à la face interne du talon et déposé sur une carte. l'Association Nantaise pour le **D**épistage et l'**E**tude des **M**aladies de l'**E**nfant pendant la **G**rossesse **E**t à la **N**aissance (ANDEMEGEN) est en charge de la réalisation des dosages à partir des cartes et utilise une méthode d'immunofluorimétrie (AutoDELFIA® - Perkin Elmer).

En France, le seuil de 17OHP à partir duquel un dosage diagnostique de confirmation est demandé est de 60 nmol/L (20 ng/mL). Le dépistage néonatal permet de réduire le délai de prise en charge particulièrement chez le garçon et réduit la morbi-mortalité des crises aiguës d'insuffisance surrénalienne [72]. Les buts du dépistage néonatal sont de :

- cibler les formes classiques de la maladie avec perte de sel,
- obtenir une sensibilité maximale avec un seuil de rappel bas, ce qui a pour conséquence une faible valeur prédictive positive.

Les formes dépistées par le dépistage néonatal au niveau mondial sont des formes classiques avec perte de sel dans 75% des cas [4].

Un petit nombre d'enfants atteints de forme non classique est détecté lors du dépistage à la naissance, mais dans la majorité des cas, ils ne sont pas diagnostiqués du fait du taux sérique basal relativement faible de 17OHP [30].

IV.6.3 Diagnostic biologique

IV.6.3.1 Dosages urinaires

Les catabolites des différents stéroïdes corticosurréaliens et de leurs précurseurs sont éliminés dans les urines après glucuronoconjugaison ou sulfoconjugaison hépatique.

Dans le cadre d'une exploration fonctionnelle de l'activité corticosurrénalienne au cours des épreuves statiques et dynamiques, on peut évaluer l'élimination de ces catabolites d'une manière globale par le dosage des 17-hydroxycorticostéroïdes urinaires et le dosage des 17-cétostéroïdes urinaires.

Le dosage isolé de chacun de ces composés est possible, après une extraction, par fluorimétrie, radioimmunologie ou chromatographie. Les techniques de chromatographie permettent en outre la mise en évidence de métabolites dits "anormaux" tel le 21-désoxycortisol dans les blocs en 21-hydroxylase. Néanmoins, dans le cadre du diagnostic néonatal, en cas de dépistage positif au Guthrie, le dosage de référence est celui de la 17OHP sérique.

IV.6.3.2 Dosages plasmatiques

Le dosage sérique de la 17OHP est réalisé pour confirmer le déficit en 21-hydroxylase en cas de dépistage positif.

IV.6.3.2.1 Technique de référence

La technique de référence pour doser la 17OHP est la chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS). Cette technique permet de doser simultanément plusieurs stéroïdes au niveau sanguin ou urinaire. Il est obtenu un profil stéroïdien à partir d'un seul échantillon. La spécificité analytique est bien supérieure à celle des dosages immunologiques, et il n'existe pas de réaction croisée entre stéroïdes.

IV.6.3.2.2 Techniques usuelles

Il s'agit de méthodes radio-immunologiques (RIA). Les concentrations obtenues par méthodes RIA excèdent souvent les 100 ng/mL chez les enfants atteints de forme avec perte de sel. Ces concentrations sont inférieures à 1 ng/mL chez les nouveau-nés normaux [34].

➤ Formes non classiques et sujets hétérozygotes

Des concentrations normales de 17OHP peuvent être observées chez les enfants atteints de forme non classique. Le dosage de référence pour le diagnostic est la mesure de la concentration de 17OHP 60 minutes après stimulation par une injection de 250 µg d'ACTH 1-24 synthétique (Synacthène®) [4, 30]. Ce test peut être effectué à n'importe quelle heure de la journée et à n'importe quel moment du cycle menstruel chez la femme en cas de suspicion de forme non classique. Une concentration de 17OHP après stimulation supérieure à 20 ng/mL signe le déficit en 21-hydroxylase. Ce test dynamique doit être effectué vers l'âge de 6 mois chez l'enfant en cas de suspicion de forme non classique [4]. Les concentrations de 17OHP après stimulation par l'ACTH sont fonction du type de déficit : les concentrations à 60 minutes les plus fortes sont observées pour les déficits complets avec perte de sel (jusqu'à 1000 ng/mL). Les formes virilisantes pures ont des concentrations après stimulation de 100 à 330 ng/mL et les formes non classiques ont des élévations plus faibles avec des concentrations de l'ordre de 16 à 100 ng/mL, surtout pendant la période néonatale [34].

En complément du dosage de 17OHP, d'autres hormones stéroïdiennes peuvent aider au diagnostic. Les concentrations sériques des androgènes surrénaliens, Δ 4-androstènedione et DHEA, ainsi que celles de la testostérone, sont augmentées.

Le test au synacthène® est également utilisé pour dépister les hétérozygotes dans le cadre d'enquête familiale. Les sujets hétérozygotes pour le gène CYP21A2 ont un trouble modéré du fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien. Après une stimulation par l'ACTH 1-24, 50 à 80% des hétérozygotes montrent une augmentation de la 17OHP comparativement aux sujets ayant deux allèles normaux. Les concentrations observées restent inférieures à 10 ng/mL [30]. Les hétérozygotes ont également des taux supérieurs de testostérone et une sécrétion diminuée du cortisol libre urinaire sur 24 heures. Ils présentent également une réponse accrue de l'ACTH à une injection stimulatrice de CRH. Le 21-désoxycortisol est présent de manière anormalement élevée chez les sujets hétérozygotes. Les patients hétérozygotes seraient à risque de développer des masses surrénaliennes cliniquement inapparentes. Une étude décrit une vulnérabilité plus grande au stress psychologique. Majoritairement asymptomatiques, les sujets hétérozygotes ne font pas de crise d'insuffisance surrénalienne aiguë, n'ont pas de symptômes de nature hyperandrogénique et ont une croissance et une puberté normales [30].

➤ Formes classiques

Au CHU de Nantes, le dosage de la 17OHP fait appel à une technique radioimmunologique par compétition. La trousse employée, "RIA, 17 α -hydroxyprogesterone®" (Immunotech, Beckman Coulter, Marseille, France), est utilisée par 66% des laboratoires participant au contrôle inter-laboratoire Probioqual (25/38) en 2007.

Le principe du dosage repose sur la compétition de la 17OHP marquée à l'iode 125 avec la 17OHP présente au sein de l'échantillon biologique (sérum ou plasma) vis-à-vis des anticorps spécifiques de la 17OHP adsorbés à la surface du tube à essai. Les anticorps sont de type polyclonal comme c'est le cas pour toutes les trousse RIA dosant la 17OHP.

La réactivité croisée est définie par le rapport entre la concentration de 17OHP et la concentration du stéroïde testé, à 50% de liaison par rapport au calibrateur zéro. Les données du fournisseur concernant ces réactivités croisées montrent que la plus forte interférence est le fait de la 17OHPreg, (Tableau 2).

| Stéroïde | Réactivité croisée (%) |
|----------------------------------|------------------------|
| 17 α -hydroxyprogesterone | 100 |
| 17 α -hydroxyprégnénolone | 2.90 |
| 11-désoxycortisol | 1.74 |
| progesterone | 0.60 |
| 21-désoxycortisol | 0.27 |
| prégnénolone | 0.05 |
| prégnénolone sulfate | 0.04 |
| testosterone | 0.01 |

Tableau 2 : Pourcentage de réactivité croisée de la méthode de dosage de la 17 α -hydroxyprogesterone pour différents stéroïdes. Données fournisseur.

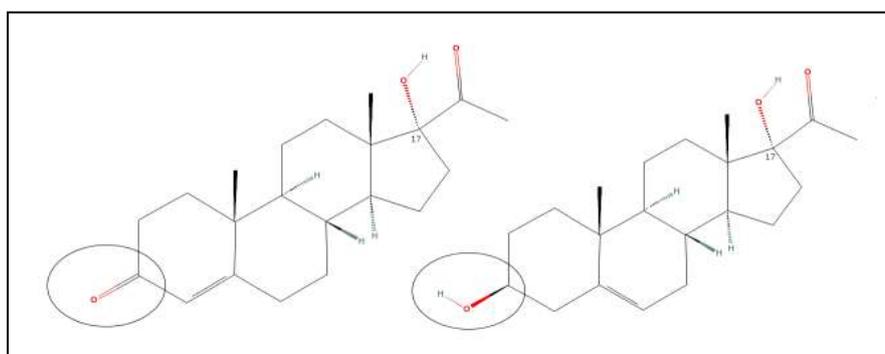


Figure 18 : Structure chimique de la 17OHP (à gauche) et de la 17OHPreg (à droite).

Les concentrations sériques de 17OHPreg étant particulièrement élevées dans la première année de vie, ce précurseur peut interférer avec le dosage de la 17OHP et entraîner une surestimation des concentrations sériques mesurées de 17OHP. Afin d'éviter des concentrations de 17OHP faussement élevées, pour les enfants de moins de 2 ans et les nouveaux patients ayant des concentrations supérieures au dernier point de gamme, il est pratiqué une extraction préalable de l'échantillon par l'éther éthylique.

Sur la période 2003-2007, il a été pratiqué au CHU de Nantes 62 extractions de 17OHP devant des concentrations augmentées chez des enfants de moins de 90 jours de vie. Parmi ces 62 enfants, 7 étaient atteints d'HCS. Pour ces 7 enfants, nous avons obtenus des concentrations de 17OHP avant extractions de $247,8 \pm 177,1$ ng/mL et après extraction de $123,2 \pm 81,8$ ng/mL.

Chez les 55 patients non atteints d'HCS, les concentrations mesurées de 17OHP avant extraction sont toujours supérieures à celles mesurées après extraction : la moyenne des concentrations observées avant extraction est de $31,2 \pm 20,4$ ng/mL alors qu'elle n'est que de $3,74 \pm 2,6$ ng/mL après extraction.

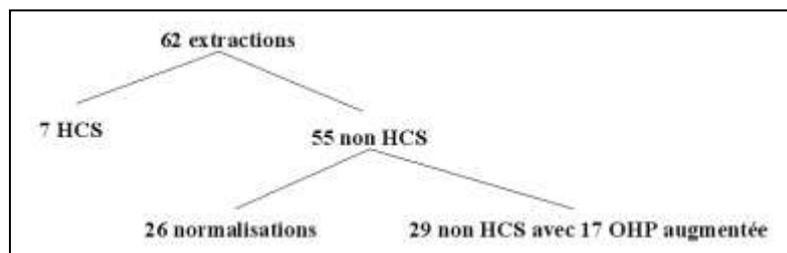


Figure 19 : *Devenir des extractions de 17OHP pratiquées au CHU de Nantes sur la période 2003-2007, chez des patients de moins de 90 jours de vie.*

Sur les 55 enfants non atteints d'HCS, l'extraction a permis une normalisation de la concentration de 17OHP dans 47% des cas, avec une diminution moyenne de $27,5 \pm 18$ ng/mL. Il persiste 53% de patients (29/55) avec des concentrations de 17OHP toujours "élevées" après extraction. Néanmoins, après cette étape, seulement 4 enfants conservent des concentrations de 17OHP supérieures à 10 ng/mL.

V. Question posée

Au CHU de Nantes, dans le cadre du diagnostic de l'HCS, malgré une extraction de la 17OHP systématique chez tous les enfants de moins de 2 ans, nous continuons dans environ la moitié des cas à conserver des concentrations de 17OHP anormalement élevées, alors que les patients étaient exempts de bloc enzymatique. Pour le pédiatre, ces concentrations élevées posent des problèmes de diagnostic et de prise en charge. Nous nous sommes donc demandé quelles étaient les étiologies des concentrations augmentées de 17OHP chez ces enfants.

Le but de ce travail a donc été de rechercher les causes de ces concentrations anormalement élevées, qui peuvent être considérées comme étant des "faux positifs" au diagnostic. Pour cela, nous avons fait le bilan des dosages de 17OHP effectués au cours des 8 dernières années (2000-2007) chez les enfants suivis au CHU de Nantes. Nous avons analysé les dossiers des enfants atteints d'HCS, en comparant leurs données à la littérature, et les dossiers des enfants ayant eu des concentrations élevées de 17OHP en période néonatale, mais qui ne présentaient, au final, aucun déficit enzymatique surrénalien.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

I. Critères de sélection des patients

Sur la période allant du 01/01/2000 au 31/12/2007, la sélection des patients a été effectuée à partir d'une requête informatique via le logiciel Business Object®, avec les critères suivants : au moins un dosage avec une concentration de 17OHP supérieure ou égale à 2ng/mL au cours des 90 premiers jours de vie au sein des unités fonctionnelles de néonatalogie et/ou de pédiatrie (réanimations, hospitalisations conventionnelles, hôpital de jour, et consultations) du Centre Hospitalier Universitaire de Nantes.

Seuls les dosages effectués dans les 90 premiers jours de vie et pour lesquels l'extraction à l'éther a été pratiquée ont donné lieu à l'étude du dossier médical pour limiter l'étude à la période suivant la naissance. Pour un patient, 2 dosages ont été effectués. Le premier, pour lequel il n'était pas mentionné la réalisation d'une extraction préalable a été exclu de l'étude (concentration de 17OHP à J0 = 104 ng/mL), tandis que le second, pour lequel l'extraction était certaine, a été retenu (concentration de 17OHP à J4 = 14 ng/mL).

Cette requête a abouti à la sélection de 60 dossiers. 2 dossiers s'avèreront être des "perdus de vue". Au total, 58 patients ayant un dosage de 17OHP supérieur à 2 ng/mL ont été étudiés de manière rétrospective.

Les éléments recueillis dans les dossiers médicaux ont été : le sexe, le terme, le poids de naissance, le périmètre crânien, la taille de naissance, la présence d'une gémellarité, d'une pathologie pendant la grossesse, d'une pathologie à la naissance (détresse respiratoire, sepsis, ictère clinique), anomalies des OGE, ionogramme plasmatique avec glycémie et profil hormonal stéroïdien.

Pour les enfants atteints d'hyperplasie par bloc en 21-hydroxylase il a été noté en plus : le résultat du dépistage néonatal, le stade de Prader concernant les anomalies de développement des OGE, la posologie du traitement médicamenteux ainsi que le génotypes et la forme de la maladie.

Pour chaque dossier, lorsque l'analyse a été faite, les concentrations des composés suivants ont été notées : Δ 4-androstènedione, testostérone, DHEAS, rénine, aldostérone, cortisol, ACTH, 11-désoxycortisol.

Le caractère hypotrophe a été attribué en utilisant les courbes de poids en fonction du terme d'après Usher et McLean [73].

La classification entre patients ictériques et patients non ictériques a été effectuée d'après les courbes d'indication à la photothérapie en fonction du poids de naissance.

Le terme de chaque enfant est exprimé en "équivalent semaine d'aménorrhée" (EqSA) obtenu par la formule :

$$\text{Equivalent semaine d'aménorrhée} = \frac{(\text{Terme de naissance (SA)} \times 7) + \text{jours de vie}}{7}$$

II. Techniques de dosages

II.1 Technique de dosage de la 17OHP sérique au CHU de Nantes

Les dosages ont été faits sur sérum pour les nouveau-nés positifs au Guthrie ou lors d'une suspicion clinique d'HCS. Le test est pratiqué en urgence. En cas de dosage différé, le prélèvement est centrifugé, puis le sérum est conservé à -20°C.

Préalablement au dosage, les sérums sont décongelés puis sont homogénéisés et centrifugés à 5000 trs/min pendant 5 min, pour éliminer les caillots ou les résidus de fibrines.

Comme décrit dans l'introduction, la 17OHP est dosée par la trousse "RIA, 17 α -hydroxyprogestérone®" (Immunotech, Beckman Coulter, Marseille, France). Chaque échantillon (étalons, contrôles et patients) est passé en double. La prise d'essai est de 200 μ L. Après incubation du mélange pendant 3 heures à 37°C, le contenu du tube est aspiré et il est procédé à un essuyage minutieux des parois du tube. La radioactivité est ensuite mesurée sur un compteur gamma Packard Cobra® (Perkin Elmer Life Sciences, Courtaboeuf, France). Les valeurs de concentration en 17OHP sont obtenues par interpolation à l'aide de la courbe d'étalonnage réalisée à chaque série de dosage.

La procédure d'extraction consiste à ajouter 5 mL d'éther éthylique à la prise d'essai de 200 μ L de sérum dans une fiole d'extraction. Après agitation, le mélange est congelé à -20°C. La phase organique liquide est récupérée sans entamer la phase aqueuse, solide à cette température. La phase organique est ensuite évaporée en plaçant le tube au bain marie à 37°C. L'extrait sec est remis en solution dans 200 μ L de tampon de reprise puis vortexé avant de suivre la procédure du dosage par RIA. Un contrôle d'extraction est utilisé et consiste en l'extraction en parallèle à l'échantillon testé, d'un sérum dont la concentration en 17OHP est

connue, de l'ordre de 2 à 3 ng/mL. En cas de dilutions nécessaires, ces dernières sont effectuées dans du tampon de reprise contenu dans la trousse.

II.2 Technique de dosage de la Δ 4-androstènedione sérique au CHU de Nantes

Le dosage de la Δ 4-androstènedione est également fait par méthode RIA par compétition. La trousse utilisée est "RIA, Δ 4-androstènedione®" (Immunotech, Beckman Coulter, Marseille, France). Chaque échantillon (étalons, contrôles et patients) est passé en double. La prise d'essai est de 350 μ L. Les sérums sont extraits à l'éther éthylique de façon systématique. Les extraits secs, dissous dans le tampon de reprise et les calibrateurs sont ensuite incubés dans les tubes recouverts d'anticorps avec le traceur constitué de Δ 4-androstènedione marquée à l'iode 125. Après incubation, le contenu du tube est vidé par aspiration, puis la radioactivité est mesurée sur le compteur gamma. Les valeurs inconnues sont déterminées par interpolation à l'aide de la courbe d'étalonnage établie à chaque série.

De même que pour la 17OHP, il existe des réactions croisées avec d'autres stéroïdes.

| Stéroïde | Réactivité croisée (%) |
|--------------------------------|------------------------|
| Δ 4-androstènedione | 100 |
| androstanedione | 18 |
| androsterone | 5,7 |
| déhydroépiandrosterone sulfate | 4,3 |
| déhydroépiandrosterone | 2,2 |
| testostérone | 0,8 |
| dihydrotestostérone | 0,3 |
| progestérone | 0,1 |

Tableau 3 : *Pourcentage de réactivité croisée de la méthode de dosage de la Δ 4-androstènedione pour différents stéroïdes. Données fournisseur.*

II.3 Technique de dosage de la testostérone sérique au CHU de Nantes

Le dosage de la testostérone totale est également fait par méthode RIA par compétition. La trousse utilisée est "RIA, Testostérone®", (Spectria, Orion Diagnostica, Helsinki, Finland). Une quantité connue de testostérone marquée à l'iode 125 et une quantité non connue de

testostérone présente dans l'échantillon à tester sont incubées simultanément, et entrent en compétition pour un nombre limité de sites anticorps adsorbés à la surface des tubes revêtus. Chaque échantillon (étalons, contrôles et patients) est passé en double. La prise d'essai est de 25 μ L. Après incubation, le contenu du tube est lavé puis vidé par aspiration pour éliminer la testostérone marquée non liée, et la radioactivité est mesurée sur le compteur gamma. La quantité de testostérone marquée restante dans le tube est inversement proportionnelle à la concentration de testostérone de l'échantillon. Les valeurs inconnues sont déterminées par interpolation à l'aide de la courbe d'étalonnage établie à chaque série.

III. Statistiques

Les analyses statistiques ont été effectuées avec le logiciel Prism V4 (Graphpad Software Inc, La Jolla, USA). Les comparaisons des concentrations de 17OHP, Δ 4-androstènedione et testostérone, entre les groupes HCS ou non, prématurés ou non, petit poids de naissance ou non, toxémie gravidique ou non, détresse respiratoire ou non, sepsi ou non, et immaturité hépatique ou non ont été effectuées avec le test non paramétrique de Mann-Whitney.

Les corrélations entre concentrations de 17OHP, Δ 4-androstènedione ou testostérone avec les paramètres précédents ont été effectuées avec le test non paramétrique de Spearman.

RÉSULTATS

I. Caractéristiques cliniques des patients.

Sur la période 2000-2007, 76 dosages de 17OHP ont été réalisés chez des enfants de moins de 90 jours de vie. Sur les 58 patients sélectionnés sur l'existence d'au moins un dosage sérique de 17OHP supérieur ou égal à 2 ng/mL dans les 90 premiers jours de vie, 16 sont des enfants atteints d'une HCS par déficit en 21-hydroxylase. Les patients non hyperplasiques sont au nombre de 42.

La répartition par sexe est la même dans les deux groupes. Les patients avec une HCS sont tous issus de grossesse simple et n'ont généralement pas présenté de pathologies en période néonatale hormis 2 cas de détresse respiratoire transitoire.

| | HCS (n = 16) | Non atteints d' HCS (n = 42) |
|--------------------------------------|--------------|------------------------------|
| Garçon/fille | 56% / 44% | 54,7% / 45,3% |
| Age gestationnel (SA) (Moy (ET)) | 39,3 (1,3) | 33 (4,1) |
| Grossesse simple / gemellaire | 100% / 0% | 85,7% / 14,3% |
| Poids de naissance (g) (Moy (ET)) | 3497,2 (439) | 2015,3 (764,8) |
| Hypotrophie | 0% | 19% |
| Prématurité | 0% | 73,8% |
| Corticothérapie anténatale | 0% | 38% |
| Score d'Apgar à 5 minutes (Moy (ET)) | 9,5 (0,8) | 8,8 (1,8) |
| Détresse respiratoire | 12,5% | 42,8% |
| Ictère clinique | 0% | 28,6% |

Tableau 4 : *Caractéristiques cliniques des patients avec une concentration de 17OHP supérieure à 2 ng/ml dans les 90 premiers jours de vie.*

II. Patients atteints d'hyperplasie congénitale des surrénales

II.1 Sexe, terme et poids des enfants hyperplasiques

Parmi les 16 HCS diagnostiquées, 9 étaient des garçons, 7 des filles. Il n'y a aucun enfant prématuré au sein des enfants atteints d'HCS. Dans notre étude, le terme moyen des

nouveaux-nés atteints d'HCS est de $39,3 \pm 1,3$ semaines d'aménorrhée (SA) [36 à 41] et le poids moyen de naissance est de 3497 ± 439 grammes [2310 à 4590].

II.2 Circonstances diagnostiques et pathologies néonatales

| | Garçon (n = 9) | filles (n = 7) |
|--|----------------|----------------|
| ATCD familial (n) | 3 | 0 |
| Diagnostic de sexe fœtal (n) | 0 | 2 (fortuit) |
| Anomalies des OGE à la naissance (n) | 0 | 7 |
| Dépistage positif (n) | 5 | 7 |
| Dépistage négatif (n) | 1 | 0 |
| Jours de vie lors du dosage sérique de 17OHP (Moy)(ET) | 8.6 (2,7) | 1,8 (1,5) |
| Dosage sérique de 17OHP avant dépistage (n) | 0 | 6 |

Tableau 5 : *Circonstances diagnostiques des cas d'HCS (2000-2007).*

Il existait un antécédent familial d'HCS au premier degré connu dans trois cas. Néanmoins, une seule de ces 3 grossesses a bénéficié d'un diagnostic de sexe fœtal, les deux autres grossesses, de déclaration tardive, ne justifiant pas cette détermination. Le fœtus pour lequel le sexe fœtal a été fait était de sexe masculin. Les fœtus non explorés se sont avérés être également de sexe masculin. Un cas avait des antécédents chez deux cousins dans une famille originaire de la Réunion, mais cette donnée ne fut connue qu'après le diagnostic établi.

Deux découvertes fortuites de bloc en 21-hydroxylase ont été faites à l'occasion de la réalisation de caryotypes dans le cadre de recherches de trisomie 21. Ces deux fœtus étaient de sexe féminin (46,XX) et présentaient à l'examen échographique des OGE d'aspect masculin. Pour une de ces grossesses, une concentration augmentée de 17OHP dans le liquide amniotique est venu conforter le diagnostic prénatal d'HCS.

Un des enfants atteints n'a pas été dépisté lors du test de Guthrie. Il s'agit du petit frère d'une fille atteinte d'une forme classique de la maladie. Seul le dosage sérique de 17OHP, effectué à 10 jours de vie, était pathologique, avec une concentration à 49 ng/mL (normales du laboratoire chez le garçon à 10 jours de vie: 0,4 – 2 ng/mL).

Les concentrations de 17OHP, de $\Delta 4$ -androstènedione et de testostérone des cas d'HCS sont résumées dans le tableau 6.

| | ng/mL | Valeurs normales du laboratoire à 10 jours de vie | |
|---------------------------------------|--------------|--|-----------|
| | | garçon | filles |
| 17-hydroxyprogestérone (Moy (ET)) | 150,8 (73,4) | 0,4 - 2 | 0,4 - 3 |
| Δ 4-androstènedione (Moy (ET)) | 53,8 (49,1) | 0,3 - 1,2 | 0,1 - 1,2 |
| Testostérone (Moy (ET)) | 8,57 (6,6) | < 0,9 | < 0,05 |

Tableau 6 : Concentrations de 17OHP, de Δ 4-andostènedione et de testostérone observées chez les 16 patients atteints d'HCS.

Dans cette étude, toutes les filles atteintes d'HCS sont nées avec des anomalies de développement des OGE. Deux présentaient un Prader de type V, deux un Prader de type IV et trois un Prader de type III. Un bloc été suspecté dans 6 cas sur 7 avant le dépistage néonatal chez les filles.

En moyenne, le prélèvement de confirmation permettant le dosage de la 17OHP sérique était effectué à $1,8 \pm 1,5$ jours de vie pour les filles et à $8,6 \pm 2,7$ jours pour les garçons.

Aucun prélèvement sérique n'a été pratiqué avant l'obtention du résultat du dépistage pour les garçons.

II.3 Délai d'instauration du traitement

Sur les 9 garçons atteints, dont le bloc enzymatique était insoupçonné, 8 étaient rentrés à domicile. C'est grâce au dépistage qu'ils ont été reconvoqués. Le dernier enfant était toujours hospitalisé compte tenu d'une détresse respiratoire et d'une infection materno-fœtale sévère. Cinq d'entre eux présentaient une absence de prise de poids, et trois d'entre eux étaient retrouvés hypotoniques à l'examen clinique. Il existait une mélanodermie des OGE dans trois cas, associée à une mélanodermie des mamelons dans deux de ces cas. Un des garçons n'avait aucun signe clinique. Dans notre étude, le délai d'instauration du traitement chez les garçons est de $9 \pm 3,5$ jours après la naissance, alors qu'il n'est que de $4 \pm 2,2$ jours chez la fille. Un délai maximal (13 jours) avant mise sous traitement substitutif est observé chez deux garçons.

II.4 Génotypes

La mutation la plus fréquemment retrouvée, avec 40% des allèles atteints, est I2G qui entraîne une anomalie d'épissage de l'intron 2. Viennent ensuite les mutations R356W (14%), puis I172N et P453S (9%). Dans notre étude, les grands réarrangements (délétions et

conversions géniques) représentent 14% des allèles malades. Chez 3 patients, plusieurs mutations sont présentes sur un même allèle.

| Mutations | (n) | (%) |
|--------------------------------------|-----|-----|
| I2G | 14 | 40 |
| R356W | 5 | 14 |
| I172N | 3 | 9 |
| P453S | 3 | 9 |
| large délétion | 3 | 9 |
| Q318X | 1 | 3 |
| Cluster E6 : I236N V237E M239K | 1 | 3 |
| G110D8nt | 1 | 3 |
| conversion génique de l'extrémité 5' | 1 | 3 |
| mutation île de la réunion | 1 | 3 |
| c.1066C>T | 1 | 3 |
| IVS6+75 C>T | 1 | 3 |
| total | 35 | 100 |

Tableau 7 : Mutations du gène *CYP21A2* des patients atteints d'hyperplasie congénitale des surrénales au CHU de Nantes (2000-2007).

| cas | Génotype | Phénotype | Allèle n° 1 | Allèle n° 2 |
|-----|-----------------------------|-----------|--------------------------------------|----------------|
| 1 | Hétérozygote composite | classique | R356W | R356W + I2G |
| 2 | Hétérozygote composite | classique | R356W | I2G |
| 3 | Hétérozygote composite | classique | IVS6 + 75 C>T | I172N |
| 4 | Hétérozygote composite | classique | R356W | I2G |
| 5 | Hétérozygote composite | classique | I172N | I2G |
| 6 | Hétérozygote composite | classique | R356W | I2G |
| 7 | Hétérozygote composite | classique | I172N | I2G |
| 8 | Hétérozygote composite | classique | P453S + Q318X | I2G |
| 9 | Hétérozygote composite | classique | Cluster E6 : I236N V237E M239K | I2G |
| 10 | hémizygote | classique | G110D8nt | I2G |
| 11 | hémizygote | classique | conversion génique de l'extrémité 5' | large lésion |
| 12 | hémizygote | classique | mutation île de la réunion | large délétion |
| 13 | hémizygote | classique | large lésion | I2G |
| 14 | homozygote | classique | I2G | I2G |
| 15 | homozygote pour 2 mutations | classique | I2G + P453S | I2G + P453S |
| 16 | non connu | classique | non connu | non connu |

Tableau 8 : Génotypes des patients atteints d'hyperplasie congénitale des surrénales au CHU de Nantes (2000-2007).

Plus de la moitié des cas sont hétérozygotes composites, 4 enfants sont hémizygotes du fait de la perte de matériel génétique et 2 enfants sont homozygotes. Parmi ces derniers, un est double homozygote pour deux mutations ponctuelles. Un des génotypes n'est pas encore connu à ce jour.

III. Patients non atteints d'hyperplasie congénitale des surrénales

III.1 Sexe, terme et poids des enfants non hyperplasiques

Dans ce groupe, 23 enfants sont de sexe masculin (54,8%) et 19 sont de sexe féminin (45,2%). Les enfants avec des concentrations augmentées de 17OHP sérique mais non atteints d'HCS sont majoritairement des prématurés (73,8% des cas). Leur terme moyen est de $33 \pm 4,7$ SA [min 26 - max 40]. Leur poids de naissance moyen est de 2015 ± 937 grammes [min 580 - max 3970]. Sur ces 42 enfants, 8 (19%) sont hypotrophes à la naissance.

III.2 Circonstances diagnostiques et pathologies néonatales

Les facteurs ayant motivé le dosage sérique de 17OHP chez les enfants non atteints sont décrits dans le tableau 9.

| | Garçons | Filles | Total | % |
|----------------------------|---------|--------|-------|------|
| Anomalies des OGE | 3 | 7 | 10 | 23,8 |
| Dépistage néonatal positif | 9 | 11 | 20 | 47,6 |
| Ionogramme pathologique | 3 | 3 | 6 | 14,3 |
| Hypoglycémies | 1 | 5 | 6 | 14,3 |

Tableau 9 : *Circonstances ayant motivé le dosage sérique de 17OHP chez les enfants non atteints d'HCS.*

Les 10 cas avec anomalies de développement des OGE se décomposent en 7 hypertrophies clitoridiennes modérées, 2 cryptorchidies dont une bilatérale et un cas d'hypospade. Une hyponatrémie associée ou non à une hyperkaliémie a été retrouvée chez 6 patients. Des épisodes d'hypoglycémies sont retrouvés chez 6 patients.

Sur les 42 enfants non atteints d'HCS, 32 étaient en situation de stress au moment du dosage sérique de 17OHP. Les pathologies rencontrées sont variables. Les deux plus fréquentes étant la présence d'une détresse respiratoire (52,4 %) et l'existence d'un état septique (30,9 %), suivi par la présence d'un ictère néonatal dans 28,6% des cas.

III.3 Concentrations de 17OHP, de Δ 4-androstènedione et de testostérone obtenues chez les patients non hyperplasiques

Les concentrations moyennes de 17OHP, de Δ 4-androstènedione et de testostérone sériques chez les 42 enfants étudiés sont résumées dans le tableau 10.

Le jour moyen du prélèvement sérique par rapport à la naissance dans cette population est de $21,1 \pm 15$ jours de vie. Un seul prélèvement a été pratiqué sans attendre le résultat du dépistage néonatal, chez une fille qui présentait une hypertrophie clitoridienne.

| | ng/mL | Valeurs normales du laboratoire à 10 jours de vie | |
|------------------------------------|------------|---|-----------|
| | | Garçon | Fille |
| 17-hydroxyprogestérone Moy(ET) | 9,37 (5,8) | 0,4 - 2 | 0,4 - 3 |
| Δ 4-androstènedione Moy(ET) | 3,48 (2,1) | 0,3 - 1,2 | 0,1 - 1,2 |
| Testostérone Moy(ET) | 1,00 (0,6) | < 0,9 | < 0,05 |

Tableau 10 : Concentrations de 17OHP, de Δ 4-androstènedione et de testostérone sériques chez les patients non atteints d'HCS.

La concentration de 17OHP la plus élevée observée dans ce groupe est de 51 ng/mL. Elle correspond à un prélèvement effectué à 19 jour de vie chez une enfant prématurée née au terme de 28 SA. Cette grossesse gémellaire a été compliquée d'un syndrome transfuseur/transfusé puis de complications néonatales avec une détresse respiratoire et une infection materno-fœtale à candida. Le dépistage était positif sur papier buvard. Le contrôle à 26 jours de vie a permis d'observer la normalisation de la concentration de 17OHP chez cette enfant (3,3 ng.mL) et d'éliminer le diagnostic d'HCS.

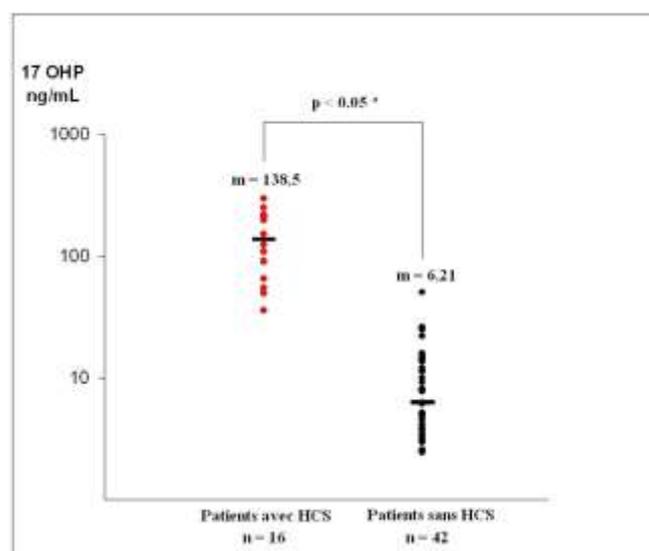


Figure 20 : Concentrations médianes de 17OHP chez les enfants atteints et non atteints d'HCS. Concentrations lors du premier dosage sérique.* Test de Mann-Whitney

Sur les 42 enfants étudiés, avec une concentration de 17OHP supérieure à 2ng/mL, 26 n'ont pas été contrôlés par la suite et 16 enfants seulement ont bénéficié d'un dosage répété de la 17OHP. Pour ces 16 enfants contrôlés, il a été observé 7 normalisations de la concentration de la 17OHP, 3 diminutions sans normalisation et 6 cas avec des concentrations stables. Les prélèvements des 3 cas de diminution sans normalisation ont été pratiqués avant l'atteinte du terme théorique. En revanche, les concentrations stables observées chez 6 enfants sont issues de prélèvements pratiqués après le terme théorique pour quatre d'entre eux.

Chez tous les enfants non atteints d'HCS, il est important de noter que les concentrations de 17OHP, bien que supérieures à la normale, restent néanmoins significativement inférieures à celles des patients avec une HCS (figure 20).

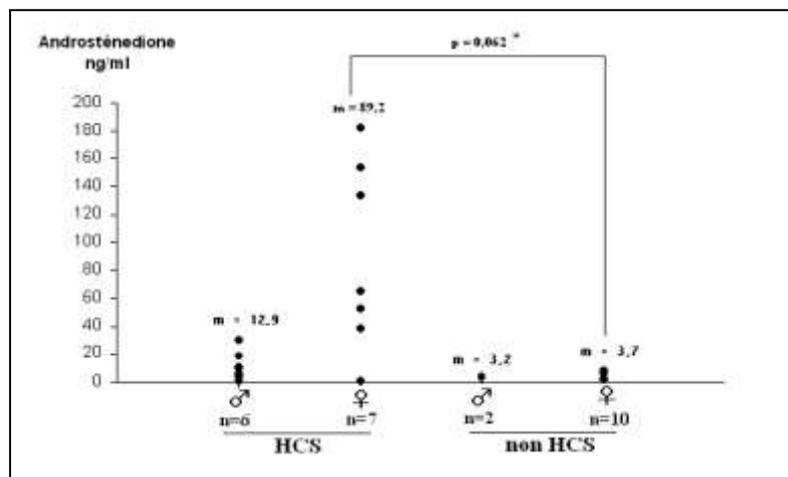


Figure 21 : Concentrations de $\Delta 4$ -androsténone chez les enfants atteints et non atteints d'HCS. Concentrations lors du premier dosage sérique.* Test de Mann-Whitney

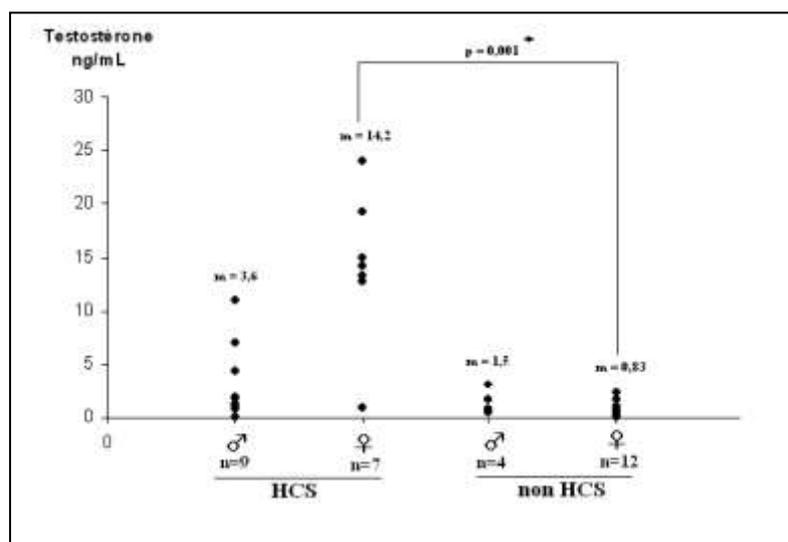


Figure 22 : Concentrations de testostérone chez les enfants atteints et non atteints d'HCS. Concentrations lors du premier dosage sérique.* Test de Mann-Whitney

Sur les 42 patients étudiés, 16 ont eu un dosage de Δ 4-androstènedione et/ou de testostérone (38%). Dans trois quarts des cas, il s'agissait de filles (12/16). Les concentrations de testostérone sont significativement plus élevées chez les filles atteintes d'HCS.

III.4 Relations entre concentration de 17OHP et pathologies néonatales

Au cours de notre étude, les différences cliniques entre sujets atteints d'HCS et non atteints portaient principalement sur les pathologies néonatales. Nous nous sommes donc demandé si la présence de ces pathologies pouvait influencer les concentrations de 17OHP sériques.

III.4.1 Terme de naissance

Afin de déterminer si la prématurité pouvait être à l'origine des concentrations élevées de 17OHP, nous avons effectué une corrélation entre prématurité et concentration de 17OHP et comparé les concentrations de 17OHP des sujets prématurés à celles des enfants nés à terme.

La concentration sérique de 17OHP était corrélée de façon négative et significative au terme de naissance, exprimé en équivalent SA, au moment du prélèvement (figure 23).

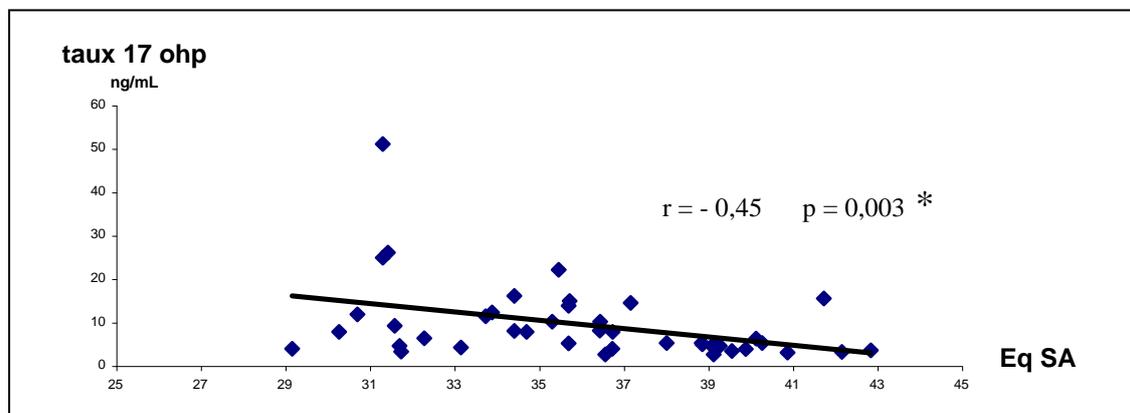


Figure 23 : Concentrations de 17OHP en fonction du terme exprimé en équivalent semaine d'aménorrhée chez les enfants non atteints d'HCS. * Test de Spearman

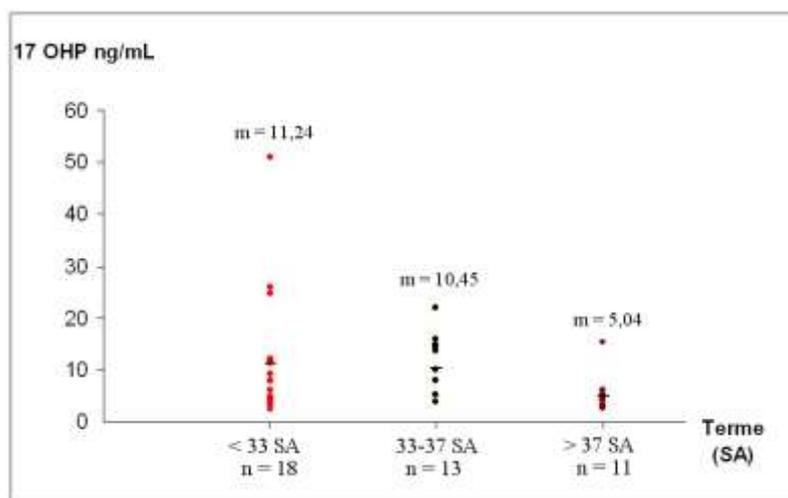


Figure 24 : Concentrations de 17OHP lors du premier prélèvement, en fonction de l'importance de la prématurité.

| | 17OHP (ng/mL) (Moy(Et)) |
|----------------------|-------------------------|
| Nés à terme (n = 11) | 5,03 (2,1) |
| Prématurés (n = 31) | 10,9 (6,3) |

Tableau 11 : Concentrations de 17OHP chez les enfants nés prématurés et chez les enfants nés à terme.

Dans notre groupe, les concentrations de 17OHP chez les enfants nés prématurés ($10,09 \pm 9,5$) sont plus élevées que chez les enfants nés à terme ($5,04 \pm 3,4$). Cette différence est significative ($p = 0,005$). Il existe néanmoins un chevauchement important des valeurs observées comme le montre la figure 24.

A l'exception d'un cas totalement asymptomatique, les enfants nés à terme ayant des concentrations de 17OHP élevées, présentaient tous une pathologie congénitale ou néonatale. Les pathologies rencontrées sont diverses : hydrocéphalie, syndrome polymalformatif, hyperinsulinisme, pseudohyperaldostéronisme et insuffisance rénale dysimmunitaire. La concentration la plus forte (15,4 ng/mL) a été observée chez un enfant souffrant de polymalformation avec athyréose, ayant présenté une détresse respiratoire sévère ainsi qu'un ictère néonatal.

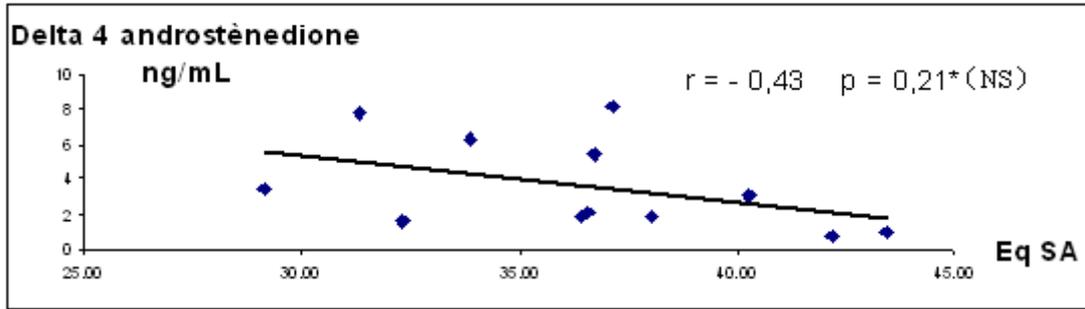


Figure 25 : Concentrations de $\Delta 4$ -androstènedione en fonction du terme exprimé en équivalent semaine d'aménorrhée chez les enfants non atteints d'HCS.* Test de Spearman.

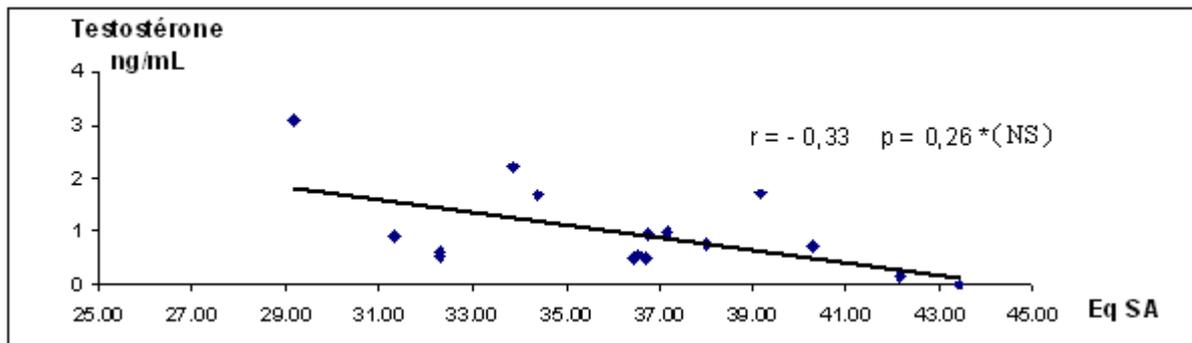


Figure 26 : Concentrations de testostérone en fonction du terme exprimé en équivalent semaine d'aménorrhée chez les enfants non atteints d'HCS.* Test de Spearman.

Les concentrations sériques de $\Delta 4A$ et de testostérone étaient également corrélées de façon négative avec le terme lors du prélèvement (figure 25 et 26). Cette corrélation n'était cependant pas significative pour ces deux paramètres. Les concentrations des $\Delta 4A$ ne sont pas significativement différentes entre prématurés ($4,61 \pm 2,5$) et enfants nés à terme ($1,83 \pm 1,15$) ($p = 0,11$, test de Mann-Whitney). De même, les concentrations de testostérone ne sont pas significativement différentes entre prématurés ($1,22 \pm 0,81$) et enfants nés à terme ($0,88 \pm 0,63$) avec $p = 0,23$.

III.4.2 Poids de naissance

Afin de déterminer si les concentrations élevées de 17OHP pouvaient être reliées à un faible poids de naissance, nous avons comparé les concentrations entre deux groupes d'enfants, hypotrophes et eutrophes (figure 27).

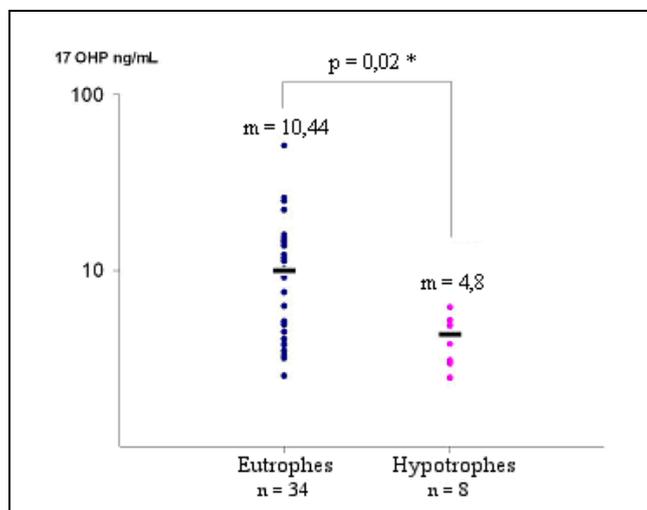


Figure 27 : Concentrations de 17OHP en fonction de la présence ou non d'une hypotrophie à la naissance chez les patients non atteints d'HCS. * Test de Mann-Whitney

Dans notre groupe, les enfants hypotrophes ont des concentrations de 17OHP significativement plus basses par rapport aux enfants nés eutrophes ($p = 0,02$).

Les concentrations de $\Delta 4A$ ne sont pas significativement différentes entre les deux groupes eutrophes ($4,9 \pm 2,5$) et hypotrophes ($2,04 \pm 1,1$). De même, les concentrations de testostérone ne sont pas significativement différentes entre les deux groupes eutrophes ($1,1 \pm 0,55$) et hypotrophes ($1,28 \pm 1,29$).

III.4.3 Corticothérapie anténatale

Afin de déterminer si les concentrations élevées de 17OHP pouvaient être reliées à l'existence d'une corticothérapie anténatale, nous avons comparé les concentrations entre deux groupes d'enfants, "présence d'une cure de corticothérapie anténatale" et "absence" (figure 28).

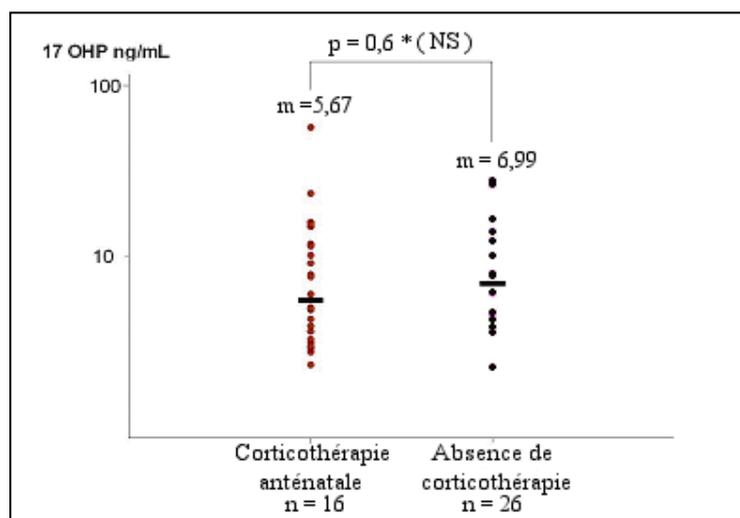


Figure 28 : Concentrations de 17OHP en cas de corticothérapie anténatale chez les enfants non atteints d'HCS. * Test de Mann-Whitney

Les concentrations des 17OHP, de Δ 4A et de testostérone ne sont pas significativement différentes entre les deux groupes.

III.4.4 Toxémie gravidique

Afin de déterminer si les concentrations élevées de 17OHP pouvaient être reliées à l'existence d'une hypertension artérielle (HTA) maternelle pendant la grossesse, nous avons comparé les concentrations entre deux groupes d'enfants, présence d'une HTA maternelle et absence d'HTA maternelle (figure 29).

Les concentrations des 17OHP, de Δ 4A et de testostérone ne sont pas significativement différentes entre les deux groupes HTA maternelle ou non.

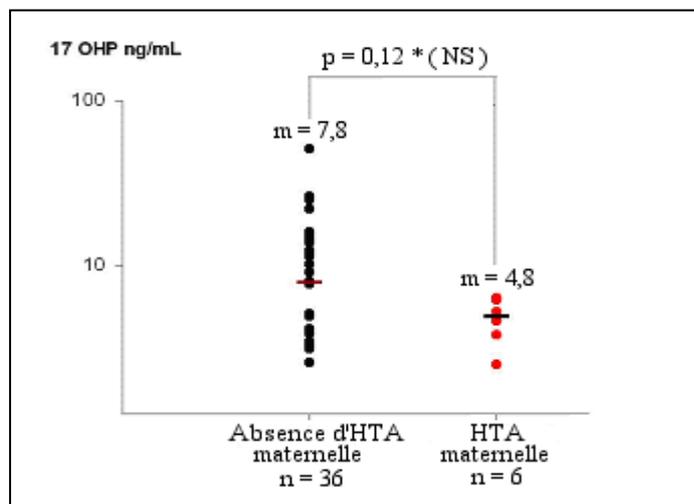


Figure 29 : Concentrations de 17OHP en fonction de la présence d'une HTA maternelle pendant la grossesse chez les enfants non atteints d'HCS. * test de Mann-Whitney

III.4.5 Détresse respiratoire

Afin de déterminer si les concentrations élevées de 17OHP pouvaient être reliées à l'existence d'une détresse respiratoire néonatale, nous avons comparé les concentrations entre deux groupes d'enfants, présence d'une détresse respiratoire ou non.

Les concentrations de 17OHP et de testostérone ne sont pas significativement différentes entre les enfants avec une détresse respiratoire et les enfants sans détresse respiratoire (figure 30). De même, les concentrations de testostérone ne sont pas significativement différentes entre les deux groupes. Les enfants ayant présenté une insuffisance respiratoire ont des concentrations de Δ 4A plus élevées ($5,11 \pm 2,41$) par rapport aux enfants sans détresse respiratoire ($2,45 \pm 1,81$) ($p = 0,03$, test de Mann-Whitney).

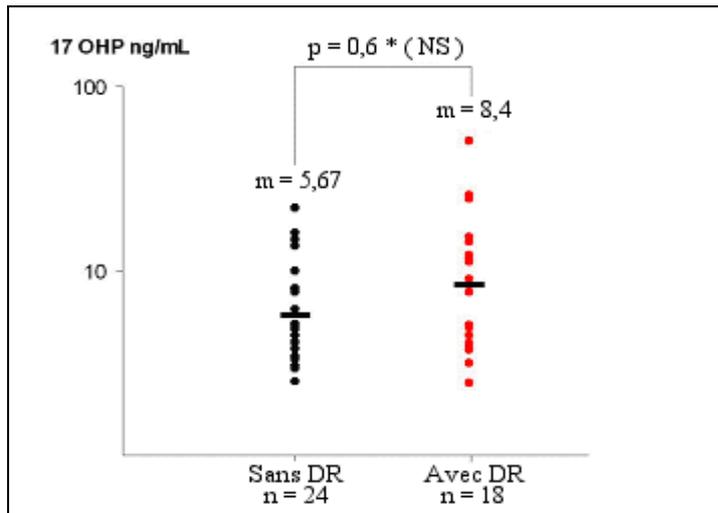


Figure 30 : Concentrations de 17OHP en fonction de l'existence d'une détresse respiratoire néonatale (DR) chez les patients non atteints d'HCS.* Test de Mann-Whitney

III.4.6 Sepsis

Afin de déterminer si les concentrations élevées de 17OHP pouvaient être reliées à l'existence d'un sepsis, nous avons comparé les concentrations entre deux groupes d'enfants, présence d'un sepsis ou non (figure 31).

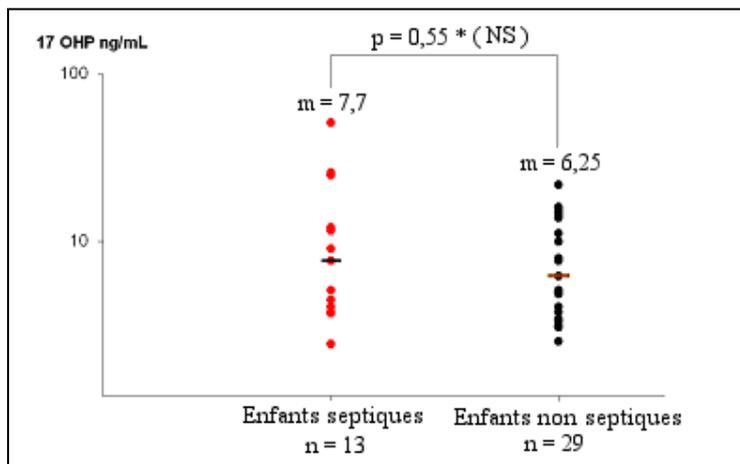


Figure 31 : Concentrations de 17OHP en fonction de l'existence d'un état septique.* Test de Mann-Whitney

Les concentrations des 17OHP, de $\Delta 4A$ et de testostérone ne sont pas significativement différentes entre les deux groupes, sepsis ou non.

III.4.7 Immaturité hépatique

Afin de déterminer si les concentrations élevées de 17OHP pouvaient être reliées à l'existence d'une immaturité hépatique, nous avons comparé les concentrations entre deux groupes d'enfants, présence d'une hyperbilirubinémie ou non (figure 32).

Les concentrations des 17OHP, de $\Delta 4A$ et de testostérone ne sont pas significativement différentes entre les deux groupes bilirubine augmentée ou non.

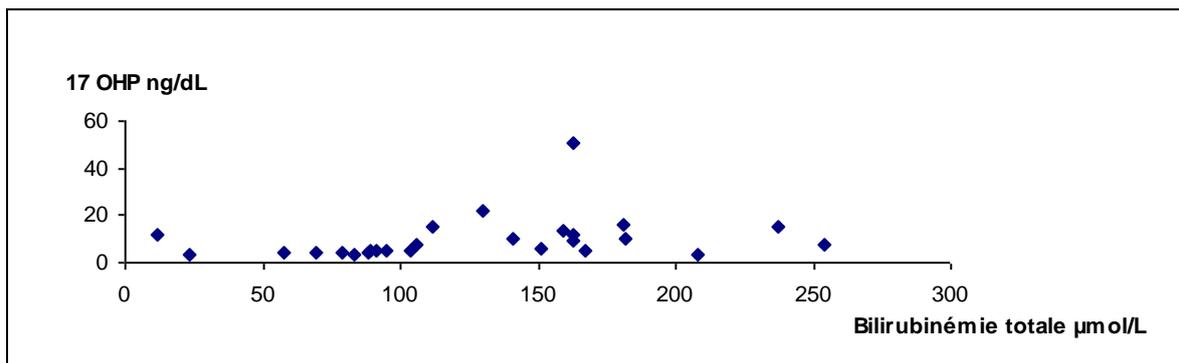


Figure 32 : Concentrations de 17OHP en fonction de la bilirubinémie totale chez les enfants non atteints d'HCS.

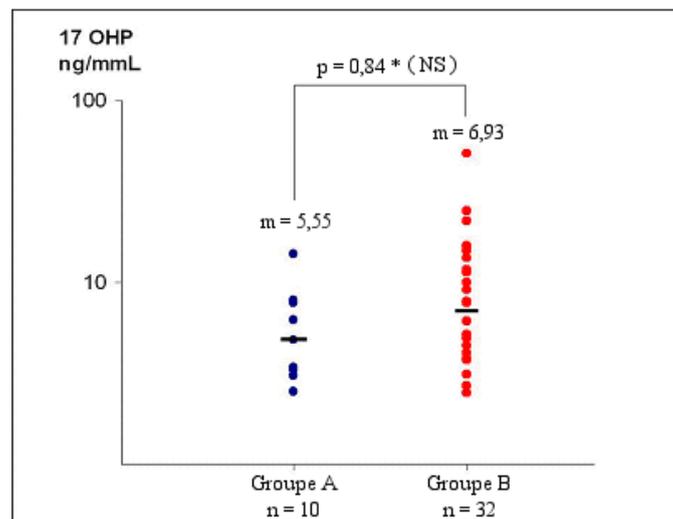


Figure 33 : Concentrations de 17OHP en fonction de la présence d'une immaturité hépatique chez les enfants non atteints d'HCS. Groupe A : bilirubnémie inférieure à 17 µmol/L. Groupe B : bilirubinémie supérieure à 17 µmol/L.* Test de Mann-Whitney

Afin de déterminer si l'hyperbilirubinémie pouvait être à l'origine des concentrations élevées de 17OHP, nous avons effectué une corrélation entre bilirubinémie et concentration de 17OHP.

Un dosage de bilirubine proche de la date du dosage de 17OHP sérique était disponible pour 25 dossiers. La figure 33 illustre la répartition des valeurs de 17OHP en fonction de l'importance de l'ictère biologique chez ces enfants. Cinq enfants nés à terme ont présenté une augmentation de leur bilirubinémie. Il n'y a pas de corrélation significative entre bilirubinémie totale et concentration de 17OHP sérique.

DISCUSSION

Le dosage de la 17OHP sérique chez les nouveaux-nés constitue le dosage de confirmation d'une hyperplasie congénitale des surrénales par bloc en 21-hydroxylase chez tous les enfants pour qui un test de Guthrie est positif pour cette pathologie. Au CHU de Nantes, ce dosage est fait par technique RIA. L'anticorps utilisé reconnaît à la fois la 17OHP et son précurseur, la 17OHPreg, dont les concentrations sont élevées pendant la première année de vie. Pour tous les enfants de moins de 2 ans, une extraction systématique de la 17OHP sérique par le diéthyl-éther est donc effectuée avant le dosage. Cependant, malgré cette extraction préalable, les concentrations de 17OHP obtenues pour certains enfants restent anormalement élevées, ce qui pose un problème pour leur prise en charge.

Au cours de ce travail rétrospectif, portant sur les années 2000 à 2007 compris, nous avons donc analysé les dossiers des tous les enfants ayant des concentrations sériques de 17OHP supérieures à 2 ng/ml (n =58). Nous avons tout d'abord analysé les dossiers des enfants présentant réellement une HCS et comparé ces résultats à ceux de la littérature (n =16). Puis, nous avons analysé les dossiers des enfants ne présentant pas d'HCS (n = 42). Chez ces derniers, nous avons recherché différentes étiologies pouvant expliquer ces concentrations élevées.

Sur les 58 enfants ayant des concentrations élevées de 17OHP, 27,6% présentaient réellement une HCS. Du fait des critères de sélection de notre étude (prélèvements effectués uniquement dans les 90 premiers jours de vie), les patients avec une HCS dans notre groupe ont tous une forme classique avec perte de sel.

Dans notre étude, le sexe ratio des enfants atteints est de 1,3 (9 garçons et 7 filles). Le mode de transmission autosomique récessif de la maladie devrait aboutir à un sexe ratio de 1. Ce ratio, apparemment en faveur des garçons, est la conséquence de la petite taille de notre cohorte de malades. Il est à noter qu'avant l'avènement du dépistage systématique, il était observé un excès de filles chez les patients atteint d'HCS. Ce phénomène est expliqué par la pauvreté des signes cliniques et les décès précoces non explicités chez les garçons non diagnostiqués [74-76].

Dans notre groupe, la mutation la plus fréquemment retrouvée (40% des allèles atteints) est I2G qui entraîne une anomalie d'épissage de l'intron 2. Ce taux est supérieur à celui observé dans la littérature pour la population française (environ 20%). Viennent ensuite les mutations

R356W (14%), puis I172N et P453S (9%). Les grands réarrangements (délétions et conversions géniques) représentent 12% des allèles malades, taux inférieurs aux valeurs publiées de l'ordre de 19% [42].

Dans notre cohorte, le diagnostic d'HCS est effectué plus précocement pour les filles que pour les garçons. En effet le dosage sérique de 17OHP de confirmation est pratiqué à $8,6 \pm 2,7$ jours chez les garçons pour qui une HCS est suspectée, contre $1,8 \pm 1,5$ jours chez les filles. Il en résulte que le délai d'instauration du traitement chez les garçons est de $9 \pm 3,5$ jours alors qu'il n'est que de $4 \pm 2,2$ jours chez les filles. Nous retrouvons donc un délai de prise en charge deux fois plus long pour les garçons. Kovacs et coll. ont décrit ce délai diagnostique double chez le garçon [77]. Les filles présentant une anomalie de développement des OGE, le plus souvent de stade Prader III-IV, visible à l'inspection, il est logique qu'elles soient diagnostiquées et prises en charge deux fois plus rapidement que les garçons. En effet dans notre étude, alors que pour les garçons c'est le dosage biologique de 17OHP qui permet la mise en évidence du bloc après le test de Guthrie, chez les filles, dans 6 cas sur 7, ces dosages hormonaux ne venaient que confirmer la suspicion clinique avant le résultat du dépistage néonatal. La crise de perte de sel apparaissant dans un intervalle de une à deux semaines après la naissance, (délai moyen de 10 jours) [57], le délai moyen de prise en charge que nous avons observé (9 jours) a permis à tous les garçons d'éviter l'apparition d'une crise de perte de sel. Pour aucun d'entre eux, il n'a été observé de natrémie inférieure à 130 mmol/L. Le délai maximal avant traitement dans notre étude était de 13 jours, pour 2 garçons.

Les concentrations de 17OHP sériques, mesurées après extraction à l'éther chez les enfants atteints d'HCS, sont significativement supérieures à celles observées chez les enfants sains, prématurés ou non ($150,8$ vs $9,37$ ng/mL ($p < 0,05$)). La confirmation diagnostique par le dosage sérique de ce marqueur n'est donc pas mis en défaut chez les 16 enfants malades étudiés. Il est à noter qu'un des garçons atteints, et qui avait des antécédents familiaux, était un faux négatif du dépistage néonatal. Alors que son test de Guthrie était négatif à J3, le dosage sérique de 17OHP chez cet enfant s'est avéré élevé avec une concentration de 49 ng/mL à 10 jours de vie.

La technique de dosage par méthode RIA peut surestimer la concentration de 17OHP du fait de la spécificité imparfaite des anticorps utilisés. Lors de ces dosages, il existe des

réactions croisées avec d'autres stéroïdes endogènes. Cette réactivité croisée résulte de la proximité de structure chimique de ces différents stéroïdes. Une étude par chromatographie liquide haute performance de plasma de nouveaux-nés poolés montre que la plus grande partie de l'immunoréactivité lors du dosage radioimmunologique de la 17OHP n'est pas due à la 17OHP elle-même, mais à la 17OHPreg et à son sulfate. La forme sulfatée est le principal agent interférant en l'absence d'extraction préalable au dosage [78, 81]. Or, la 17OHPreg est très augmentée en période néonatale [79, 80], du fait de l'immaturité métabolique (faible activité de l'HSD3B2 au sein du cortex fœtal) [4, 5]. En effet, en l'absence de stress ou d'infection sévère, les concentrations moyennes en 17OHPreg sont deux fois plus élevées à 7 jours de vie chez les enfants prématurés nés avant 33 SA, comparativement aux enfants nés à terme [81, 82]. Il est observé également une augmentation plus marquée de la 17OHPreg chez les enfants prématurés en situation de stress [11]. Dans notre étude, les concentrations de 17OHP chez les enfants atteints d'HCS sont divisées par 2 après extraction (247,8 et 123,2 ng/mL) alors qu'elles sont divisées par 8 chez les enfants non hyperplasiques (31,2 et 2,6 ng/mL). Nous retrouvons donc l'interférence plus marquée de la 17OHPreg chez les enfants non atteints, qui sont majoritairement des prématurés. Les pourcentages de réactivité croisée des différents kits de dosage ne sont pas similaires et entraînent des résultats différents selon les auteurs. Ainsi, en l'absence d'extraction préalable et en fonction du kit utilisé, les concentrations de 17OHP sont de 2 à 8 fois supérieures chez le prématuré par rapport aux enfants nés à terme [81].

Une extraction de la 17OHP (diéthyl-éther) est donc indispensable pour diminuer ces réactions croisées lors d'un dosage pratiqué chez l'enfant de moins de 2 ans. Aucune étude ne décrit la concentration résiduelle de 17OHPreg après extraction par le diéthyl-éther. Cette concentration reste à déterminer.

Chez certains enfants (n=42) malgré une extraction au diéthyl-éther permettant de s'affranchir de la 17OHPreg, les concentrations de 17OHP mesurées restent élevées. Nous avons donc recherché les raisons possibles de cette augmentation. De façon rétrospective, nous avons recherché si cette concentration augmentée pouvait être liée au terme de naissance, au poids de naissance, à l'existence d'une corticothérapie anténatale, à la présence d'une HTA maternelle, à la présence d'un stress (détresse respiratoire, sepsis) ou à une immaturité hépatique, estimée "grossièrement" par une hyperbilirubinémie.

Nos résultats montrent que la concentration de 17OHP sérique est corrélée de façon négative et significative au terme de naissance exprimé en EqSA ($r = -0,45$ $p = 0,003$, test de Spearman). Ces concentrations élevées de 17OHP chez l'enfant prématuré sont décrites dans de nombreuses études effectuées dans le contexte du dépistage néonatal. Ces études utilisent des techniques exemptes d'extraction et nécessitent l'adaptation du seuil de rappel à l'âge gestationnel [10, 11, 83-90]. Dans nos résultats de dosages diagnostiques, la persistance de concentrations augmentées de 17OHP malgré une extraction préalable, et ceci de façon corrélée au terme de naissance, est très intéressante. Deux explications peuvent être évoquées : 1) une élimination insuffisante de la 17OHPreg lors de l'extraction par le diéthyl-ether et/ou 2) des concentrations réellement plus importantes de la 17OHP chez le prématuré (persistance du cortex fœtal ? défaut de clairance ?). La première hypothèse fait actuellement l'objet d'un travail en collaboration avec le CHU d'Angers. Nous cherchons à déterminer par méthode chromatographique la présence résiduelle de 17OHPreg dans nos solvants d'extraction. Concernant la seconde hypothèse, il serait intéressant d'établir des valeurs de références en fonction du terme de naissance pour notre méthode RIA après extraction. Aucune étude de ce type n'a été faite jusqu'à présent. Les concentrations de 17OHP que nous avons observées, bien qu'anormalement élevées chez ces enfants prématurés, sont néanmoins significativement inférieures à celles des enfants atteints d'hyperplasie comme précédemment décrit. En effet, hormis un cas avec une concentration de 51 ng/mL, tous les autres enfants non atteints ont des concentrations de 17OHP inférieures à 30 ng/mL.

Nous avons par la suite recherché l'influence d'un petit poids de naissance sur les concentrations de 17OHP. Nous observons des concentrations significativement supérieures chez les enfants eutrophes par rapport aux enfants hypotrophes ($p = 0,02$, test de Mann-Whitney). Ce résultat est en contradiction avec les données de la littérature qui montrent toutes des taux augmentés de 17OHP chez l'hypotrophe [10, 11, 83-90]. Ce résultat peut être expliqué par différentes raisons : 1) la différence de population étudiée. Nous avons comparé les groupes eutrophes et hypotrophes uniquement chez des patients avec une concentration de 17OHP élevée, alors que dans la littérature ces groupes ont été faits indépendamment des concentrations de 17OHP, 2) la faiblesse de notre effectif (groupe eutrophe $n=34$ vs groupe hypotrophe $n=8$). Par ailleurs, alors que les prématurés sont souvent hypotrophes, nous n'avons que peu d'hypotrophie dans notre population d'enfants prématurés (13%), alors que nos enfants nés à terme sont plus fréquemment hypotrophes (36,4%). Van der Kamp décrit

l'influence principale du terme de naissance par rapport au poids de naissance sur les taux de 17OHP chez les prématurés [91].

Nous avons par la suite étudié l'influence d'une corticothérapie anténatale maternelle sur les concentrations de 17OHP de l'enfant. Ce traitement anténatal par glucocorticoïde est pratiqué dans le but d'accélérer la maturation pulmonaire fœtale lorsqu'il existe un risque de prématurité au cours de la grossesse. Nous n'avons pas retrouvé d'influence de la présence d'une cure de corticothérapie anténatale dans notre étude ($p = 0,6$, test de Mann-Whitney). Ce résultat est cohérent avec la littérature. Il n'est classiquement pas observé de différence dans les niveaux de 17OHP à la naissance entre les prématurés dont la mère a bénéficié d'une seule cure de glucocorticoïde et ceux où aucun traitement n'a été donné [15, 90, 93, 94]. En revanche, des cures répétées de glucocorticoïdes en anténatal avec une dose cumulée d'au moins 48 mg entraînent une diminution de la concentration en 17OHP de 30% à la naissance chez ces prématurés. Le traitement anténatal par glucocorticoïde déprime l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien jusqu'à une semaine de vie environ [94].

La présence d'une hypertension artérielle maternelle pendant la grossesse ne montre pas non plus d'effet significatif sur les concentrations de 17OHP dans notre étude ($p = 0,12$). Néanmoins, notre effectif est faible (6 cas d'HTA maternelle). En cas de prématurité consécutive à une pré-éclampsie, les concentrations de 17OHP sont décrites comme significativement plus élevées par rapport à celles observées lorsque la prématurité est liée à une infection du liquide amniotique. Certains considèrent la 17OHP comme étant un marqueur de stress intra utérin prolongé compte tenu de cette différence de concentration suivant l'origine étiologique de la prématurité [92].

Le stress lié à un état septique, à une assistance ventilatoire ou à une pathologie non surrénalienne a également été associé à une augmentation des concentrations de 17OHP [12, 15, 94-96]. L'influence sur les taux de 17OHP des situations de stress n'est cependant pas retrouvée de manière systématique dans toutes les études [90]. Dans notre groupe, aucun effet significatif n'a pu être mis en évidence concernant l'existence d'un état septique ou d'une détresse respiratoire sur les concentrations de 17OHP. Un biais possible expliquant ce résultat est l'impossibilité de quantifier le stress (score de gravité) à posteriori. La catégorisation des patient en "stressé" ou "non stressé" a été faite en fonction des données cliniques contenues dans le dossier médical de chaque enfant. Cependant, les quatre patients non atteints d'HCS

qui présentaient les concentrations les plus élevées de 17OHP étaient tous des prématurés en situation de stress au moment du prélèvement. La plus forte concentration de 17OHP (51 ng/mL) a été observée chez un prématuré de 28 SA issu d'une grossesse gémellaire compliquée (syndrome transfuseur/transfusé), qui a présenté une infection materno-fœtale à candida et une maladie des membranes hyalines. Le contrôle de concentration sérique de 17OHP à 26 jours de vie chez cet enfant a montré une normalisation du paramètre (3,3 ng/mL). Deux cas ont présenté un pseudo-hypoaldostéronisme, pathologie décrite comme pouvant donner des taux augmentés de 17OHP [12].

Enfin, plusieurs auteurs estiment que l'immaturation hépatique du nouveau-né prématuré pourrait participer à l'élévation de la 17OHP sérique [13-15]. La faible synthèse de Cortisol Binding Globulin expliquerait aussi une plus faible clearance des stéroïdes et donc l'augmentation des précurseurs tel la 17OHP. Une hypothèse de notre travail était de vérifier si la bilirubinémie totale ne pouvait pas, en tant que marqueur d'immaturation hépatique facilement accessible, être liée à des concentrations augmentées de 17OHP. Nous n'avons pas observé de différence significative entre le groupe "bilirubine < 17 µmol/L" et "bilirubine > 17 µmol/L". Il existe néanmoins une tendance, avec des concentrations plus élevées chez les enfants ayant les bilirubinémies les plus fortes. La bilirubinémie reste néanmoins un paramètre grossier d'immaturation hépatique. En effet, elle peut être augmentée par de nombreux facteurs chez le nouveau-né : durée de vie des hématies plus courte et taux d'hémoglobine plus élevé, hypo-albuminémie fréquente, présence d'un céphalématome, faible dégradation digestive de la bilirubine conjuguée par absence de flore bactérienne et production de ligandine faible dans les premiers jours de vie. La faible activité de glucuro-conjugaison par immaturité enzymatique n'est donc qu'un facteur parmi d'autres participant à l'hyperbilirubinémie dans ce contexte néonatal, marquant les limites de notre approche indirecte.

L'option de contrôler la concentration de 17OHP sur des prélèvements pratiqués une fois le terme théorique atteint par l'enfant semble logique. Dans notre étude, un résultat augmenté de 17OHP sérique chez un prématuré n'est pas suivi de façon systématique de dosages de contrôle dans notre laboratoire, permettant de vérifier la normalisation du paramètre. En effet, de façon étonnante, sur les 20 enfants qui avaient un Guthrie positif et un taux de 17OHP sérique augmenté, seulement 3 ont bénéficié de dosages répétés de la 17OHP jusqu'à normalisation de la concentration. Seulement 16 patients sur 42 ont été suivis en terme de

dosage sérique de 17OHP dans notre laboratoire. Parmi ces derniers, seulement 7 (43%) ont vu leurs concentrations se normaliser permettant d'exclure un déficit enzymatique. 4 enfants avaient des concentrations toujours élevées de 17OHP malgré le fait que les prélèvements aient été réalisés après le terme théorique chez ces prématurés. Ces données sont cohérentes avec la littérature. En effet, Linder et coll. observent une décroissance plus lente de la 17OHP en cas de prématurité. La normalisation des concentrations de 17OHP pour les enfants nés après le terme de 31 SA est obtenue à 3 mois de vie. Pour les enfants nés avant 31 SA, la concentration moyenne de 17OHP à 3 mois de vie est deux fois plus élevée que celle des enfants nés à terme à 3 jours de vie [90]. Le contrôle à distance de la naissance est peu compatible avec la notion d'urgence diagnostic de l'HCS. Il est à noter que trois enfants non atteints d'HCS ont reçu une dose d'hydrocortisone avant l'exclusion du diagnostic, le cas le plus douteux ayant bénéficié d'un test au Synacthène®.

Ainsi un premier dosage anormal n'est pas suivi de contrôle dans notre laboratoire dans 62% des cas dans le groupe étudié. La connaissance de la faible valeur prédictive positive de taux faiblement augmentés ne pousse pas à la surveillance de la décroissance de la 17OHP dans un nombre non négligeable des cas. La suspicion diagnostique d'HCS ne s'est pas accompagnée du dosage de la Δ 4-androstènedione et de la testostérone dans 62% des cas. Ce chiffre montre le biais entraîné par le mode de sélection des patients à partir des résultats des dosages de 17OHP : notre groupe contient des enfants pour qui le diagnostic d'HCS semblait peu probable aux yeux du prescripteur. La présence de 2 garçons présentant des anomalies des OGE (micropénis et hypospade) non présentes en cas d'HCS par bloc en 21-hydroxylase, vient conforter cette hypothèse.

Le fait que ces enfants soient majoritairement prématurés et hospitalisés autorise une surveillance clinique et biologique rapprochée, permettant de prendre en charge l'enfant rapidement en cas de décompensation. Sur la période étudiée, aucun de ces enfants ne s'est révélé être atteint d'HCS, mais aucun suivi à long terme n'est disponible. Compte tenu de la symptomatologie plus tardive dans l'enfance, ou pendant l'adolescence, nous ne pouvons exclure la présence d'enfants atteints d'une forme non classique d'HCS au sein de notre groupe "non atteint d'HCS".

CONCLUSIONS

Les concentrations augmentées de 17OHP chez le nouveau-né prématuré posent le problème de l'exclusion du diagnostic de l'HCS. L'extraction préalable au dosage par RIA ne permet pas de répondre totalement à cette problématique, puisque dans la moitié des cas une concentration de 17OHP élevée persiste. L'option d'attendre plusieurs mois pour observer une normalisation du paramètre est peu satisfaisante, compte tenu du risque de survenue d'une décompensation aiguë chez un enfant rentré à domicile.

L'amélioration des examens sanguins de confirmation du diagnostic d'HCS peut prendre deux directions :

- L'établissement de valeurs normales de 17 OHP extraite et dosée par méthode RIA, dans le cadre d'un protocole de recherche clinique, pour les enfants nés prématurés en fonction de leur terme, de leur poids et éventuellement des pathologies néonatales associées. En effet, les valeurs normales de 17OHP disponibles dans la littérature sont issues de dosages sans extraction préalable.

- Le développement de techniques chromatographiques : la chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) ou plus récemment la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS), permettent d'obtenir un profil stéroïdien (17OHP, androstènedione et cortisol) à partir d'un seul prélèvement [96-98]. Il n'y a pas de réactions croisées dans ces techniques et la spécificité analytique est supérieure à celle des dosages immunologiques. La spécificité excellente vis à vis de la 17OHP et la possibilité d'étudier les autres stéroïdes sont des arguments en faveur d'un développement de cette méthode de dosage en routine et à son intégration comme test de confirmation en seconde intention dans le cadre du dépistage néonatal. Malheureusement, l'investissement matériel est conséquent, et le partage de l'appareil entre différentes déterminations impose souvent un travail en série, difficilement compatible avec la notion d'urgence diagnostique de l'HCS [99]. Enfin l'obstacle majeur à l'utilisation en routine de la chromatographie est le volume de sérum nécessaire pour un dosage, de l'ordre de 500 µL, volume difficilement prélevable dans un contexte de néonatalogie surtout chez des enfants prématurés.

Au total, le dosage RIA de 17OHP après extraction est performant pour diagnostiquer les cas d'HCS (un cas de faux négatif du dépistage rattrapé dans notre groupe), mais il reste insuffisant pour exclure de façon claire une HCS en cas de taux faiblement augmenté, notamment chez le prématuré.

ANNEXES

BIBLIOGRAPHIE

- [1].White, P.C. and P.W. Speiser, Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Endocr Rev*, 2000. 21(3): p. 245-91.
- [2].Goto, M., et al., In humans, early cortisol biosynthesis provides a mechanism to safeguard female sexual development. *J Clin Invest*, 2006. 116(4): p. 953-60.
- [3].Nomura, S., Immature adrenal steroidogenesis in preterm infants. *Early Hum Dev*, 1997. 49(3): p. 225-33.
- [4].Limal, J.M., *Endocrinologie périnatale. progrès en pédiatrie*, ed. doin. Vol. 18. 2005.
- [5].White, P.C., Ontogeny of adrenal steroid biosynthesis: why girls will be girls. *J Clin Invest*, 2006. 116(4): p. 872-4.
- [6].Krone, N., N.A. Hanley, and W. Arlt, Age-specific changes in sex steroid biosynthesis and sex development. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2007. 21(3): p. 393-401.
- [7].Hughes, I., Congenital adrenal hyperplasia: phenotype and genotype. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 2002. 15 Suppl 5: p. 1329-40.
- [8].Hughes, I.A., Intersex. *BJU Int*, 2002. 90(8): p. 769-76.
- [9].Bolt, R.J., et al., Maturity of the adrenal cortex in very preterm infants is related to gestational age. *Pediatr Res*, 2002. 52(3): p. 405-10.
- [10].Lee, M.M., et al., Serum adrenal steroid concentrations in premature infants. *J Clin Endocrinol Metab*, 1989. 69(6): p. 1133-6.
- [11].Hingre, R.V., et al., Adrenal steroidogenesis in very low birth weight preterm infants. *J Clin Endocrinol Metab*, 1994. 78(2): p. 266-70.
- [12].Murphy, J.F., et al., Plasma 17-hydroxyprogesterone concentrations in ill newborn infants. *Arch Dis Child*, 1983. 58(7): p. 532-4.
- [13].Sippell, W.G., et al., Plasma levels of aldosterone, corticosterone, 11-deoxycorticosterone, progesterone, 17-hydroxyprogesterone, cortisol, and cortisone during infancy and childhood. *Pediatr Res*, 1980. 14(1): p. 39-46.
- [14].Doerr, H.G., et al., Adrenocortical steroids in small-for-gestational-age term infants during the early neonatal period. *Pediatr Res*, 1989. 25(2): p. 115-8.
- [15].Nordenstrom, A., et al., Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia: 17-hydroxyprogesterone levels and CYP21 genotypes in preterm infants. *Pediatrics*, 2001. 108(4): p. E68.
- [16].Limal, J.M., et al., [Acute adrenal insufficiency in the newborn]. *Arch Pediatr*, 2006. 13(10): p. 1358-63.
- [17].Carlson, A.D., et al., Congenital adrenal hyperplasia: update on prenatal diagnosis and treatment. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 1999. 69(1-6): p. 19-29.
- [18].Baker, B.Y., et al., Nonclassic congenital lipoid adrenal hyperplasia: a new disorder of the steroidogenic acute regulatory protein with very late presentation and normal male genitalia. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006. 91(12): p. 4781-5.
- [19].Bhangoo, A., et al., Phenotypic features associated with mutations in steroidogenic acute regulatory protein. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005. 90(11): p. 6303-9.
- [20].Goncalves, J., A. Friaes, and L. Moura, Congenital adrenal hyperplasia: focus on the molecular basis of 21-hydroxylase deficiency. *Expert Rev Mol Med*, 2007. 9(11): p. 1-23.
- [21].Fujieda, K., et al., Molecular pathogenesis of lipoid adrenal hyperplasia and adrenal hypoplasia congenita. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2003. 85(2-5): p. 483-9.
- [22].Kim, C.J., et al., Severe combined adrenal and gonadal deficiency caused by novel mutations in the cholesterol side chain cleavage enzyme, P450sc. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008. 93(3): p. 696-702.
- [23].Lutfallah, C., et al., Newly proposed hormonal criteria via genotypic proof for type II 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002. 87(6): p. 2611-22.
- [24].Krone, N., et al., Congenital adrenal hyperplasia and P450 oxidoreductase deficiency. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2007. 66(2): p. 162-72.
- [25].Hosalkar, H.S., et al., The Antley-Bixler syndrome: two new cases. *J Postgrad Med*, 2001. 47(4): p. 252-5.
- [26].Zachmann, M., D. Tassinari, and A. Prader, Clinical and biochemical variability of congenital adrenal hyperplasia due to 11 beta-hydroxylase deficiency. A study of 25 patients. *J Clin Endocrinol Metab*, 1983. 56(2): p. 222-9.
- [27].Rosler, A., E. Leiberman, and T. Cohen, High frequency of congenital adrenal hyperplasia (classic 11 beta-hydroxylase deficiency) among Jews from Morocco. *Am J Med Genet*, 1992. 42(6): p. 827-34.
- [28].Joehrer, K., et al., CYP11B1 mutations causing non-classic adrenal hyperplasia due to 11 beta-hydroxylase deficiency. *Hum Mol Genet*, 1997. 6(11): p. 1829-34.
- [29].Krone, N., et al., Analyzing the functional and structural consequences of two point mutations (P94L and A368D) in the CYP11B1 gene causing congenital adrenal hyperplasia resulting from 11-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006. 91(7): p. 2682-8.
- [30].Merke, D.P. and S.R. Bornstein, Congenital adrenal hyperplasia. *Lancet*, 2005. 365(9477): p. 2125-36.
- [31].Toublanc, Le dépistage néonatal de l'hyperplasie congénitale des surrénales. *Medecine thérapeutique / pédiatrie*, 2001. 4(6): p. 424-8.
- [32].Mulaikal, R.M., C.J. Migeon, and J.A. Rock, Fertility rates in female patients with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *N Engl J Med*, 1987. 316(4): p. 178-82.
- [33].Lo, J.C. and M.M. Grumbach, Pregnancy outcomes in women with congenital virilizing adrenal hyperplasia. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2001. 30(1): p. 207-29.
- [34].Speiser, P.W. and P.C. White, Congenital adrenal hyperplasia. *N Engl J Med*, 2003. 349(8): p. 776-88.
- [35].Cabrera, M.S., M.G. Vogiatzi, and M.I. New, Long term outcome in adult males with classic congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001. 86(7): p. 3070-8.

- [36].New, M.I., Extensive clinical experience: nonclassical 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006. 91(11): p. 4205-14.
- [37].Feldman, S., et al., Fertility in women with late-onset adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*, 1992. 74(3): p. 635-9.
- [38].Moran, C., et al., 21-Hydroxylase-deficient nonclassic adrenal hyperplasia is a progressive disorder: a multicenter study. *Am J Obstet Gynecol*, 2000. 183(6): p. 1468-74.
- [39].Speiser, P.W., et al., High frequency of nonclassical steroid 21-hydroxylase deficiency. *Am J Hum Genet*, 1985. 37(4): p. 650-67.
- [40].Riepe, F.G. and W.G. Sippell, Recent advances in diagnosis, treatment, and outcome of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Rev Endocr Metab Disord*, 2007. 8(4): p. 349-63.
- [41].White, P.C. and P.W. Speiser, Congenital Adrenal Hyperplasia due to 21-Hydroxylase Deficiency. *Endocr Rev*, 2000. 21(3): p. 245-291.
- [42].Stikkelbroeck, N.M., et al., CYP21 gene mutation analysis in 198 patients with 21-hydroxylase deficiency in The Netherlands: six novel mutations and a specific cluster of four mutations. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003. 88(8): p. 3852-9.
- [43].Kotaska, K., L. Lisa, and R. Prusa, Common CYP21 gene mutations in Czech patients and statistical analysis of worldwide mutation distribution. *Cent Eur J Public Health*, 2003. 11(3): p. 124-8.
- [44].Nimkarn, S. and M.I. New, Prenatal diagnosis and treatment of congenital adrenal hyperplasia. *Pediatr Endocrinol Rev*, 2006. 4(2): p. 99-105.
- [45].Wilson, R.C., et al., Steroid 21-hydroxylase deficiency: genotype may not predict phenotype. *J Clin Endocrinol Metab*, 1995. 80(8): p. 2322-9.
- [46].Quercia, N., et al., Normal external genitalia in a female with classical congenital adrenal hyperplasia who was not treated during embryogenesis. *Prenat Diagn*, 1998. 18(1): p. 83-5.
- [47].Chrousos, G.P., et al., Prenatal therapy in congenital adrenal hyperplasia. Attempted prevention of abnormal external genital masculinization by pharmacologic suppression of the fetal adrenal gland in utero. *Ann N Y Acad Sci*, 1985. 458: p. 156-64.
- [48].Mercado, A.B., et al., Prenatal treatment and diagnosis of congenital adrenal hyperplasia owing to steroid 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*, 1995. 80(7): p. 2014-20.
- [49].Lajic, S., et al., Prenatal treatment of congenital adrenal hyperplasia. *Eur J Endocrinol*, 2004. 151 Suppl 3: p. U63-9.
- [50].Speiser, P.W. and M.I. New, Prenatal diagnosis and management of congenital adrenal hyperplasia. *Clin Perinatol*, 1994. 21(3): p. 631-45.
- [51].David, M. and M.G. Forest, Prenatal treatment of congenital adrenal hyperplasia resulting from 21-hydroxylase deficiency. *J Pediatr*, 1984. 105(5): p. 799-803.
- [52].Forest, M.G., H. Betuel, and M. David, Prenatal treatment in congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency: up-date 88 of the French multicentric study. *Endocr Res*, 1989. 15(1-2): p. 277-301.
- [53].Coleman, M.A. and J.W. Honour, Reduced maternal dexamethasone dosage for the prenatal treatment of congenital adrenal hyperplasia. *Bjog*, 2004. 111(2): p. 176-8.
- [54].Consensus statement on 21-hydroxylase deficiency from the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society and the European Society for Paediatric Endocrinology. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002. 87(9): p. 4048-53.
- [55].Nimkarn, S. and M.I. New, Prenatal diagnosis and treatment of congenital adrenal hyperplasia. *Horm Res*, 2007. 67(2): p. 53-60.
- [56].Pang, S.Y., et al., Prenatal treatment of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *N Engl J Med*, 1990. 322(2): p. 111-5.
- [57].Technical report: congenital adrenal hyperplasia. Section on Endocrinology and Committee on Genetics. *Pediatrics*, 2000. 106(6): p. 1511-8.
- [58].New, M.I., et al., Prenatal diagnosis for congenital adrenal hyperplasia in 532 pregnancies. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001. 86(12): p. 5651-7.
- [59].Lajic, S., et al., Long-term somatic follow-up of prenatally treated children with congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998. 83(11): p. 3872-80.
- [60].Nimkarn, S. and M.I. New, Prenatal diagnosis and treatment of congenital adrenal hyperplasia owing to 21-hydroxylase deficiency. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*, 2007. 3(5): p. 405-13.
- [61].Ritzen, E.M., Prenatal dexamethasone treatment of fetuses at risk for congenital adrenal hyperplasia: benefits and concerns. *Semin Neonatol*, 2001. 6(4): p. 357-62.
- [62].Trautman, P.D., et al., Effects of early prenatal dexamethasone on the cognitive and behavioral development of young children: results of a pilot study. *Psychoneuroendocrinology*, 1995. 20(4): p. 439-49.
- [63].Hirvikoski, T., et al., Cognitive functions in children at risk for congenital adrenal hyperplasia treated prenatally with dexamethasone. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007. 92(2): p. 542-8.
- [64].Jeffcoate, T.N., et al., Diagnosis of the adrenogenital syndrome before birth. *Lancet*, 1965. 2(7412): p. 553-5.
- [65].Forest, M.G., Pitfalls in prenatal diagnosis of 21-hydroxylase deficiency by amniotic fluid steroid analysis? A six years experience in 102 pregnancies at risk. *Ann N Y Acad Sci*, 1985. 458: p. 130-47.
- [66].Speiser, P.W., Prenatal and neonatal diagnosis and treatment of congenital adrenal hyperplasia. *Horm Res*, 2007. 68 Suppl 5: p. 90-2.
- [67].Karaviti, L.P., et al., Prenatal diagnosis/treatment in families at risk for infants with steroid 21-hydroxylase deficiency (congenital adrenal hyperplasia). *J Steroid Biochem Mol Biol*, 1992. 41(3-8): p. 445-51.
- [68].Speiser, P.W., et al., Prenatal diagnosis of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency by allele-specific hybridization and Southern blot. *Hum Genet*, 1994. 93(4): p. 424-8.

- [69].Lo, Y.M., Recent advances in fetal nucleic acids in maternal plasma. *J Histochem Cytochem*, 2005. 53(3): p. 293-6.
- [70].Dennis Lo, Y.M. and R.W.K. Chiu, Prenatal diagnosis: progress through plasma nucleic acids. *Nat Rev Genet*, 2007. 8(1): p. 71-77.
- [71].Heckerling, P.S. and M.S. Verp, Amniocentesis or chorionic villus sampling for prenatal genetic testing: a decision analysis. *J Clin Epidemiol*, 1991. 44(7): p. 657-70.
- [72].Therrell, B.L., Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2001. 30(1): p. 15-30.
- [73].Usher, R. and F. McLean, Intrauterine growth of live-born Caucasian infants at sea level: standards obtained from measurements in 7 dimensions of infants born between 25 and 44 weeks of gestation. *J Pediatr*, 1969. 74(6): p. 901-10.
- [74].Brosnan, P.G., et al., Effect of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 1999. 153(12): p. 1272-8.
- [75].Balsamo, A., et al., Congenital adrenal hyperplasia: neonatal mass screening compared with clinical diagnosis only in the Emilia-Romagna region of Italy, 1980-1995. *Pediatrics*, 1996. 98(3 Pt 1): p. 362-7.
- [76].Thil'en, A., et al., Benefits of neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia (21-hydroxylase deficiency) in Sweden. *Pediatrics*, 1998. 101(4): p. E11.
- [77].Kovacs, J., et al., Lessons from 30 years of clinical diagnosis and treatment of congenital adrenal hyperplasia in five middle European countries. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001. 86(7): p. 2958-64.
- [78].Wong, T., et al., Identification of the steroids in neonatal plasma that interfere with 17 alpha-hydroxyprogesterone radioimmunoassays. *Clin Chem*, 1992. 38(9): p. 1830-7.
- [79].Kojima, S., T. Yanaihara, and T. Nakayama, Serum steroid levels in children at birth and in early neonatal period. *Am J Obstet Gynecol*, 1981. 140(8): p. 961-5.
- [80].de Peretti, E. and E. Mappus, Pattern of plasma pregnenolone sulfate levels in humans from birth to adulthood. *J Clin Endocrinol Metab*, 1983. 57(3): p. 550-6.
- [81].Makela, S.K. and G. Ellis, Nonspecificity of a direct 17 alpha-hydroxyprogesterone radioimmunoassay kit when used with samples from neonates. *Clin Chem*, 1988. 34(10): p. 2070-5.
- [82].Riepe, F.G., et al., Longitudinal study of plasma pregnenolone and 17-hydroxypregnenolone in full-term and preterm neonates at birth and during the early neonatal period. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002. 87(9): p. 4301-6.
- [83].Cacciari, E., et al., Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia. *Arch Dis Child*, 1983. 58(10): p. 803-6.
- [84].Wallace, A.M., et al., Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia: a programme based on a novel direct radioimmunoassay for 17-hydroxyprogesterone in blood spots. *J Endocrinol*, 1986. 108(2): p. 299-308.
- [85].Berry, J., P. Betts, and P.J. Wood, The interpretation of bloodspot 17 alpha-hydroxyprogesterone levels in term and pre-term neonates. *Ann Clin Biochem*, 1986. 23 (Pt 5): p. 546-51.
- [86].Thompson, R., L. Seargeant, and J.S. Winter, Screening for congenital adrenal hyperplasia: distribution of 17 alpha-hydroxyprogesterone concentrations in neonatal blood spot specimens. *J Pediatr*, 1989. 114(3): p. 400-4.
- [87].Knudtzon, J., et al., Elevated 17-hydroxyprogesterone levels in premature infants. *Acta Paediatr Scand*, 1991. 80(1): p. 96-7.
- [88].Ohkubo, S., et al., Analysis of blood spot 17 alpha-hydroxyprogesterone concentration in premature infants--proposal for cut-off limits in screening for congenital adrenal hyperplasia. *Acta Paediatr Jpn*, 1992. 34(2): p. 126-33.
- [89].al Saedi, S., et al., Screening for congenital adrenal hyperplasia: the Delfia Screening Test overestimates serum 17-hydroxyprogesterone in preterm infants. *Pediatrics*, 1996. 97(1): p. 100-2.
- [90].Linder, N., et al., Longitudinal measurements of 17alpha-hydroxyprogesterone in premature infants during the first three months of life. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 1999. 81(3): p. F175-8.
- [91].van der Kamp, H.J., et al., Cutoff levels of 17-alpha-hydroxyprogesterone in neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia should be based on gestational age rather than on birth weight. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005. 90(7): p. 3904-7.
- [92].Ersch, J., et al., 17-Hydroxyprogesterone in premature infants as a marker of intrauterine stress. *J Perinat Med*, 2008. 36(2): p. 157-60.
- [93].King, J.L., et al., Antenatal corticosteroids and newborn screening for congenital adrenal hyperplasia. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 2001. 155(9): p. 1038-42.
- [94].Gatelais, F., et al., Effect of single and multiple courses of prenatal corticosteroids on 17-hydroxyprogesterone levels: implication for neonatal screening of congenital adrenal hyperplasia. *Pediatr Res*, 2004. 56(5): p. 701-5.
- [95].Huysman, M.W., et al., Adrenal function in sick very preterm infants. *Pediatr Res*, 2000. 48(5): p. 629-33.
- [96].Lacey, J.M., et al., Improved specificity of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia by second-tier steroid profiling using tandem mass spectrometry. *Clin Chem*, 2004. 50(3): p. 621-5.
- [97].Marsden, D. and C.A. Larson, Emerging role for tandem mass spectrometry in detecting congenital adrenal hyperplasia. *Clin Chem*, 2004. 50(3): p. 467-8.
- [98].Speiser, P.W., Improving neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004. 89(8): p. 3685-6.
- [99].Moal, V., The use of tandem mass spectrometry in hormonology : application to the quantitative analysis of steroid. *Ann Biol Clin*, 2008. 66(2): p. 165-73.

NOM : CAGIN PRENOM : JEROME

Titre de thèse : Diagnostic biologique des hyperplasies congénitales des surrénales au CHU de Nantes : analyse rétrospective sur huit années.

RESUME

L'hyperplasie congénitale des surrénales (HCS) fait l'objet d'un dépistage néonatal systématique et le dosage sérique de 17a-hydroxyprogestérone (170HP) par méthode radio-immunologique permet de confirmer le diagnostic rapidement. L'existence de concentrations augmentées de ce paramètre, malgré une extraction préalable au dosage (élimination de la réactivité croisée liée à la 17a-hydroxyprégnènone), pose le problème de l'exclusion diagnostique. Au cours d'un travail rétrospectif sur 8 ans, nous avons étudié les dossiers des enfants ayant eu une 170HP > 2 ng/mL : 16 présentaient une HCS, alors que 42 en étaient exempts. Parmi ces derniers, nous avons donc recherché les étiologies possibles de ces concentrations augmentées. Ni une corticothérapie anténatale, ni la présence d'une HTA maternelle, ni la présence d'un sepsis, d'une détresse respiratoire ou d'une hyperbilirubinémie ne sont liées à une 170HP élevée. En revanche le terme de naissance est corrélé de façon négative et significative aux concentrations de 170HP. Cette corrélation peut être expliquée soit par une élimination insuffisante de 1 a 17a-hydroxyprégnènone lors de l'extraction, soit par une 170HP réellement augmentée liée à la prématurité. Pour optimiser la performance diagnostique de ce dosage, il serait intéressant de définir des valeurs normales obtenues après extraction de la 170HP chez l'enfant en fonction du terme.

MOTS-CLÉS

Hyperplasie congénitale des surrénales; prématurité; 17a-hydroxyprogestérone; RIA