

# Hyperplasie Congénitale des Surrénales par déficit en 21-hydroxylase : la génétique au service des praticiens

**Dr. Véronique TARDY-GUIDOLLET**

**veronique.tardy@chu-lyon.fr**

**Endocrinologie Moléculaire et Maladies Rares**

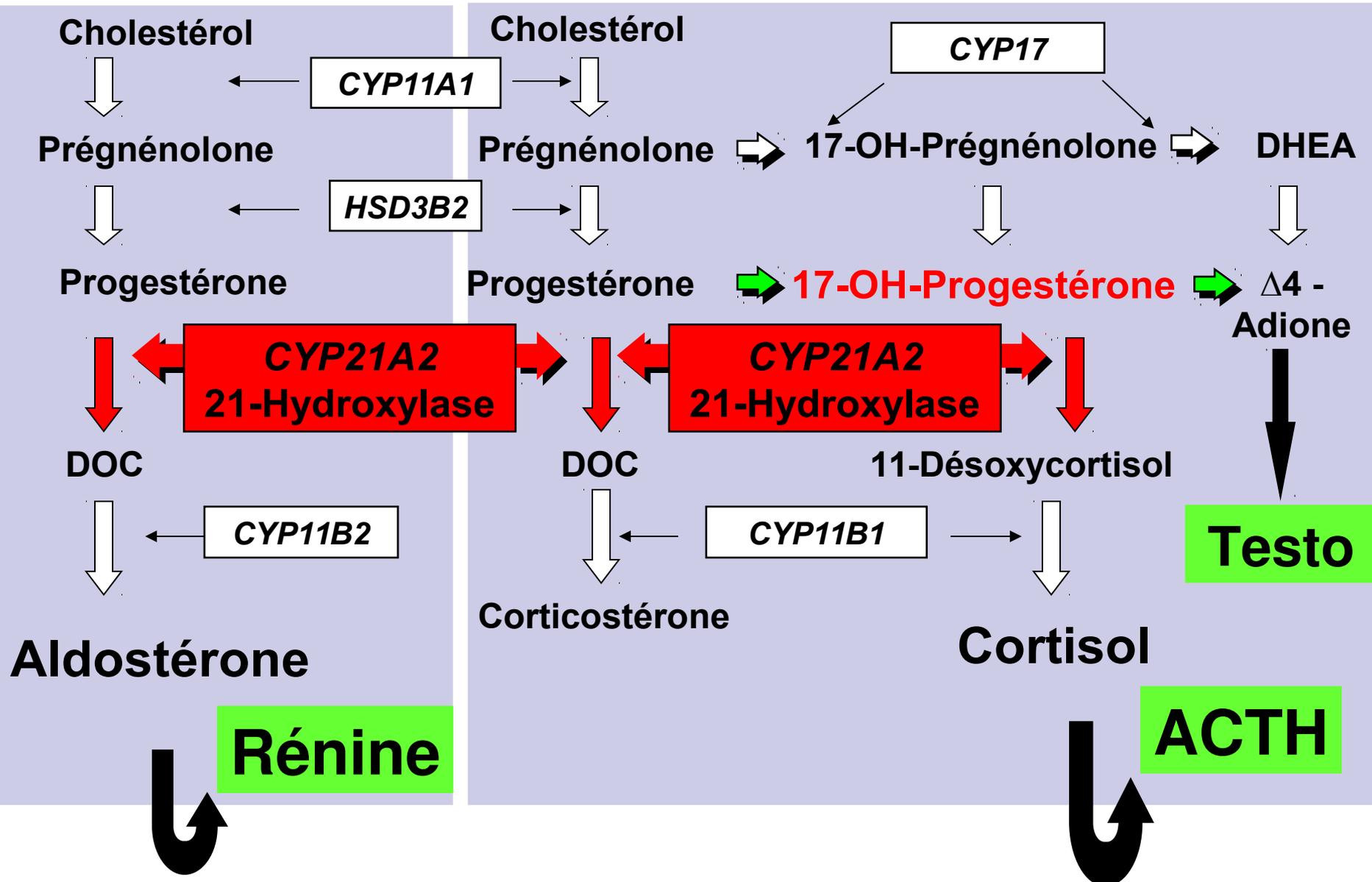
**Centre de Biologie et Pathologie Est**

**69677 Bron**

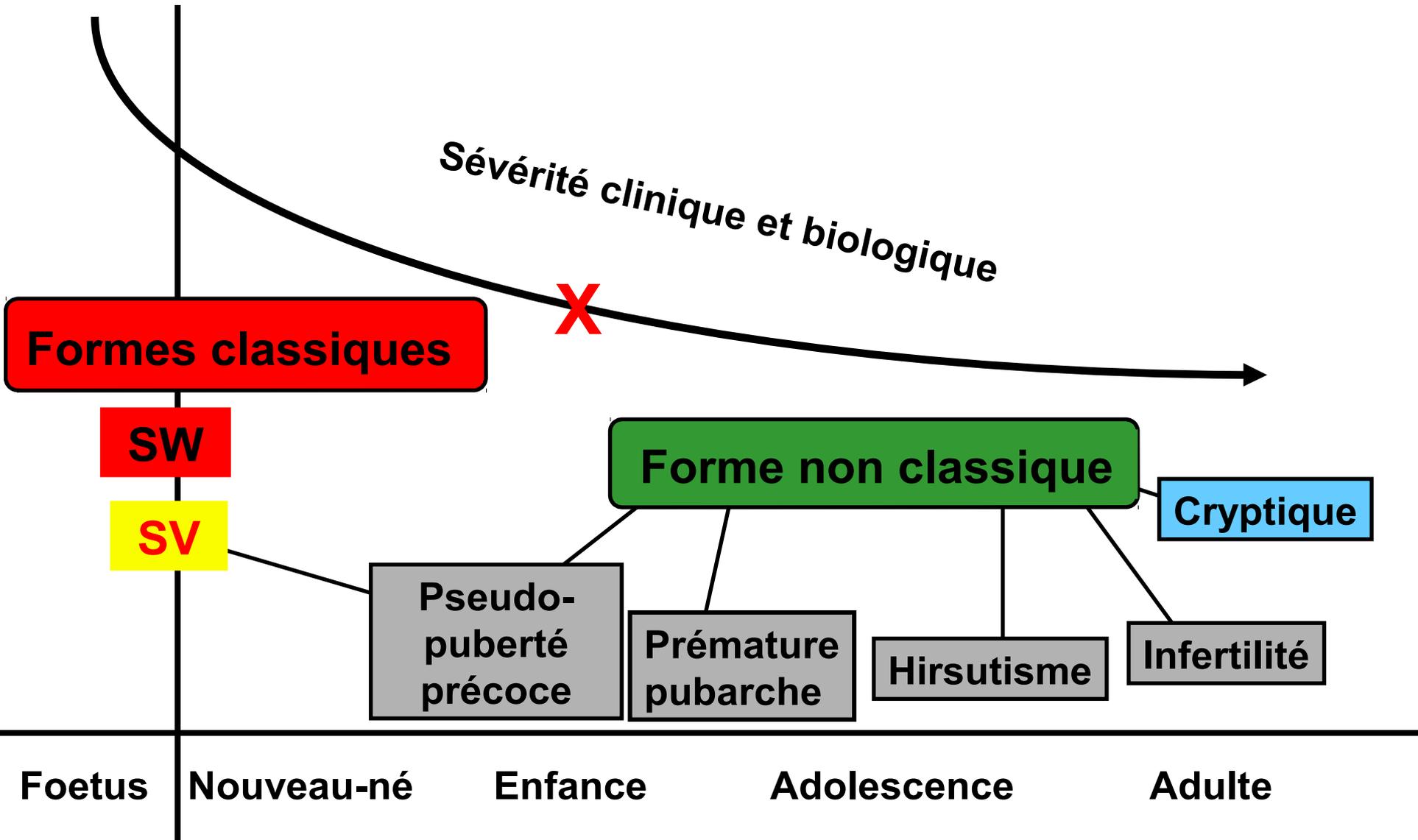
*Marrakech Avril 2015*



# Synthèse des hormones stéroïdes dans les surrénales



# Formes cliniques du déficit en 21-hydroxylase



# Critères de classification

---

## 1- Signes dus directement à l'atteinte enzymatique

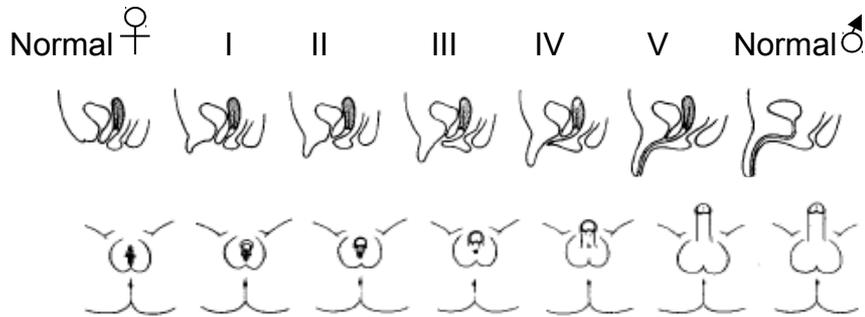
- Perte de sel
- Hypoglycémie
- Augmentation de la 17OHP
- Dépistage néonatal
- Follow-up clinique et biologique

## 2- Signes secondaires à l'hyperandrogénie

- Virilisation néonatale chez la fille (variable)
- Autres :
  - prémature pubarche
  - avance âge osseux
  - avance staturale
  - hirsutisme
  - troubles des règles
  - infertilité
- Follow-up (taille définitive,.....)
- En général asymptomatique chez l'homme

# Forme classique

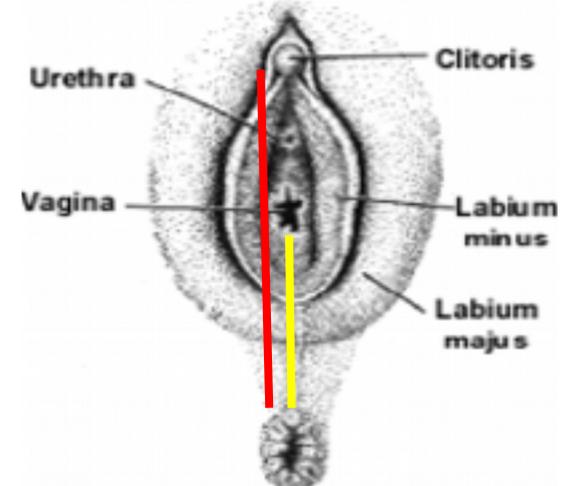
- **Dépistée à la naissance (Guthrie) : incidence 1/15 000**
- **Masculinisation des OGE chez la fille / OGI normaux**
- Due à l'hyperproduction de testostérone pendant la vie foetale
- Diagnostic à évoquer chez un nouveau-né 46, XX



Classification de Prader

$$\frac{\text{Distance anus - fourchette vaginale}}{\text{Distance anus- base postérieure clitoris}}$$

Si  $> 0,5$  = masculinisation



# Forme classique

- **Deux types**

- 1 - **Forme classique avec perte de sel clinique**

Perte de poids, hyponatrémie avec hyperkaliémie  
déshydratation : 2<sup>ème</sup> semaine de vie

- 2 - **Forme virilisante pure**

Pas de perte de sel clinique

Risque de décompensation surrénalienne si stress

Avant le DNN : pseudo-puberté précoce, inclusions testiculaires

- **Diagnostic biochimique**

17OHP buvard : seuil 25 nmol/L (avant 50 ou 60 nmol/L)

↑ 17OHP plasmatique : seuil ? (30 nmol/L)

↑ rénine, ACTH, androgènes plasmatiques

- **Traitement**

Hydrocortisone + Fludrocortisone + Sel / Decapeptyl

Protocoles variables, équilibre selon bilan et croissance SP

# Forme non classique

- FNC dans la population générale : 1/1000
- FNC chez les femmes hirsutes : 6% en France, 1 à 10% dans la littérature

(Young *et al*, Ann Endocrinol 2010)

## ✂ **Enfant**

- ✓ Pas de virilisation des OGE (clitoromégalie 4%), pas de perte de sel
- ✓ Premature pubarche : FNC cause de 5-20% des PP (Armengaud *et al*, JCEM 2009)
- ✓ Avance staturale, **avance âge osseux**, pseudo-puberté précoce
  - > Risque de puberté centrale
- ✓ Si AO : Hydrocortisone, si puberté centrale : Decapeptyl

## • **Adolescente et femme adulte** (Bidet *et al*, JCEM 2010 ; Young *et al* Ann d'Endoc 2010)

- ✓ Hirsutisme (70%) : Androcur, Flutamide
- ✓ Aménorrhée I ou II / oligoménorrhée (59%) : Hydrocortisone
- ✓ **Infertilité** (12%) : Hydrocortisone

## • **Asymptomatique chez l'homme**

# Diagnostic de FNC et fertilité

- Infertilité féminine due aux taux élevés d'androgènes et de progestérone Rétrocontrôle sur l'axe gonadotrope, inhibition folliculogénèse ovarienne, modification de l'endomètre

- Etude de 190 FNC > 15 ans (Bidet *et al*, JCEM 2010)

Grossesse chez 85 femmes (90%), 49 sans GC et 36 avec GC

Traitement	Aucun	Clomid	GC	GC + Clomid
Grossesses (187)	107	3	62	15
Naissances (141)	67	1	57	16
Avortements (15)	13	0	2	0
Fausse couches (34)	27	2	3	2

- Intérêt des GC (Hydrocortisone 20-25 mg) dans la mise en route d'une grossesse surtout si  $\uparrow T$  et  $\Delta 4A$
- FCS avec GC < sans GC (6,5% vs 26,3%) : fréquence identique dans la littérature (Moran *et al*, JCEM 2006)

# Diagnostic biologique de la FNC

- **Dosages de 17OHP lors du test au Synacthène® = Gold Standard**

- **Seuil de 17OHP = 36 nmol/L (12 ng/ml)** (Tardy *et al*, Horm. Res. 1996)
- **Seuil de 17OHP = 30 nmol/L (10 ng/ml)** (Bidet *et al*, JCEM. 2010)

→ La génétique confirme

- ✂ **Dosage de 17OHP de base : seuil à retenir ?**

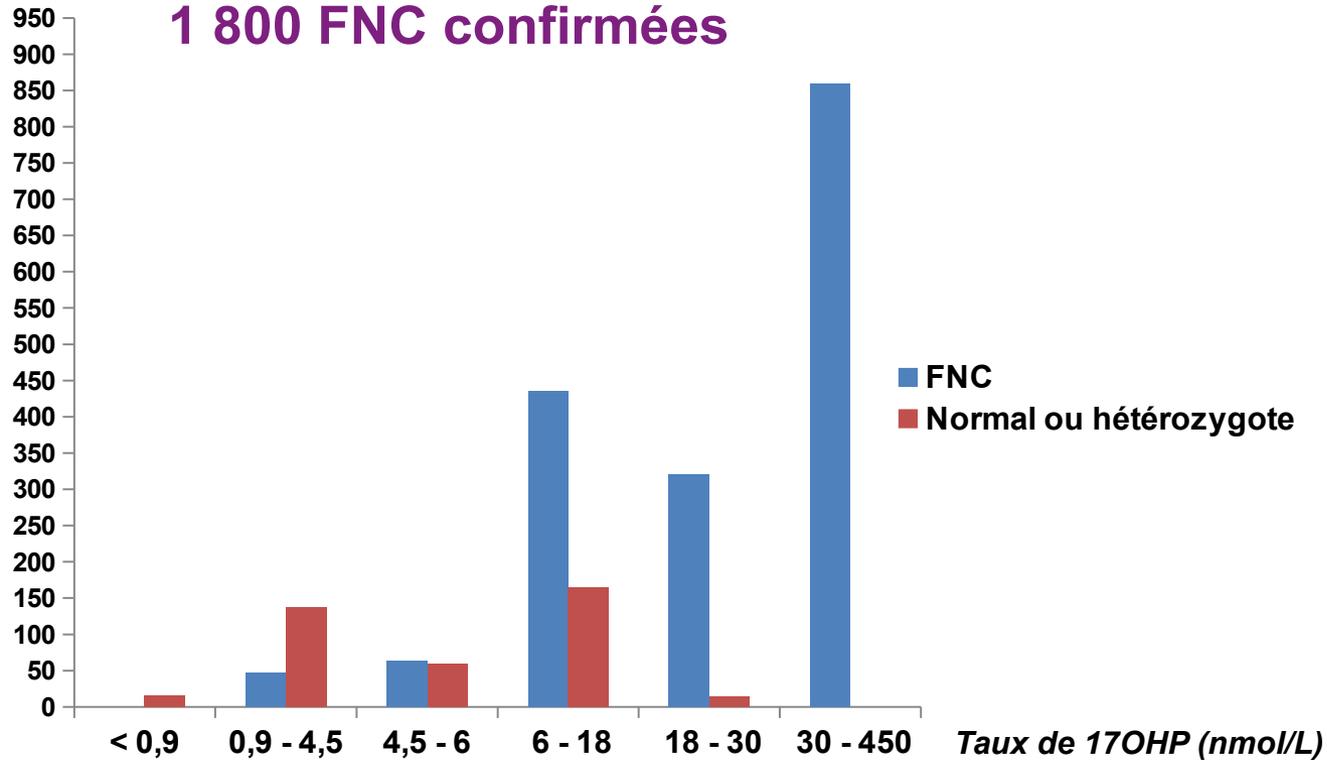
- ✓ **6 nmol/L (2 ng/ml)** (Dewailly *et al*, JCEM 1986; Azziz *et al*, JCEM 1989; Young *et al*, Ann End 2010)
- ✓ **Problèmes : réalisation à J3 du cycle, techniques de dosage (spécificité, reproductibilité)**
- **Rupture de stock du Synacthène® en 2013 : consensus SFE nov 2013**  
**Seuil à 6 nmol/L (2 ng/ml)** (Bilans cohortes Paris et Lyon)
- ✓ **Retour du Synacthène® en France**

- **Autres dosages**

- ✓ **Androgènes : testostérone,  $\Delta$ 4-androstènedione**
- ✓ **ACTH ? Progestérone si infertilité**
- ✓ **LH, FHS si suspicion SOPK, prolactine ?**

# 17OHP de base chez 2200 sujets suspects de FNC

Nombre de cas



Seuil de 17OHP (nmol/L)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	VPP (%)
4.5	97.3	3.8	87.6
6.0	93.6	39.0	90.0
18.0	68.3	54.1	98.8
30.0	49.8	96.4	100

# Diagnostics différentiels de la FNC

**Quels autres diagnostics à évoquer face à un hirsutisme, une dysménorrhée, une infertilité ?**

## ➤ Syndrome des ovaires polykystiques

- 5 à 10 % de la population féminine
- Critères de Rotterdam (2003) : oligo/anovulation, hyperandrogénie, aspect échographique : vol ovarien > 7 ml, nbre de follicules/ovaire > 18
- Dosages de l'AMH : AMH > 35 pmol/L (Dewailly *et al*, Hum Reprod 2011)
- Dosages de LH et FSH
- Augmentation de la 17OHP d'origine ovarienne < 9 nmol/L  
→ **Doute avec FNC en l'absence de Synacthène®**

## ➤ Syndrome de Cushing

- Aménorrhée+hirsutisme chez la femme, hyperandrogénie chez l'enfant
- Tumeur surrénalienne
- Androgènes très élevés, imagerie surrénales

## ➤ Hyperprolactinémie

- Aménorrhée, infertilité chez la femme
- Dosage de prolactine > 25 ng/ml

# Etude moléculaire du gène *CYP21A2*

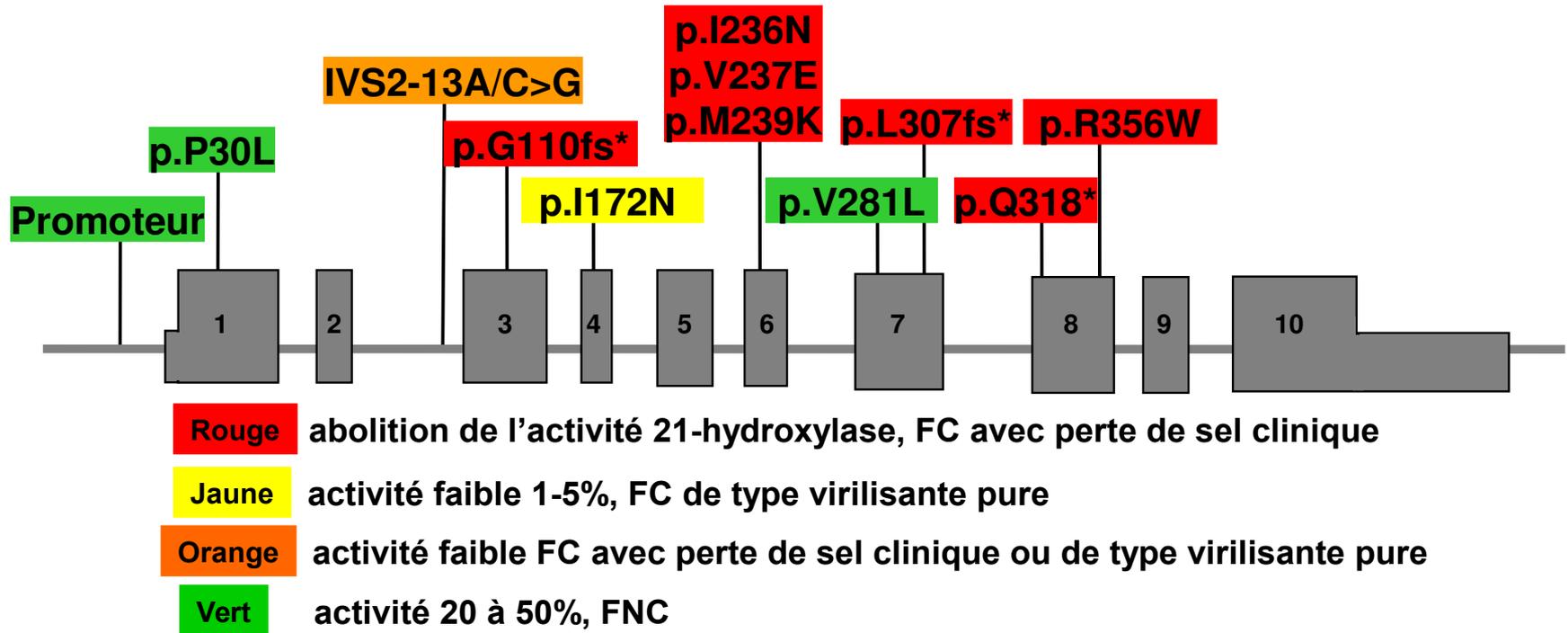
---

- ✂ **Prélèvement de sang total sur EDTA : 2 tubes de 2 ml**
- ✂ **Documents obligatoires**
  - ✓ Prescription médicale signée par le clinicien
  - ✓ Consentement génétique
  - ✓ Données cliniques et biologiques
    - Fiche de renseignement type
    - Courrier détaillé
- **Exploration de la totalité du gène *CYP21A2* chez le CI**
  - ✓ Séquençage de tout le gène
    - Résultat < 1 semaine
  - ✓ Recherche de larges lésions par MLPA (Multiplex Ligation Probe Amplification)
    - Résultat < 2 semaines
- **Etude ciblée du gène *CYP21A2* chez les parents**
  - ✓ Confirmer le diagnostic et proposer un conseil génétique

# Lésions géniques (6400 allèles CAH, 3200 patients)

(Tardy *et al.* JCEM 2010)

- 1 - Grandes lésions (délétions, conversions) (20%)
- 2 - Mutations ponctuelles isolées et fréquentes (>1%) (69%)



- 3 - Mutations rares (6 %)
- 4 - Mutations multiples (5 %)
- 5 - Réarrangements complexes (< 1%)

# Corrélations génotype - phénotype

## 1 - Formes classiques (2 200 patients)

→ 1 mutation sévère sur les deux allèles

- Forme classique avec perte de sel clinique  
p.Q318\* / p.L307fs ou Large lésion
- Forme virilisante pure  
p.I172N / p.I172N ou Large lésion

## 2 - Formes non classiques (2 200 patients)

→ 1 mutation modérée sur au moins un allèle

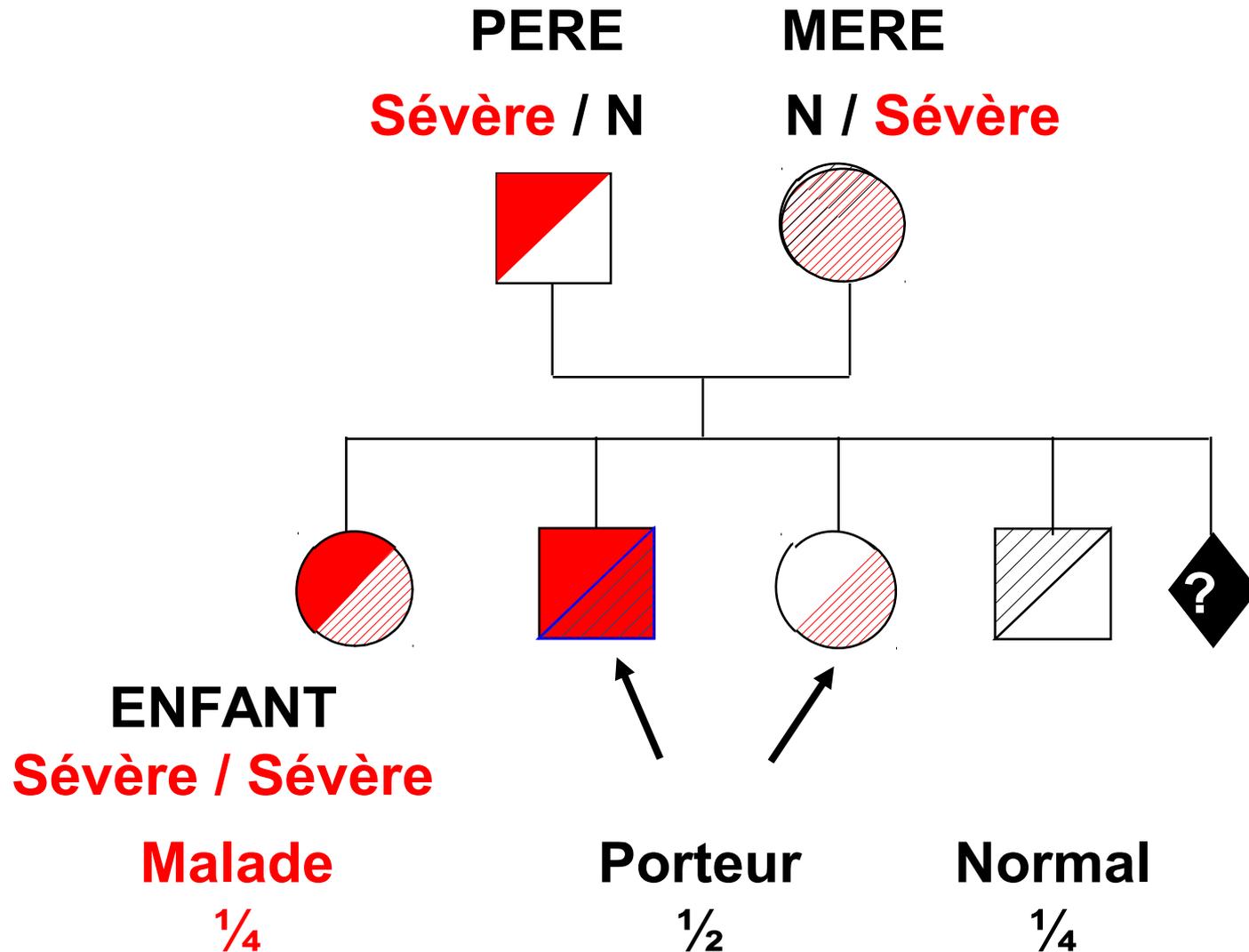
- 1 mutation sévère sur l'autre allèle (60 % des FNC)  
(Tardy *et al*, Horm Res 1996 ; Bidet *et al*, JCEM 2010)  
p.V281L / p.Q318\* ou p.I172N
- 1 mutation modérée sur les 2 allèles (40 % des FNC)  
p.V281L / p.V281L ou p.P30L

**! Problèmes : mutations rares, réarrangements complexes**

# Conseil Génétique

- **Couples avec un 1er enfant atteint de FC (SW ou SV)**  
**Risque récurrence  $\frac{1}{4}$**
- **Couples avec un sujet porteur d'une mutation sévère FC, 60 % FNC (Tardy et al, Horm Res 1996) , apparenté, hétérozygote**  
**Risque pour le conjoint d'avoir une mutation sévère =  $\frac{1}{60}$**   
**Risque de FC pour les enfants du couple**  
**FC + conjoint =  $\frac{1}{120}$  (1 X  $\frac{1}{60}$  X  $\frac{1}{2}$ )**  
**FNC / apparenté / hétérozygote + conjoint =  $\frac{1}{240}$  ( $\frac{1}{2}$  X  $\frac{1}{60}$  X  $\frac{1}{2}$ )**
- **Dépistage des conjoints par étude complète du gène**
- **Dépistage des apparentés à risque si mutation sévère**  
**Etude ciblée selon les résultats du cas index**  
**! Avant toute grossesse**

# Prise en charge d'une famille avec un enfant atteint de forme classique



# Prise en charge de la femme enceinte en France

Consultation dès le retard de règles  
Datation échographique

Test SRY : 4.4 - 5.4 SG (6.4 - 7.4 SA)

**SRY-**

DEX < 6 SG (8 SA)

Contrôle SRY  
8 SG (10 SA)

**SRY-**

PVC 9-10 SG (11-12 SA)  
- Etude gène *CYP21A2* (Bron)  
- Caryotype

**Si fille atteinte**  
dosages stéroïdes mensuels chez la mère  
**(Bron)** + surveillance échographique

**SRY+**

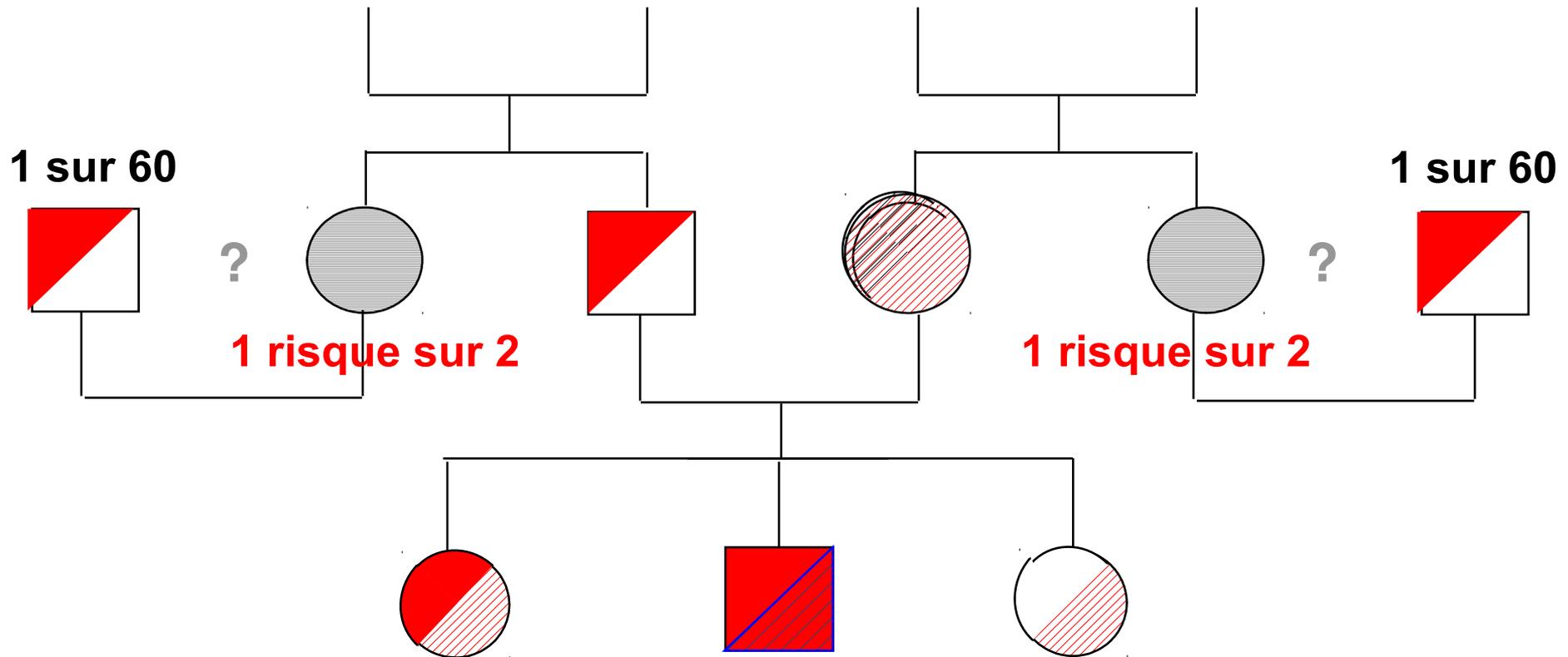
OU

PLA 12-14 SG (14-16 SA)  
- Etude gène *CYP21A2* (Bron)  
- Dosages hormonaux (Bron)  
- Caryotype

Pas de DPN  
Prise en charge néonatale

Morel *et al*, Ann Endoc 2003  
Tardy-Guidollet *et al*, JCEM 2014

# Exploration des apparentés dans la famille d'une forme classique



# FNC : Cas 1

**Melle A. consulte à 6 ans pour premature pubarche apparue à 4 ans et une avance de l'âge osseux à 8 ans**

Dosages	Résultats	Valeurs normales
17 OHP (nmol/L)	55,2	0,3 – 3,0
ACTH (ng/ml)	84,2	10 – 40
Testostérone (nmol/L)	1,1	< 0.3
$\Delta$ 4-A (nmol/L)	5,4	0.4 – 0.8

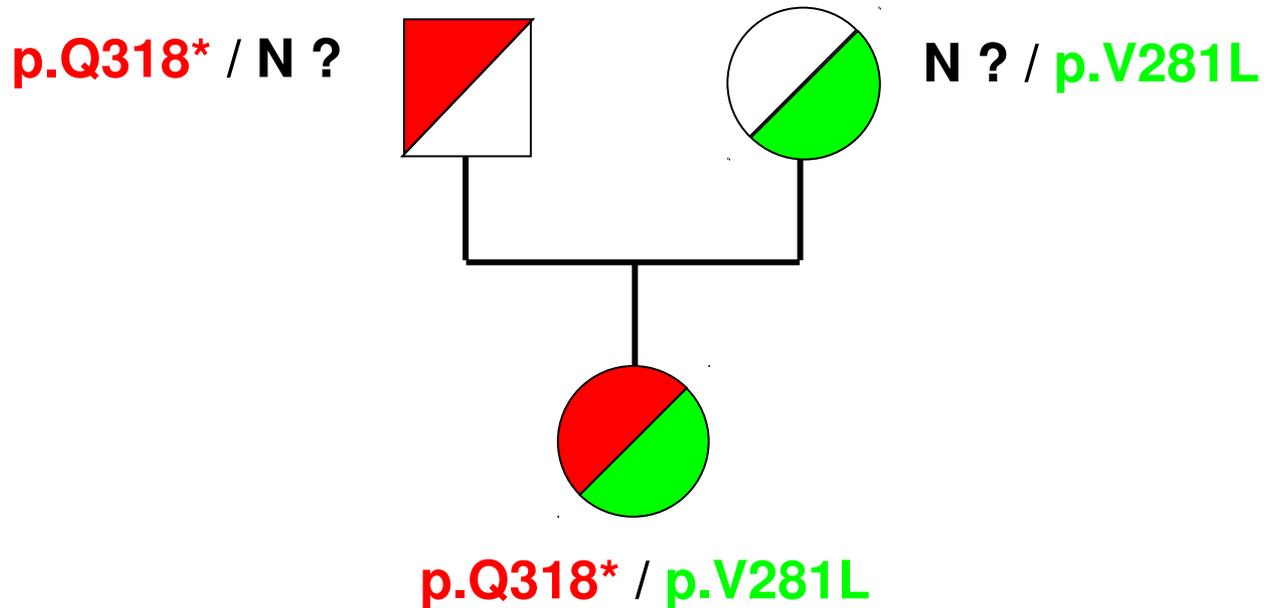
**Etude du gène *CYP21A2* = p.V281L / p.Q318\***

- **Forme non classique de déficit en 21OH**
- **Parents à prélever pour confirmation diagnostique**

**Traitement par Hydrocortisone (si avance ++ de l'âge osseux)**

**Traitement par Decapeptyl si puberté précoce**

# Conseil génétique : Cas 1



- Est-ce que les parents désirent d'autres enfants ?
- Si oui, exclure le risque de forme classique et mutation sévère sur l'autre allèle de la mère
- Séquençage complet du gène *CYP21A2* chez la mère
- Génotypage de la fratrie (même si mineurs)
- Génotypage des apparentés du père
- Dépistage du conjoint de la patiente à l'âge adulte

## FNC : Cas 2

Me S. consulte à 26 ans pour hirsutisme, troubles des règles et infertilité primaire depuis 18 mois

Dosages	Résultats	Valeurs normales
17 OHP (nmol/L)	9,7	0,3 – 3,0
Testostérone (nmol/L)	1,9	0.6 - 1,8
$\Delta$ 4-A (nmol/L)	27	2,8 – 6,3

- Etude du gène *CYP21A2* = p.V281L / IVS2-13A/C>G
  - Forme non classique de déficit en 21OH
  - Parents à prélever pour confirmation diagnostique
  - Génotypage du conjoint (séquençage et MLPA) : normal
- Traitement par Hydrocortisone pour favoriser la mise en route d'une grossesse, maintien 1<sup>er</sup> trimestre grossesse
- Génotypage des apparentés à risque mutation IVS2-13A/C>G

## FNC : Cas 3

Melle G. consulte à 16 ans pour aménorrhée primaire et hirsutisme

Dosages	Résultats	Valeurs normales
Estradiol (pmol/L)	< 0,10	103 - 283
LH (UI/L)	41,9	1,1 - 11,6
FSH (UI/L)	60,5	3 - 14,4
Testostérone (nmol/L)	7,5	0.6-1,8
$\Delta$ 4-A (nmol/L)	53,3	2,8 – 6,3
SHBG (nmol/l)	67.5	24.6-122
17 OHP (nmol/L)	240,0	0,4 – 4,5

- Imagerie pelvienne = agénésie ovarienne, hypoplasie utérine  
Caryotype 46, XX

- Insuffisance ovarienne prématurée

- Etude du gène *CYP21A2* = p.P30L / IVS2-13A/C>G

- Forme non classique de déficit en 21OH

- Parents prélevés pour confirmer génotype

- Conseil génétique chez les apparentés à risque

## FNC : Cas 4

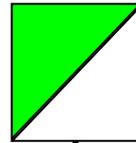
**Melle H. présente un SOPK diagnostiqué à 16 ans face à des cycles irréguliers : pas de preuve diagnostique**  
**Face à l'hyperandrogénie biologique : test Synacthène® à 18A**

Dosages	Résultats	Valeurs normales
Pic de 17 OHP (nmol/L)	<b>94</b>	< 36
Testostérone (nmol/L)	2,8	0.6-1,8
$\Delta$ 4-A (nmol/L)	9,10	2,8 – 6,3

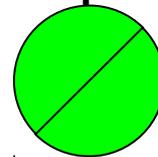
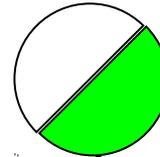
- **Pas d'étude du gène CYP21A2, mise sous HC 20 mg/J**
- **Démarrage d'une 1<sup>ère</sup> grossesse : naissance garçon sain**
- **Démarrage d'une 2<sup>ème</sup> grossesse et consultation à 17 SA !**
- **Etude du gène CYP21A2 en urgence (séquençage)**
- **Génotype = p.P30L / p.V281L**
- **Pas de dépistage du conjoint ni de prise en charge prénatale**
- **Arrêt de l'Hydrocortisone**

# Conseil génétique : Cas 4

p.P30L / N



N / p.V281L



p.P30L / p.V281L

- Etude des parents : génotypage ciblé
- Pas d'étude des apparentés

## FNC : Cas 5

Mme L. consulte à 38 ans pour hirsutisme, spanioménorrhée et infertilité

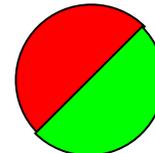
Dosages	Résultats	Valeurs normales
17 OHP (nmol/L)	<b>30</b>	0.3 – 4,5
Testostérone (nmol/L)	<b>1,5</b>	0.6-1,8
$\Delta$ 4-A (nmol/L)	<b>13,5</b>	2,8 – 6,3

- Etude du gène *CYP21A2* = p.P453S / p.Q318\*
  - Forme non classique de déficit en 21OH
  - Parents prélevés pour confirmation diagnostique
- Mise sous Hydrocortisone 15 mg/jour avant l'étude du conjoint : démarrage d'une grossesse...

## Cas 5 : Dépistage du conjoint

- Prélèvement en urgence du conjoint pour génotypage : séquençage de tout le gène *CYP21A2* en 3 jours

IVS2-13A/C>G / N



p.Q318\* / p.P453S



- Risque de FC =  $\frac{1}{4}$ , risque de fille virilisée =  $\frac{1}{8}$
- Prise en charge prénatale

## FNC : Cas 6

**Melle D. consulte à 26 ans pour hirsutisme et asthénie, surpoids  
Débute une grossesse malgré l'hyperandrogénie**

Dosages	Résultats	Valeurs normales
17 OHP (nmol/L)	<b>27</b>	0.40 – 3,3
ACTH (ng/ml)	31,7	10 – 40
Testostérone (nmol/L)	9,1	0.6-1,8
$\Delta$ 4-A (nmol/L)	26,9	2,8 – 6,3

- **Suspicion forme non classique face au taux de 17OHP :  
Hydrocortisone puis Dexaméthasone !**
- **Etude du gène CYP21A2 = Aucune mutation**
  - **Forme non classique de déficit en 21OH écartée**
  - **Arrêt des glucocorticoïdes**
- **Face à l'urgence de la grossesse, le conjoint a été d'emblée exploré !**

# FNC : Cas 7

**Melle B. prise en charge en PMA à 31 ans pour infertilité primaire avec spanioménorrhée ancienne, pas d'hirsutisme**

Dosages	Résultats	Valeurs normales
17 OHP (nmol/L)	<b>11,3</b>	0.3 - 3,5
Testostérone (nmol/L)	1,8	0.6 - 1,8

**Prolactine normale**

**Pas de dosage de Progesterone ni de  $\Delta$ 4-androstenedione**

**Pas de Synacthène® disponible**

➤ **Etude du gène CYP21A2 = Aucune mutation**

Dosages	Résultats	Valeurs normales
LH (mUI/ml)	6,57	3,1 – 6,9
FSH (mUI/ml)	4,13	3,9 – 7,2

**Echographie pelvienne : 22 follicules antraux/ovaire**

➤ **Diagnostic retenu : SOPK**

# Génétique et diagnostic des HCS

---

- **Diagnostic de la forme classique**
  - Les données clinico-biologiques suffisent mais la génétique classe entre SW et SV
  - Faux-positifs du dépistage néonatal prématurés, seuil limite, garçons, FNC
    - **Génotypage complet en urgence permet de trancher**
- **Diagnostic de la FNC**
  - 17OHP lors du test au Synacthène® : Seuil à 36 nmol/L (12 ng/ml)
  - 17OHP de base : seuil à 6 nmol/L
    - Confirmation par la génétique dans 15 % des cas pour un taux de 17OHP entre 6 et 18 nmol/L....
    - Réaliser un bilan complet pour éliminer au diagnostic
- **Etudes familiales, dépistage des conjoints**
  - **Buts**
    - Confirmer voire affiner la sévérité du déficit enzymatique
    - Proposer un conseil génétique fiable

## Membres du Laboratoire

(Génétique)

Pr Yves MOREL

Dr Véronique TARDY-GUIDOLLET

Dr Rita MENASSA

Claude BERZOVINI

Audrey FAVRE

Diane GANDIN

Muriel MANIGAND

(Hormonologie)

Pr Yves MOREL

Dr Ingrid PLOTTON

Marie-Pierre MONNERET

Chantal RIGAUD

## Cliniciens

Endocrinopédiatres

Endocrinologues

Gynécologues

Obstétriciens

Génétiens

## Familles

## Association Surrénale

Claudine COLIN

# FNC : Cas 8

**Mme T. consulte à 33 ans pour hirsutisme**

Dosages	Résultats	Valeurs normales
17 OHP (nmol/L)	<b>9,9</b>	0.3 – 3,3
ACTH (pg/ml)	30	10-40
$\Delta$ 4-A (nmol/L)	13,2	2,8 – 6,3
Testostérone (nmol/L)	5,4	0.6 - 1,8

- **Etude du gène *CYP21A2* = Large lésion à l'état hétérozygote**
  - **Forme non classique de déficit en 21OH écartée**
  - **Contrôle sur 2<sup>ème</sup> prélèvement de la lésion sévère**
  - **Etude des parents pour poursuivre l'enquête familiale**
  - **Génotypage du conjoint**

## FNC : Cas 9

**Melle F. consulte à 22 ans pour oligospanioménorrhée, pas d'hirsutisme**

Dosages	Résultats	Valeurs normales
17 OHP (nmol/L)	<b>17,5</b>	< 3,3
Testostérone (nmol/L)	5,8	0.6-1,8
LH (mUI/ml)	5,3	3,1 – 6,9
FSH (mUI/ml)	6,3	3,9 – 7,2

**Echographie pelvienne : 40 follicules antraux /ovaire**

➤ **Diagnostic retenu : SOPK**

**Face au taux de 17OHP, l'étude du gène *CYP21A2* est demandée**

➤ **Aucune mutation**

➤ **Conseil génétique rassurant**