

Exploration biologique de la fonction corticotrope

Yvonne Fulla^{a,*}, Laurence Guignat^b, Marie-Annick Dugué^a, Guillaume Assié^b, Xavier Bertagna^b

RÉSUMÉ

La principale hormone glucocorticoïde est le cortisol produit par la corticosurrénale sous l'action stimulante de l'hormone corticotrope hypophysaire (ACTH), elle-même sous la dépendance des peptides hypothalamiques, la corticolibérine (CRH) et dans une moindre mesure la vasopressine. Le cortisol exerce un rétrocontrôle négatif sur la synthèse et la sécrétion des hormones hypothalamo-hypophysaires. La production de cortisol dépend du fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysaire-corticosurrénalien (HHC) et de la présence de l'équipement enzymatique nécessaire aux différentes voies de synthèse des hormones stéroïdes. L'exploration biologique étudie la sécrétion de base du cortisol et de l'ACTH, et les réponses sous des tests de stimulation ou de freination, permettant de mettre en évidence un dysfonctionnement de l'axe HHC responsable d'une sécrétion anormale de cortisol : en excès pour le syndrome de Cushing, ou en défaut pour l'insuffisance surrénalienne périphérique ou primaire et l'insuffisance surrénale secondaire ou insuffisance corticotrope.

Corticosurrénale – technique d'exploration – biologie – Cushing – cortisol – ACTH.

1. Rappel de la régulation et de la physiologie de l'axe corticotrope

1.1. Synthèse et régulation du cortisol

La corticosurrénale est la source de production des hormones minéralocorticoïdes, glucocorticoïdes et une partie des hormones sexuelles (*figures 1a-1b*). Les différentes voies de synthèse sont assurées par des tissus spécifiques de la corticosurrénale qui possèdent un équipement enzymatique permettant, à partir du cholestérol, d'aboutir aux hormones finales : l'aldostérone dans la zone glomérulée, le cortisol dans la zone fasciculée, les androgènes surrénaliens dont la principale est la déhydroépiandrostérone (DHEA) dans la zone réticulée (*figure 2*). Ce chapitre traite uniquement de

a Laboratoire de biophysique

b Service d'endocrinologie

Centre de référence des maladies rares de la surrénale
Université Paris-Descartes
Groupe hospitalier Cochin – Saint-Vincent-de-Paul
27, rue du Fg Saint-Jacques
75679 Paris cedex 14

* Correspondance

yvonne.fulla@cch.aphp.fr

SUMMARY

Biology of glucocorticoadrenal function

Cortisol is the major glucocorticoid hormone synthesized by the adrenal cortex in response to adrenocorticotrophic hormone (ACTH) which is secreted by the pituitary gland. Pituitary ACTH is stimulated by hypothalamic peptides: corticotropin-releasing factor (CRF) and vasopressine. Cortisol is involved in a negative feedback loop with hypothalamic and pituitary hormones synthesis and secretion. Production of cortisol is dependant of the hypothalamo-pituitary-adrenal cortex axis (HPA) functioning, and of the presence of enzymes responsible of different synthesis pathways of steroids hormones. Biological exploration of adrenocortical function is assessed by measurement of basal cortisol and ACTH levels, and by stimulation or suppression tests allowing informations about dysfunction of any organ in the HPA axis resulting in abnormal secretion of cortisol: overproduction in Cushing's syndrom, or primary adrenal insufficiency and secondary or hypothamo-pituitary insufficiency.

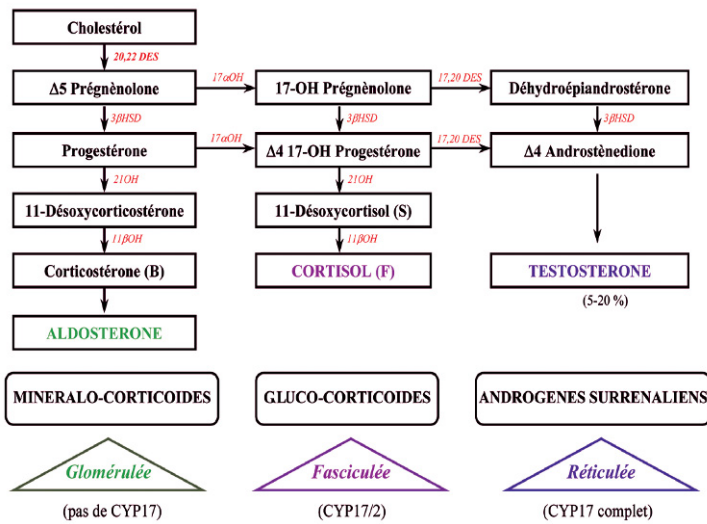
Adrenal cortex – investigation procedure – biology – Cushing – cortisol – ACTH.

l'activité corticotrope responsable de la production de cortisol, appelé aussi hydrocortisone ou composé F. La synthèse du cortisol dans la zone fasciculée de la corticosurrénale est stimulée par l'hormone hypophysaire adrénocorticotrope (ACTH, adrenocorticotrophin hormone ou corticostimuline ou corticotrophine) dont la synthèse et la sécrétion dans le lobe antérieur de l'hypophyse est sous la dépendance des peptides hypothalamiques : la corticolibérine (CRH, corticotropin-releasing hormone) et dans une moindre mesure la vasopressine. En plus de son action stimulante sur la sécrétion des corticostéroïdes, l'ACTH assure un rôle trophique sur la cortico-surrénale. Le cortisol exerce un rétrocontrôle négatif sur les hormones hypothalamo-hypophysaires (*figure 3*). La production de cortisol dépend du fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysaire-corticosurrénalien (HHC) et de la présence des enzymes responsables des voies de synthèses des hormones stéroïdes dont les principales sont les 17 α -, 11 β -, 21-hydroxylases appartenant à la famille des cytochromes P450, et la 3 β -hydroxy-stéroïde déshydrogénase (3 β HSD). Les déficits enzymatiques sont responsables d'une insuffisance surrénale avec accumulation des produits en

article reçu le 21 septembre, accepté le 2 octobre 2009.

© 2009 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

Figure 1a – Schéma général de synthèse des hormones stéroïdes.



1. CYP11A : 20,22DES (20,22 desmolase)
2. CYP17 : 17αOH (17 alpha hydroxylase ou Cyt b5) et 17,20 DES (17,20 desmolase)
3. CYP21 : 21OH (21hydroxylase)
4. CYP11B1 : 11βOH (11βhydroxylase)
5. 3βHSD : 3βhydroxystéroïdédéshydrogénase

Figure 1b – Biosynthèse des hormones corticosurrénales.

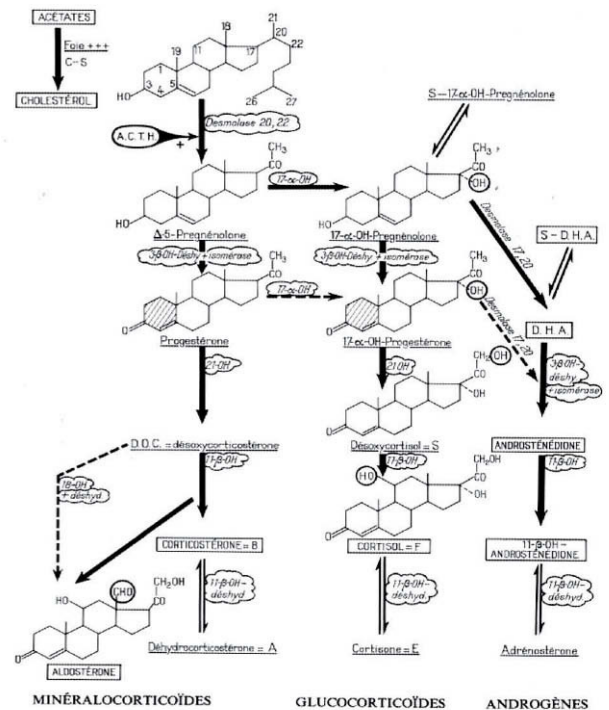


Figure 2 – Zones histologiques du cortex surrénalien.

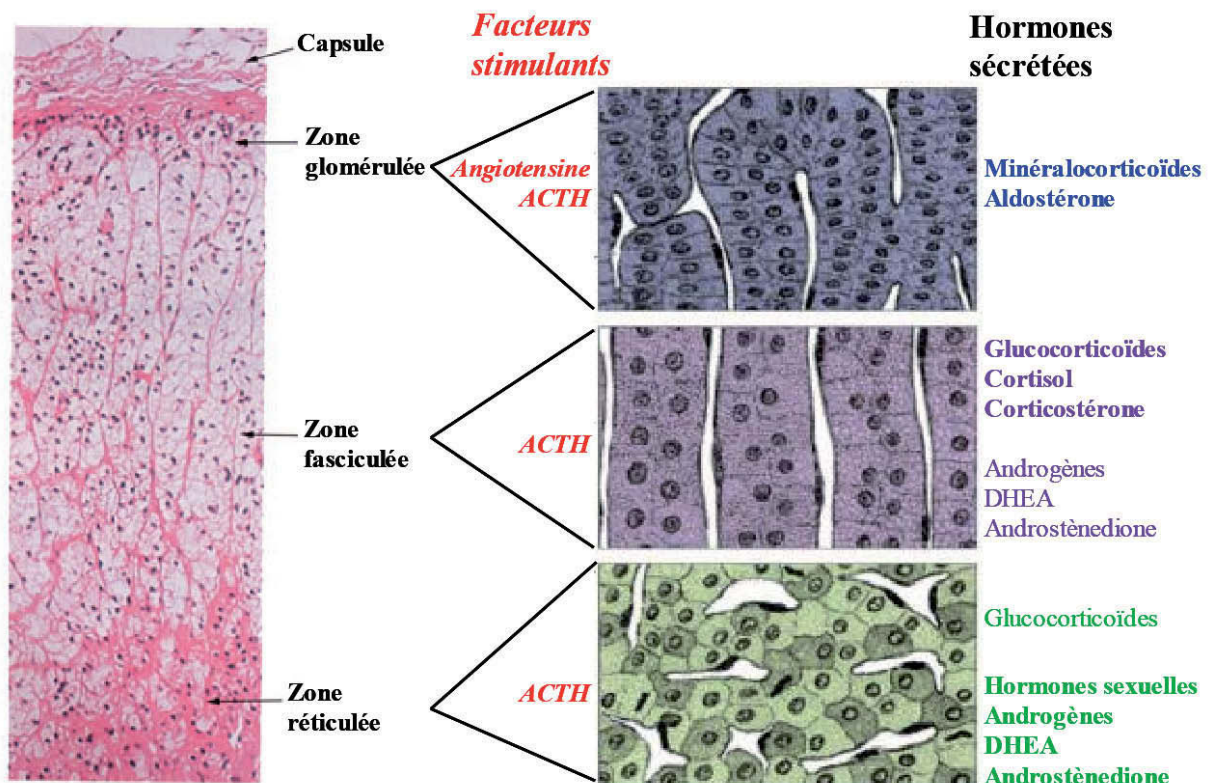
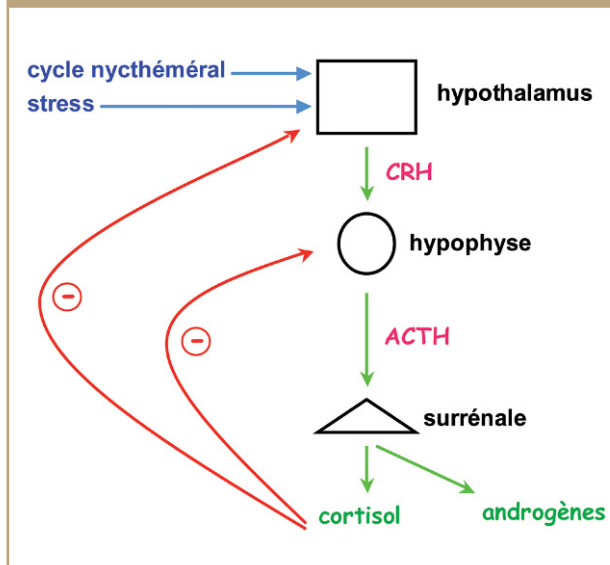


Figure 3 – Axe hypothalamo-hypophyso-corticosurrénalien.



amont du blocage et dérivation vers une synthèse accrue des androgènes surrénaliens (figures 4a-4b). La 11β-hydroxylase est un enzyme exclusivement cortico-surrénalien permettant d’aboutir à l’aldostérone pour la voie minéralocorticoïde et au cortisol pour la voie glucocorticoïde. Pour l’axe cortisolique, le blocage de cet enzyme par la métopirone empêche la transformation finale du 11-désoxycortisol (composé S) en cortisol conduisant à une baisse en cortisol responsable d’une augmentation d’ACTH par levée du rétrocontrôle négatif. Le blocage de la 11β-hydroxylase par la métopirone constitue un test de stimulation indirecte de l’axe hypothalamo-hypophysaire. L’exploration biologique recherche l’équilibre de la production des précurseurs à chaque étape de transformation jusqu’à l’hormone finale par des dosages hormonaux réalisés en condition de base ou au cours des tests spécifiques de stimulation ou de freinage (figures 5-6). Ces tests permettent d’apprécier l’écart de fonctionnement par rapport à la normale, soit en excès (hypercorticisme), soit en défaut (insuffisance surrénale), et surtout de cerner le niveau d’atteinte du dysfonctionnement dans l’axe HHC (atteinte primitive surrénale, ou atteinte centrale hypothalamo-hypophysaire).

Les surrénales synthétisent et sécrètent en moyenne 15 mg de cortisol par jour. La sécrétion est pulsatile en 10 à 20 pics quotidiens sous le contrôle de l’ACTH en réponse aux pulses de CRH, avec un maximum le matin et un minimum à minuit dont le taux présente un intérêt en pathologie. Le cortisol circule dans le sang majoritairement sous forme liée : 80-85 % à une protéine de transport spécifique, la transcortine ou cortisol-binding-protein (CBG), environ 10 % aux protéines générales comme l’albumine, et minoritairement (5-10 %) sous forme libre qui constitue la forme hormonale active. La CBG et l’albumine sont augmentées par certains médicaments et dans certaines situations (grossesse) pouvant induire une majoration du cortisol total, mais le cortisol libre demeure normal. Le cortisol libre représente donc un index plus fiable de l’imprégnation cortisolique que le cortisol total et sa détermination peut être faite dans le sang en tenant compte

Figure 4a – Bloc de la 21-hydroxylase avec augmentation de la 17-OHP et des androgènes surrénaliens.

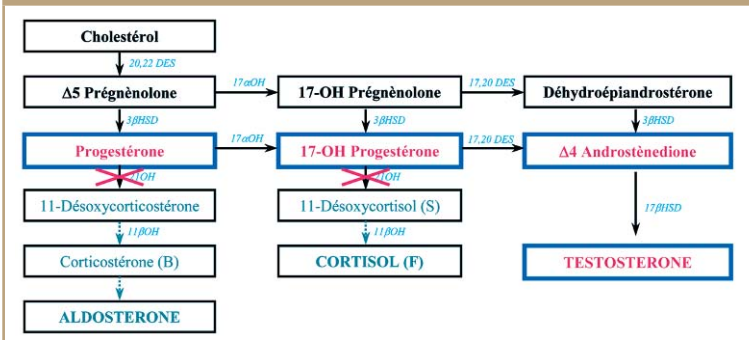


Figure 4b – Bloc de la 11β-hydroxylase avec augmentation du composé S et des androgènes surrénaliens.

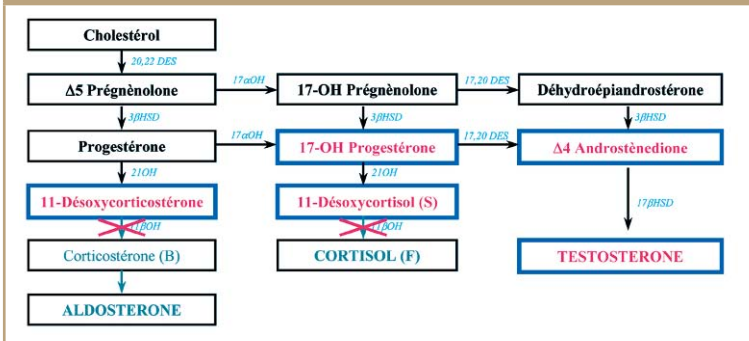


Figure 5 – Explorations biologiques de l’axe HHC.

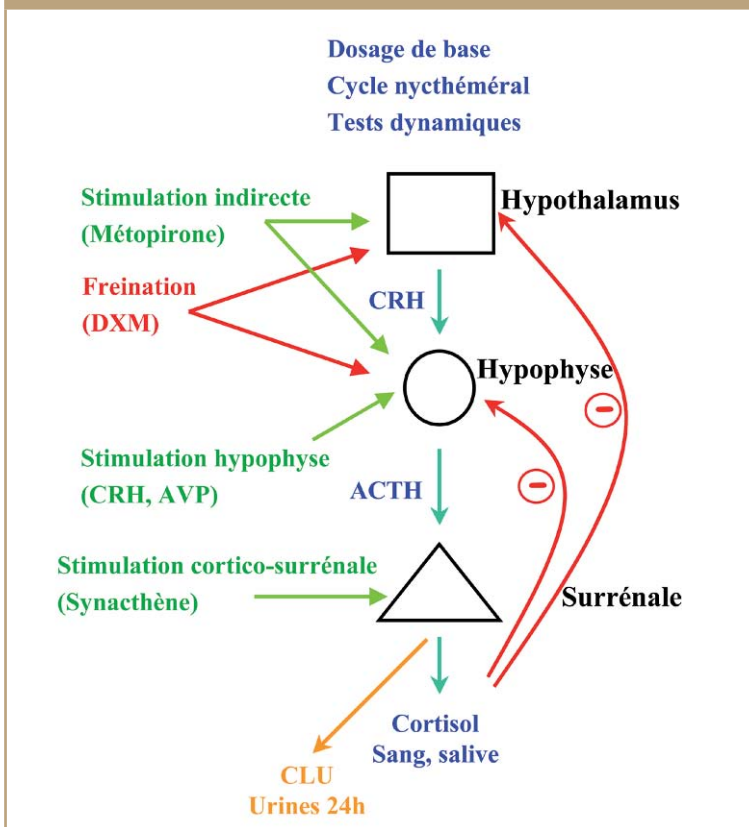
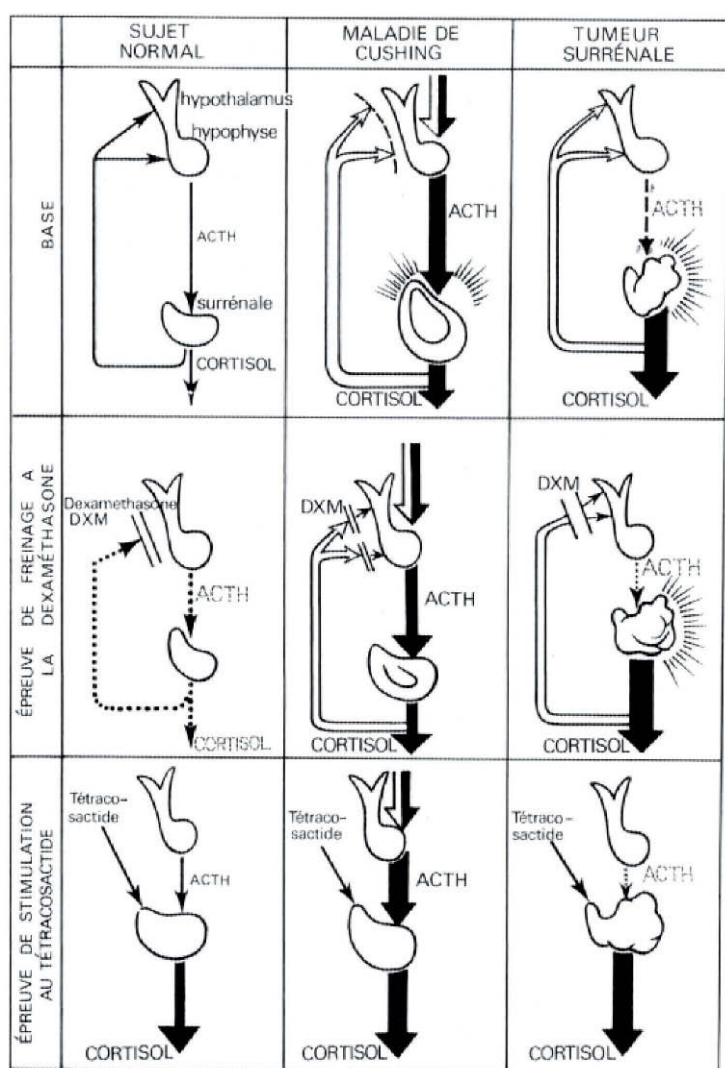


Figure 6 – Réponses différentielles aux tests de freinage et de stimulation entre maladie de Cushing et tumeur surrénale.



D'après Hazard et Perlemutter.

du taux de CBG, ou directement dans la salive car le cortisol salivaire représente 60 à 100 % de la fraction libre de cortisol circulant, soit environ 5 % du cortisol plasmatique total. Cette faible proportion de cortisol libre salivaire exige un dosage dans la salive beaucoup plus sensible que le dosage du cortisol total dans le sang (environ 10 à 20 fois). Le cortisol est métabolisé dans le foie par transformation en produits d'oxydo-réduction, et en sulfo- ou glucuro-conjugués qui sont éliminés dans les urines avec une partie de cortisol libre. Le cortisol libre urinaire (CLU) sur un recueil total des urines de 24 h est un excellent index de la production journalière de cortisol et la détermination du CLU est indépendante de toute fluctuation cyclique et d'interaction des protéines vectrices.

1.2. Actions physiologiques du cortisol

Les actions physiologiques du cortisol sont importantes à plusieurs niveaux car l'axe corticotrope joue un rôle essentiel dans le maintien de l'homéostasie corporelle et

permet à l'organisme de répondre aux situations de stress important (infections, chirurgie, infarctus, ...).

- Glucides : action hyperglycémiant par stimulation de la production hépatique de glucose, par stimulation de la glycogénogenèse, par diminution de la captation tissulaire de glucose (baisse des transporteurs).
- Lipides : augmentation des acides gras et du cholestérol plasmatiques par stimulation de la lipolyse.
- Protides : action anabolisante à dose physiologique, avec majoration du catabolisme protidique suite à une corticothérapie au long cours.
- Métabolisme hydro-sodé : il n'y a aucun effet à dose physiologique, mais un excès de cortisol peut induire un effet minéralocorticoïde par interaction avec le récepteur de l'aldostérone (Na augmenté, K diminué, rétention hydro-sodée et hypertension artérielle), et un déficit en cortisol peut objectiver une hypotension artérielle.
- Système immunitaire : effet immunosuppresseur et anti-inflammatoire.

2. Pathologies liées au cortisol

L'exploration de la fonction glucocorticoïde recherche un hyper ou un hypocorticisme par atteinte primitive des surrénales ou par atteinte secondaire à une pathologie centrale ou autre.

2.1. Le syndrome de Cushing

Il regroupe l'ensemble des manifestations cliniques induites par une exposition chronique à un excès endogène de glucocorticoïdes. Cette définition exclut les syndromes de Cushing iatrogènes et les situations simulant un syndrome de Cushing (pseudo-syndrôme de Cushing ou hypercortisolisme fonctionnel), comme l'alcoolisme chronique ou la dépression. Cette hypersécrétion de cortisol peut provenir d'une atteinte centrale d'origine haute (tumeur hypophysaire) ou d'une atteinte périphérique d'origine basse (tumeur surrénale). Le niveau de production de l'ACTH et le degré de son rétro-contrôle évalué par les tests dynamiques permettent de faire le diagnostic différentiel des syndromes de Cushing.

- Origine haute hypothalamo-hypophysaire : l'excès de production surrénale de cortisol est secondaire à une surproduction d'ACTH hypophysaire et l'hypercorticisme est dit ACTH dépendant. C'est le cas de la maladie de Cushing attribuée à la présence d'un adénome hypophysaire à ACTH induisant généralement une hyperplasie bilatérale des surrénales. L'hyperproduction hormonale est modérée en présence d'un ACTH augmenté ou normal mais inadapté à l'hypercortisolisme. L'imagerie est importante mais pas toujours informative (l'IRM hypophysaire est négatif dans 30 % des cas d'adénomes hypophysaires). Une entité difficile à diagnostiquer, ne faisant pas partie des syndromes de Cushing par définition mais constituant un diagnostic différentiel, est le pseudo-syndrôme de Cushing où l'activation chronique de l'axe corticotrope provient d'une réponse corticale à un état de stress intense permanent (dépression, anorexie, éthyliste).
- Origine basse : l'hypercorticisme primaire d'origine surrénale est ACTH indépendant dans les cas d'adénome surrénalien et de corticosurréalome (il peut y avoir d'autres

causes plus rares). L'ACTH est effondré et n'est pas stimulant par le CRH et les tests de freinage sont négatifs.

- L'hypercorticisme ACTH-dépendant peut dans certains cas peu fréquents provenir d'une sécrétion ectopique d'ACTH par des tumeurs d'origine extra-hypophysaire et extra-surrénalienne (tumeurs bronchiques principalement, pancréatiques, carcinoïdes). Les syndromes de Cushing paranéoplasiques sont responsables d'une hyperproduction hormonale importante (généralement ACTH et F très élevés). Il peut exister des phéochromocytomes responsables de syndromes de Cushing par sécrétion ectopique d'ACTH.

Le syndrome de Cushing répond à deux grands cadres physiopathologiques : hypersécrétion cortisolique dépendant ou indépendant de l'ACTH.

a) Le syndrome de Cushing-ACTH dépendant est observé dans environ 85 % des cas : les surrénales sont stimulées par une sécrétion excessive et inappropriée d'ACTH. Dans environ 80 à 85 % des cas, l'ACTH est d'origine eutopique et sécrétée par une tumeur bénigne développée à partir de cellules corticotropes hypophysaires, c'est la maladie de Cushing. Dans 10 à 15 % des cas, l'ACTH est d'origine ectopique, produite par une tumeur endocrine non hypophysaire (syndrome de Cushing paranéoplasique). Une sécrétion ectopique de corticolibérine (CRH) est très rarement associée.

b) Le syndrome de Cushing-ACTH indépendant est observé dans environ 15 % des cas : la sécrétion surrénalienne est autonome, indépendante de l'ACTH. Il s'agit d'une tumeur surrénalienne unilatérale, bénigne (adénome corticosurrénalien) dans environ 60 % des cas, maligne (cancer corticosurrénalien) dans environ 40 % des cas, et d'une atteinte bilatérale primitive des surrénales dans environ 1 % des cas. Cette dernière peut être en rapport avec une hyperplasie macronodulaire (AIMAH, ACTH-Independent Macronodular Adrenal Hyperplasia) ou bien une dysplasie micronodulaire pigmentée des surrénales (PPNAD, Primary Pigmented Nodular Adrenal Disease).

2.2. L'insuffisance surrénale

Elle est définie par un déficit des hormones cortico-surrénales, (glucocorticoïdes +/- minéralocorticoïdes). Ce déficit peut être d'origine périphérique ou primaire par atteinte lésionnelle directe des glandes surrénales, ou d'origine haute ou secondaire à un déficit de la commande hypothalamo-hypophysaire.

- Origine haute : l'insuffisance corticotrope peut avoir des causes variées, la principale étant la prise prolongée de glucocorticoïdes de synthèse.

- Origine basse : la principale cause d'insuffisance surrénale périphérique génétique est le déficit en 21 hydroxylase (ou hyperplasie congénitale des surrénales par bloc en 21 hydroxylase), responsable d'un déficit en cortisol voire en aldostérone et d'une hyperandrogénie, de degré variable. Les deux causes principales d'insuffisance surrénale chez l'adulte (maladie d'Addison) sont l'atteinte auto-immune et la tuberculose.

3. Bilan hormonal

Les principales hormones participant à l'axe corticotrope à explorer sont : l'ACTH plasmatique et le cortisol sanguin, sali-

vaire et urinaire. L'exploration des blocs enzymatiques (principalement les déficits en 21-hydroxylase et en 11-hydroxylase) concerne toutes les voies de synthèse des stéroïdes cortico-surrénaux (aldostérone, cortisol, androgènes) ; pour la voie du cortisol, les dosages de la 17-hydroxyprogestérone (17-OHP) et du composé S sont indispensables pour préciser l'origine de l'hypercorticisme.

Le cortisol est dosé facilement dans le sang (plasma ou sérum), et plus difficilement dans la salive et les urines impérativement de 24 h. L'évaluation du rapport cortisolurie/créatininurie sur les urines de la nuit émises au réveil a été proposée pour le dépistage ambulatoire du syndrome de Cushing.

3.1. Le cortisol

C'est un réset ponctuel de la sécrétion et il est dosé sur sérum ou plasma sans condition particulière de stabilité comme l'ACTH. Le cortisol peut aussi être déterminé dans la salive qui est assimilée à un ultrafiltrat plasmatique ne contenant que du cortisol libre. Le cortisol salivaire représente donc la forme libre biodisponible du cortisol sanguin. Le recueil de la salive est facile et réalisable en ambulatoire, à domicile. Le dosage doit être ultra-sensible et nécessite une phase de concentration afin d'adapter l'amplitude de mesure à la faible concentration salivaire en cortisol.

Le cortisol plasmatique ou salivaire est exprimé en ng/mL comme unité usuelle et en nmol/L dans le système international.

Le facteur de conversion est : $\text{ng/mL} \times 2,759 = \text{nmol/L}$, ou $\text{nmol/L} \times 0,36 = \text{ng/mL}$.

Le cortisol est éliminé dans les urines sous forme métabolisée et conjuguée, mais aussi sous forme libre (environ 1 %) : cette fraction constitue le cortisol libre urinaire (CLU ou cortisolurie) dont la détermination dans les urines des 24 h permet d'accéder à la production journalière de cortisol sans les précautions liées aux variations du rythme circadien ou aux situations particulières de modification des protéines porteuses. Le dosage du CLU est préconisé avec une extraction au dichlorométhane suivi ou non d'une purification chromatographique (céélite, Séphadex LH20®, HPLC). Après la phase d'extraction, le cortisol peut être dosé dans n'importe quel système de dosage de cortisol (manuel ou automate) sur la reprise dans le tampon de la technique utilisée. On peut aussi doser le CLU sans extraction, mais les résultats sont plus élevés en raison de la présence de nombreux métabolites urinaires du cortisol pouvant interférer sur le dosage. L'idéal pour mesurer la cortisolurie est de procéder à l'extraction par solvant, puis à la purification par HPLC, et faire la détection par fluorimétrie ou spectrophotométrie d'absorption, mais cette méthode est longue et délicate. Pour une détermination fiable de la cortisolurie, les dernières conférences de consensus recommandent les méthodes par HPLC ou par couplage chromatographie liquide-spectrométrie de masse non affectées par la présence des métabolites urinaires, mais toutefois non dénuées d'interférences médicamenteuses (glucocorticoïdes de synthèse, carbamazépine, fénofibrate). Les limites supérieures de la zone de référence sont plus basses avec les dosages par HPLC ou couplage chromatographie liquide-spectrométrie de masse que celles des dosages par immunoessais

basées sur la reconnaissance épitopique des anticorps. En pratique, il faut avoir de bonnes normes et connaître les limites des techniques.

On exprime le CLU en $\mu\text{g}/24 \text{ h}$ ou en $\text{nmol}/24 \text{ h}$, avec vérification obligatoire de la bonne qualité du recueil urinaire par la détermination de la créatinine.

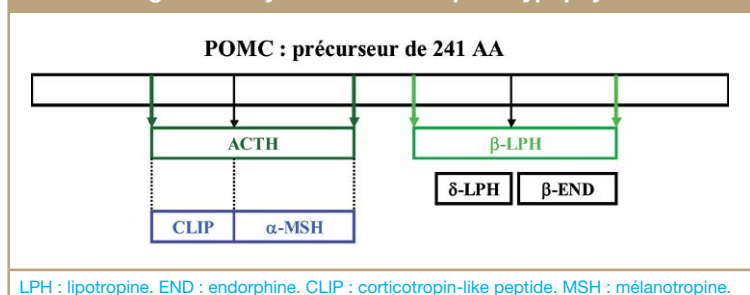
Le facteur de conversion est :

$\mu\text{g}/24 \text{ h} \times 2,76 = \text{nmol}/24 \text{ h}$.

3.2. L'ACTH

C'est un polypeptide de 39 AA provenant d'un précurseur polypeptidique de 241 AA, la proopiomélanocortine (POMC) synthétisée par les cellules corticotropes de l'anté-hypophyse (figure 7). La POMC est scindée en ACTH, lipotropine (LPH) et endorphine. L'ACTH est clivé en CLIP et mélanotropine (MSH). Les dosages en double-anticorps de l'ACTH sont devenus très spécifiques de l'ACTH seule, mais certains anciens dosages reconnaissent l'ACTH et le CLIP fournissant ainsi des valeurs plus élevées, d'où la nécessité d'avoir les normes spécifiques à la technique de dosage. Le prélèvement du sang est fait dans des tubes en polystyrène avec EDTA conservés à 4-8 °C, et séparation rapide du plasma (moins d'une heure après prélèvement).

Figure 7 – Synthèse d'ACTH par l'hypophyse.



3.3. Le 11-désoxycortisol ou composé S

C'est le précurseur précédant le cortisol. Le déficit enzymatique en 11 β hydroxylase entraîne un effondrement en cortisol et augmente le composé S et la 17-hydroxyprogesterone (17-OHP). La détermination du composé S et de la 17-OHP est utile lors du test à la métopirone qui est un inhibiteur de la 11 β hydroxylase et induit une stimulation indirecte hypothalamo-hypophysaire.

3.4. Les valeurs de référence dépendent du dosage utilisé

On peut citer les suivants à titre d'exemple :

- valeurs de référence pour le cortisol à 8 h à jeun : 100 à 200 ng/mL (ou $\mu\text{g/L}$),

- valeurs de référence pour l'ACTH : 10 à 60 pg/mL (ou ng/L),

- valeur de référence pour le FLU : 25 à 90 $\mu\text{g}/24 \text{ h}$,

- valeur de référence pour le composé S < 10 ng/mL (ou $\mu\text{g/L}$).

La transcortine et le CRH ne sont pas déterminés en routine.

Les explorations biologiques recherchent le niveau de sécrétion hormonale par le dosage des principales

hormones de l'axe corticotrope en situation de base ou au cours de tests dynamiques de stimulation ou de freination, suivant l'orientation clinique.

4. Bilan biologique de base

L'exploration statique à la recherche d'un hyper ou d'un hypocorticisme repose sur les dosages de cortisol dans le sang ou la salive associé au dosage d'ACTH dans le sang. La cortisolurie évaluée sur les urines de 24 h (à répéter 3 fois) reflète la production de cortisol et l'imprégnation réelle en cortisol libre de façon plus fiable que le cortisol sanguin soumis aux variations nyctémérales et aux variations de transcortine.

- Le dosage de cortisol de base doit être fait à jeun, sans stress, sur un prélèvement du matin entre 6 h et 8 h au moment du maximum de production de cortisol, ou le soir entre 24 h et 4 h du matin pour le minimum de production. Le cortisol de base détermine le taux de production et l'évaluation de la sécrétion d'ACTH oriente vers le niveau d'atteinte. Mais souvent le dosage de cortisol de base est insuffisant car le recouvrement entre sujets sains et pathologiques est important. Les seuils du cortisol sérique basal prédictif d'une insuffisance surrénale et prédictif d'un axe corticotrope normal sont respectivement 50 ng/ml (138 nmol/l) et 130 ng/ml (365 nmol/l). Ces seuils sont logiquement un compromis des seuils établis par les diverses études, avec des valeurs pour le seuil inférieur de 29 ng/ml (80 nmol/l) à 40 ng/ml (110 nmol/l) et des valeurs très éparpillées pour le seuil supérieur de 90 ng/ml (250 nmol/l) à 180 ng/ml (500 nmol/l). Les dosages à 16 h ou autre devraient être bannis, car ils ne présentent aucune valeur ni dans le cadre d'une suspicion de syndrome de Cushing, ni dans la recherche d'une insuffisance surrénale.

- Cycle nyctéméral du cortisol

On peut suivre le cycle du cortisol pendant 24 h sur des prélèvements espacés idéalement de 2 h, mais en pratique de 4 h : à 8 h, à 12 h, à 16 h, à 20 h, à 24 h, à 4 h. Les dosages peuvent être faits sur le sang ou sur la salive en milieu hospitalier. Les dosages sur la salive sont de plus en plus préconisés car réalisables en ambulatoire et à domicile puis envoyés aux laboratoires par voie postale. Le taux de cortisol salivaire à minuit serait aussi informatif que le FLU des 24 h pour détecter un hypercorticisme.

Un cycle normal présente un maximum à 8 h du matin et un minimum à minuit. La perte du cycle est un élément de diagnostic des syndromes de Cushing. Attention aux pièges des travailleurs de nuit, ou aux patients provenant de pays à grand décalage horaire.

- Le dosage de l'ACTH de base doit être contemporain à celui du cortisol de base. L'interprétation du couple cortisol-ACTH de base permet de différencier entre un sujet normal (cortisol et ACTH en zone normale) et un hypercorticisme d'origine hypophysaire (maladie de Cushing) ou surrénale (adénome surrénalien bénin ou malin) (figure 6). Les tests dynamiques sont nécessaires pour préciser l'étiologie des hypercorticismes des syndromes de Cushing : maladie de Cushing, sécrétion ectopique d'ACTH, pseudo-syndrome de Cushing (incluant des états de grand stress psychique ou physique comme l'anorexie, la dépression, l'éthylisme, l'obésité, le diabète).

5. Explorations dynamiques

Les explorations dynamiques permettent d'étudier les réponses aux tests de stimulation et aux tests de freinage pour évaluer les niveaux d'insuffisances surrénales et pour différencier les causes d'hypercorticisme : hypophysaire (Cushing), surrénale (adénome surrénalien, corticosurréna-lome), ectopique (tumeur plus fréquemment bronchique), ou autres.

Les tests dynamiques présentent des effets secondaires et ne peuvent être réalisés qu'en hospitalisation spécialisée strictement sous contrôle médical, sauf pour le test au synacthène.

5.1. Les tests de stimulation

5.1.1. Le test de stimulation directe de la cortico-surrénale

Il utilise un analogue de l'ACTH de synthèse de 24 acides aminés, la cosyntropine ou tétracosactrine (cette dernière étant la seule forme disponible en France, sous le nom de Synacthène®) (figure 8). La stimulation par le synacthène touche toutes les voies de synthèse corticosurrénale et les dosages avant et après synacthène évaluent les réponses sur le cortisol, l'aldostérone, la 17-OHP, la delta-4 et le composé S. Les modalités du test au synacthène sont encore en cours de débat : la dose 1 µg *versus* 250 µg, et le délai après injection 30 min ou 60 min. Le test au synacthène immédiat recherche une insuffisance surrénale et/ou un bloc enzymatique, et explore certains incidentalomes surrénaliens et certains syndromes de Cushing comme l'adénome prétoxique ou les AIMAH.

Le synacthène stimule la production de cortisol comme l'ACTH et donne chez un sujet normal une réponse avec une augmentation de cortisol plasmatique doublée par rapport au taux de base. Il est clairement établi que la normalité d'un test au synacthène est définie par le cortisol en fin de test et non par le rapport des réponses sauf peut-être dans le cas très particulier de l'insuffisance surrénale relative en réanimation où le diagnostic est retenu si le delta de cortisol est inférieur à 90 ng/mL chez les patients ayant un cortisol basal entre 100 et 340 ng/mL.

Le test au synacthène est négatif pour une réponse nulle dans les cas d'insuffisance surrénale par atteinte primitive des surrénales. La réponse est faible ou insuffisante après mise au repos des glandes normales suite à une corticothérapie prolongée. L'insuffisance surrénale secondaire ne peut être mise en évidence qu'avec le dosage d'ACTH.

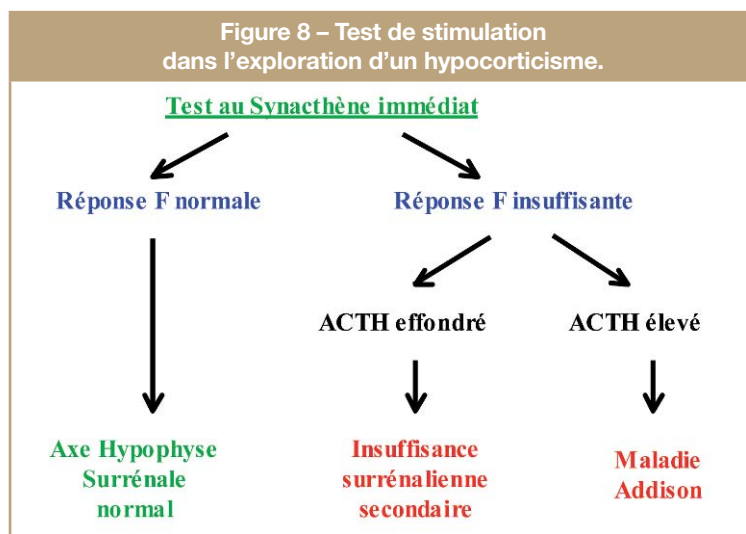
La réponse est exagérée dans les syndromes de Cushing où la cortisolémie de base est déjà élevée et atteint un taux augmenté d'un facteur 2 ou 3 après synacthène (> 210 ng/mL quel que soit le taux de base).

En première intention, un dosage de cortisol de base à 8 h permet d'éliminer une insuffisance surrénale si le taux est supérieur à 200 ng/mL. Cependant, un test au synacthène immédiat normal n'élimine pas une insuffisance cortico-trope partielle.

5.1.2. Les tests de stimulation de l'hypophyse

Ils permettent d'évaluer la réserve hypophysaire en ACTH (figure 5).

Figure 8 – Test de stimulation dans l'exploration d'un hypocorticisme.



5.1.2.1. Les tests de stimulation directe de l'hypophyse

Ils utilisent des stimulines hypothalamiques ou analogues : CRH, arginine-vasopressine (DDAVP ou Minirin) ou lysine-vasopressine (LVP).

La réponse normale au test est rapide et retrouve l'ACTH et le cortisol augmentés dès 30 min après injection de CRH ou d'AVP.

Pour l'insuffisance surrénale primitive, on observe une réponse explosive en ACTH et une réponse faible ou nulle en cortisol. Dans le cas d'une atteinte centrale, la réponse est nulle pour l'ACTH et pour le cortisol.

L'hypercorticisme d'origine surrénale retrouve une réponse nulle en ACTH à cause du rétrocontrôle négatif exercé par un cortisol élevé. La réponse est nulle aussi pour une tumeur ectopique mais sur un niveau d'ACTH déjà très élevé. Pour l'hypercorticisme d'origine hypophysaire, la réponse en ACTH sous stimulation CRH peut être normale ou augmentée, et sous stimulation au minirin cette réponse est le plus souvent explosive. Le test au CRH est un des tests dynamiques avec freinage fort majeur du diagnostic différentiel entre maladie de Cushing et sécrétion ectopique d'ACTH. Le test au minirin est très utilisé en Europe pour le diagnostic différentiel entre le pseudo-syndrome de Cushing et la maladie de Cushing.

5.1.2.2. Les tests de stimulation indirecte de l'hypophyse

Ils utilisent la métyrapone (Métopirone®). La métyrapone est un inhibiteur de la 11β-hydroxylase et bloque la dernière étape de la synthèse du cortisol s'arrêtant au composé S. La diminution du cortisol sécrété entraîne normalement une augmentation importante d'ACTH qui emballer la synthèse jusqu'au composé S que l'on retrouve augmenté dans le sang. Le dosage du composé S est suffisant, le dosage du cortisol n'est pas nécessaire car il est effondré (on peut doser le cortisol juste pour vérifier la bonne prise de métyrapone). Le test à la métyrapone est à faire après vérification d'un test au synacthène immédiat répondeur pour éviter le test chez un patient ayant un hypocorticisme. Ce test autrefois indiqué dans la suspicion d'une insuffisance hypophysaire ou pour préciser l'étiologie d'un syndrome de Cushing est quasiment abandonné.

L'interprétation des réponses au test à la métopirone présente trois situations.

- Une réponse normale à la métopirone pour le composé S retrouve un taux très élevé devant dépasser 80-100 ng/mL pour une valeur de base normale inférieure à 10 ng/mL.
- Une absence de réponse du composé S dénote une anomalie hypothalamo-hypophysaire ou surrénalienne. Le dosage de l'ACTH précise le niveau de l'atteinte pathologique : l'ACTH n'est pas augmenté en cas d'atteinte hypothalamo-hypophysaire, en revanche une augmentation d'ACTH signe une atteinte surrénale. On peut ne pas observer d'augmentation du composé S dans les cortico-surrénales et les syndromes paranéoplasiques.
- Une réponse explosive avec un composé S très augmenté évoque la maladie de Cushing.

5.2. Les tests de freinage

Les tests de freinage par DXM contrôlent l'intégrité des organes de rétrocontrôle (hypothalamus-hypophyse) et évalue le caractère autonome de la sécrétion cortisolique dans la recherche des causes d'un hyperfonctionnement surrénalien. La DXM est un corticoïde de synthèse analogue au cortisol mais avec un effet inhibiteur de l'ACTH environ 40 fois plus puissant que le cortisol. La suppression de la sécrétion d'ACTH en présence de DXM aboutit à un effondrement en cortisol. L'interprétation des tests de freinage permet de différencier entre hypercorticisme d'entraînement encore freinable (seule l'obésité extrême semble être associée à une hyperactivité de l'axe HHC), les syndromes de Cushing et les hypercorticismes tumoraux non freinables. On distingue trois types de freinage.

5.2.1. Le freinage rapide faible

Ou freinage minute, il est réalisé par 1 mg de DXM (Dectancyl ou Décadron) par voie orale à 23 h ou minuit avec dosages de cortisol (sang, salive) et le lendemain à 8 h de la prise de DXM. Il permet un dépistage rapide des élévations de cortisol de base.

Le test est normal ou répondeur quand le cortisol sanguin du lendemain à 8 h est inférieur à 18 ng/mL.

5.2.2. Le freinage standard

Il est plus spécifique des syndromes de Cushing que le freinage minute, mais moins utilisé aujourd'hui. Il est réalisé par 4 mg de DXM répartis en 8 prises de 0,5 mg toutes les 6 h sur 2 jours, à partir de 10 h le premier jour, ou à partir de 12 h pour certains. Les dosages hormonaux sont faits à 8 h la veille et le lendemain des prises de DXM, et comprennent le cortisol (sang, salive), l'ACTH (sang), le CLU et la créatinine urinaire sur les urines de 24 h. Selon le contexte clinique, les dosages de 17OHP, SDHA, Delta-4 et testostérone peuvent être utiles. On observe deux types de réponse :

- dans une réponse normale, le cortisol et le CLU diminuent rapidement ;
- le freinage est généralement insuffisant dans les syndromes de Cushing.

5.2.3. Le freinage rapide fort

Par 8 mg de DXM en une prise orale à minuit ou un freinage fort par 16 mg de DXM répartis en 8 prises de 2 mg par voie orale sur 2 jours (souvent à la suite du freinage

standard). Le test fort n'est utilisé en principe que chez les patients dont l'hypercorticisme est déjà établi : il permet de préciser le diagnostic étiologique des syndromes de Cushing.

- Dans une réponse normale ou freinage positif, l'ACTH est freiné et le cortisol plasmatique après DXM est indétectable et le CLU est effondré (< 40 µg/24 h).

- La freination est partielle dans la maladie de Cushing (> 50 % du cortisol de base). Toutefois, on peut observer une freination nulle dans 10 % des cas de maladie de Cushing.

- La freination est en général nulle dans les hypercorticismes paranéoplasiques des sécrétions ectopiques d'ACTH : ACTH et cortisol sont élevés et non freinables par DXM.

5.2.4. Un test de stimulation au CRH

Après freinage DXM, il est utilisé pour le diagnostic différentiel entre pseudo-Cushing et maladie de Cushing. Le test CRH doit être fait avant DXM pour le diagnostic différentiel entre maladie de Cushing et sécrétion ectopique d'ACTH.

5.3. Tests de stimulation possibles mais peu utilisés

Test à l'hypoglycémie insulinaire : explore les suspicions d'insuffisance hypophysaire, avec dosages de glycémie, cortisol, ACTH (et autres selon la clinique). Cependant, ce test constitue le gold-standard pour l'insuffisance corticotrope. L'hypoglycémie stimule l'hypothalamus entraînant une augmentation de CRH et d'ACTH. Un test positif retrouve une augmentation d'ACTH et de cortisol. Un test non répondeur met en cause l'intégrité de l'axe hypothalamo-hypophysaire.

Test d'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) avec dosages de glycémie, cortisol, ACTH (et autres selon clinique). L'HGPO induit une augmentation d'ACTH et donc de cortisol pour différencier entre Cushing et pseudo-Cushing.

6. Exploration spécialisée : cathétérisme des sinus pétreux

Cet examen invasif illustre la complémentarité des examens *in vivo* et *in vitro* : associer aux données morphologiques de l'imagerie médicale des mesures biologiques de production hormonale comme examens de localisation spécifique de la tumeur. La recherche de la source de sécrétion d'ACTH consiste à doser l'ACTH dans les veines et sinus de drainage à proximité de l'hypophyse et comparativement dans les veines périphériques, et la mise en évidence d'un gradient d'ACTH de base et sous stimulation au CRH permet d'orienter vers la présence d'un adénome hypophysaire latéralisé ou non, ou vers une tumeur ectopique. Le test au CRH associé permet d'évaluer la réponse hypophysaire et augmente la spécificité diagnostique.

Les prélèvements par cathétérisme sont réalisés au niveau des sinus pétreux et des veines périphériques avant et après injection de CRH. Un adénome corticotrope déverse l'ACTH dans les sinus pétreux droit ou gauche s'il est

unilatéral et on peut observer un gradient important entre sinus pétreux et veines périphériques latéralisé du côté de l'adénome avant CRH, et ce gradient est augmenté après CRH. En revanche, l'absence de gradient d'ACTH entre sinus pétreux et veines périphériques avant CRH et ne répondant pas au CRH plaide en faveur d'une sécrétion ectopique d'ACTH.

Le cathétérisme des sinus pétreux est fait par une équipe expérimentée, et les prélèvements doivent être recueillis sur EDTA et conservés dans la glace jusqu'au traitement le plus rapidement possible en raison de la fragilité de l'ACTH. Les résultats du cathétérisme apportent une aide à la stratégie chirurgicale et cet examen difficile constitue le gold-standard du diagnostic différentiel entre maladie de Cushing et sécrétion ectopique d'ACTH.

7. Stratégies d'exploration hormonale et interprétations cliniques

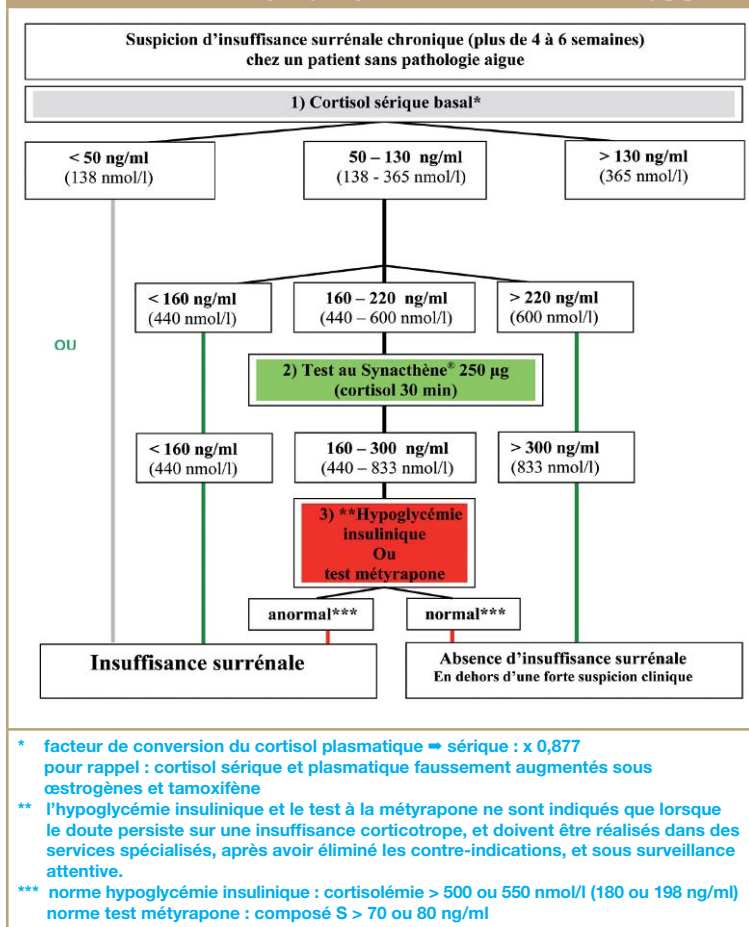
7.1. Suspicion d'insuffisance surrénale

En cas de suspicion d'insuffisance surrénale aiguë, aucun examen hormonal ne doit retarder la mise en route du traitement. Mis à part le cas très particulier de l'insuffisance surrénale relative en réanimation qui ne sera pas abordé dans cette étude, les dosages hormonaux n'ont de place que chez un patient suspect d'insuffisance surrénale chronique et dont la situation hémodynamique est bonne. En cas de décompensation aiguë révélatrice, la confirmation hormonale du diagnostic d'insuffisance surrénale, la recherche de son origine (périphérique ou centrale) et de sa cause précise seront faites secondairement [1].

Il n'existe pas de consensus sur le diagnostic de l'insuffisance surrénale. Dans l'insuffisance surrénale périphérique, une cortisolémie basale effondrée ou une réponse insuffisante de la cortisolémie au Synacthène® injecté par voie intramusculaire ou intraveineuse permettent aisément de confirmer le diagnostic. Dans l'insuffisance corticotrope, la sensibilité de ces examens n'est pas absolue. Dans cette situation, l'hypoglycémie insuliniq ue reste considérée comme le test de référence (le gold standard). Le seuil de réponse du cortisol retenu dans la plupart des études est 500 ou 550 nmol/l (180 ou 198 ng/ml). L'hypoglycémie insuliniq ue a de nombreux inconvénients : elle est contre-indiquée chez les patients âgés, ceux ayant des pathologies cardiovasculaires ou souffrant d'épilepsie ; elle est désagréable pour les patients ; elle requiert une hospitalisation et mobilise du personnel médical et paramédical. Le test à la métyrapone (Métopirone®) est également considéré comme un test de référence en cas de suspicion d'insuffisance corticotrope. Il nécessite également une hospitalisation, une surveillance et est souvent mal toléré.

Les autres examens, que sont la cortisolémie basale, le test à un analogue de l'ACTH à dose standard et à faible dose, et le SDHA, font régulièrement l'objet de publications, souvent contradictoires. Une méta-analyse orchestrée par un consortium réunissant plusieurs équipes de part le monde a comparé le test à un analogue de l'ACTH à dose standard (250 µg), le test à un analogue de l'ACTH à faible dose (1 µg), et la cortisolémie basale dans le

Figure 9 – Stratégie d'exploration d'une suspicion d'insuffisance surrénale chronique (adaptée de Kazlauskaite *et al.*) [2]



diagnostic de l'insuffisance surrénale [2]. Les études retenues s'appuyaient toutes sur un test de référence (hypoglycémie insuliniq ue ou test à la métyrapone). Les seuils du cortisol sérique basal prédictif d'une insuffisance surrénale et prédictif d'un axe corticotrope normal sont respectivement 50 ng/ml (138 nmol/l) et 130 ng/ml (365 nmol/l). Ces seuils sont logiquement un « compromis » des seuils établis par les diverses études, avec des valeurs pour le seuil inférieur de 29 ng/ml (80 nmol/l) à 40 ng/ml (110 nmol/l) et des valeurs très éparpillées pour le seuil supérieur de 90 ng/ml (250 nmol/l) à 180 ng/ml (500 nmol/l). De plus, les auteurs concluent que le test au Synacthène® à faible dose est supérieur à celui à dose standard pour le diagnostic de l'insuffisance surrénale et à une acuité diagnostique équivalente entre le cortisol à 30 min, le cortisol à 60 min et le pic de cortisol. La précédente méta-analyse [3] avait retenu l'équivalence des deux tests, probablement du fait d'une sélection différente des études et l'absence de ré-analyse des données individuelles. Il faut connaître les limites techniques du test au Synacthène® à faible dose. En effet, pour préparer 1 µg d'analogue de l'ACTH, il faut dissoudre les 250 µg de poudre dans 250 ml de solution saline isotonique puis prélever un aliquote d'1 ml et éviter l'adhésion aux parois des contenants. S'il y a un doute sur la qualité de réalisation du test à faible dose, il est préférable d'utiliser le test à dose standard (en diluant les 250 µg de poudre dans 1 ml de soluté stérile).

Après une faible dose, un cortisol à 30 min inférieur à 160 ng/ml (440 nmol/l) est hautement prédictif d'une insuffisance surrénale et un cortisol supérieur à 220 ng/ml (600 nmol/l) exclut une insuffisance surrénale. Après une dose standard, un cortisol à 30 min inférieur à 160 ng/ml (440 nmol/l) est très en faveur d'une insuffisance corticotrope mais il faut un cortisol 30 min supérieur à 300 ng/ml (833 nmol/l) pour raisonnablement éliminer une insuffisance corticotrope. À partir de ces conclusions, le consortium a proposé une démarche diagnostique en trois étapes (figure 9). La première étape est de mesurer le cortisol basal le matin entre 8 h et 10 h, à jeun. Si le résultat est «intermédiaire» entre 50 et 130 ng/ml, la deuxième étape est un test à l'analogue de l'ACTH à faible dose. Si le résultat du test est «intermédiaire» entre 160 et 300 ng/ml et en l'absence de contre-indication, la troisième étape est une hypoglycémie insulínique ou un test à la métyrapone. Les première et deuxième étapes peuvent être effectuées simultanément, par souci de pragmatisme. Les auteurs incitent à la prudence dans l'interprétation des résultats lorsque les valeurs de cortisol sont proches des seuils, car l'erreur de mesure peut atteindre 60 ng/ml (165 nmol/l). Le clinicien peut juger préférable de conseiller un traitement par hydrocortisone, en particulier en cas de stress extrême. Par ailleurs, il faut répéter la recherche dans le temps si une évolutivité vers l'insuffisance surrénale est suspectée, comme après une radiothérapie ou en cas de pathologie hypothalamo-hypophysaire évolutive. Il faut remarquer que cette méta-analyse n'a pas étudié le SDHA, qui a une bonne sensibilité pour le diagnostic d'insuffisance surrénale mais est peu spécifique et requiert des normes pour l'âge et le sexe [4, 5]. Celle démarche, si elle était adoptée par les endocrinologues français, nécessiterait d'être stricte sur l'heure de prélèvement du cortisol plasmatique basal (entre 8 heures et 10 heures pour les patients qui ont un cycle nyctéméral «classique»), de standardiser les dosages de cortisol pour définir des seuils applicables partout en France, et de revoir l'interprétation du test au Synacthène®, en ne considérant plus un seuil unique de réponse (autour de 180-200 ng/ml soit 500-550 nmol/l dans la plupart des laboratoires) mais un seuil inférieur permettant de conclure à une insuffisance surrénale, un seuil supérieur permettant d'écarter une insuffisance surrénale et une zone intermédiaire qui requiert un test à la métyrapone ou une hypoglycémie insulínique.

Dans l'insuffisance surrénale périphérique, l'ACTH plasmatique est constamment augmentée; lorsqu'il existe un déficit en minéralocorticoïdes, la rénine est augmentée. Dans l'insuffisance corticotrope, l'ACTH est «inappropriée», c'est-à-dire dans les valeurs de la normale ou diminuée. La recherche étiologique, détaillée dans des revues récentes [1, 6], ne sera pas abordée dans cette revue.

7.2. Suspicion de syndrome de Cushing

Le dernier consensus international sur le dépistage du syndrome de Cushing, sous l'égide de l'Endocrine society, en association avec l'European society of endocrinology, a été publié en 2008 dans le Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism par Nieman *et al.* [7] et est disponible en ligne (www.endo-society.org; www.euro-endo.org). En 2003, a été publié, dans le même journal par Arnaldi

et al., un consensus international abordant plus largement le diagnostic du syndrome de Cushing (dépistage et diagnostic étiologique) [8]. En France, deux guides abordant le diagnostic du syndrome de Cushing ont été publiés en 2008: le premier est un consensus d'experts sur la prise en charge des incidentalomes surrénaliens, sous l'égide de la Société française d'endocrinologie [9]; le deuxième est le Protocole national de diagnostic et de soins (PNDS) sur le syndrome de Cushing qui est un travail collaboratif coordonné par le Centre de référence des maladies rares de la surrénale, réalisé à la demande de la Haute Autorité de Santé, selon une méthode et un modèle de rédaction imposés par la Haute Autorité de Santé [10]. Le PNDS a été soumis à un groupe de travail comportant des représentants des sociétés savantes, notamment la Société française d'endocrinologie et la Société française de biologie clinique. Les deux guides sont disponibles sur le site de la Société française d'endocrinologie (www.endocrino.net).

7.2.1. Comment rechercher un syndrome de Cushing ?

Le consensus français «incidentalomes surrénaliens» recommande d'utiliser en première ligne le freinage par 1 mg de dexaméthasone, tout comme Nieman *et al.*, mais il réserve le cortisol salivaire nocturne en deuxième ligne, avec la cortisolurie sur 24 heures, le cortisol sanguin nocturne et l'ACTH, en raison du manque de sensibilité du cortisol salivaire nocturne en cas de syndrome de Cushing modéré [11, 12].

Les consensus internationaux et le PNDS proposent une démarche en deux étapes. Les examens de première ligne peuvent être demandés par les médecins généralistes ou les spécialistes confrontés à une complication du syndrome de Cushing. Ils ont une bonne sensibilité pour le diagnostic de syndrome de Cushing; ils sont simples et peuvent être réalisés en ambulatoire si le patient est compliant. Les examens de deuxième ligne sont réservés aux endocrinologues et sont effectués en hospitalisation; ils visent à affirmer le diagnostic de syndrome de Cushing en différenciant en particulier l'authentique syndrome de Cushing du pseudo-syndrome de Cushing ou hypercortisolisme fonctionnel. Aucun test n'offre des performances diagnostiques absolues et il est le plus souvent nécessaire de réaliser plusieurs investigations pour porter le diagnostic.

7.2.1.1. Les examens conseillés en première intention

Ce sont l'un et/ou l'autre des examens suivants:

- 2 à 3 mesures de la cortisolurie des 24 h avec créatinurie;
- un freinage par 1 mg de dexaméthasone (dexaméthasone 1 mg per os à minuit et dosage de la cortisolémie à 8 heures le lendemain matin) (et/ou du cortisol salivaire avec envoi dans un laboratoire spécialisé);
- 2 à 3 mesures du cortisol salivaire nocturne (classiquement à 24 h) (envoi dans un laboratoire spécialisé).

Si l'un de ces examens est anormal, à savoir:

- cortisolurie des 24 h augmentée au-delà de la limite supérieure de normalité du laboratoire;
- et/ou cortisolémie supérieure à 50 nmol/l (18 ng/ml) (et/ou cortisol salivaire augmenté au delà du seuil du laboratoire) après freinage;
- et/ou cortisol salivaire nocturne augmenté au delà du seuil du laboratoire;

le patient doit être adressé à un endocrinologue pour confirmer le syndrome de Cushing avec des examens de deuxième intention.

Une méta-analyse effectuée par Elamin *et al.* [13] pour l'Endocrine society montre des performances équivalentes de la cortisolurie des 24 heures, des tests de freinages par la dexaméthasone (1 mg et 0,5 mg toutes les 6 h pendant 48 h) et du cortisol nocturne, ainsi que des combinaisons de ces examens. Le test de freinage faible (dexaméthasone 0,5 mg toutes les 6 h pendant 48 h), compte tenu de ses difficultés de réalisation pratique, a été placé en deuxième ligne dans le PNDS, alors qu'il est cité en première intention dans les consensus internationaux. L'équipe du Pr Tabarin a montré récemment que les performances diagnostiques du cortisol salivaire sont comparables entre les patients hospitalisés et les patients ambulatoires [12].

Tous les consensus soulignent qu'il ne faut pas utiliser des dosages archaïques (les 17-cétostéroïdes urinaires), des examens non standardisés (le cortisol en fin d'après midi, avant la fermeture du laboratoire) ou encore des examens qui ne sont utiles que pour le diagnostic étiologique du syndrome de Cushing (ACTH plasmatique, le freinage fort, l'IRM hypophysaire ou l'imagerie surrénalienne).

7.2.1.2. Les examens conseillés en seconde intention

Ce sont :

- la répétition d'un ou de plusieurs examens de première ligne,
- et, si nécessaire, l'un et/ou l'autre des tests suivants :
 - un freinage faible (dexaméthasone 0,5 mg/6 h x 48 h) sur la cortisolurie des 24 h le deuxième jour et/ou la cortisolémie en fin de test ;
 - une étude du rythme nyctéméral de la cortisolémie et/ou du cortisol salivaire ;
 - un test à la desmopressine et un test couplé dexaméthasone-corticotropin releasing hormone (Dex-CRH) voire un test à la CRH peuvent se discuter en cas de doute persistant.

Sont en faveur d'un syndrome de Cushing :

- une anomalie des examens de première ligne (avec les mêmes seuils que précédemment) ;
- après freinage faible, une cortisolémie supérieure à 50 nmol/l (18 ng/ml) ou une cortisolurie supérieure à 10 µg/24 h (27 nmol/24 h) ;
- une augmentation de l'ACTH après desmopressine de plus de 5,9 pmol/l (27 pg/ml) ;
- une augmentation après Dex-CRH de la cortisolémie de plus de 38 nmol/l (14 ng/ml) ou mieux de plus de 70 nmol/l (25 ng/ml) ou encore une augmentation de l'ACTH de plus de 5,9 pmol/l (27 pg/ml) à 15 min.

Lorsque l'hypercortisolisme est sévère, le diagnostic de syndrome de Cushing est facilement confirmé par la répétition des examens de première ligne. Les examens de deuxième ligne sont utiles si le doute persiste entre un véritable syndrome de Cushing et un hypercorticisme fonctionnel, autrement nommé pseudo-syndrome de Cushing comme chez les patients dépressifs ou alcooliques chroniques. Des études récentes [14-18] retrouvent une spécificité moindre du test couplé dexaméthasone-corticotropin releasing hormone (Dex-CRH) que dans la publication initiale du National Institutes of Health (NIH) [19], avec

des performances diagnostiques comparables aux autres tests. Le seuil déterminé avec de la CRH ovine n'est probablement pas adapté à la CRH humaine largement utilisée en Europe, car la CRH ovine entraîne une stimulation plus forte de l'ACTH que la CRH humaine. De plus, l'intervalle entre la dernière prise de dexaméthasone et la CRH est moins long dans le protocole du NIH que dans d'autres protocoles (2 heures *versus* 4 heures). Le seuil de cortisolémie de 70 nmol/l (25 ng/ml ou 2,5 µg/dl) ou de l'ACTH de 5,9 pmol/l (27 pg/ml) 15 min après de la CRH ovine (1 µg/kg, 100 µg maximum, à 8 h, 2 h après la dernière dose de dexaméthasone) aurait une meilleure performance diagnostique que le seuil de cortisolémie de 38 nmol/l (14 ng/ml) [16].

Une étude italienne récente du groupe d'Arnaldi [20] a tenté de réhabiliter le test à la CRH, décrit initialement par le groupe du NIH [21], comme test de deuxième intention. Les auteurs concluent qu'une combinaison de deux paramètres du test à la CRH humaine est capable respectivement de confirmer et d'exclure un syndrome de Cushing-ACTH dépendant : la combinaison d'un pic de cortisolémie > 210 ng/ml et d'un pic d'ACTH > 45 pg/ml a une bonne sensibilité (94,8 %) ; la combinaison d'une cortisolémie de base (moyenne des valeurs de cortisolémie à -15 et à 0 min avant l'injection de la CRH) > 120 ng/ml et d'un pic d'ACTH > 54 pg/ml a une bonne spécificité (98,2 %).

Concernant le test à la desmopressine, il faut noter que les consensus internationaux n'ont pas retenu le test à la desmopressine dans leurs démarches diagnostiques. Cependant le PNDS a retenu ce test car sa performance diagnostique était élevée (94 %) avec un seuil d'augmentation de l'ACTH à 6 pmol/l (27 pg/ml), comparable à celle du test Dex-CRH, y compris chez des patients ayant un syndrome de Cushing modéré, dans deux études italiennes [15, 22]. De plus, la desmopressine est moins chère que la CRH et le test à la desmopressine plus facile à réaliser qu'un test Dex-CRH qui requiert une hospitalisation de 48 h. Enfin, le test à la desmopressine est un élément du diagnostic étiologique des syndromes de Cushing-ACTH dépendant (contrairement au test Dex-CRH) et est utile dans le suivi des patients atteints d'une maladie de Cushing après chirurgie transphénoïdale. Ainsi, comme le test Dex-CRH et peut-être le test à la CRH, le test à la desmopressine peut être utile chez les patients ayant un hypercortisolisme modeste et un ACTH normal, situation dans laquelle il faut distinguer un syndrome de Cushing-ACTH dépendant modéré et un pseudo-syndrome de Cushing.

En cas de doute, ou devant des signes cliniques nouveaux ou bien en cas de suspicion de syndrome de Cushing intermittent, il faut savoir répéter les explorations quelques semaines ou mois plus tard. En effet, parfois les périodes d'hypercortisolisme alternent avec des périodes d'eucortisolisme voire d'insuffisance corticotrope pouvant durer plusieurs semaines ou mois. La reproductibilité de l'alternance de ces deux phases définit le syndrome de Cushing « cyclique » ou « intermittent ». Il faut évoquer cette possibilité lorsque l'impression clinique contraste avec des examens biologiques normaux voire une insuffisance corticotrope transitoire, ou lorsque des

symptômes s'amendent spontanément puis réapparaissent. Le recueil en ambulatoire du cortisol salivaire au coucher ou de la cortisolurie sur 24 h sur plusieurs semaines peut être très utile.

7.2.2. Comment identifier la cause d'un syndrome de Cushing

Concernant le diagnostic étiologique, les recommandations du PNDS 10 sont globalement similaires au consensus Arnaldi *et al.* [8].

La première étape du diagnostic étiologique du syndrome de Cushing consiste à distinguer syndrome de Cushing-ACTH dépendant et syndrome de Cushing-ACTH indépendant. Elle repose sur le dosage de l'ACTH plasmatique. Le taux plasmatique d'ACTH est théoriquement effondré en cas d'hypercortisolisme d'origine primitivement surrénalienne, l'hypersécrétion surrénalienne autonome de cortisol venant alors rétro-inhiber la production hypophysaire d'ACTH. Il est en revanche au-dessus de la limite inférieure des valeurs normales en cas de sécrétion inappropriée d'ACTH qu'elle soit d'origine hypophysaire ou ectopique. Le dosage de l'ACTH plasmatique doit obéir à des règles strictes permettant d'éviter la dégradation du peptide dans le tube de prélèvement. Un taux d'ACTH inférieur à deux reprises à 5-10 pg/ml (1,1-2,2 pmol/l) permet d'affirmer le caractère ACTH-indépendant du syndrome de Cushing. Si au moins l'une des deux valeurs d'ACTH est supérieure à 15-20 pg/ml (3,3-4,4 pmol/l) en phase d'hypercortisolisme, la nature ACTH-dépendante du syndrome de Cushing est très vraisemblable. En cas de doute, il est recommandé de pratiquer un test à la CRH, voire un test de freinage fort par la dexaméthasone et un scanner surrénalien.

Dans le diagnostic différentiel entre maladie de Cushing et syndrome de Cushing par sécrétion ectopique d'ACTH, les deux principaux tests dynamiques sont le freinage fort à la dexaméthasone et le test à la CRH. Ils recherchent une réponse corticotrope discriminant les maladies de Cushing – qui restent souvent soumises à une régulation partielle (tests dits positifs) – des tumeurs endocrines avec sécrétion ectopique d'ACTH qui échappent en général à la régulation (tests dits négatifs).

Les différents protocoles et critères d'interprétation de la littérature du freinage fort (dexaméthasone 2 mg/6 h x 48 h per os, 8 mg à 23 h ou 0 h per os, 4 à 7 mg IV; paramètre : cortisolémie avant et après administration de la dexaméthasone, cortisolurie avant et au deuxième jour d'administration de la dexaméthasone seuils : diminution de la cortisolémie ou de la cortisolurie de 50 ou 80 %) et du test à la CRH (1 µg/kg ou 100 µg; paramètre ACTH ou cortisolémie; seuil : pourcentage d'augmentation de l'ACTH de 30, 35 ou 50 %, pourcentage d'augmentation de la cortisolémie de 20 %), ont été rappelés dans le consensus international, mais aucun n'a été privilégié particulièrement. La sensibilité de ces deux tests est de plus de 85 % mais leur spécificité n'atteint pas 100 % [8, 23-27].

L'intérêt du test à la desmopressine (10 µg IV) [22, 28, 29] reste limité par le fort pourcentage de tumeurs ectopiques répondant à la desmopressine (20-50 %) [30, 31]. Il existe également plusieurs critères d'interprétation dans

la littérature (paramètre ACTH ou cortisolémie; seuil : pourcentage d'augmentation de l'ACTH de 35 ou 50 %, pourcentage d'augmentation de la cortisolémie de 20 ou 36 %) [8]. Une forte réponse au test couplé desmopressine-CRH pourrait être plus discriminante [32, 33].

7.2.3. Exploration par cathétérisme veineux d'un syndrome de Cushing-ACTH dépendant

Un cathétérisme veineux central peut être discuté dans les centres experts chez les patients porteurs d'un syndrome de Cushing-ACTH dépendant, après avoir éliminé un pseudo-syndrome de Cushing, lorsque les explorations du patient par les tests dynamiques, l'imagerie par résonance magnétique hypophysaire et le scanner cervico-thoraco-abdomino-pelvien multibarrette laissent une incertitude sur son origine hypophysaire ou ectopique. Des cathéters sont montés par voie veineuse pour faire de façon simultanée des prélèvements sanguins dans les deux sinus pétreux inférieurs (qui drainent le sang veineux d'origine hypophysaire) et dans une veine périphérique. Les prélèvements sont effectués au niveau de chacun des trois sites, simultanément, à l'état basal et après stimulation, en général par la CRH, plus rarement par la desmopressine ou par les deux stimuli. La mesure de la concentration d'ACTH et éventuellement de la prolactine, comme témoin de la bonne cathétérisation [34], dans ces trois prélèvements permet de définir deux gradients centro-périphériques (rapport ACTH sinus pétreux inférieur droit/périphérie et rapport ACTH sinus pétreux inférieur gauche/périphérie) et un gradient latéral (rapport ACTH sinus pétreux inférieur droit/sinus pétreux inférieur gauche). Les gradients sont établis à l'état basal et après stimulation. La mise en évidence d'un gradient centro-périphérique supérieur à 2 à l'état basal et/ou supérieur à 3 après stimulation par la CRH est en faveur d'une origine hypophysaire de la sécrétion d'ACTH, avec une sensibilité et une spécificité proches de 94 % [35-37]. Le cathétérisme est une exploration invasive, techniquement difficile, avec un taux de réussite (taux de cathétérisation bilatérale sélective) directement lié à l'expérience du neuroradiologue [38] et coûteuse. Il suppose également une organisation particulière pour le recueil, le transfert des échantillons sanguins en laboratoire et leur analyse. L'expertise nécessaire et l'invasivité du cathétérisme justifient de ne réaliser cet examen que dans des centres qui en ont une grande pratique.

7.2.4. Exploration par des marqueurs tumoraux

Certaines tumeurs responsables d'une sécrétion ectopique d'ACTH ont un marqueur tumoral performant, comme les phéochromocytomes (catécholamines libres plasmatiques et/ou urinaires, dérivés méthoxylés urinaires), les cancers médullaires de la thyroïde (calcitonine), ou encore les gastrinomes (gastrinémie) [23, 39, 40]. D'autres marqueurs tumoraux peuvent être dosés (chromogranine A, 5-HIAA urinaires, sous-unité alpha, beta-hCG, antigène carcino-embryonnaire, émolase neurone-spécifique, VIP, glucagon, etc.) mais leurs performances diagnostiques sont médiocres [23, 39-42]. L'étude des taux plasmatiques de POMC et de ses dérivés se heurte au chevauchement important des résultats entre les maladies de Cushing, en particulier les macroadénomes, et les sécrétions ectopiques d'ACTH [43-46] et à des difficultés techniques.

8. Conclusion

L'exploration de l'axe corticotrope est assurée par des dosages de routine de cortisol (sang, salive, urines de 24 h), d'ACTH (sang) en situation basale ou au cours de tests dynamiques dont le but est d'apprécier le niveau d'atteinte de l'axe HHC se traduisant par un hyper ou un hypocorticisme. Les tests de stimulation évaluent essentiellement les insuffisances surrénales. Les tests de freination permettent de préciser les différentes causes d'hypercorticisme. Les dosages de cortisol sanguin ne présentent

pas de difficultés particulières, mais les dosages sur salive exigent une sensibilité accrue par rapport aux dosages sanguins (10 à 20 fois), et les dosages urinaires ne sont fiables qu'après extraction par solvant organique. Les dosages d'ACTH deviennent plus facilement accessibles sur automate, mais attention à la stabilité de la molécule en préanalytique. Le dosage du composé S est encore manuel et les dosages de CRH et POMC ne sont pas pratiqués en routine.

Conflit d'intérêt : aucun

Références

- [1] Arlt W. The approach to the adult with newly diagnosed adrenal insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:1059-67.
- [2] Kazlauskaitė R, Evans AT, Villabona CV, Abdu TA, Ambrosi B, Atkinson AB, et al. Corticotropin tests for hypothalamic-pituitary-adrenal insufficiency: a metaanalysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:4245-53.
- [3] Dorin RI, Qualls CR, Crapo LM. Diagnosis of adrenal insufficiency. *Ann Intern Med* 2003;139:194-204.
- [4] Fischli S, Jenni S, Allemann S, Zwahlen M, Diem P, Christ ER et al. Dehydroepiandrosterone sulfate in the assessment of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:539-42.
- [5] Nasrallah MP, Arafah BM. The value of dehydroepiandrosterone sulfate measurements in the assessment of adrenal function. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:5293-8.
- [6] Bornstein SR. Predisposing factors for adrenal insufficiency. *N Engl J Med* 2009;360:2328-39.
- [7] Nieman LK, Biller BM, Findling JW, Newell-Price J, Savage MO, Stewart PM, et al. The diagnosis of Cushing's syndrome: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:1526-40.
- [8] Arnaldi G, Angeli A, Atkinson AB, Bertagna X, Cavagnini F, Chrousos GP, et al. Diagnosis and complications of Cushing's syndrome: a consensus statement. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:5593-602.
- [9] Bardet S, Bertherat J, Cazalda M, Chabre O, Dupas B, Hamoui E, et al. Exploration et prise en charge des incidentalomes surrénaux. Consensus d'experts de la Société française d'endocrinologie. Disponible à l'adresse suivante : www.endocrino.net 2008.
- [10] Protocole national de diagnostic et de soins « Syndrome de Cushing », 2008. Disponible à l'adresse suivante : www.endocrino.net or at www.has-sante.fr/portail/jcms/c_722917/ald-n-31-syndrome-de-cushing.
- [11] Yaneva M, Mosnier-Pudar H, Dugue MA, Grabar S, Fulla Y, Bertagna X. Midnight salivary cortisol for the initial diagnosis of Cushing's syndrome of various causes. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:3345-51.
- [12] Nunes ML, Vatta S, Corcuff JB, Rault A, Loiseau H, Gatta B, et al. Late-night salivary cortisol for diagnosis of overt and subclinical Cushing's syndrome in hospitalized and ambulatory patients. *J Clin Endocrinol Metab*;2009;94:456-62.
- [13] Elamin MB, Murad MH, Mullan R, Erickson D, Harris K, Nadeem S, et al. Accuracy of diagnostic tests for Cushing's syndrome: a systematic review and metaanalysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:1553-62.
- [14] Martin NM, Dhillon WS, Banerjee A, Abdulali A, Jayasena CN, Donaldson M, et al. Comparison of the dexamethasone-suppressed corticotropin-releasing hormone test and low-dose dexamethasone suppression test in the diagnosis of Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:2582-6.
- [15] Pecori Giralardi F, Pivonello R, Ambrogio AG, De Martino MC, De Martin M, Scacchi M, et al. The dexamethasone-suppressed corticotropin-releasing hormone stimulation test and the desmopressin test to distinguish Cushing's syndrome from pseudo-Cushing's states. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007;66:251-7.
- [16] Erickson D, Natt N, Nippoldt T, Young WF, Jr., Carpenter PC, Petterson T, et al. Dexamethasone-suppressed corticotropin-releasing hormone stimulation test for diagnosis of mild hypercortisolism. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:2972-6.
- [17] Gatta B, Chabre O, Cortet C, Martinie M, Corcuff JB, Roger P, et al. Reevaluation of the combined dexamethasone suppression-corticotropin-releasing hormone test for differentiation of mild Cushing's disease from pseudo-Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:4290-3.
- [18] Reimondo G, Bovio S, Allasino B, De Francia S, Zaggia B, Micossi I, et al. The combined low-dose dexamethasone suppression corticotropin-releasing hormone test as a tool to rule out Cushing's syndrome. *Eur J Endocrinol* 2008;159:569-76.
- [19] Yanovski JA, Cutler GB, Jr., Chrousos GP, Nieman LK. Corticotropin-releasing hormone stimulation following low-dose dexamethasone administration. A new test to distinguish Cushing's syndrome from pseudo-Cushing's states. *JAMA* 1993;269:2232-8.
- [20] Arnaldi G, Tirabassi G, Papa R, Furlani G, Tremontino L, Cardinaletti M, et al. Human corticotropin releasing hormone test performance in the differential diagnosis between Cushing's disease and pseudo-Cushing state is enhanced by combined ACTH and cortisol analysis. *Eur J Endocrinol* 2009;160:891-8.
- [21] Gold PW, Loriaux DL, Roy A, Kling MA, Calabrese JR, Kellner CH, et al. Responses to corticotropin-releasing hormone in the hypercortisolism of depression and Cushing's disease. Pathophysiologic and diagnostic implications. *N Engl J Med* 1986;314:1329-35.
- [22] Moro M, Putignano P, Losa M, Invitti C, Maraschini C, Cavagnini F. The desmopressin test in the differential diagnosis between Cushing's disease and pseudo-Cushing states. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:3569-74.
- [23] Newell-Price J, Trainer P, Besser M, Grossman A. The diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome and pseudo-Cushing's states. *Endocr Rev* 1998;19:647-72.
- [24] Invitti C, Pecori Giralardi F, de Martin M, Cavagnini F. Diagnosis and management of Cushing's syndrome: results of an Italian multicentre study. Study Group of the Italian Society of endocrinology on the pathophysiology of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:440-8.
- [25] Reimondo G, Paccotti P, Minetto M, Termine A, Stura G, Bergui M, et al. The corticotrophin-releasing hormone test is the most reliable noninvasive method to differentiate pituitary from ectopic ACTH secretion in Cushing's syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003;58:718-24.
- [26] Nieman LK, Oldfield EH, Wesley R, Chrousos GP, Loriaux DL, Cutler GB, Jr. A simplified morning ovine corticotropin-releasing hormone stimulation test for the differential diagnosis of adrenocorticotropin-dependent Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;77:1308-12.
- [27] Kaye TB, Crapo L. The Cushing syndrome: an update on diagnostic tests. *Ann Intern Med* 1990;112:434-4.
- [28] Malerbi DA, Mendonca BB, Liberman B, Toledo SP, Corradini MC, Cunha-Neto MB, et al. The desmopressin stimulation test in the differential diagnosis of Cushing's syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1993;38:463-72.
- [29] Losa M, Mortini P, Dylgjeri S, Barzaghi R, Franzin A, Mandelli C, et al. Desmopressin stimulation test before and after pituitary surgery in patients with Cushing's disease. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001;55:61-8.
- [30] Dahia PL, Grossman AB. The molecular pathogenesis of corticotroph tumors. *Endocr Rev* 1999;20:136-55.

- [31] De Keyzer Y, Rene P, Lenne F, Auzan C, Clauser E, Bertagna X. V3 vasopressin receptor and corticotrophic phenotype in pituitary and nonpituitary tumors. *Horm Res* 1997;47:259-62.
- [32] Newell-Price J, Perry L, Medbak S, Monson J, Savage M, Besser M, et al. A combined test using desmopressin and corticotropin-releasing hormone in the differential diagnosis of Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:176-81.
- [33] Tsagarakis S, Tsigos C, Vasilioi V, Tsiotra P, Kaskarelis J, Sotiropoulou C, et al. The desmopressin and combined CRH-desmopressin tests in the differential diagnosis of ACTH-dependent Cushing's syndrome: constraints imposed by the expression of V2 vasopressin receptors in tumors with ectopic ACTH secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:1646-53.
- [34] Findling JW, Kehoe ME, Raff H. Identification of patients with Cushing's disease with negative pituitary adrenocorticotropic gradients during inferior petrosal sinus sampling: prolactin as an index of pituitary venous effluent. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:6005-9.
- [35] Oldfield EH, Doppman JL, Nieman LK, Chrousos GP, Miller DL, Katz DA, et al. Petrosal sinus sampling with and without corticotropin-releasing hormone for the differential diagnosis of Cushing's syndrome. *N Engl J Med* 1991;325:897-905.
- [36] Swearingen B, Katznelson L, Miller K, Grinspoon S, Waltman A, Dorer DJ, et al. Diagnostic errors after inferior petrosal sinus sampling. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:3752-63.
- [37] Lindsay JR, Nieman LK. Differential diagnosis and imaging in Cushing's syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2005;34:403-21.
- [38] Kaltsas GA, Giannulis MG, Newell-Price JD, Dacie JE, Thakkar C, Afshar F, et al. A critical analysis of the value of simultaneous inferior petrosal sinus sampling in Cushing's disease and the occult ectopic adrenocorticotropic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:487-92.
- [39] Ilias I, Torpy DJ, Pacak K, Mullen N, Wesley RA, Nieman LK. Cushing's syndrome due to ectopic corticotropin secretion: twenty years' experience at the National Institutes of Health. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:4955-62.
- [40] Isidori AM, Kaltsas GA, Pozza C, Frajese V, Newell-Price J, Reznik RH, et al. The ectopic adrenocorticotropic syndrome: clinical features, diagnosis, management, and long-term follow-up. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:371-7.
- [41] Taupenot L, Harper KL, O'Connor DT. The chromogranin-secreto-granin family. *N Engl J Med* 2003;348:1134-49.
- [42] Zemskova MS, Nysten ES, Patronas NJ, Oldfield EH, Becker KL, Nieman LK. Diagnostic accuracy of chromogranin A and calcitonin precursors measurements for the discrimination of ectopic ACTH secretion from Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:2962-5.
- [43] Kuhn JM, Proeschel MF, Seurin DJ, Bertagna XY, Luton JP, Girard FL. Comparative assessment of ACTH and lipotropin plasma levels in the diagnosis and follow-up of patients with Cushing's syndrome: a study of 210 cases. *Am J Med* 1989;86:678-84.
- [44] Tabarin A, Corcuff JB, Rashedi M, Navarranne A, Ducassou D, Roger P. Comparative value of plasma ACTH and beta-endorphin measurement with three different commercial kits for the etiological diagnosis of ACTH-dependent Cushing's syndrome. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1992;126:308-14.
- [45] Raffin-Sanson ML, Massias JF, Dumont C, Raux-Demay MC, Proeschel MF, Luton JP, et al. High plasma proopiomelanocortin in aggressive adrenocorticotropic-secreting tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:4272-7.
- [46] Oliver RL, Davis JR, White A. Characterisation of ACTH related peptides in ectopic Cushing's syndrome. *Pituitary* 2003;6:119-26.

Ouvrages à consulter

- [47] Hazard J, Perlemuter L. *Endocrinologie (Abrégés)*, Masson 1990.
- [48] Luton JP, Thomopoulos P, Basdevant A. *Endocrinologie, Nutrition et maladies métaboliques*, Flammarion Médecine Sciences, 1999.
- [49] Bricaire H, Baulieu E, Leprat J. *Glandes endocrines*, Flammarion Médecine Sciences.
- [50] Greenspall FS, Strewler GJ. *Basic and clinical endocrinology*, Appleton and Lange, 1997.
- [51] Chanson P, Young J. *Endocrinologie*, InterMed, Doin Ed., 2000.