



**HAL**  
open science

# Profil d'expression de protéines spécifiques au cours du développement de la surrénale humaine et applications à la pathologie (hypoplasie surrénale congénitale)

Koué Folligan

► **To cite this version:**

Koué Folligan. Profil d'expression de protéines spécifiques au cours du développement de la surrénale humaine et applications à la pathologie (hypoplasie surrénale congénitale). Médecine humaine et pathologie. Université Claude Bernard - Lyon I, 2010. Français. NNT : 2010LYO10185 . tel-00720203

**HAL Id: tel-00720203**

**<https://theses.hal.science/tel-00720203>**

Submitted on 24 Jul 2012

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

N° d'ordre : **185-2010**

Année 2009- 2010

THESE DE L'UNIVERSITE DE LYON

Délivrée par

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON I

ECOLE DOCTORALE NEUROSCIENCES ET COGNITION

DIPLOME DE DOCTORAT

(Arrêté du 7 août 2006)

Thèse soutenue publiquement le 08 octobre 2010

Par

**Koué FOLLIGAN**

**PROFIL D'EXPRESSION DE PROTEINES SPECIFIQUES AU COURS DU  
DEVELOPPEMENT DE LA SURRENALE HUMAINE ET APPLICATIONS A LA  
PATHOLOGIE (HYPOPLASIE SURRENALE CONGENITALE)**

JURY

Pr Martin CATALA  
Pr Dominique GAILLARD  
Pr Damien SANLAVILLE  
Pr Jacqueline TROUILLAS  
Pr Yves MOREL  
Dr Raymonde BOUVIER

Rapporteur  
Rapporteur  
Examineur  
Directeur  
Co-Directeur  
Invitée

**PROFIL D'EXPRESSION DE PROTEINES SPECIFIQUES AU  
COURS DU DEVELOPPEMENT DE LA SURRENALE  
HUMAINE ET APPLICATIONS A LA PATHOLOGIE  
(HYPOPLASIE SURRENALE CONGENITALE)**

**A Mme le Professeur Jacqueline TROUILLAS**

Merci pour votre confiance, votre engagement, votre rigueur scientifique, votre enthousiasme, votre gentillesse, votre soutien et vos encouragements tout au long de ce travail que vous avez initié et encadré. Nous avons suffisamment appris de vous. Merci pour vos qualités humaines et professionnelles. Merci de nous avoir transmis les connaissances en matière de recherche scientifique et de pédagogie. Permettez-nous de vous exprimer toute notre gratitude, toute notre reconnaissance et notre plus profond respect.

**A Mr le Professeur Yves MOREL**

Merci d'avoir accepté de codiriger cette thèse. Merci pour vos précieux conseils, votre rigueur scientifique et votre disponibilité. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de notre profonde reconnaissance et de notre respect

**A Mr le Professeur Martin CATALA et Mme le Professeur Dominique GAILLARD**

Merci d'avoir accepté la lourde charge de rapporteur et de nous avoir donné des conseils judicieux. Vous nous faites l'honneur de votre présence dans ce jury. Veuillez trouver ici le témoignage de notre profonde reconnaissance.

**A Mr le Professeur Damien SANLAVILLE**

Merci pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger notre thèse. Veuillez trouver ici l'expression de notre profonde reconnaissance.

**A Mme le Docteur Raymonde BOUVIER**

Nous sommes arrivés en France pour la poursuite de nos études médicales grâce à vous. Merci de nous avoir guidés en Fœtopathologie et de nous avoir accompagnés dans cette thèse. Merci pour votre amour pour le travail et votre rigueur scientifique. Nous vous assurons de notre profonde gratitude.

**A Mr le Professeur Didier RABINEAU**

Nous avons connu Mme le Professeur Jacqueline TROUILLAS grâce à vous. Merci pour ce que vous avez fait et vous faites pour la santé au Togo. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de notre gratitude et notre profond respect.

**A Mr le Professeur Sopho Bouraïma BOUKARI**

Plus qu'un Maître, vous êtes pour nous un père. Merci pour tout ce que vous avez fait et vous faites pour l'évolution et le rayonnement des connaissances médicales au Togo. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de notre profonde reconnaissance.

**A Claire**

Pour le bonheur que tu m'apporte tous les jours.

**A Bénédiction et Elohicha**

Pour votre joie de vivre et le plaisir de vous voir grandir.

**Aux familles FOLLIGAN, OURO-AKONDO et TCHANGAI**

Pour le soutien et les encouragements.

**A tous ceux qui nous ont aidés dans la réalisation de ce travail :**

A Mr le Professeur Jean Yves SCOAZEC et tout le Personnel du Laboratoire Central d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques de l'Hôpital Edouard Herriot, Lyon

A Mme le Professeur Françoise THIVOLET-BEJUI et tout le Personnel du Centre de Pathologie Est, Lyon

A Mme le Docteur Annie BUENERD

A Pascale, Carole et Patricia du Laboratoire d'Histologie Embryologie Moléculaires de la Faculté de Médecine Lyon RTH-Laennec, Lyon

Nos sincères remerciements.

**A ceux qui nous ont apporté aide financière et logistique :**

Au Service de Coopération de d'Action Culturelle (SCAC) de l'Ambassade de France au Togo, en particulier à Mr Frédéric MERLET, Mme Martine CONNOLLY et Mme Isabelle BEAUMADIER.

A toute la Délégation Régionale de l'EGIDE- Lyon, en particulier à Mme Martine GIRARD.

A Mr le Professeur Koffi N'DAKENA, Doyen de la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de l'Université de Lomé (Togo) et son personnel.

A Mr le Professeur Ayikoé AYITE, Directeur de la Direction de l'Information des Relations Extérieures et de la Coopération (DIRECOOP) de l'Université de Lomé (Togo).

Nos sincères remerciements et notre profonde gratitude.

**Et A tous nos ami(e)s**

Pour le plaisir, les joies et les peines partagés tous les jours.

## PLAN

	PAGES
<b>LISTE DES ABREVIATIONS</b>	6
<b>LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES</b>	8
<b>RESUME</b>	9
<b>PREAMBULE</b>	11
<b>INTRODUCTION</b>	13
I – RAPPEL SUR L’HISTOPHYSIOLOGIE DE LA SURRENALE ADULTE	14
II – DEVELOPPEMENT DE LA SURRENALE HUMAINE	15
II – 1 – Morphogenèse, histogenèse et sécrétion	15
II – 2 – Protéines spécifiques impliquées dans le développement de la surrénale ou communes au développement de la gonade et de l’hypophyse	17
II – 3 – Régulation hypothalamo-hypophysaire du développement de la surrénale	23
III – LES HYPOPLASIES SURRENALES CONGENITALES	24
<b>MATERIEL, PATIENTS ET METHODES</b>	28
I – Cadre d’étude	29
II – Matériel, patients et méthodes	29
II – 1 – Matériel et méthodes pour l’étude du développement normal des surrénales	29
II – 2 – Patients et méthodes pour l’étude des cas d’hypoplasie congénitale des surrénales	32
<b>RESULTATS</b>	37
I – Etude morphofonctionnelle et moléculaire de la surrénale fœtale normale	38
I – 1 – Corticosurrénale	38
I – 2 – Médullosurrénale	41
II – Les 3 cas d’hypoplasie congénitale des surrénales	45
II – 1 – L’hypoplasie congénitale des surrénales de type anencéphalique	45
II – 2 – L’hypoplasie congénitale des surrénales avec ambiguïté sexuelle et anomalies de la différenciation gonadique et hypophysaire	46
<b>DISCUSSION</b>	57
I – Etude morphofonctionnelle et moléculaire de la surrénale fœtale normale	58
II – Les trois cas d’hypoplasie congénitale des surrénales	60
<b>CONCLUSION</b>	62
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	64
<b>ANNEXES</b>	74

## LISTE DES ABREVIATIONS

ACTH : Adrenocorticotropic hormone  
 AMH: Anti-Müllerian hormone  
 AT1: Angiotensin II type 1 receptor  
 AT2: Angiotensin II type 2 receptor  
 ATR-x (XH2): Alpha-thalassemia/mental retardation syndrome X-linked.  
 $\alpha$ SU: Alfa sous-unité  
 BMP: Bone morphogenetic protein  
 $\beta$ HCG :  $\beta$  Human chorionic gonadotropin  
 3 $\beta$ -HSD : 3  $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase  
 bFGF: Basic Fibroblast Growth Factor  
 $\beta$ TGF:  $\beta$ Transforming Growth Factor  
 CgA: Chromogranine A  
 CITED2 : CBP/p300-interacting transactivator, with Glu/Asp-rich C-terminal domain, 2  
 DAX-1: Dosage sensitive sex reversal, Adrenal hypoplasia congenita, critical region of the X chromosome, gene 1  
 DHEA: Dehydroepiandrosterone  
 DHEA-S: Dehydroepiandrosterone sulfate  
 DHH: Desert hedgehog  
 EGF: Epidermal Growth Factor  
 EMX2: Homolog of empty spiracles homeobox gene 2  
 $\beta$ FSH: Follicle-stimulating hormone  
 GH: Growth hormone  
 GnRH: Growth releasing hormone  
 HE: Hemalum Eosine  
 IGFII: Insulin-like Growth Factor type II  
 IMAGEe: Intra-uterin growth retardation, metaphysal dysplasia, adrenal hypoplasia congenita, genital anomalies  
 LH : Luteinizing hormone  
 LHRH : Luteinizing hormone releasing hormone  
 LHX 9 : LIM homeobox gene 9  
 NCAM : Neural cell adhesion molecule  
 NGF: Nerve growth factor  
 Nm : non mentionné (dans le tableau VI)  
 NN : nouveau-né (dans le tableau VI)  
 PCR: Polymerase reaction chain  
 PIT-1: Pituitary transcription factor 1  
 PITX-1: Pituitary homeobox 1  
 POMC: Pro-opio-melanocortin  
 PRL: Cellules à prolactine ou lactotropes  
 PROP-1: Prophet of PIT-1  
 P450 c11B2 (CYP11B2): Aldosterone synthase  
 P450 c17 (CYP17): Cytochrome P450 17-hydroxylase  
 P450 c21 (CYP21): Cytochrome P450 21-hydroxylase  
 RCIU : Retard de croissance intra-utérin  
 RPX: Rathke's pouch homeobox  
 SA : Semaine d'aménorrhée  
 SD : Semaine de développement

SF-1 : Steroidogenic Factor 1  
SOX 2 : SRY Homeobox-like gene 2  
SOX 3 : SRY Homeobox-like gene 3  
SOX 5 : SRY Homeobox-like gene 5  
SOX 9 : SRY Homeobox-like gene 9  
SRY : Sex-determining region Y chromosome  
StAR: Steroidogenic acute regulator protein  
TPIT : Pituitary-restricted transcription factor  
TRH: Thyrotropic releasing hormone  
TSH: Thyrotropic stimulating hormone  
T3: Triiodothyronine  
WAGR : Tumeur de Wilms, Aniridie, anomalies Génito-urinaires et Retard mental  
WNT : Wingless-type  
WT-1: Wilms tumor associated gene 1



## LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

Tableau I : Les anticorps utilisés en immunocytochimie

Tableau II : Mises au point pour le séquençage automatique des produits PCR

Tableau III : Conditions d'amplification de la région contenant le microsatellite D10S1692

Tableau IV : Comparaison de la différenciation des cellules antéhypophysaires du cas n° 3 et d'un témoin de même âge.

Tableau V : Principaux caractères cliniques, pathologiques et génétiques des trois cas d'hypoplasie surrénale congénitale.

Tableau VI : Hypoplasie surrénale congénitale de type anencéphalique : revue de la littérature.

Figure 1 : Les différentes zones de la surrénale humaine adulte.

Figure 2 : Les principaux gènes impliqués dans le développement de la surrénale humaine

Figure 3 : Facteurs génétiques et hormonaux contrôlant la différenciation sexuelle.

Figure 4 : Relations entre les facteurs de transcription et les types cellulaires de l'hypophyse. (Reproduit d'après Pierre Bougnères [Médecine Clinique, Endocrinologie et Diabète 2002 ; 1 :32-33] avec autorisation

Figure 5 : Comparaison d'une surrénale normale avec les surrénales d'hypoplasie congénitale des surrénale de type cytomégalique et de type anencéphalique. Coloration HE. Obj 4.

Figure 6 : Comparaison d'une surrénale normale avec les surrénales d'hypoplasie congénitale des surrénale de type cytomégalique et de type anencéphalique. Coloration HE. Obj 10.

Figure 7 : Répartition selon l'âge des surrénales étudiées en Histologie standard

Figure 8 : Les différentes zones et les types cellulaires de la corticosurrénale à 15SD.

Figure 9 : Etude immunocytochimique de la différenciation cellulaire et de la stéroïdogénèse de la surrénale fœtale humaine.

Figure 10 : Etude immunocytochimique de la prolifération cellulaire de la surrénale fœtale humaine.

Figure 11 : Les types cellulaires de la médullosurrénale à 15SD

Figure 12 : Mise en place de la médullosurrénale à 15SD.

Figure 13 : Aspect microscopique de la surrénale du cas n° 1

Figure 14 : Comparaison d'une hypophyse normale à terme avec celle du cas n°1

Figure 15 : Aspect macroscopique et microscopique des surrénales du cas n° 3 comparées à des surrénales de même âge.

Figure 16 : Etude immunocytochimique de la prolifération et de la différenciation de la surrénale du cas n° 3

Figure 17 : Etude immunocytochimique de la stéroïdogénèse de la surrénale du cas n° 3

Figure 18 : Aspect macroscopique des organes génitaux internes du cas n° 3

Figure 19 : Aspect microscopique de la gonade du cas n° 3

Figure 20 : Aspect histologique de l'hypophyse du cas n° 3

Figure 21 : Immunocytochimie de l'hypophyse du cas n° 3 (1)

Figure 22 : Immunocytochimie de l'hypophyse du cas n° 3 (2)

# **RESUME**

L'embryologie de la surrénale humaine et la pathogénie de l'hypoplasie congénitale des surrénales sont mal connues et complexes. L'une pouvant expliquer l'autre, nous présentons, à partir de 119 fœtus humains normaux de 12 à 36 semaines de développement (SD), une étude cinétique histologique et moléculaire de la surrénale fœtale et nous décrivons 3 cas d'hypoplasie surrénalienne.

Après un rappel des mécanismes moléculaires connus, régulant ensemble l'embryologie surrénalienne, gonadique et hypophysaire et ceux de l'hypoplasie surrénale congénitale, nous présentons nos résultats.

Dans la corticosurrénale humaine fœtale normale, les cellules du cortex permanent prolifèrent et, dès la 12<sup>ème</sup> SD, expriment la NCAM, la 3 $\beta$ -HSD et la P450 c21. Elles ont la capacité de synthétiser des minéralocorticoïdes et/ou du cortisol. Les cellules du cortex fœtal ne prolifèrent pas et expriment ni la 3 $\beta$ -HSD, ni la NCAM. La médullosurrénale est formée par des neuroblastes immatures (CgA-, NCAM+) qui migrent et prolifèrent de la périphérie vers le centre de la glande, où ils se différencient en neuroblastes matures (CgA+).

Dans les deux cas d'hypoplasie surrénale de type anencéphalique, avec absence de mutation de *DAX-1* et de *SF-1*, la dysembryoplasie surrénalienne est probablement d'origine hypophysaire, par absence de cellules gonadotropes. Dans le 3<sup>ème</sup> cas, jamais décrit, associant un RCIU, une hypoplasie surrénalienne congénitale, une ambiguïté sexuelle, une absence de différenciation des cellules antéhypophysaires, l'absence de mutation de gènes connus (*DAX-1*, *SF-1*, *SRY*, *FGF9*, *SOX2*, *SOX3*, *SOX5* et *SOX9*) suggère l'existence de nouveaux gènes régulant la différenciation précoce de ces trois glandes endocrines.

# **PREAMBULE**

La surrénale humaine, composée de la corticosurrénale et de la médullosurrénale, est une glande endocrine, dont les sécrétions, en particulier corticosurrénaliennes, sont indispensables à la vie chez l'adulte et essentielles pour la maturation du fœtus et sa survie en période néonatale.

Si l'histologie et l'histophysiologie de la surrénale adulte humaine sont bien connues, ce n'est pas le cas pour son embryologie. Dans les manuels d'Histologie et d'Embryologie classiques, seules quelques lignes lui sont consacrées (Sadler, 2000). En effet la littérature sur la surrénale fœtale humaine est pauvre (Mesiano et al 1997 ; Morel et al. 2003). La plupart des études sont anciennes (Johannisson 1968 ; Sucheston et al 1968 ; Lanman 1961 ; Keene et al 1927) et concernent la corticosurrénale, celles sur la médullosurrénale sont plus encore rares (Diaz-Flores et al. 2008 ; Jozan et al. 2007 ; Zhou et al. 2006 ; Chan et al. 2005 ; Katsetos et al. 1998 ; Bocian et al. 1996 ; Molenaar et al. 1990 ; Poltorak et al 1990 ; Cooper et al. 1990 ; Lloyd et al 1985). Son origine à partir des crêtes neurales est admise par tous (Lanman 1961 ; Liggins et al. 1973 ; Mason et al. 1987 ; Mesiano et al 1997), mais sa mise en place au cours du développement est peu connue. Paradoxalement les mécanismes moléculaires et génétiques impliqués dans cette embryologie sont bien connus grâce aux modèles animaux.

La connaissance de l'embryologie normale de la surrénale et de ses mécanismes moléculaires permet de comprendre certaines pathologies surrénaliennes d'origine embryonnaire, comme l'hypoplasie congénitale des surrénales. Il en existe deux types : l'hypoplasie de type cytomégalique et l'hypoplasie de type anencéphalique. L'hypoplasie surrénalienne congénitale de type cytomégalique, maladie héréditaire récessive liée au chromosome X, est due à une mutation du gène *DAX-1* (Dosage sensitive sex reversal, Adrenal hypoplasia congenita, critical region of the X chromosome, gene 1) (Muscatelli et al. 1994 ; Zanaria et al. 1994). L'hypoplasie de type anencéphalique est beaucoup plus rare et d'origine encore inconnue. Certains gènes, comme *DAX-1* et *SF-1* (Steroidogenic Factor 1), interviennent dans le développement des surrénales, des gonades et dans la différenciation hypothalamo-hypophysaire. Une anomalie de certains gènes peut être impliquée dans des syndromes complexes, comme le syndrome IMAGEe (Intra-uterin growth retardation, metaphysal dysplasia, adrenal hypoplasia congenita, genital anomalies).

Nous avons étudié, avec les techniques histologiques modernes et de biologie moléculaire, 3 cas d'hypoplasie congénitale des surrénales, associant des anomalies hypophysaires et gonadiques, pour lesquels l'étude des gènes connus s'est avérée normale. Il s'agit de 2 cas d'hypoplasie congénitale des surrénales de type anencéphalique, avec anomalies hypophysaires et d'un cas non encore décrit d'hypoplasie congénitale des surrénales, avec ambiguïté sexuelle et anomalies de différenciation gonadique et hypophysaire. L'étude de ces pathologies complexes suggère l'existence de nouveaux gènes et/ou de mécanismes encore inconnus dans l'embryologie normale surrénalienne, gonadique et hypophysaire.

Pour mieux comprendre ces pathologies, nous avons auparavant étudié, chez 119 fœtus humains normaux, âgés de 12 semaines de développement (SD) à 36SD, l'histologie morphofonctionnelle de la surrénale, la migration, la prolifération et la différenciation des cellules corticosurrénaliennes et médullosurrénaliennes, avec des techniques immunocytochimiques et moléculaires modernes.

# **INTRODUCTION**

## I – Rappels sur l’histophysiologie de la surrénale humaine adulte

Les surrénales sont deux organes, de forme différente à droite et à gauche, situés au pôle supérieur de chaque rein, enrobés dans du tissu adipeux et en position rétro-péritonéale. Elles sont aplaties en forme de croissant et mesurent chez l’adulte 4 à 6 cm de long, 1 à 2 cm de large et 4 à 6 mm d’épaisseur. Leur poids est d’environ 8g pour les deux. L’organisation morphologique générale est celle d’une glande endocrine typique. Les surrénales sont formées de deux régions morphologiquement et fonctionnellement différentes : une périphérique jaunâtre appelée corticosurrénale ou cortex et l’autre centrale brunâtre appelée médullosurrénale ou médullaire.

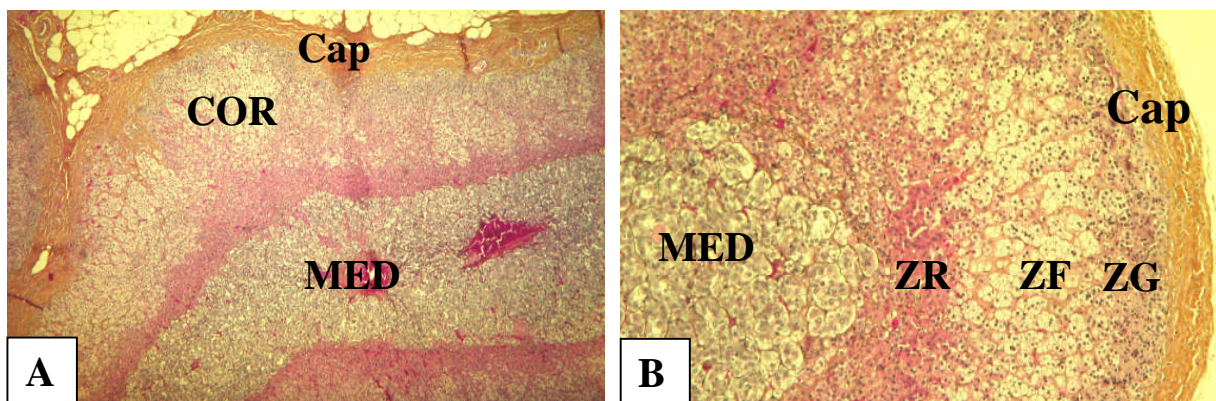
### – Structure (Figure 1)

Chaque surrénale est enveloppée d’une capsule de tissu conjonctif dense qui envoie des cloisons ou travées à l’intérieur du parenchyme glandulaire.

La corticosurrénale est formée de trois zones concentriques différentes par l’agencement de leurs cordons cellulaires :

- la zone glomérulée est la plus externe (15% de l’épaisseur du cortex). Ses cordons cellulaires sont disposés en arc de cercle ou en amas arrondis,
- la zone fasciculée (78% de l’épaisseur du cortex) est constituée de travées cellulaires épaisses d’une à deux cellules, grossièrement parallèles entre elles, radiaires, perpendiculaires à la surface de la glande,
- la zone réticulée, la plus interne (7% de l’épaisseur du cortex) est formée de cordons cellulaires s’anastomosant pour former un réseau sans orientation particulière. Les cellules sont plus petites que celles des autres zones.

La médullosurrénale est mal délimitée de la corticosurrénale ; elle est formée de cellules volumineuses en cordons ou en amas séparés par un tissu conjonctif richement vascularisé.



**Figure 1 : Les différentes zones de la surrénale humaine adulte. (Images personnelles)**

*A – Notez de l’extérieur vers l’intérieur : la capsule conjonctive (Cap), la corticosurrénale (COR) la médullosurrénale (MED). Coloration HE. Obj 4.*

*B – Notez de l’extérieur vers l’intérieur : la capsule conjonctive (Cap), la zone glomérulée (ZG), la zone fasciculée (ZF), la zone réticulée (ZR) et la médullosurrénale (MED). Coloration HE. Obj10.*

### – Histophysiologie

Trois groupes d'hormones stéroïdes sont sécrétées par la corticosurrénale : les minéralocorticoïdes, les glucocorticoïdes et les androgènes.

- La zone glomérulée synthétise les minéralocorticoïdes, essentiellement l'aldostérone. La sécrétion de l'aldostérone est indépendante de l'ACTH hypophysaire dans les conditions physiologiques normales.
- Les zones fasciculée et réticulée sont sous la dépendance hypophysaire et élaborent les glucocorticoïdes et les androgènes.

Les cellules de la médullosurrénale synthétisent et stockent leurs hormones qu'elles ne libèrent qu'en petite quantité. Les hormones sécrétées sont les catécholamines: l'adrénaline et la noradrénaline. La sécrétion des catécholamines est sous la dépendance du système nerveux sympathique.

## II – Le développement de la surrénale humaine

### II – 1 – Morphogenèse, Histogenèse et sécrétion

La surrénale humaine a une double origine embryologique : mésoblastique et neurectoblastique.

**La corticosurrénale** est d'origine mésoblastique. Les premières cellules sont identifiables au niveau de l'épithélium coelomique dès la 4<sup>ème</sup> SD, sous forme d'un épaississement situé entre la racine mésentérique de l'intestin primitif en dedans, la crête génitale à l'extérieur et en avant du corps de Wolff (Mesiano et al 1997).

A la 5<sup>ème</sup> SD, ces cellules migrent et prolifèrent en cordons à l'extrémité de la partie craniale du mésonéphros. Elles forment, de part et d'autre de l'aorte dorsale, une glande arrondie, constituée de grandes cellules. Entre la 5<sup>ème</sup> et la 6<sup>ème</sup> SD apparaissent en périphérie des cellules mésoblastiques plus petites qui se disposent autour du cortex fœtal pour former une couche plus superficielle (Hatano et al. 1996 ; Jirasek 1980). Ainsi s'individualisent les deux zones de la corticosurrénale fœtale : *le cortex permanent et le cortex fœtal*. L'augmentation de l'épaisseur du cortex fœtal serait liée à la prolifération d'une part, à la migration et à la différenciation des cellules de la zone permanente d'autre part : c'est la théorie migratoire, décrite pour la première fois par Keene (Keene et al. 1927). Selon la théorie zonale, l'augmentation de l'épaisseur du cortex fœtal serait due à une prolifération cellulaire de ce cortex (Mesiano et al 1997).

Sur la base d'études ultrastructurales et biochimiques, certains auteurs décrivent, entre la zone permanente et la zone fœtale, une troisième zone dont les cellules ont des caractéristiques intermédiaires (Johannisson 1968). Cette zone, appelée *zone de transition*, apparaît au deuxième trimestre (Johannisson 1968). Ces cellules ont l'équipement enzymatique pour synthétiser du cortisol et seraient analogues aux cellules de la zone fasciculée de la surrénale adulte.

Alors que le cortex permanent et de transition se différencie, le cortex fœtal involue. Son involution commence avant la naissance au 5<sup>ème</sup> mois de la grossesse et se poursuit après la naissance. La nature de cette involution est apoptotique (Mesiano et al 1997 ; Spencer et al. 1999).

Selon Sucheston et Canon (Sucheston et al 1968), le développement de la surrénale se ferait en cinq phases : 1- condensation de l'épithélium coelomique (3-4<sup>ème</sup> SD) ; 2- prolifération et migration des cellules de l'épithélium coelomique (4-6<sup>ème</sup> SD) ; 3- différenciation morphologique de la corticosurrénale en deux couches (8-10<sup>ème</sup> SD) ; 4- diminution et disparition de la zone fœtale (3 premiers mois après la naissance), 5- établissement et stabilisation de la corticosurrénale adulte (pouvant aller jusqu'à 20 ans).



Pendant les trois premiers mois de la vie embryonnaire, la surrénale subit une hypertrophie considérable, puis sa croissance continue tout au long de la grossesse (Tanimura et al. 1971 ; Carr et al 1982 ; Langlois et al. 2002). Il existe une bonne corrélation entre le volume des surrénales et l'âge gestationnel à l'échographie (Chang et al. 2002 ; Ljubic et al. 2002 ; Goto et al. 2002 ; Pitynski et al. 1996 ; Pitynski et al. 1998).

Des études *in vitro* et *in vivo* ont montré que la surrénale fœtale est capable de produire des hormones stéroïdes avant la 10<sup>ème</sup> SD (Morel et al. 2003 ; Langlois et al. 2002). La production du DHEA-S débute vers la 8<sup>ème</sup> SD (Mesiano et al. 1993 ; Coulter et al. 1996 ; Narasaka et al. 2001 ; Coulter et al. 1998). L'origine de cette sécrétion serait le cortex fœtal qui possède toutes les enzymes de la stéroïdogénèse à l'exception de la 3  $\beta$ - hydroxystéroïde déshydrogénase (3 $\beta$ -HSD) (Mesiano et al. 1993 ; Coulter et al. 1996 ; Narasaka et al. 2001 ; Dupont et al. 1990)

La production du cortisol débute dès la 8<sup>ème</sup> SD et sa sécrétion est multipliée par 100 autour de la 12<sup>ème</sup> SD. Les cellules surrénales responsables de cette sécrétion pendant cette période ne sont pas connues. A partir du deuxième trimestre, sa production serait assurée par la zone de transition (Morel et al. 2003 ; Langlois et al. 2002 ; Mesiano et al. 1997)

Différentes études sur la répartition des enzymes de la corticostéroïdogénèse dans les surrénales fœtales humaines (Narasaka et al. 2001 ; Coulter et al. 1998) ont montré les résultats suivants :

Le cortex permanent exprime toutes les enzymes de la stéroïdogénèse à l'exception de la CYP17 (P450 C17). Il est donc capable de synthétiser des minéralocorticoïdes, en particulier l'aldostérone. Cette zone serait l'équivalent de la zone glomérulée de l'adulte.

La zone de transition exprime toutes les enzymes de la stéroïdogénèse, à l'exception de la P450 11 $\beta$ 2. Cette zone synthétise du cortisol, elle serait l'équivalent de la zone fasciculée de l'adulte.

La zone fœtale présente toutes les enzymes de la stéroïdogénèse, sauf la 3  $\beta$ - HSD. Elle est donc capable de synthétiser du DHEA et du DHEA-S. Cette zone serait l'équivalent de la zone réticulée de l'adulte.

L'origine des trois zones de la corticosurrénale adulte est encore discutée. Pour certains auteurs comme Chamoux et al, elles proviennent de la différenciation de la zone de transition (In (Mesiano et al. 1997). Pour d'autres auteurs comme Mesiano et al (Mesiano et al. 1997), Sucheston et al (Sucheston et al. 1968) et Spencer et al (Spencer et al. 1999), la zone permanente se différencie en zone glomérulée et la zone de transition en zone fasciculée de la corticosurrénale adulte. Quant à la zone réticulée, elle se différencierait après la naissance et son origine demeure inconnue.

**La médullosurrénale** est d'origine neurectoblastique. Elle dérive des cellules des crêtes neurales dorsolombaires qui migrent sous forme d'îlots neuroblastiques dans l'ébauche mésoblastique à partir de la 8<sup>ème</sup> SD et se regroupent autour de la veine centrale surrénales pour former la médullaire (Langlois et al. 2002 ; Mesiano et al. 1997).

La médullosurrénale se développe essentiellement après la naissance et au cours de la première année.

Les hormones sécrétées sont l'adrénaline et la noradrénaline ; mais chez le fœtus l'enzyme permettant la transformation de la noradrénaline en adrénaline est absente (Mesiano et al. 1997).

L'encapsulation de la surrénale et la vascularisation intraglandulaire apparaissent au 41<sup>ème</sup> jour de développement et sont similaires à celles de l'adulte (Goto et al. 2002).

## II – 2 – Protéines spécifiques impliquées dans le développement de la surrénale ou communes au développement de la gonade et de l'hypophyse

Les surrénales et les gonades humaines ont une même origine mésoblastique (Hatano et al. 1996) et une même période de différenciation. Les mécanismes moléculaires et génétiques impliqués dans leur développement sont communs pour certains et spécifiques pour d'autres.

### II – 2 – 1 – Les surrénales

La croissance de la surrénale, la régression du cortex fœtal et la différenciation du cortex permanent sont sous le contrôle de processus complexes comprenant des hormones et des facteurs génétiques.

#### Les facteurs de croissances

La croissance rapide des surrénales, surtout liée au développement du cortex fœtal, est sous la dépendance des facteurs placentaires stimulant la production locale de facteurs de croissance qui jouent un rôle clef (Mesiano et al. 1997 ; Feitge et al. 1991 ; Mesiano et al. 1991 ; Stankovic et al. 1994 ; Mesiano et al. 1996 ; Han 1996 ; Jaffe et al. 1998).

Les facteurs de croissance actuellement mis en évidence sont :

- Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF)
- Epidermal Growth Factor (EGF)
- Insulin-like Growth Factor, surtout de type 2 (IGFII)
- $\beta$ Transforming Growth Factor ( $\beta$ TGF) de type 1, 2 et 3

Ces facteurs stimulent *la prolifération cellulaire* en particulier des cellules du cortex permanent (Langlois et al. 2002 ; Spencer et al. 1999)

L'*apoptose* de la zone fœtale est régulée par l'Activine A, le TGF $\beta$  (Spencer et al. 1999 ; Jaffe et al. 1998) et les récepteurs de type 2 de l'angiotensine II (Chamoux et al. 1999 ; Breault et al. 1998).

Ces facteurs de croissance agissent par un processus autocrine et/ou paracrine (Langlois et al. 2002).

Certains facteurs de croissance, tels que IGF-I et IGF-II sont impliqués non seulement dans la prolifération cellulaire, mais aussi dans *la différenciation* des cellules surrénales (Han 1996 ; Birnbacher et al. 1998 ; L'Allemand et al. 1998).

Les composants du système rénine angiotensine jouent non seulement un rôle dans la régulation de la pression artérielle et l'homéostasie électrolytique, mais aussi dans la croissance et la différenciation des surrénales. Ce système apparaît très tôt vers 30 – 35 jours post-conceptionnel et les récepteurs AT-1 et AT-2 sont retrouvés au 24<sup>ème</sup> jour dans les surrénales, les reins, le cœur et le foie. L'angiotensine II jouerait un rôle dans la croissance et la différenciation de ces organes (Schutz et al. 1996 ; Breault et al. 1996).

Les récepteurs de la prolactine seraient impliqués très tôt dans la croissance et la différenciation des surrénales (Freemark et al. 1997 ; Freemark 2001) ainsi que certains composants de la matrice extracellulaire.

#### Les gènes et les facteurs de transcription (Figure 2)

Des gènes et les protéines dont ils déterminent la synthèse, jouent un rôle fondamental dans le développement des surrénales. Quatre gènes sont impliqués : *DAX-1*, *SF-1*, *WNT* et *WT-1*.

##### *SF-1*

Ce récepteur nucléaire est impliqué dans le développement et la différenciation des surrénales et des gonades et dans le maintien des fonctions stéroïdogéniques (Ikeda et al. 1996; Morohashi et al. 2000; Bakke et al. 2001; Achermann et al. 2002; Morel et al. 2003). Ce

facteur de transcription, dont le gène est localisé sur le chromosome 9, s'exprime parallèlement à *DAX-1*, mais plus précocement (Ikeda et al. 1996; Morohashi et al. 2000; Bakke et al. 2001; Achermann et al. 2002). C'est un récepteur orphelin. Son profil d'expression dans différentes cellules (la surrénale, la crête génitale, les cellules gonadotropes antéhypophysaires et l'hypothalamus ventromédian) et les anomalies observées chez les souris KO pour le gène *Sf-1* (Luo et al. 1994) confirment le rôle fondamental de *SF-1* dans le développement de la surrénale, de la gonade et de l'axe gonadotrope hypothalamo-hypophysaire. Une expression minimale de *SF-1* est nécessaire au développement de la surrénale. En effet des souris homozygotes KO pour *Sf-1* ont une agénésie des surrénales et des gonades et une altération de la fonction gonadotrope hypophysaire (Morel et al. 2006). Les souris hétérozygotes KO pour *Sf-1* ont de petites surrénales, mais une fonction subnormale grâce à une surexpression de *Star*. En revanche, elles présentent une insuffisance surrénale latente, révélée en cas de stress. L'homme semble beaucoup plus sensible à une diminution de *SF-1*. En effet, chez trois patients, une mutation isolée à l'état hétérozygote donne le même phénotype que chez la souris homozygote. Dans ces cas, l'haplo insuffisance (diminution maximale de 50% de la protéine SF-1 car l'allèle est muté) n'explique pas ce phénotype. Un effet dominant négatif se surajoute. Cette hypothèse a été récemment confirmée par deux mutations non sens C15X à l'état hétérozygote chez un patient présentant une dysgénésie gonadique, sans insuffisance surrénalienne (Mallet et al. 2004).

En pratique, la recherche d'une mutation du gène *SF-1* devrait être faite devant toute insuffisance surrénale associée à une dysgénésie gonadique, mais aussi devant une dysgénésie gonadique isolée, sans mutation de *SRY* (Morel et al. 2006).

#### ***DAX-1***

C'est l'hypoplasie congénitale des surrénales qui a permis la découverte du gène *DAX-1* (Muscatelli et al. 1994; Guo et al. 1995; Ikeda et al. 1996; Morel et al. 2003). L'implication du gène *DAX-1* dans le développement de la surrénale fœtale est certaine, car la mutation de ce gène est responsable de l'hypoplasie congénitale des surrénales.

Le gène *DAX-1* est localisé sur le bras court du chromosome X.

La protéine DAX-1 est apparentée à la famille des récepteurs nucléaires orphelins par sa partie C-terminale. L'expression de *DAX-1* est mise en évidence dès les premiers stades du développement du cortex surrénalien, des testicules (cellules de Leydig et cellules de Sertoli), des cellules de la thèque de la granulosa de l'ovaire, des cellules gonadotropes hypophysaires et de l'hypothalamus ventromédian (Muscatelli et al. 1994; Guo et al. 1995; Ikeda et al. 1996; Morel et al. 2003).

Actuellement, la plupart des mutations sont ponctuelles, entraînant un déplacement du cadre de lecture. Ces mutations testées in vitro lèvent l'inhibition induite par *DAX-1* sur l'effet stimulant de *SF-1* (Lalli et al. 1997). Son mécanisme d'action reste obscure. Ainsi, l'invalidation du gène *Dax-1* chez la souris transgénique n'entraîne pas d'insuffisance surrénalienne, mais laisse persister le cortex fœtal dans la surrénale adulte (Yu et al. 1998). Cela souligne des différences phénotypiques des effets de ce gène entre la souris et l'homme. En effet, aucun patient ayant des mutations du gène *DAX-1* ne présente d'anomalies testiculaires et d'ambiguïté sexuelle. Alors que chez des souris dont le gène *Dax-1* a été invalidé, il existe des anomalies du développement testiculaire précoce (cordons testiculaires désorganisés, discontinuité de la lame basale des tubes séminifères, diminution des cellules myoïdes périvitubulaires) (Meeks et al. 2003).

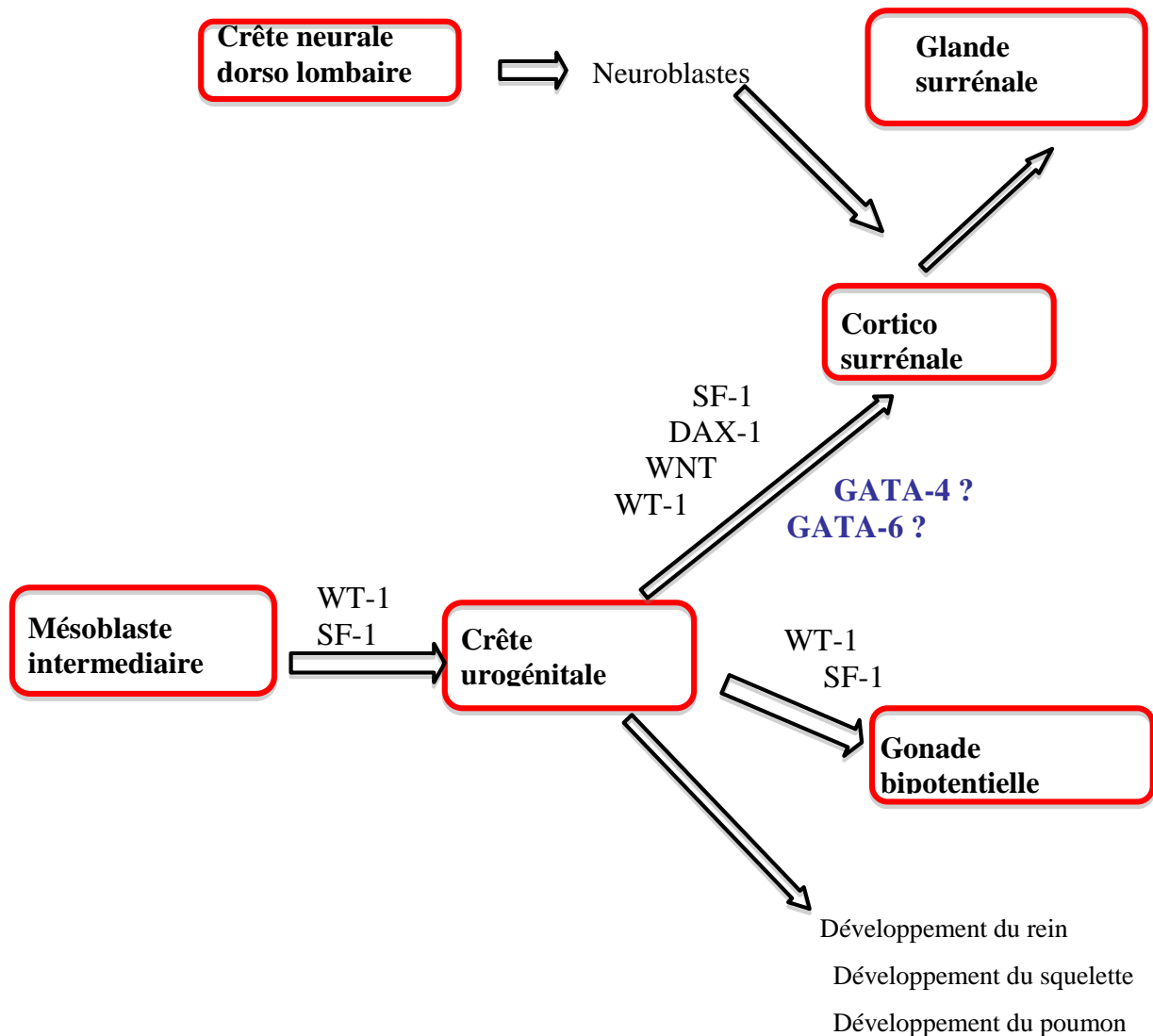
#### ***WT-1***

Certains membres de la famille des gènes *WNT*, dont le *WT-1*, ont été identifiés dans les surrénales, les poumons, les reins, le placenta et les capillaires (Lako et al. 1998; Eberhart et al. 2001).

*WT-1* est un gène qui a été isolé d'un cancer du rein chez l'enfant présentant le syndrome WAGR (tumeur de Wilms, Aniridie, anomalies Génito-urinaires et Retard mental) et considéré comme un oncogène responsable de cette tumeur. Des mutations ponctuelles ont été trouvées dans le syndrome de Denys-Drash associant une tumeur de Wilms, une glomérulonéphrite et des anomalies du développement gonadique et dans le syndrome de Frasier (phénotype féminin avec glomérulopathie, « streak » ovarien et caryotype 46,XY). *WT-1* est un gène suppresseur de 50 kb localisé dans la région p 13 du chromosome 11 et formé de 10 exons. *WT-1* apparaît indispensable à la formation de la gonade indifférenciée à partir du mésoblaste intermédiaire (Vidal et al. 2000). Il aurait également un rôle dans la formation des surrénales (Vidal et al 2000).

### Les facteurs GATA

Les protéines GATA sont des facteurs de transcription qui lient une séquence consensus d'ADN, (T/A)GATA(A/G), nommée GATA motif. Comme *GATA-4* est exprimé abondamment dans les cellules de sertoli et interagit avec *SF-1* pour réguler les gènes *AMH* et l'inhibine  $\alpha$ , il joue aussi un rôle sur le développement de la surrénale. *GATA-6* est exprimé dans toutes les zones de la surrénale fœtale et persiste chez l'adulte (Kiiveri et al. 2002).



**Figure 2 : Les principaux gènes impliqués dans le développement de la surrénale humaine (d'après Fujieda et al. 2005).**

## II – 2 – 2 – Les gonades (figure 3)

La différenciation sexuelle fœtale dépend d'un ensemble de signaux cellulaires et hormonaux qui interagissent entre eux dans un ordre encore mal défini, pour contribuer à la mise en place de l'appareil génital et l'établissement d'un phénotype masculin ou féminin (revue in Morel et al 2006 et figure 3). La différenciation sexuelle se déroule en quatre étapes :

1 - l'établissement du sexe génétique au moment de la fécondation. Le zygote formé est homogamétique (46,XX) de sexe génétique féminin ou hétérogamétique (46,XY) de sexe génétique masculin ;

2 - la mise en place du sexe gonadique qui représente la voie de différenciation des gonades. Elle englobe la détermination, puis la différenciation de la gonade bipotentielle en testicule ou en ovaire ;

3 - la production hormonale par le testicule différencié de deux hormones capitales pour la virilisation du fœtus masculin : l'hormone antimüllérienne (AMH) et la testostérone ;

4 - le développement du sexe phénotypique résulte en la différenciation des organes génitaux externes et du sinus urogénital. L'AMH va permettre la régression des canaux de Müller alors que la testostérone est responsable du développement des canaux de Wolff.

Les gonades mâles et femelles sont pratiquement identiques jusqu'à la 6<sup>ème</sup> SD. C'est la phase de la gonade présomptive ou indifférenciée ou bipotentielle. La formation de la gonade présomptive est sous la dépendance de deux gènes principaux : *WT-1* et *SF-1* (Hatano et al. 1996). La mutation de *WT-1* entraîne soit le syndrome de Denys-Drash soit le syndrome de Frasier (Barbaux et al. 1997 ; Little et al. 1997)

### **SRY**

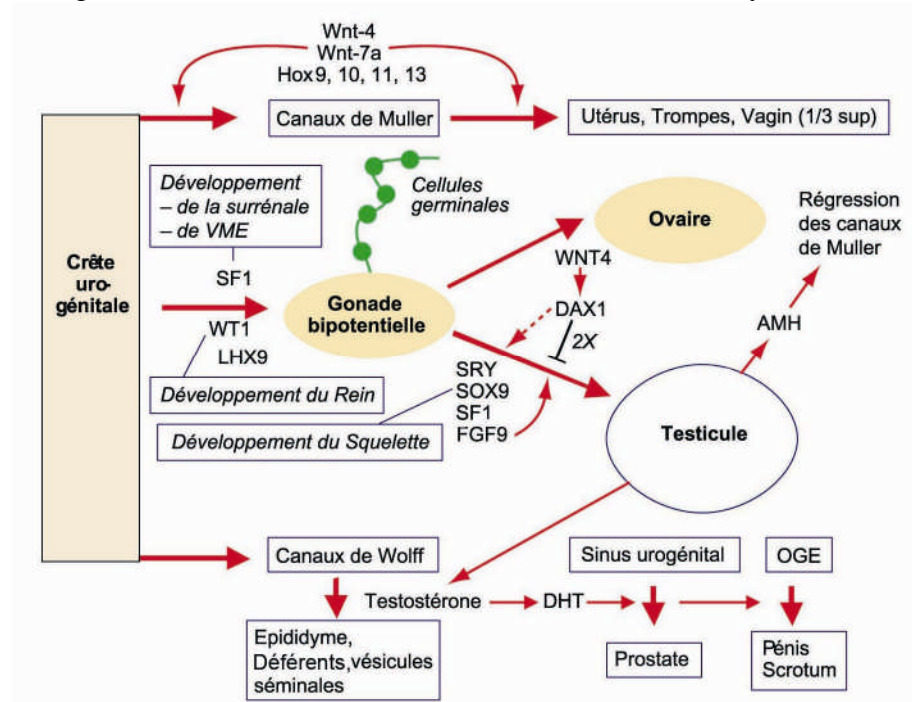
A partir de la 7<sup>ème</sup> SD, les gonades mâles et femelles vont suivre des voies divergentes. La formation du testicule est sous le contrôle génétique avec un rôle majeur du gène SRY, porté par le chromosome Y. Lorsqu'il est synthétisé dans les cordons sexuels de la gonade indifférenciée, le développement mâle est stimulé. S'il est absent ou déficient, le développement femelle se produit. Sous l'influence de ce facteur SRY, les cellules de la région médullaire des cordons sexuels primitifs commencent à se différencier en *cellules de Sertoli* alors que les cellules de la corticale de ces mêmes cordons dégénèrent. Lorsque les précurseurs des cellules de Sertoli commencent leur différenciation morphologique en réponse à la SRY, ils synthétisent une glycoprotéine, l'hormone antimüllérienne (AMH). L'AMH entraîne une régression des canaux de Müller chez le mâle entre la 8<sup>ème</sup> et la 10<sup>ème</sup> SD. L'existence de l'AMH a été postulée pour la première fois en 1916, du fait de l'existence des *veaux free-martins*. Ces veaux, de sexe femelle, sont jumeaux d'un veau mâle. Ils possèdent des ovaires, mais, comme leur jumeau mâle, ils ne possèdent pas les dérivés des canaux de Müller (utérus, col vagin supérieur) et, de ce fait, sont stériles. Il a été émis l'hypothèse qu'une substance (aujourd'hui connue sous le nom d'AMH) circule à partir du sang du mâle, dans celui du veau femelle et qu'elle est capable d'induire la régression des canaux de Muller. Occasionnellement, des sujets génétiquement mâles ont des canaux de Muller persistants. Chez ces sujets, des mutations des gènes récepteurs d'AMH ont été identifiées. La protéine SRY initie une cascade qui induit la différenciation des *cellules de Leydig*, sécrétrices de la testostérone. A ce stade précoce du développement, la sécrétion de la testostérone est contrôlée par l'hormone gonadotrophine chorionique (HCG) sécrétée par le placenta et plus tard par les gonadotrophines hypophysaires. En l'absence de testostérone et d'AMH, les canaux de Wolff dégénèrent et les canaux de Müller donnent les trompes utérines, l'utérus et la partie supérieure du vagin (Larsen et al. 2003).

### ***DAX-1, WNT, SOX-9 et SF-1***

De nombreux autres gènes autosomiques interviennent également. Il s'agit des gènes *SOX 9*, *SF-1* et *WNT-4* (Morel et al. 2006; Kim et al. 2006; Sekido et al. 2008). En l'absence du chromosome Y, la gonade bipotentielle se différencie en ovaire avec persistance des canaux de Müller. Deux gènes interviennent principalement : *DAX-1* et *WNT-4*.

Au total, tous les gènes responsables de la différenciation sexuelle sont loin d'être connus (Morel et al. 2006). Actuellement, en plus de *SRY*, *SOX9* et *SF-1*, on distingue deux groupes : les gènes dont les produits inhiberaient l'action de *SRY* soit directement (*DAX-1*) soit indirectement (*WNT-4*). Un ensemble d'autres gènes sont impliqués dans le déterminisme des gonades dont le rôle chez l'homme reste à préciser. Il s'agit essentiellement de :

- *FGF9*. Chez les souris, ce gène s'exprime dans la gonade XY. Il jouerait un rôle précoce dans la régulation mâle spécifique. Les souris *Fgf9*<sup>-/-</sup> ont un développement phénotypique féminin dans 80% des cas (Colvin et al. 2001).
- *GATA-4* (Morel et al. 2006).
- le gène *DHH* dont la mutation entraîne une dysgénésie gonadique partielle chez les sujets 46,XY associée à une neuropathie (Umehara et al. 2000).
- le gène *XH2/ATR-X* dont la mutation entraîne une dysgénésie gonadique aboutissant à une réversion sexuelle associée à un syndrome de retard mental lié à l'X
- les gènes *LIM1LHX9* (Birket al. 2000) et *EMX2* (Kastury et al. 1994).



**Figure 3 : Facteurs génétiques et hormonaux contrôlant la différenciation sexuelle (d'après Morel et al. 2006).**

### **II – 2 – 3 – L'hypophyse**

L'embryologie de l'hypophyse humaine est encore discutée (Dubois et al 1995 ; revue in (Catala et Trouillas 2006)). Nous ne présenterons ici que les facteurs impliqués dans la pathologie qui nous intéresse. Ces facteurs sont: des hormones, des facteurs de croissance et des facteurs de transcription.

- **Les hormones** sont la T3 et les glucocorticoïdes, les hormones d'origine hypothalamiques comme la LHRH, TRH, GnRH ainsi que les hormones hypophysaires (Catala et Trouillas 2006)

- Des travaux récents soulignent l'importance des *facteurs de croissance* comme le NGF, la BMP4 et le FGF8 (Burrows et al. 1999)
- Plusieurs *facteurs de transcription* identifiés au cours de ces dernières années interviennent dans le développement hypophysaire (revue in Burrows et al. 1999; Valette et al. 1999). Parmi les mieux caractérisés actuellement nous citerons : *PITX-1*, *TPIT*, *RPX*, *LHX-3*, *PIT-1*, *PROP-1* et *SF-1*. Chacun de ces facteurs présente, au cours du développement, un profil d'expression particulier qui a été étudié en détail chez la souris. Leur mécanisme d'action commence à être connu grâce à l'utilisation des souris transgéniques, mais il existe peu d'études chez l'homme.

*La famille PITX: Pituitary homeobox*

*PITX-1* est un facteur de transcription situé sur le bras long du chromosome 5 en 31-35. Son expression varie selon le type cellulaire hypophysaire. Elle est très élevée dans les cellules gonadotropes et thyrotropes, et faible dans les autres lignées. *PTX-2* s'exprime dans toutes les lignées cellulaires hypophysaires, sauf les corticotropes, et dans le maxillaire supérieur (Semina et al. 1996 ; Gage et al. 1997 ; Smith et al. 2000 ; Cox et al. 2002 ; Savage et al. 2003 ; Charles et al. 2005)

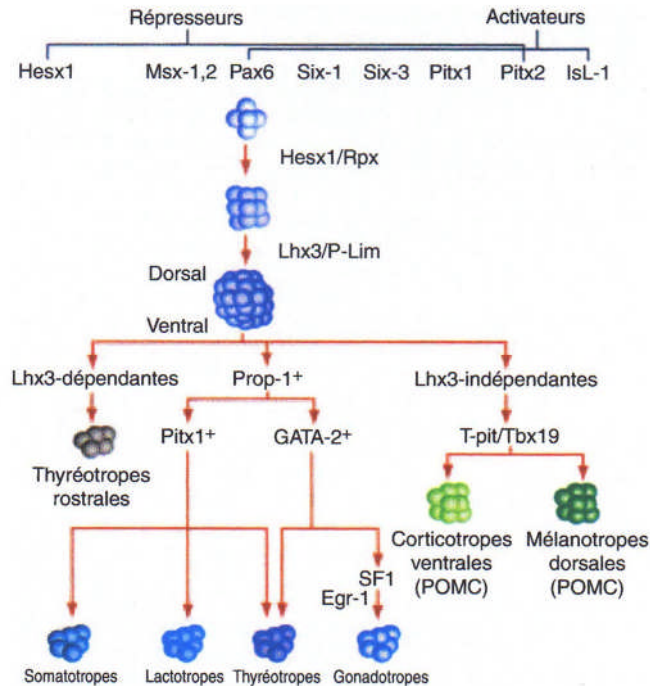
*TPIT* est un facteur de transcription spécifique des cellules corticotropes et mélanotropes. C'est un régulateur positif de la différenciation terminale de ces cellules mais aussi un régulateur négatif de la lignée gonadotrope par un blocage de l'activité de *SF-1* (Pulichino et al. 2004). *TPIT*, facteur de transcription à boîte T, a initialement été identifié comme partenaire transcriptionnel de *PITX-1*. C'est le cas de *SF-1* pour la différenciation des cellules gonadotropes et de *PIT-1* pour la différenciation des cellules thyrotropes et lactotropes (Poulin et al. 2000 ; Lamolet et al. 2001)

*RPX*, aussi dénommé *HESX-1*, a une expression transitoire et s'éteint quand se différencient les types cellulaires. Il a donc un rôle dans les étapes initiales de la détermination des lignées hypophysaires (Dattani et al. 1998 ; Sheng et al. 1999).

*LHX3* s'exprime tout le long du développement et à l'âge adulte dans l'hypophyse, l'encéphale, la moelle épinière et la glande pinéale. C'est un régulateur général des gènes spécifiques de l'hypophyse, sauf pour la différenciation des cellules corticotropes (Sheng et al. 1999 ; Catala 2003 ; Charles et al. 2005).

*PROP-1* est un facteur de transcription identifié récemment. Sa mutation chez la souris provoque une absence des cellules lactotropes, somatotropes et thyrotropes (Catala et al 2006). Chez l'homme, sa mutation est responsable de déficit hypophysaire multiple avec hypoplasie hypophysaire (Valette et al. 1999).

*PIT-1* s'exprime dans les cellules lactotropes, somatotropes et thyrotropes (Sheng et al. 1999 ; Poulin et al. 2000 ; Lamolet et al. 2001; Parker et al. 2002).



**Figure 4 : Relations entre les facteurs de transcription et les types cellulaires de l'hypophyse. (Reproduit d'après Pierre Bougnères [Médecine Clinique, Endocrinologie et Diabète 2002 ; 1 :32-33] avec autorisation**

### II – 3 – Régulation hypothalamo-hypophysaire du développement de la surrénale

#### *L'ACTH*

La sécrétion d'ACTH apparaît vers la 6<sup>ème</sup> SD et son taux est élevé vers la 12<sup>ème</sup> SD (Baker et al. 1975; Mesiano et al. 1997). Cependant la croissance des surrénales est indépendante de l'ACTH au premier trimestre de grossesse (Langlois et al. 2002). Ainsi les fœtus anencéphales avant la 15<sup>ème</sup> SD ont des surrénales normales et une antéhypophyse normale. Au-delà, on observe une hypoplasie corticosurrénalienne aux dépens du cortex fœtal qui est réduit à quelques couches en voie de dégénérescence ou totalement absent (Lanman 1961; Bocian-Sobkowska et al. 1997). L'ACTH stimulerait la croissance et la sécrétion du cortex fœtal après la 15<sup>ème</sup> SD (Lanman 1961; Johannisson 1979; Gray et al. 1980; Bocian-Sobkowska et al. 1997; Mesiano et al. 1997; Langlois et al. 2002). Cependant le faible rôle trophique de l'ACTH est renforcé par l'observation de la régression du cortex fœtal à la naissance, alors que la sécrétion d'ACTH persiste.

L'ACTH agit en stimulant les facteurs locaux tels que les éléments de la matrice extra cellulaire : fibronectine, laminine et collagène IV (Chamoux et al. 2001; Chamoux et al. 2002 (a) ; Chamoux et al. 2002 (b)) et les facteurs de croissance (Mesiano et al. 1997 ; Feitge et al. 1991 ; Mesiano et al. 1991 ; Stankovic et al. 1994 ; Mesiano et al.1996 ; Han 1996 ; Jaffe et al. 1998)

#### *LH et HCG*

La LH hypophysaire et l'HCG placentaire contrôlent également le développement surrénalien, la sécrétion et peut-être la régression du cortex fœtal. Le rôle de l'HCG dans le développement des surrénales a été proposé pour la première fois par Lanman en 1957 (Lanman 1957). De plus, dès 1956 Gardner suggéra que la persistance du cortex fœtal était



sous la dépendance d'une LH-like hormone hypophysaire (Gardner 1956). Cette hypothèse ancienne a été récemment confirmée. En effet chez des souris femelles transgéniques surexprimant la  $\beta$ -LH, on observe une hyperplasie des surrénales avec disparition du cortex fœtal, une hypersécrétion stéroïdienne et une augmentation des récepteurs à l'HCG (Kero et al. 2000). La disparition rapide du cortex fœtal après la naissance suggère que le placenta joue un rôle dans le développement et le maintien du cortex fœtal dans les 5 premiers mois de grossesse (Kero et al. 2000).

### III – LES HYPOPLASIES SURRENALES CONGENITALES

#### III – 1 – Avant la Biologie moléculaire

Il existe deux types d'insuffisance surrénalienne d'origine embryonnaire, mais de causes différentes (Kerenyi 1961) : l'hypoplasie congénitale des surrénales de type cytomégalique et l'hypoplasie congénitale des surrénales de type anencéphalique ou miniature. La distinction entre les deux types d'hypoplasie est faite sur les données morphologiques (**figure 5 et 6**). Des formes familiales ont été décrites (J. Bonhomme, thèse 1971).

#### L'hypoplasie congénitale des surrénales de type cytomégalique

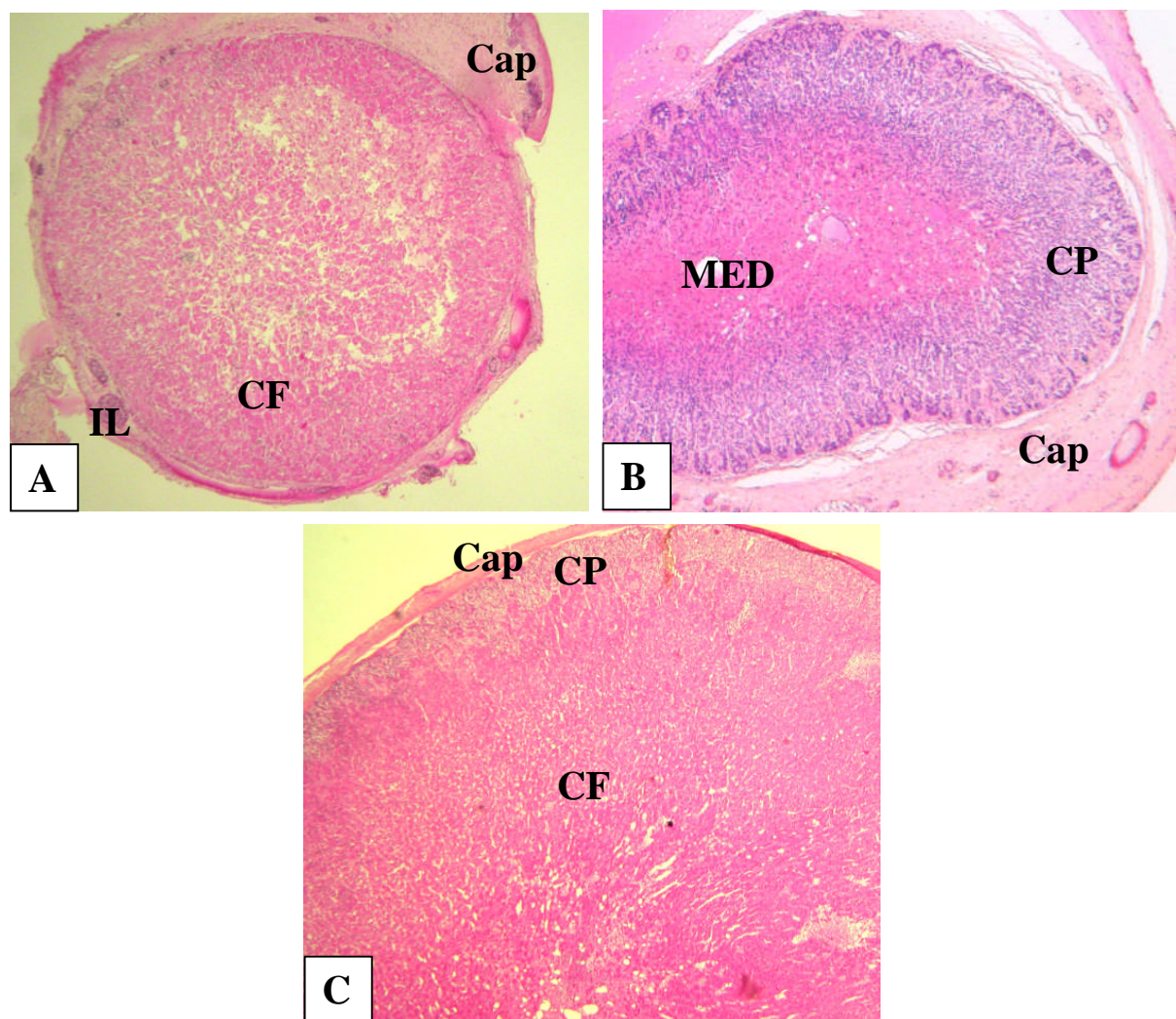
Dès 1927, Kampmeier avait souligné l'analogie entre les cellules fœtales et l'aspect de certaines surrénales hypoplasiques (Kampmeier 1927). La première observation a été décrite par Sikl en 1948 (Sikl 1948). Mitchell et Rhaney ont présenté les premiers cas familiaux (Mitchell et al. 1959). La transmission récessive liée au sexe a été évoquée pour la première fois en 1970 par Weiss et Mellinger (Weiss et al. 1970). Nous ne ferons pas une étude exhaustive de la bibliographie qui sortirait du cadre de cette thèse. Les principaux caractères de cette pathologie ont été précisés par Mabelle et al en 1974 (Mabelle et al. 1974), puis par Peter et al en 1998 (Peter et al. 1998). Cette maladie héréditaire, liée au chromosome X, est due à une mutation du gène *DAX-1* décrite en 1994 par Muscatelli et al (Muscatelli et al. 1994) et Zanaria et al (Zanaria et al. 1994). Cette mutation est également responsable de l'hypogonadisme hypogonadotrope (HHG), parfois associé à l'hypoplasie surrénalienne congénitale. A l'examen morphologique les surrénales sont petites (< 10g), mais non microscopiques, avec un cortex permanent pratiquement absent. Le cortex fœtal avec ses grandes cellules caractéristiques est bien développé. Actuellement, le diagnostic se fait rarement sur l'histologie de la surrénale en cas d'autopsie, mais surtout, chez un garçon, sur l'existence d'une mutation de *DAX-1* (Muscatelli et al. 1994). Cliniquement, il s'agit d'une insuffisance surrénalienne néonatale ou plus tardive avec hypoglycémie et perte de sel. (revue in (Folligan et al. 2005) (b).

Dans le cadre des syndromes des gènes contigus, l'hypoplasie congénitale des surrénales peut être associée à un déficit en glycérol kinase et à une myopathie de Duchenne (Morel et al. 2003).

#### L'hypoplasie congénitale des surrénales de type anencéphalique

Elle se différencie de l'insuffisance surrénalienne secondaire à une anencéphalie par l'absence d'anomalie cérébrale macroscopique. L'hypoplasie congénitale des surrénales de type anencéphalique est beaucoup plus rare que la précédente et atteint aussi bien les filles que les garçons. Dans une revue de la littérature que nous espérons exhaustive, nous avons dénombré 46 cas dont 23 de sexe féminin et 23 de sexe masculin (Tableau VI). Il s'agit d'une insuffisance surrénalienne survenant toujours en période néonatale. Elle est le plus souvent majeure, avec une cortisolémie basse qui entraîne le décès dans les 15 premiers jours. A l'examen morphologique les surrénales sont très petites (<1g) (Blizzard et al. 1956) avec un

cortex fœtal pratiquement absent. L'examen du système nerveux central est normal (Mosier 1956). Il n'a pas été décrit de mutation. Mais l'existence de formes familiales suggère une cause génétique (Burke et al. 1988). Le gène responsable n'est pas identifié à l'heure actuelle. Cette pathologie est détaillée dans l'article 1 en annexe (Folligan K, Bouvier R, Targe F, Morel Y, Trouillas J. Le développement de la surrénale humaine. Ann. Endocrinol 2005; 66, 4:325-332).

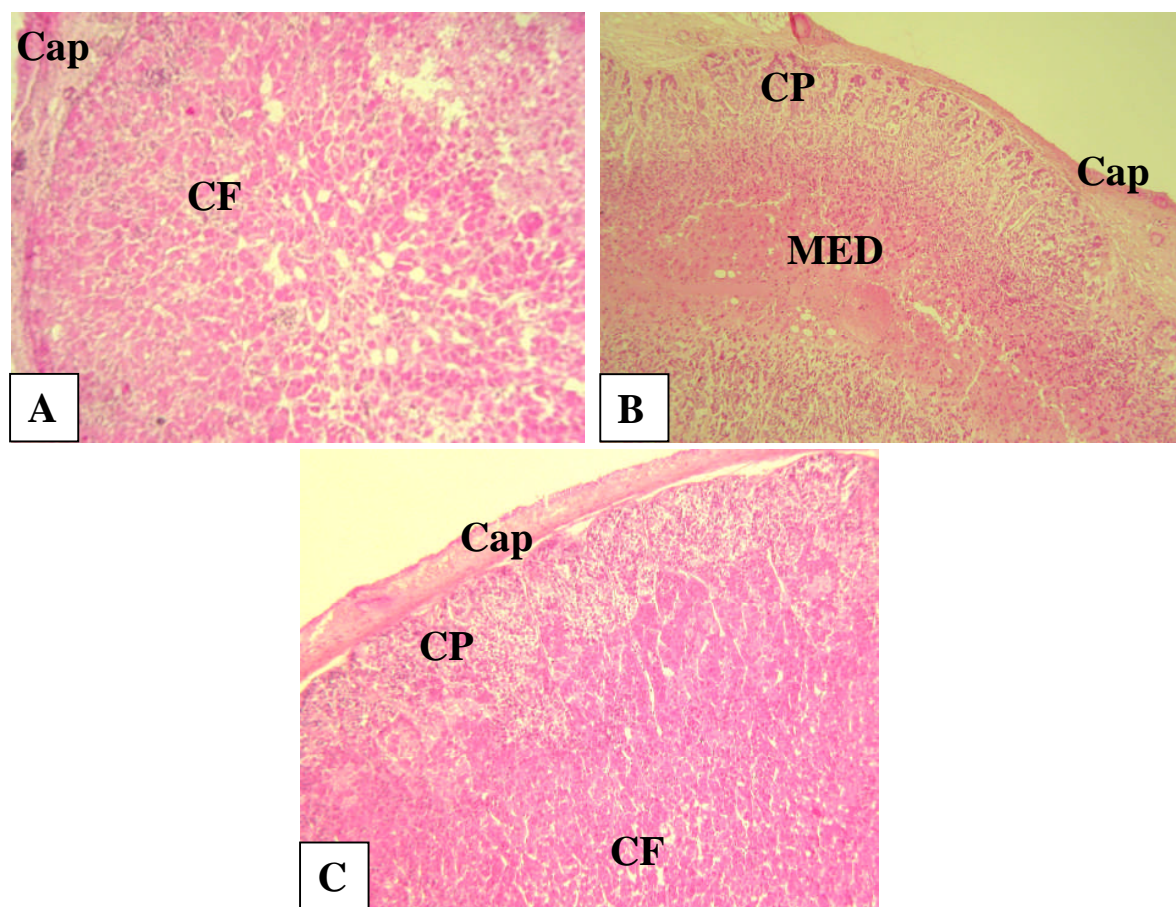


**Figure 5 : Comparaison d'une surrénale normale avec les surrénales d'hypoplasie congénitale des surrénale de type cytomégalique et de type anencéphalique. Coloration HE. Obj 4. (Images personnelles)**

*A – Hypoplasie congénitale des surrénale de type cytomégalique. Notez de l'extérieur vers l'intérieur : la capsule conjonctive (Cap) contenant des ilots de neuroblastes (IL), et le cortex fœtal.*

*B – Hypoplasie congénitale des surrénale de type anencéphalique. Notez de l'extérieur vers l'intérieur : la capsule conjonctive (Cap), le cortex permanent (CP) et la médullosurrénale(MED).*

*C – Surrénale fœtale normale. Notez de l'extérieur vers l'intérieur : la capsule conjonctive (Cap), le cortex permanent (CP) et le cortex fœtal (CF).*



**Figure 6 : Comparaison d'une surrénale normale avec les surrénales d'hypoplasie congénitale des surrénale de type cytomégalique et de type anencéphalique. Coloration HE. Obj 10 (Images personnelles).**

*A – Hypoplasie congénitale des surrénale de type cytomégalique. Notez de l'extérieur vers l'intérieur : la capsule conjonctive (Cap) contenant des îlots de neuroblastes (IL), et le cortex fœtal.*

*B – Hypoplasie congénitale des surrénale de type anencéphalique. Notez de l'extérieur vers l'intérieur : la capsule conjonctive (Cap), le cortex permanent (CP) et la médullosurrénale (MED).*

*C – Surrénale fœtale normale. Notez de l'extérieur vers l'intérieur : la capsule conjonctive (Cap), le cortex permanent (CP) et le cortex fœtal (CF).*

### **III – 2 – A l'ère de la Biologie moléculaire**

Avec la découverte des gènes, la classification des hypoplasies congénitales des surrénales est faite sur les données cliniques, morphologiques et de biologie moléculaire. Actuellement les prélèvements hormonaux et la biologie moléculaire se sont substitués aux données anatomopathologiques. On décrit :

#### **L'hypoplasie congénitale des surrénales par atteinte glucominéralocorticoïdes**

- L'hypoplasie congénitale des surrénales liée à l'X par mutation du gène *DAX-1* ou l'hypoplasie congénitale des surrénales de type cytomégalique associée à un hypogonadisme-hypogonadotrope

- L'hypoplasie congénitale des surrénales autosomique dominante par mutation de *SF-1* avec atteinte gonadique (« DSD » disorder of Sexual Development chez le garçon). Elle peut être parfois récessive.
- Le syndrome IMAGE (Intra uterin growth retardation, Metaphyseal dysplasia, Adrenal hypoplasia, Genital anomalie). En 1999, Vilain et al (Vilain et al. 1999) rapportent le cas de trois patients ayant une insuffisance surrénalienne associée à d'autres entités pathologiques et décrit le syndrome IMAGE. Le ou les gènes ne sont pas encore identifiés.
- L'hypoplasie congénitale des surrénales de type anencéphalique ou forme miniature

### **L'hypoplasie congénitale des surrénales par atteinte isolée des glucocorticoïdes**

- Liée à une atteinte des récepteurs à l'ACTH (Clark 1993)
- Le syndrome de triple AAA (Tullio-Pelet et al. 2000 ; Hadj-Rabia et al. 2000)
- Liée à une mutation de *TPIT* entraînant une insuffisance isolée en ACTH (Pulichino et al. 2004)
- Liée à *CITED2* (Ferraz-de-Souza et al. 2009)

**MATERIEL  
ET  
METHODES**

## I – Cadre d'étude

Ce travail a été réalisé dans le Laboratoire Central d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques de l'Hôpital Edouard HERRIOT (service du Professeur J. Y. SCOAZEC), au Centre de Pathologie Est (service du Professeur F. THIVOLET-BEJUI) et dans le Laboratoire d'Histologie-Embryologie Moléculaires de la Faculté de Médecine Lyon RTH Laennec (Laboratoire du Professeur J. TROUILLAS). Les autopsies ont été réalisées par Madame le Docteur R. BOUVIER. Les techniques de cytogénétique et de biologie moléculaire ont été effectuées dans le Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle et Prénatale du Centre de Biologie et de Pathologie Est (service du Professeur D. SANLAVILLE) et dans le Laboratoire de biochimie moléculaire du Centre de Biologie et de Pathologie Est (service du Professeur Y MOREL).

## II – Matériel et méthodes

### II – 1 – Matériel et méthodes pour l'étude du développement normal des surrénales

#### – Sélection des surrénales de fœtus normaux

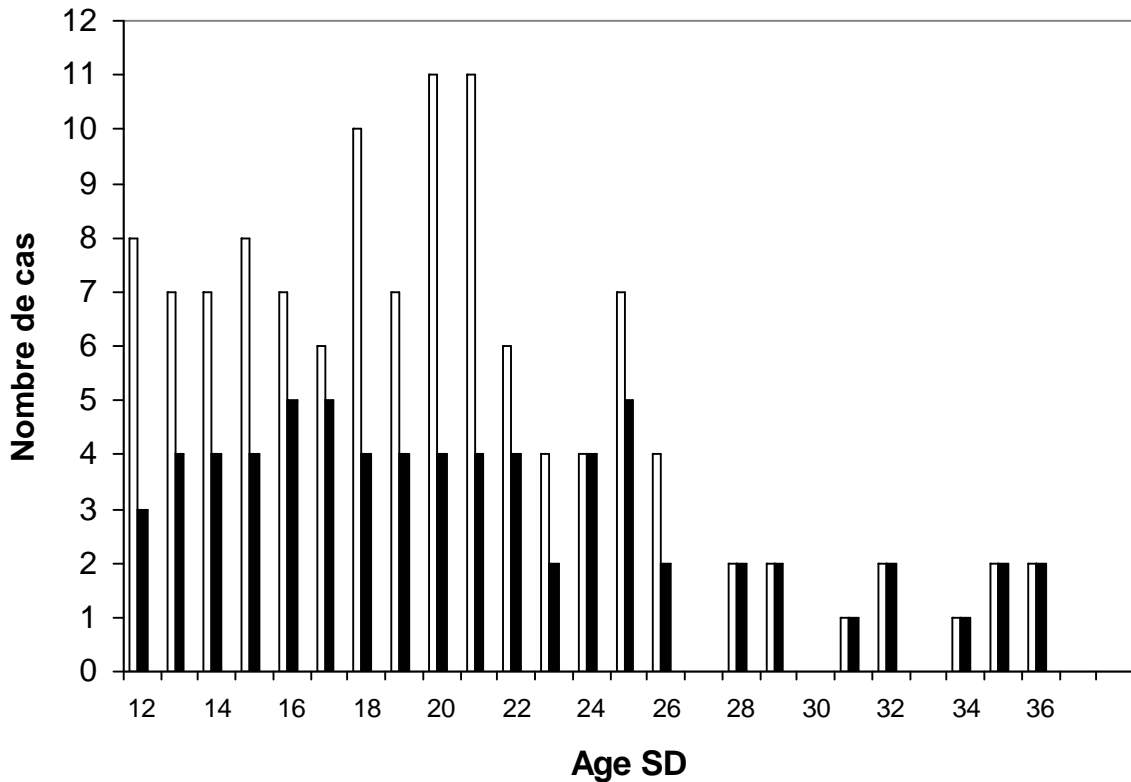
Pour cette étude, nous disposions de 3204 dossiers d'examens foetopathologiques, réalisés de 1986 à 2001. Nous avons retenu 169 dossiers de fœtus eutrophiques, sans anomalie externe ou viscérale, examinés à l'état frais.

Nous avons exclu de cette étude les fœtus macérés, les fœtus ayant présenté une pathologie chromosomique, une souffrance fœtale ou une anomalie du liquide amniotique autre que la rupture prématurée des membranes récente, de même que les grossesses multiples, et les prématurés ayant vécu.

Pour les 169 fœtus nous avons relu les coupes des surrénales réalisées lors de l'examen foetopathologique initial. Nous avons sélectionné les surrénales présentant les critères microscopiques suivants :

- absence de congestion et / ou de cytolyse post mortem
- section sagittale permettant d'étudier la structure histologique de la surrénale, de mesurer l'épaisseur du cortex permanent et du cortex fœtal et d'apprécier l'apparition des éléments de la médullosurrénale.

Au total notre travail porte sur **119 surrénales de la 12<sup>ème</sup> à la 36<sup>ème</sup> SD**. Tous les âges sont représentés, sauf la 27<sup>ème</sup>, la 30<sup>ème</sup> et la 33<sup>ème</sup> SD. Les surrénales de la tranche d'âge 12 à 22 SD sont les plus nombreuses : 6 à 11 par SD (**Figure 7**)



**Figure 7 : Répartition selon l'âge des surrénales étudiées.  
En Histologie standard (colonnes blanches)  
En Immunocytochimie (colonnes noires).**

On rappelle que deux méthodes sont utilisées pour estimer l'âge de la grossesse :

Les semaines d'aménorrhée (SA), utilisées par les obstétriciens et les fœtopathologistes, sont calculées à partir de la date des dernières règles. Les semaines de développement (SD), utilisées par les biologistes du développement, sont calculées à partir de la date de la fécondation. Il existe une différence de deux semaines entre les méthodes d'estimation de l'âge de la grossesse (5 SD correspondent à 7 SA). Les deux méthodes sont vérifiées par l'échographie précoce. Pour ce travail, nous avons exprimé l'âge de la grossesse en SD, comme la plupart des études de la littérature.

Pour les 119 fœtus, les circonstances de décès ont été les suivantes :

- Fausse-couche spontanée : 75 cas dont 22 avec chorioamniotite
- IMG pour causes maternelles sans atteinte fœtale (exemples : cause psychiatrique, cas sociaux) : 17 cas
- Placenta praevia : 5 cas
- Décollement prématuré du placenta normalement inséré : 16 cas
- Mort fœtale per partum : 6 cas



## – Méthodes

Deux fixateurs ont été utilisés : le liquide de Bouin pour 69 surrénales ou le formol tamponné à 10% pour 50 surrénales.

Les surrénales incluses en paraffine ont été recoupées en séries. Pour chaque surrénale, nous avons réalisées 8 lames de 3 coupes contiguës de 5 $\mu$ . Toutes ces surrénales ont bénéficié d'une étude histologique classique. L'étude immunocytochimique a été faite sur 70 surrénales de toutes les tranches d'âges (2 à 5 surrénales par SD).

### *Histologie*

Nous avons réalisé une coloration, à l'HE pour l'étude histologique classique et pour les mesures micrométriques. Pour ces mesures de l'épaisseur des cortex, nous avons utilisé un objectif micrométrique. Nous avons repéré des îlots de neuroblastes organisés au centre de la glande ou à défaut un gros vaisseau pour définir la limite interne et la capsule pour la limite externe. La graduation est disposée perpendiculairement entre les deux limites. Nous avons mesuré les distances respectives du cortex permanent et du cortex foetal.

### *Immunocytochimie*

Principe : L'immunocytochimie consiste à localiser l'expression d'une protéine sur des coupes de tissus ou les cellules. Le principe de base réside dans la réalisation et la visualisation d'un complexe antigène anticorps.

L'étude immunocytochimique a été réalisée manuellement. Nous avons utilisé la technique d'immunoperoxydase indirecte et testé les anticorps suivants.

*Pour la prolifération*, l'anti-Ki-67 : origine : Dako, dilution au 1/150 et l'anti-PCNA : origine : Tebu, dilution au 1/400.

*Pour la sécrétion*, l'anti-3  $\beta$ -HSD : préparé par Walter MILLER [VCSF, San Francisco CA] (et donné par le Professeur Y. MOREL) et testé respectivement aux dilutions du 1/10000, 1/15000, 1/20000, 1/30000 et 1/40000, retenue comme dilution de travail et l'anti-P450 c21 : préparé par Walter MILLER [VCSF, San Francisco CA] (et donné par le Professeur Y. MOREL) et testé respectivement aux dilutions du 1/10000, 1/15000, 1/20000, 1/30000 et 1/40000, retenue comme dilution de travail.

*Pour la différenciation*, l'anti-Chromogranine A (CgA) : origine : Tebu, dilution au 1/50, l'anti-NCAM : origine : Tebu, dilution au 1/50 et l'anti-protéine S-100, Tebu, dilution au 1/100

Les principales étapes de la technique ont été les suivantes :

Après un déparaffinage dans deux bains successifs de 15 minutes de toluène et d'alcool absolu, les lames sont rincées à l'eau du robinet pendant 20 minutes.

Pour démasquer les antigènes les lames sont placées dans un tampon de citrate de sodium 0,01M pH= 6 et subissent 3 cycles de 5 minutes dans un four à micro-ondes à une puissance de 640W. Cette technique de démasquage a été utilisée pour tous les anticorps sauf pour l'anti-PCNA.

Les lames sont ensuite placées dans l'eau oxygénée à 1% pendant 5 minutes pour l'élimination des peroxydases endogènes (pour tous les anticorps).

Puis elles sont lavées dans le tampon TRIS 0,05M pH= 7,6.

Les différents anticorps sont dilués avec le diluant de Dako selon leur dilution respective et déposés sur les coupes respectives pendant une nuit à + 4°C.

Le lendemain, après rinçage dans le tampon TRIS, le deuxième anticorps (l'immunoglobuline de chèvre biotinylée anti-souris/lapin kit Duet de Dako) est déposé sur



les coupes pendant 30 minutes. Après un lavage dans le tampon TRIS, le complexe Streptavidine/ Biotine/ Peroxydase permettant l'amplification est déposé sur les coupes pendant 30 minutes.

La révélation de la peroxydase est faite par le liquide DAB de Dako.

Après une contre coloration des noyaux à l'hémalum de Mayer, les coupes sont déshydratées et montées selon les techniques histologiques classiques. La lecture est faite au microscope ordinaire. La lecture de la positivité des cellules avec l'anticorps anti-PCNA et l'anti- Ki-67 est réalisée à l'objectif 40. Les cellules dont les noyaux sont intensément colorés sont considérées comme positives pour l'anticorps anti-PCNA. Les cellules ayant leur noyau coloré quel que soit l'intensité sont considérées comme cellules positives pour l'anticorps anti-Ki-67. Nous comptons le nombre de cellules positives et le nombre de cellules négatives ayant les mêmes caractères morphologiques dans au moins cinq champs microscopiques et nous calculons le pourcentage des cellules positives par rapport au nombre total des cellules comptées. La lecture de la positivité des cellules est réalisée à l'objectif 10 ou 25 pour les autres anticorps. Pour chaque anticorps, nous avons réalisé l'étude à la fois sur les surrénales fixées dans le liquide de Bouin et sur les surrénales fixées dans le formol tamponné à 10%.

Nous avons utilisé les témoins positifs suivants : des coupes d'embryons de 4 à 6SD pour les anticorps anti-Ki-67 et anti-PCNA, des coupes de surrénale adulte pour les anticorps anti-P450 c21 et anti-3 $\beta$ -HSD et la CgA.

## **II – 2 – Patients et méthodes pour les 3 cas d'hypoplasie congénitale des surrénales**

### **– Patients**

Deux cas d'hypoplasie surrénale congénitale ont été observés en 1989 et en 1998 à l'hôpital Saint Antoine de Paris et un cas en 2007 à l'hôpital Edouard Herriot de Lyon (France). Le diagnostic a été réalisé à l'issue de l'autopsie. Ces trois cas seront décrits en détail dans le chapitre « résultats ».

### **– Méthodes**

*L'autopsie* classique a comporté un examen externe, un examen interne et des prélèvements de divers organes : thyroïde, thymus, cœur, poumons, foie, rate, pancréas, surrénales, organes génitaux, l'hypophyse, l'hypothalamus et l'encéphale

#### ***Histologie***

La coloration HE a été réalisée pour l'étude histologique classique des différents organes prélevés au cours de l'autopsie. Trois surrénales normales de même âge ont été comparées aux surrénales des patients.

Une coloration au tétrachrome d'Herlant et au PAS-Orange G a été réalisée pour l'étude des hypophyses des 3 patients. De plus cinq hypophyses de fœtus normaux, d'âge gestationnel différent (19, 24, 27, 39 et 42 SA) ont été coupées en totalité et en série et colorées avec les mêmes colorations que les hypophyses des patients.

L'hypothalamus des cas n°2 et n°3 a été l'objet d'une étude macroscopique, histologique et immunocytochimique. Il a été coupé en série et en totalité. L'hypothalamus d'un fœtus normal a également été étudié dans les mêmes conditions.

#### ***Immunocytochimie***

L'étude immunocytochimique a été réalisée manuellement et avec la technique du Ventana pour confirmer les résultats de la technique manuelle. En effet, cette technique automatisée est plus sensible et donne des résultats plus constants.

*Pour les surrénales*, nous avons utilisé les mêmes anticorps et aux mêmes dilutions que pour l'étude des surrénales normales. Dans la même technique nous avons testé les surrénales pathologiques et de surrénales normales de même âge.

*Pour l'hypophyse*, de la même façon, nous avons testé les 3 hypophyses pathologiques et 5 hypophyses normales d'âge gestationnel différent, avec les anticorps et aux dilutions suivantes :

*Pour la différenciation des cellules corticotropes*, un anti-ACTH (origine : Pr M. Dubois, dilution au 1/20000), anti-PTX-1 (origine : J. Drouin, Montréal, Canada, dilution au 1/400) anti-TPIT (origine : J. Drouin, dilution au 1/400).

*Pour les autres types cellulaires hypophysaires*,

pour la technique manuelle : anti-prolactine (origine : Immunotech, dilution au 1/400), anti-GH (origine : NIH, dilution au 1/15000), anti- $\beta$ FSH (origine : Dako, dilution au 1/6000), anti- $\beta$ LH (origine : NIH, dilution au 1/8000), anti- $\alpha$  SU (origine : Immunotech, dilution au 1/100000), anti-collagène IV (origine : Tebu, dilution au 1/50) anti- $\beta$ TSH (origine : Dako, dilution au 1/400) ;

pour la technique au Ventana, plusieurs réactions ont été effectuées avec les mêmes anticorps mais avec au moins deux dilutions différentes : anti-Prolactine (dilution au 1/400 et au 1/20000), anti-GH (dilution au 1/15000 et au 1/80000), anti-17-39ACTH (dilution au 1/20000 et au 1/30000), anti- $\beta$  FSH (dilution au 1/6000 et au 1/8000), anti- $\beta$ LH (dilution au 1/8000 et au 1/10000), anti- $\beta$ TSH (dilution au 1/400), anti- $\alpha$ SU (dilution au 1/100000), anti-collagène IV (Tebu, au 1/50) et anti-chromogranine A (Tebu, dilution au 1/50).

*Pour les hypothalamus*, les anticorps suivants ont été testés : anti-neurofilament (origine: Dako, dilution au 1/50), anti-synaptophysine, anti-GH-RH (origine: R. Guillemin, dilution au 1/1000), anti-CRH (origine: R.Guillemin, dilution au 1/100), anti-GnRH (origine: M. Dubois, dilution au 1/1000) et anti-somatostatine (origine: M. Dubois, dilution au 1/1000).

**Tableau I : Les anticorps utilisés en immunocytochimie**

ANTICORPS	ORIGINE	DILUTION	MARQUAGE
Anti-Ki-67	Dako	1/150	Nucléaire
Anti-PCNA	Tebu	1/400	Nucléaire
Anti-3 $\beta$ -HSD	Walter MILLER	1/40000	Cytoplasmique
Anti-P450 c21	Walter MILLER	1/40000	Cytoplasmique
Anti-Chromogranine A	Tebu	1/50	Cytoplasmique
Anti-NCAM	Tebu	1/50	Membranaire
Anti-protéine S-100	Tebu	1/100	Cytoplasmique
Anti-ACTH	Pr M. Dubois	1/20000	Cytoplasmique
Anti-PTX-1	J. Drouin	1/400	Nucléaire
Anti-TPIT	J. Drouin	1/400	Nucléaire
Anti-prolactine	Immunotech	1/400	Cytoplasmique
Anti-GH	NIH	1/15000	Cytoplasmique
Anti- $\beta$ FSH	Dako	1/6000et1/80000	Cytoplasmique
Anti- $\beta$ LH	NIDDK	1/8000et1/10000	Cytoplasmique
Anti- $\alpha$ SU	Immunotech	1/100000	Cytoplasmique
Anti-collagène IV	Tebu	1/50	Lame basale
Anti- $\beta$ TSH	Dako	1/400	Cytoplasmique
Anti-somatostatine	M. Dubois	1/1000	Cytoplasmique
Anti-neurofilament	Dako	1/50	Cytoplasmique
anti-GH-RH	R. Guillemin	1/1000	Cytoplasmique
anti-CRH	R.Guillemin	1/100	Cytoplasmique
anti-GnRH	M. Dubois	1/1000	Cytoplasmique

### ***Techniques de Biologie Moléculaire***

Les cas n°2 et n°3 ont bénéficié des techniques de cytogénétiques et de la biologie moléculaire pour la recherche des mutations.

#### 1 – Préparation de l'ADN

Les échantillons d'ADN sont extraits soit à partir de prélèvements de sang total soit à partir d'une culture cellulaire.

Pour le sang total, les prélèvements sont obtenus après que les familles ont signé un consentement éclairé pour étude génétique. Le sang est centrifugé pour séparer les cellules du plasma qui peut éventuellement être utilisé pour les dosages de stéroïdes. Une lyse des globules rouges permet d'isoler les leucocytes à partir desquels l'ADN génomique est extrait par la méthode du phénol-chloroforme.

Pour les tissus, l'ADN est extrait après une longue incubation de 24 à 48h avec de la protéinase K. Pour les deux patients, l'ADN génomique a été extrait selon la même méthode à partir de cellules de peau génitale mises en culture.

#### 2 – Amplification par PCR

##### 2 – 1 – Principe de la technique

La méthode PCR ou réaction de polymérisation en chaîne a été mise au point par K. Müllis en 1983. Elle repose sur la capacité de l'ADN polymérase de synthétiser le complémentaire d'un brin d'ADN à partir d'une amorce nucléotidique hybridée à ce brin. L'ADN polymérase allonge l'amorce de 5' en 3' en ajoutant des désoxynucléotides et en utilisant comme matrice le brin d'ADN auquel l'amorce est fixée. Les deux brins néosynthétisés pourront ensuite servir de matrice pour une nouvelle amplification.

La réaction se fait donc en trois étapes : dénaturation de l'ADN qui sépare les deux brins complémentaires, hybridation des amorces nucléotidiques et élongation de la molécule d'ADN. Ces trois étapes se font dans des conditions de température différentes :

- la dénaturation se déroule à la température de fusion de l'ADN, 95°C.

- l'hybridation des amorces se fait à une température appelée  $T_m$  inférieure à celle de fusion de l'amorce, qui dépend essentiellement de la séquence de l'amorce et peut être calculée selon la formule de Wahl et al.  $T_m = 81,5 + 16,6 \log 0,053 + 0,41(\%GC) - 500/n$  où  $n$  représente le nombre de nucléotides de l'amorce. Cette température doit être déterminée pour chaque nouveau fragment. Maintenus à cette température, les brins d'ADN auront tendance à se réassocier entre eux en chassant les amorces. Pour éviter cela il faut augmenter la température.

- l'extension d'amorce, ou élongation, se déroule donc à une température supérieure à celle de l'hybridation, classiquement à 72°C, température de fonctionnement de l'ADN polymérase. L'enzyme utilisée est la Taq polymérase, issue à l'origine de la bactérie thermophile *Thermus aquaticus*. Cette enzyme est maintenant produite de manière recombinante et des modifications d'acides aminés ont été introduites de manière à accroître sa thermostabilité.

L'automatisation de la méthode PCR a été rendue possible par l'utilisation de thermocycleurs, des appareils permettant de programmer les différents changements de température.

##### 2 – 2 – Amorces pour les gènes *SF-1* et *DAX-1*

Les amorces utilisées pour étudier les gènes *CYP17*, *FGFR2*, *CYP11A* et *SF1* ont été dessinées. Elles sont conçues de manière à amplifier les exons et les bordures introniques, avec environ 100 pb de séquence intronique de part et d'autre des exons, afin de visualiser au

séquençage les sites donneur et accepteur d'épissage, ainsi que le site de branchement quand il est connu. Les conditions d'amplification ont ensuite été déterminées pour chaque fragment : température d'hybridation des amorces, concentration en  $MgCl_2$  dans le mélange réactionnel, concentration des amorces, ajout ou non de DMSO pour aider à l'amplification des séquences riches en GC qui peuvent former des structures secondaires (voir amorces)

### Conditions d'amplification du gène *SF-1*

fragment amplifié	amorce sens amorce antisens	position	T° hybridation	[ $MgCl_2$ ]	DMSO
prom-ex1	5' CCCAGGGAGGTAGCCATTCA 3' 5' CAGGGAAGAAGAGGGGGTAGCAT 3'	-377 IVS1+180	60°C	1mM	5%
ex2-ex3	5' GGCACAGAGAGGGGATTACGCGACG 3' 5' GTTGTCTGCACCGTGCCTTGAA 3'	IVS1-113 IVS3+62	60°C	1mM	5%
ex4	5' GGCCTTGAATGCCAGGCAAA 3' 5' TCCGGTCCCCAGGTACTGC 3'	IVS3-171 IVS4+127	60°C	1mM	5%
ex5-ex6	5' CAGGCTGCACGCCTAGTTGGGT 3' 5' GCCCTCAGACCTTTGTTTAC 3'	IVS4-101 IVS6+166	60°C	1mM	5%
exon 7	5' TGCCCATGTCTTTGATGGTCA 3' 5' GCTCCTCGGTGGGCATCAGAA 3'	IVS6-118 3-UTR+114	60°C	1mM	5%

### *DAX-1*

#### Exon1

*AF* GTG-CGC-GCT-AGG-TAT-AAA-TAG-GT  
*AR* CCA-CGT-GCG-TTT-GCT-TTG-AGC-TA

*BF* GGC-GCC-CGA-GGC-GAC-GCT-GGG-TC  
*BR* AGC-AGG-GAC-GCC-CAG-CAG-TTG-CG

*CF* CTC-AAG-AGT-CCA-CAG-GTG-GTC-TG  
*CR* AGT-CAC-GAT-TTC-TTC-ACC-TTT-GCC

#### EXON2

*EX2F* GGC-TCA-TGG-CCA-GTG-TAT-TTC-CA  
*EX2R* GGC-CCA-CAG-CTC-TTT-ATT-CTT-CC

### 3 – Séquençage automatique des fragments amplifiés

#### 3 – 1 – Principe de la méthode

Le séquençage automatique est effectué selon la méthode de Sanger. Sur les fragments amplifiés est effectuée une PCR déséquilibrée, c'est-à-dire pour laquelle une seule amorce est utilisée, ce qui permet la synthèse d'un seul brin. Dans cette réaction, l'ADN polymérase ajoute soit des dNTPs soit des didésoxynucléosides triphosphate, ou ddNTPs. Dans ces derniers, le groupement hydroxyle en position 3', nécessaire à la formation de la liaison phosphodiester entre le groupement 5' phosphate d'un nucléotide et le groupement 3' hydroxyle du nucléotide suivant, est absent. Une fois qu'un ddNTP a été incorporé, la

polymérase ne peut donc pas poursuivre l'élongation. La fréquence d'incorporation des ddNTPs est déterminée par la concentration relative des ddNTPs et des dNTPs, fixée de manière à obtenir des fragments dont la taille ne diffère que d'un nucléotide.

Chaque ddNTP porte un fluorochrome, une molécule qui absorbe la lumière à une longueur d'onde donnée et renvoie un rayonnement à une longueur d'onde qui lui est propre. Les quatre ddNTPs sont marqués par des fluorochromes différents, ce qui permet de faire la réaction de séquence dans un seul tube.

### 3 – 2 – Mise au point

Les conditions de séquençage, concentrations relatives en amorce, produit de PCR et mélange réactionnel ont été déterminées. Le mélange réactionnel ou « prémix » contient les dNTPs, les ddNTPs, des ions métalliques et une ADN polymérase. Dans un premier temps le mélange réactionnel utilisé était le DYEnamic ET Terminator Cycle Sequencing Kit (Amersham), et la migration électrophorétique des séquences était réalisée sur le séquenceur automatique ABI PRISM 373A. Par la suite, le kit utilisé pour la réaction de séquence était le ABI PRISM BigDye Terminator sequencing kit, et l'électrophorèse effectuée sur un séquenceur à 16 capillaires, ABI PRISM 3100 puis 3130.

**TABLEAU II** : conditions mises au point pour le séquençage automatique des produits PCR.

réactif	kit Amersham	kit Applied Biosystems
produit PCR purifié	7 µL (100 ng d'ADN)	1 µL (100 ng d'ADN)
amorce sens ou antisens	2 µL (150 ng)	1 µL (100 ng)
« prémix »	6 µL	1 µL
tampon	/	1,5 µL
eau (qsp volume final)	/	15,5 µL (qsp 20 µL)

**TABLEAU III** : conditions d'amplification de la région contenant le microsatellite D10S1692

réactifs	fragment D10S1692
MgCl <sub>2</sub>	1 mM
amorce sens	40 ng
amorce antisens 5'-FAM	40 ng
Taq polymérase	1,25 U
température d'hybridation	56°C

#### *Autres méthodes (autres prélèvements effectués au cours de l'autopsie)*

- Le liquide céphalo-rachidien (LCR) (cas n°1) et le poumon (cas n°2) ont été prélevés pour l'examen bactériologique et virologique.
- La peau a été prélevée (cas n°2 et cas n°3) et le liquide amniotique (cas n°3) pour le caryotype.
- Les fibroblastes ont été mis en culture pour l'étude en Biologie moléculaire.
- Les examens radiographiques ont été réalisés au Faxitron.

# **RESULTATS**

## **I – Etude morphofonctionnelle et moléculaire de la surrénale fœtale normale**

### **I – 1 – Corticosurrénale**

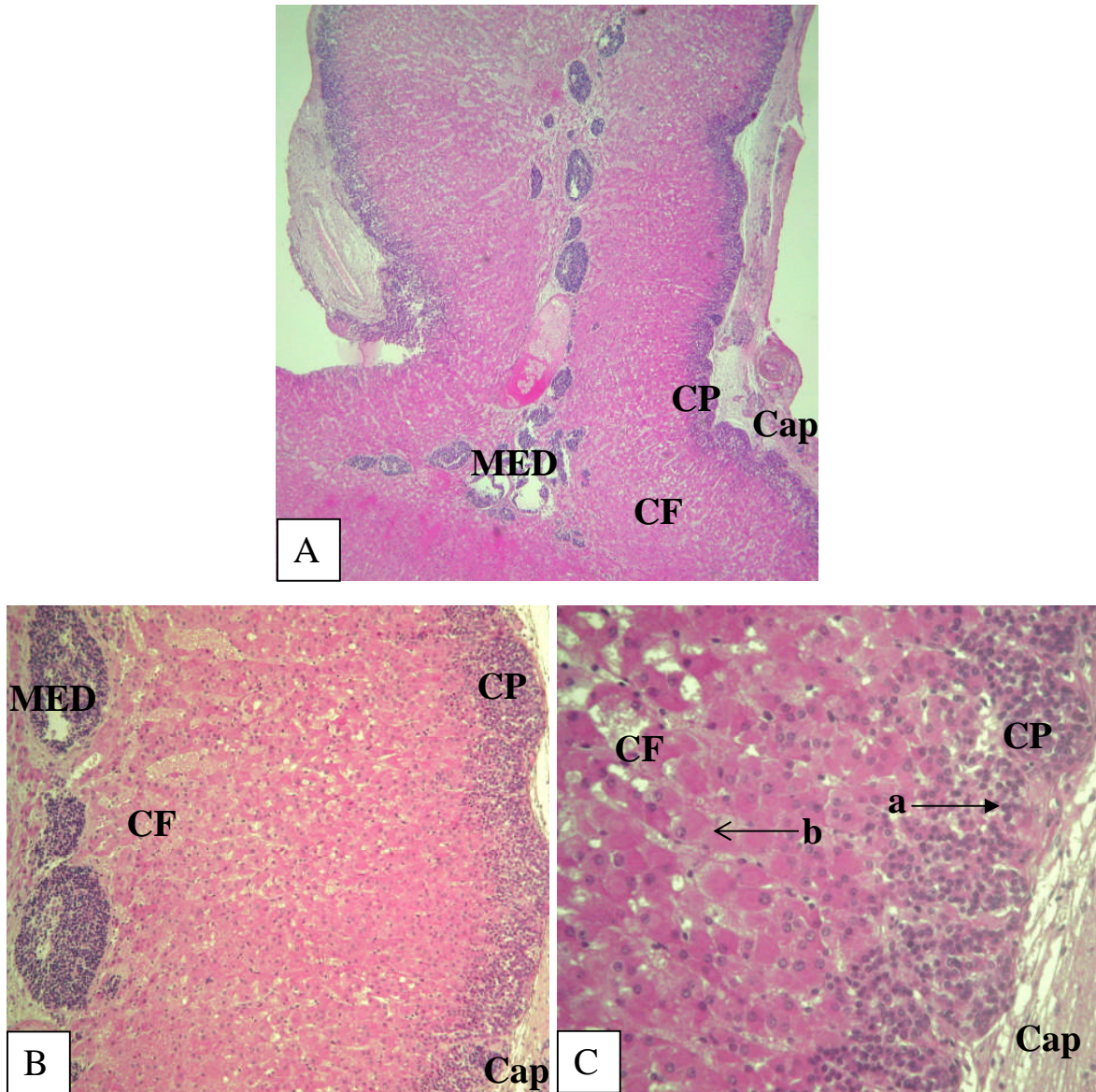
(Voir l'article 2 en annexe : Folligan K, Bouvier R, Targe F, Morel Y, Trouillas J. étude histologique et moléculaire de la corticosurrénale fœtale humaine (12<sup>ème</sup> - 36<sup>ème</sup> SD). Ann. Endocrinol 2005; 66, 6:519-526)

Nous avons retrouvé les deux zones de la corticosurrénale : le cortex permanent, mince et externe, formé de petites cellules et le cortex fœtal, épais et interne, formé de grandes cellules quel que soit l'âge du fœtus. (**Figure 8**)

A partir de la 12<sup>ème</sup> SD, les cellules du cortex permanent expriment une protéine d'adhérence (la NCAM) et les enzymes de la stéroïdogénèse (3 $\beta$ -HSD et la P450 c21) attestant de leur capacité de synthétiser des minéralocorticoïdes et/ou du cortisol. Par contre les cellules du cortex fœtal, positives avec l'anticorps anti-P450 c21, n'expriment ni la 3 $\beta$ -HSD, ni la NCAM. (**Figure 9**)

A partir de la 14<sup>ème</sup> SD, la réaction immunocytochimique permet d'identifier, entre le cortex permanent et le cortex fœtal, une zone de différenciation, appelée « zone de transition », dont les cellules expriment la 3 $\beta$ -HSD à la 21<sup>ème</sup> SD.

Seules les cellules du cortex permanent prolifèrent de la 12<sup>ème</sup> à la 25<sup>ème</sup> SD. Les index de prolifération du PCNA et du Ki-67, respectivement de 40% et 25% à 14SD, décroissent progressivement pour être inférieurs à 1% à la 25<sup>ème</sup> SD. (**Figure 10 – A et C**)



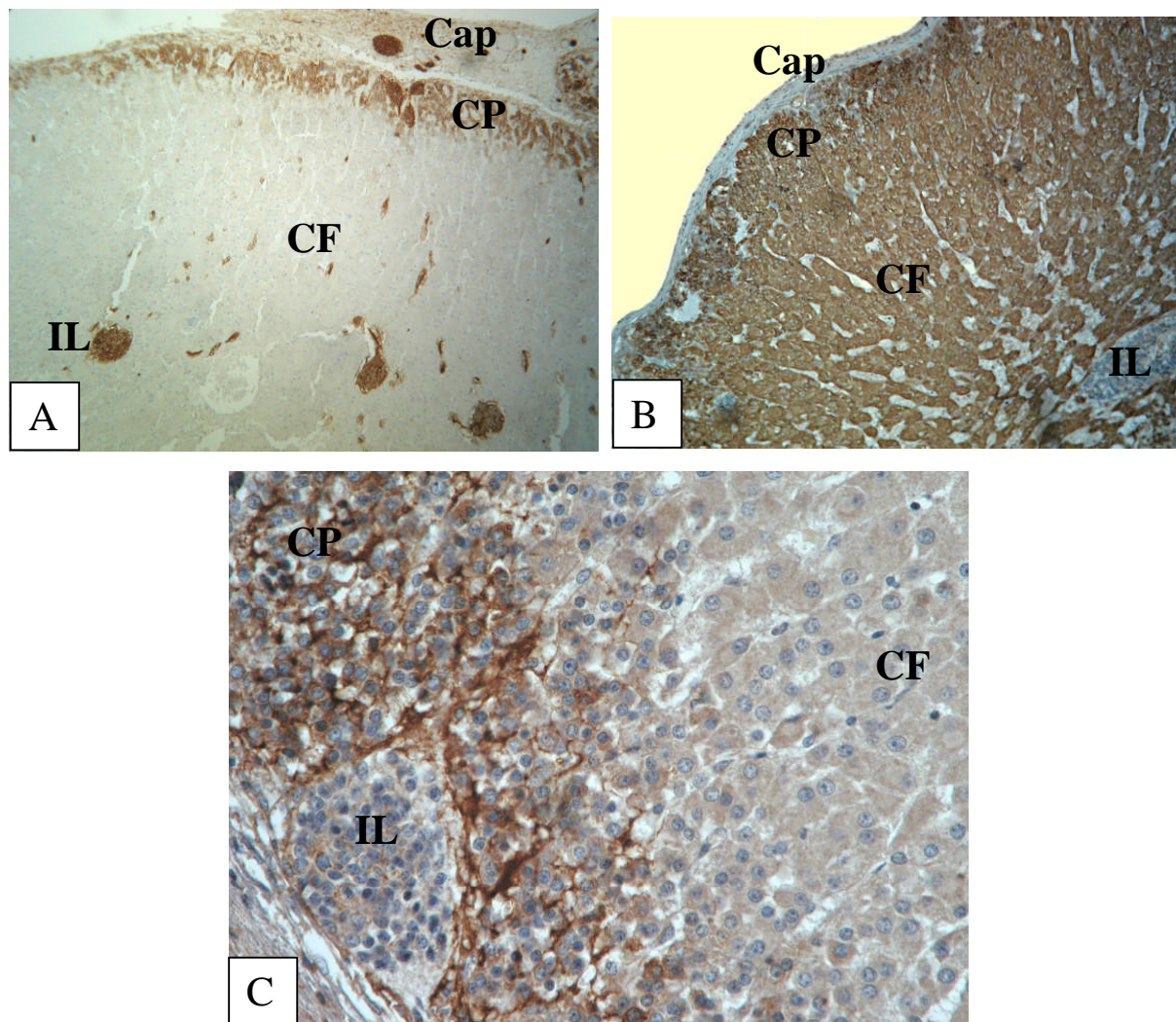
**Figure 8 : Les différentes zones et les types cellulaires de la corticosurrénale à 15SD.**

*A – Notez de l'extérieur vers l'intérieur : la capsule conjonctive (Cap), le cortex permanent (CP), le cortex fœtal (CF) et les îlots de neuroblastes disposés au centre de glande qui formeront la future médullosurrénale (MED). Coloration HE . Obj 4.*

*B – Notez de l'extérieur vers l'intérieur : le cortex permanent (CP), le cortex fœtal (CF) et les îlots de neuroblastes disposés au centre de glande (MED). Coloration HE. Obj10.*

*C – Notez les deux types cellulaires de la corticosurrénale fœtale: les petites cellules du cortex permanent à noyau arrondi et hypercolorable (a) et les volumineuses cellules du cortex fœtal à limites floues, disposées en colonnes et contenant un noyau avec un nucléole visible (b). Coloration HE. Obj25.*



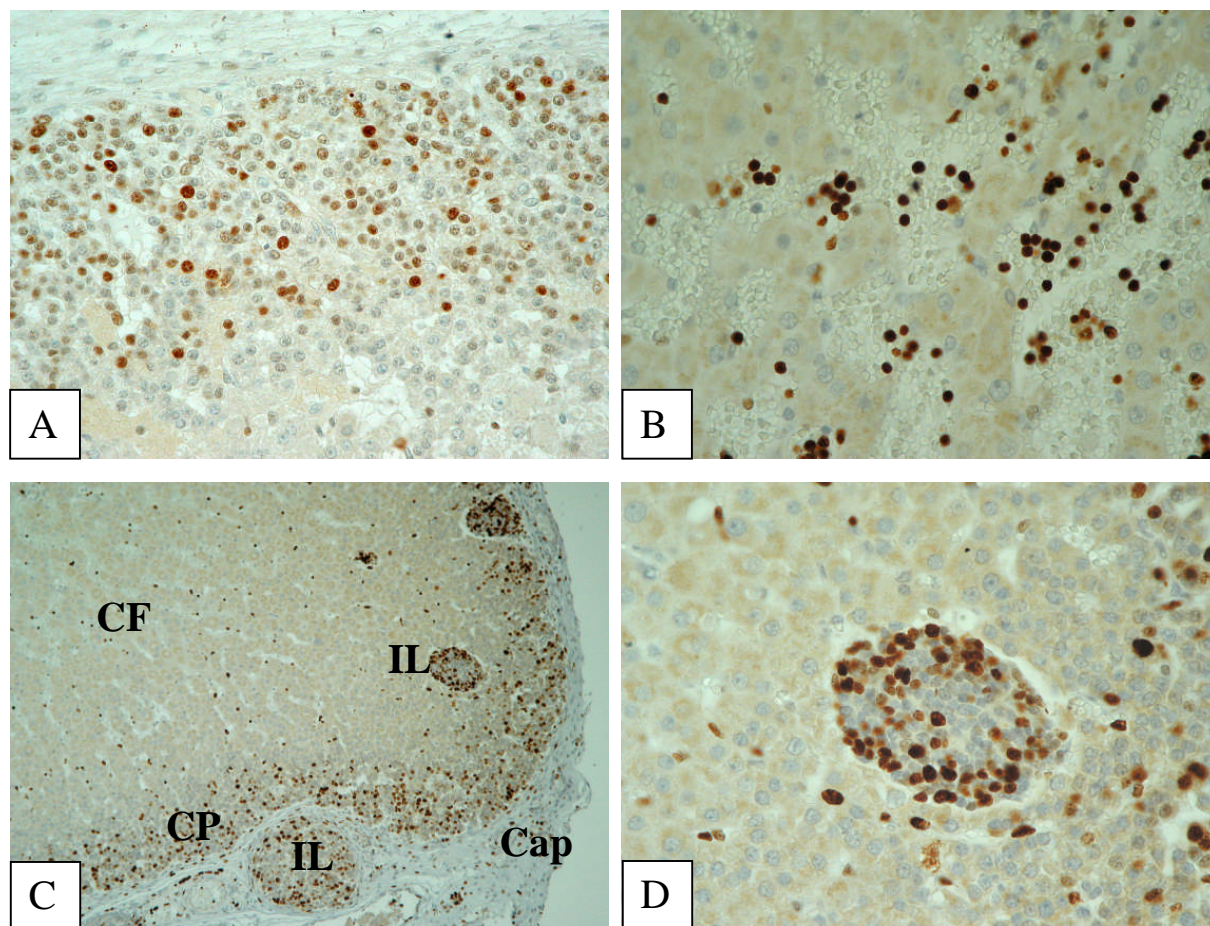


**Figure 9 : Etude immunocytochimique de la différenciation cellulaire et de la stéroïdogénèse de la surrénale fœtale humaine.**

*A – Les Cellules positives avec l'anticorps anti-NCAM dans le cortex permanent (CP) et les îlots de neuroblastes (IL) en migration. Surrénale à 14SD. Technique immunoperoxydase. Obj10.*

*B – Les Cellules du cortex permanent (CP) et du cortex fœtal (CF) sont positives avec l'anticorps anti-P450 c21. Les cellules des îlots (IL) sont négatives. Surrénale à 16SD. Technique immunoperoxydase. Obj10.*

*C – La plupart des petites cellules du cortex permanent sont fortement positives avec l'anticorps anti-3β-HSD. Les cellules des îlots de neuroblastes (IL) sont négatives. Surrénale à 15SD. Technique immunoperoxydase. Obj25.*



**Figure 10 : Etude immunocytochimique de la prolifération cellulaire de la surrénale foetale humaine.**

*A – 25% des cellules du cortex permanent sont positives avec l'anticorps anti-PCNA 18SD. Technique immunoperoxydase. Obj.40.*

*B – Dans le cortex foetal, les cellules positives avec l'anticorps anti-Ki-67 sont des cellules endothéliales, des neuroblastes ou des cellules en migration véhiculées par le sang. Les cellules surrénaliennes sont négatives. 18SD. Technique immunoperoxydase. Obj40.*

*C – Les cellules positives avec l'anticorps anti-Ki-67 dans le cortex permanent (CP) et dans les îlots de neuroblastes en migration (IL). 12 SD. Technique immunoperoxydase. Obj10.*

*D – Les cellules positives avec l'anticorps anti-Ki-67 sont des neuroblastes immatures en prolifération, regroupés en îlots. Leur pourcentage est 45%. 15SD. ICC. Technique immunoperoxydase. Obj40.*

## **I – 2 – Médullosurrénale**

(K. Folligan, S., R. Bouvier, Y. Morel, J. Trouillas. Histological and molecular study of the fetal human adrenal medulla (12<sup>th</sup> – 36<sup>th</sup> WD) (article en préparation).

### **I – 2 – 1 – Identification histologique et migration des différents types cellulaires**

Nous avons retrouvé, à l'étude histologique classique, deux types de neuroblastes isolés ou groupés en îlots (**Figure 11 – A**).

- Des neuroblastes de petite taille dont le cytoplasme est indiscernable et le noyau très hyperchromatique.
- Des neuroblastes de grande taille avec un gros noyau arrondi et un cytoplasme clair.



L'étude immunocytochimique a mis en évidence un troisième type cellulaire, les cellules sustentaculaires, positives avec l'anticorps anti-S100 (**Figure 11 – D**).

Selon le niveau de la coupe, les neuroblastes isolés ou îlots peuvent être nombreux, rares ou absents.

Selon l'âge du fœtus, ces îlots sont dispersés ou regroupés au centre de la glande surrénale.

- Entre 12 – 14 SD, ils sont dispersés dans le cortex permanent et le cortex fœtal où ils migrent (**Figure 9 – A**) et (**Figure 10 – C**).

- A partir de la 15<sup>ème</sup> SD, ces îlots s'alignent et à s'organisent au centre du cortex fœtal autour d'un vaisseau sanguin (**Figure 8 – A**) et (**Figure 12**).

- A partir de 19SD, ces îlots forment une couche continue dont l'épaisseur augmente progressivement.

### **I – 2 – 2 – Prolifération des neuroblastes**

Certaines cellules des îlots de neuroblastes sont positives avec l'anticorps anti-PCNA et l'anticorps anti-Ki-67 (**Figure 10 – C et D**). Le pourcentage de ces cellules positives diminue progressivement avec l'âge. De 47,7% pour l'anticorps anti-PCNA et de 39,42% pour l'anticorps anti-Ki-67 à 15SA, il est inférieur à 1% à la 23<sup>ème</sup> SA.

### **I – 2 – 3 – Différenciation fonctionnelle des différents types cellulaires et évolution chronologique**

- Les neuroblastes immatures ou en voie de différenciation.

Ce sont des neuroblastes de petite taille négatifs avec l'anticorps anti-CgA sur des coupes traitées sans micro-ondes et faiblement ou moyennement positifs sur des coupes traitées aux micro-ondes. Ces neuroblastes sont positifs avec l'anticorps anti-NCAM et négatifs avec l'anticorps anti-protéine S-100. Ce sont.

- Les neuroblastes différenciés en cellules neuroendocrines ou phéochromoblastes.

Ces neuroblastes, de grande taille, présentent un marquage membranaire avec l'anticorps anti-NCAM et un marquage cytoplasmique avec l'anticorps anti-CgA (avec ou sans micro-onde). L'intensité de cette dernière réaction est forte. Ils sont négatifs avec l'anticorps anti-protéine S-100.

- Les cellules sustentaculaires.

Ces cellules, de petite taille, situées en périphérie des îlots, ne sont pas visibles sur les coupes histologiques classiques (coloration HE). Elles sont positives avec l'anticorps anti-protéine S-100 et avec l'anticorps anti-NCAM et négatives avec l'anticorps anti-CgA (**Figure 11-C et D**).

Les neuroblastes et les cellules sustentaculaires n'expriment ni la 3 $\beta$ -HSD ni la P450 c21 quel que soit l'âge du fœtus (**Figure 9 – B et C**).

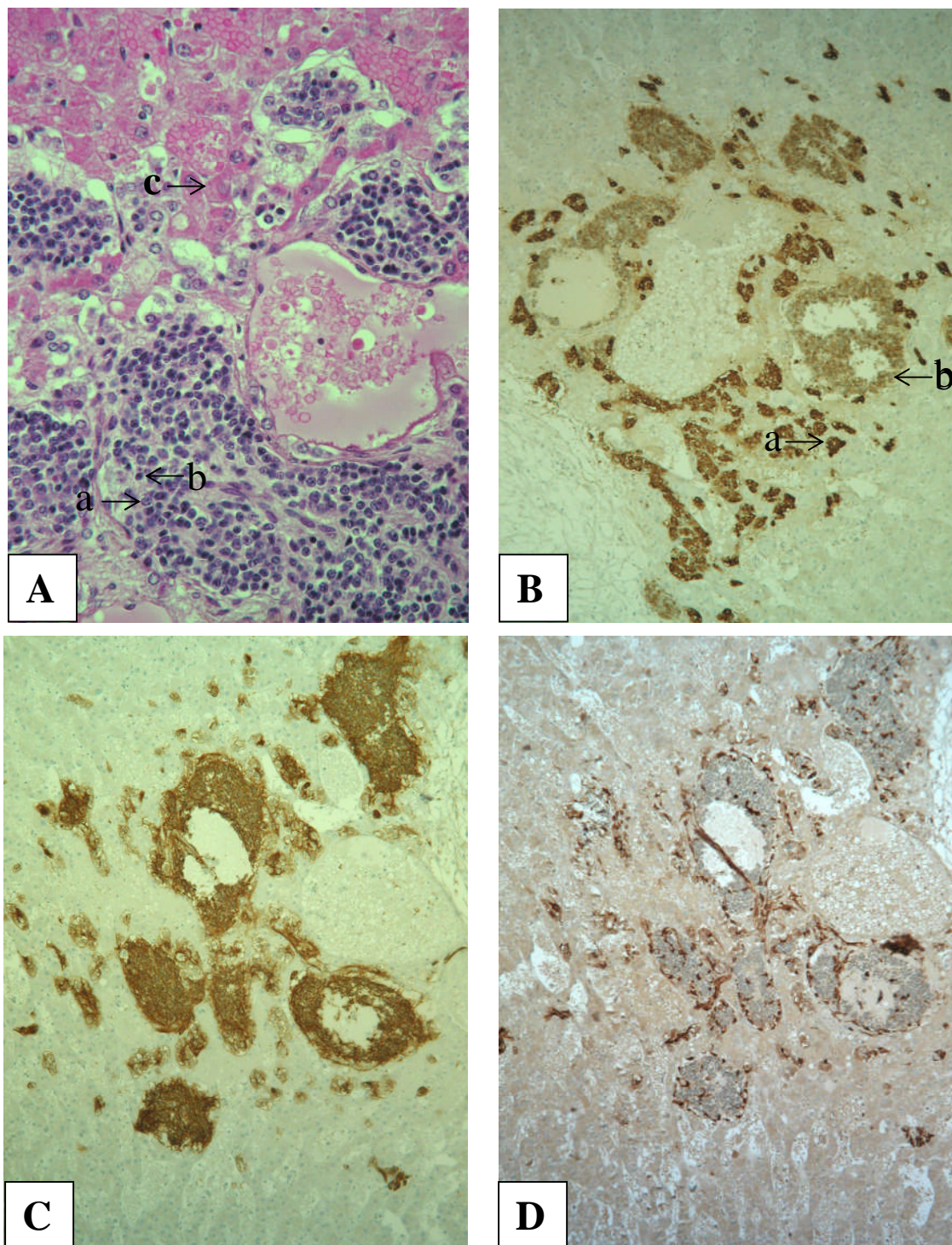
Le nombre, la localisation et l'organisation des cellules positives avec l'anticorps anti-CgA varient selon l'âge :

- entre 12 et 14SD, les cellules fortement positives sont isolées ou groupées au sein des îlots de neuroblastes négatifs (coupes sans micro ondes) ou faiblement ou moyennement positifs (coupes avec micro ondes) ou dispersées dans le cortex permanent et / ou dans le cortex fœtal

- à 15SD, le nombre des cellules fortement positives augmente avec un début d'organisation autour d'un gros vaisseau sanguin, situé au centre de la glande (**Figure 12**).

- à 19SD, ces cellules forment une couche continue dont l'épaisseur augmente avec l'âge.

- à partir de 22SD, les cellules CgA positives sont exceptionnelles dans le cortex permanent et sont situées dans le centre de la glande.



### Figure 11 : Les types cellulaires de la médullosurrénale à 15 SD

A – Dans la région centrale de la glande on observe trois types cellulaires : des neuroblastes matures (a) ressemblant aux cellules du cortex permanent et des neuroblastes immatures (b) typiques avec leur noyau colorable et leurs contours cellulaires difficiles à distinguer et des cellules typiques du cortex fœtal (c). Coloration HE. Obj25.

B – Neuroblastes matures fortement positifs avec l'anticorps anti-CgA qui sont des cellules neuroendocrines ou phéochromoblastes (a) et des neuroblastes immatures faiblement positifs avec l'anticorps anti-CgA. Technique immunoperoxydase. Obj10.

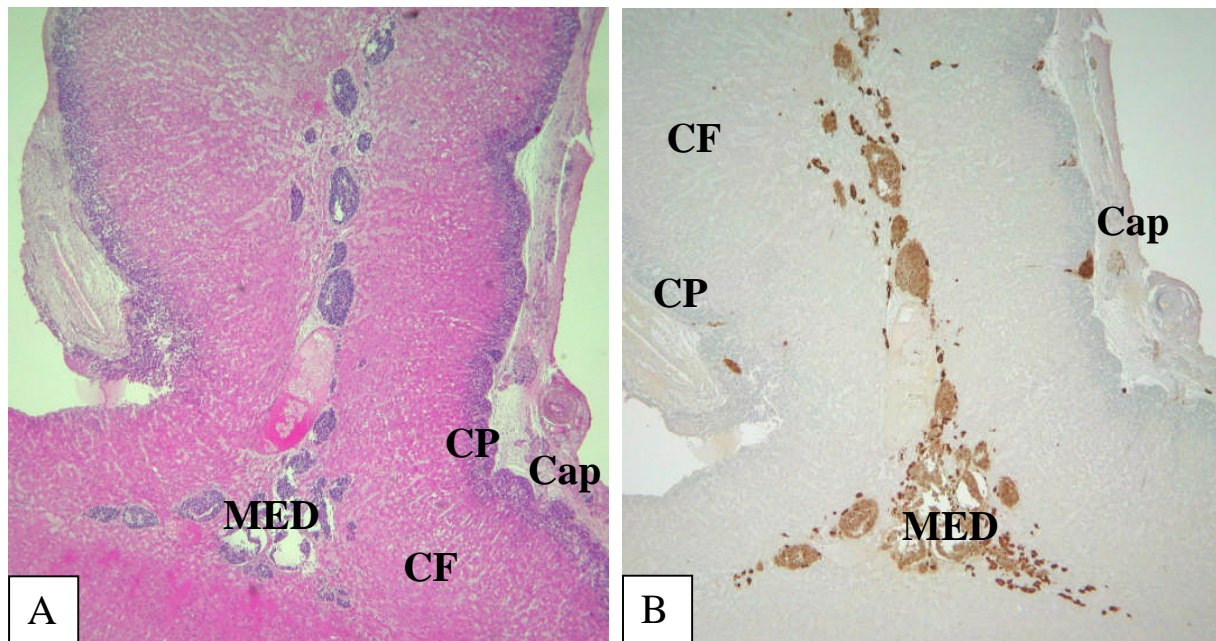
C – Toutes les cellules des îlots sont positives avec l'anticorps anti-NCAM. Technique immunoperoxydase Obj10.



*D – Seules les cellules situées en périphérie des îlots sont positives avec l'anticorps S100. Ce sont les cellules sustentaculaires. Technique immunoperoxydase. Obj10.*

#### **I – 2 – 4 – Mise en place de la médullosurrénale**

Les cellules neuroendocrines, en migration depuis le début de la grossesse, prolifèrent, acquièrent au cours de ce processus migratoire leur maturation et commencent à s'organiser en couche continue au centre de la glande à partir de la 15<sup>ème</sup> SD. Cette couche de neuroblastes immatures, de neuroblastes matures et de cellules sustentaculaires, constitue en médullosurrénale fœtale. Ainsi l'organisation de la médullosurrénale au centre du cortex fœtal se situe vers le 4<sup>ème</sup> mois (**Figure 12**).



#### **Figure 12 : Mise en place de la médullosurrénale à 15SD.**

*A – Notez de l'extérieur vers l'intérieur : la capsule (cap) conjonctive, le cortex permanent (CP), le cortex fœtal (CF) et les îlots de neuroblastes, disposés au centre de glande qui formeront la future médullosurrénale (MED). Coloration HE. Obj4.*

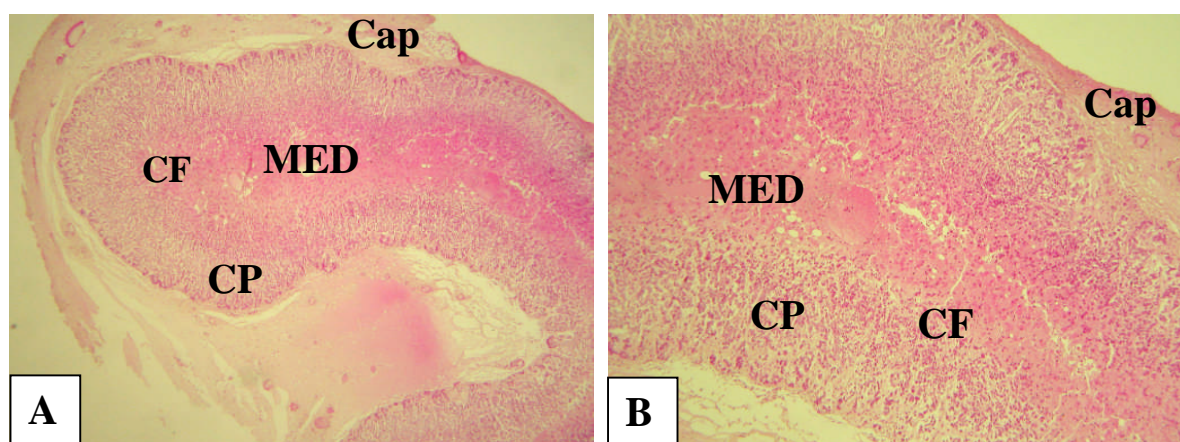
*B – Les îlots de neuroblastes observés sur la coupe colorée (A) et des cellules dispersées, non visibles, sont positifs avec l'anticorps anti-CgA. Toutes ces cellules CgA positives avec l'anticorps anti-CgA sont des neuroblastes différenciés en cellules neuroendocrines. Technique immunoperoxydase. Obj4.*

## II – Les 3 cas d’hypoplasie congénitale des surrénales

### II – 1 – l’hypoplasie congénitale des surrénales de type anencéphalique :

(Voir l’article 3 en annexe : K. Folligan, J. Roume, F. Encha-Razavi, S. Sépaniak, R. Bouvier, Y. Morel, J. Trouillas. L’hypoplasie surrénale congénitale de type anencéphalique : deux cas avec anomalies hypophysaires, sans mutation de *DAX-1* et *SF-1* et revue de la littérature. Morphologie 2010 ; 138 : 1-8.

Les deux nouveaux-nés (Cas n°1 et cas n°2), à terme, de sexe masculin étaient décédés dans un tableau d’insuffisance surrénale congénitale aiguë dans la période néonatale. Les surrénales hypoplasiques présentaient une structure histologique de type anencéphalique, avec présence de cortex permanent. Le cortex fœtal est réduit à quelques îlots cellulaires à la partie interne du cortex permanent dans le cas n° 1 et absent dans le cas n° 2 (**Figure 13**).

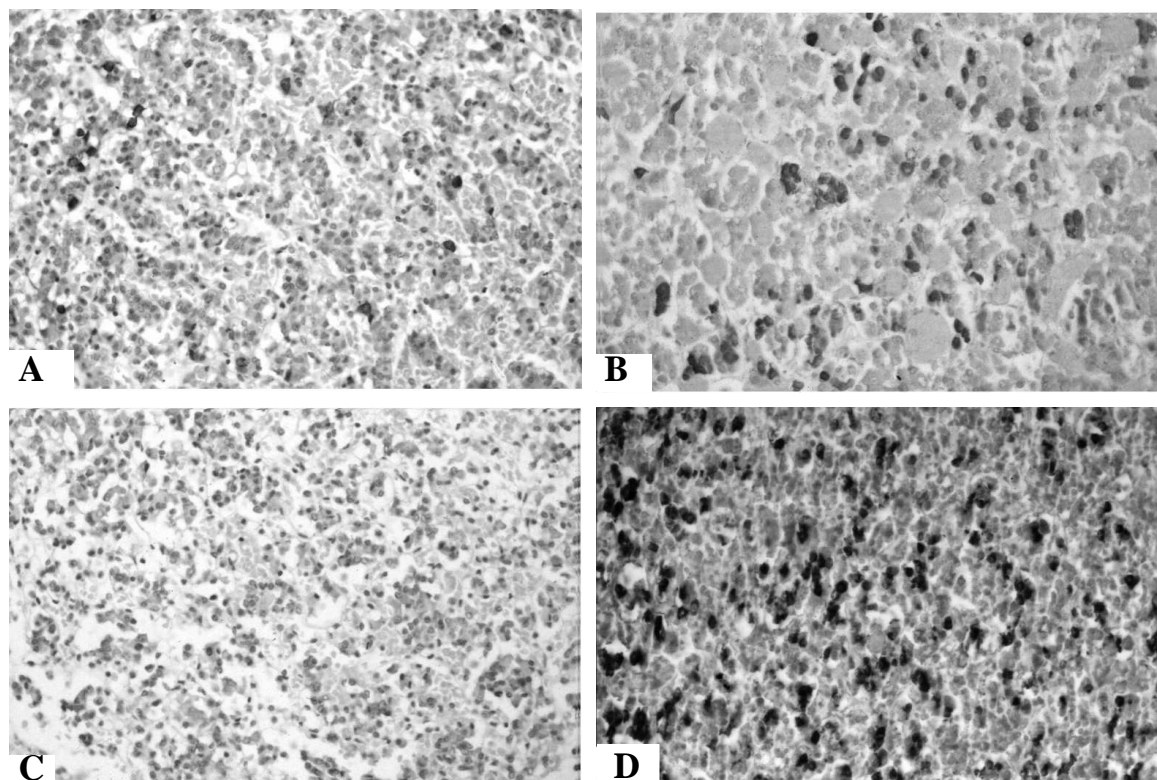


**Figure 13 : Aspect microscopique de la surrénale du cas n° 1**

A – Notez de l’extérieur vers l’intérieur : la capsule conjonctive (Cap), le cortex permanent (CP), le cortex fœtal (CF) réduit et la médullosurrénale (MED). Coloration HE. Obj.4.

B – Notez de l’extérieur vers l’intérieur : la capsule conjonctive (Cap), le cortex permanent (CP), le cortex fœtal (CF) réduit et la médullosurrénale (MED) Coloration HE. Obj.10.

Le cerveau et l’hypothalamus étaient macroscopiquement normaux. L’hypophyse était hypoplasique, avec absence de posthypophyse. L’étude immunocytochimique de l’antéhypophyse a révélé l’absence des cellules gonadotropes, les autres types cellulaires étant présents, notamment, les cellules corticotropes (**Figure 14**). Il n’y avait pas d’anomalie d’expression de *PTX-1* et de *TPIT-1*. La recherche des mutations de *DAX-1* et *SF-1* était négative.



**Figure 14 : Comparaison d'une hypophyse normale à terme avec celle du cas n°1**  
*Détection immunocytochimique des cellules corticotropes et gonadotropes dans une hypophyse normale à terme (B et D) et dans le cas n°1 (A et C). Réaction d'immunoperoxydase avec un anticorps anti-ACTH (A et B) et avec un anticorps anti- $\beta$  LH (C et D). Ces quatre photos prises au même grandissement (x 640) montrent la présence des cellules corticotropes et l'absence de cellules gonadotropes (A et C).*

(Voir résumé dans le Tableau V).

## **II – 2 – l'hypoplasie congénitale des surrénales avec ambiguïté sexuelle et anomalies de la différenciation gonadique et hypophysaire.**

Cas n°3

Il s'agissait d'un prématuré né à 26 SA + 6J (24SD + 6J) par césarienne dans un contexte de retard de croissance intra-utérin (RCIU) majeur, de sexe phénotypique féminin, de sexe génétique masculin 46,XY, de sexe gonadique indéterminé et de sexe gonophorique féminin. Cet enfant est décédé après 4 jours de vie.

### **Les renseignements cliniques**

C'était le premier enfant d'une femme de 22 ans en surpoids, aide soignante de son état.

L'accouchement a été réalisé par césarienne pour doppler ombilical pathologique, diastole nulle dans un contexte de RCIU à 26 SA + 6J

L'évolution après la naissance a été marquée par une succession de troubles ayant nécessité une prise spécifique comme

- une maladie des membranes hyalines traitée par Curosurf et intubation
- une thrombopénie ayant nécessité des transfusions de plaquettes
- une suspicion d'un état septique traité par une triple antibiothérapie
- une hypotension ayant bien réagi à l'hydrocortisone
- des crises convulsives et évolution vers une hypoxémie réfractaire.

Le décès est survenu au quatrième jour après la naissance.

### Les renseignements nécropsiques.

L'autopsie a retrouvé

- un RCIU majeur (< 5<sup>ème</sup> percentile)
- une absence de dysmorphie
- une radiographie normale du squelette

**- une hypoplasie surrénalienne bilatérale majeure. Chaque surrénale pesait 0,1g contre 1,1g pour l'âge. (Figure 15 – A)**

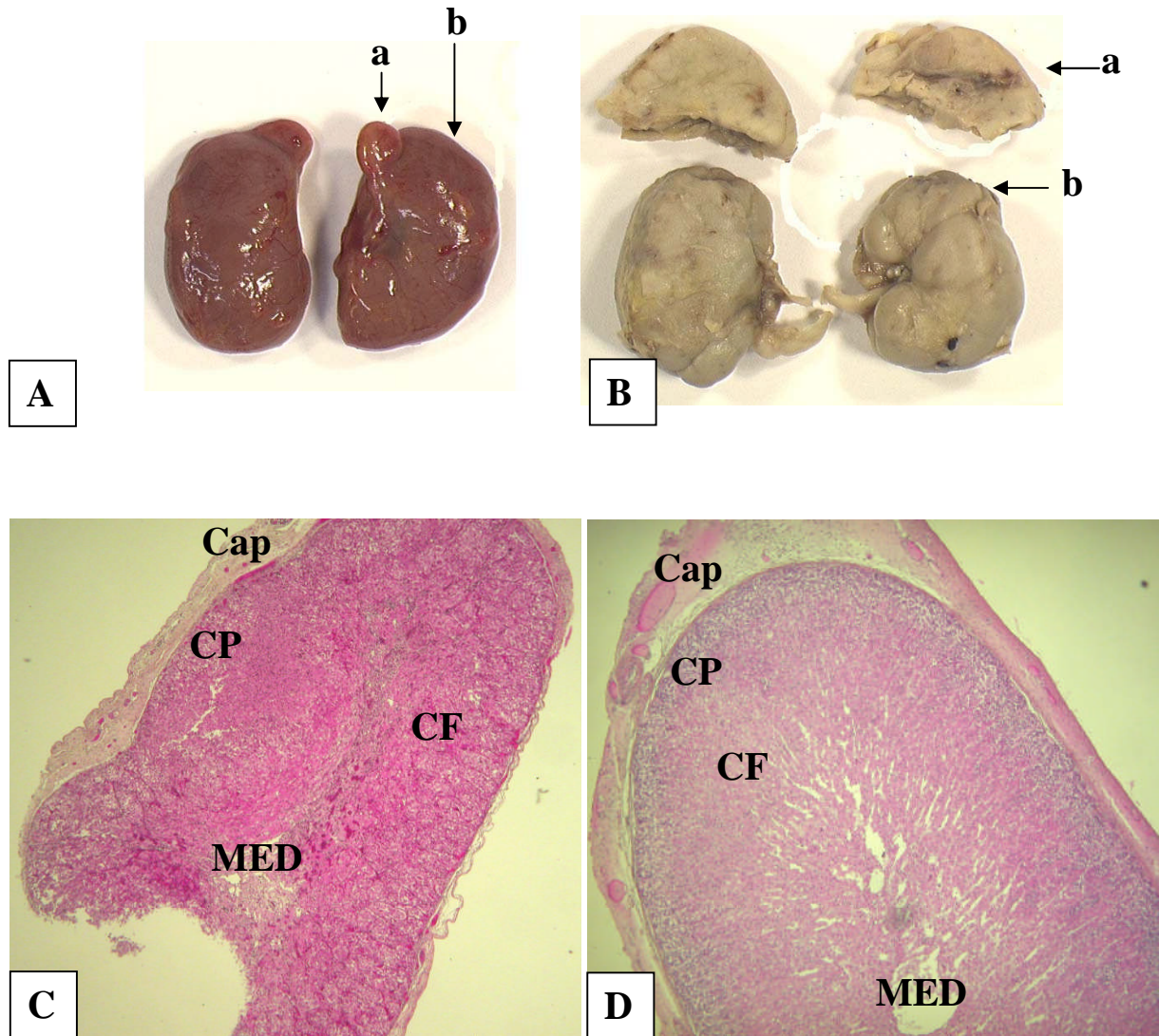
L'examen histologique a montré la présence des trois constituants d'une surrénale fœtale: la capsule, la corticosurrénale avec le cortex permanent et le cortex fœtal et la médullosurrénale.

Le cortex permanent était assez développé mais désorganisé et le cortex fœtal était présent mais insuffisamment développé avec des cellules plus volumineuses que la normale sans toute fois réaliser la forme cytomégalique. On note sous la capsule et dans la région centrale la présence de neuroblastes immatures (**Figure 15 – C**)

L'étude immunocytochimique de la surrénale a montré une maturation normale et une anomalie de croissance.

Les cellules du cortex permanent ont présenté un marquage cytoplasmique avec l'anticorps anti-P450 c21 et avec l'anticorps anti-3 $\beta$ -HSD et un marquage nucléaire avec le marqueur de prolifération anti-Ki67 (10 à 15%, normale pour l'âge 1 à 2%). On observe également un marquage membranaire de nombreuses cellules avec l'anticorps anti-NCAM. Toutes les cellules du cortex fœtal sont positives avec l'anticorps anti-P450 c21 et négatives avec les anticorps anti- 3 $\beta$ -HSD, anti-NCAM et anti-Ki67 comme dans une surrénale normale de même âge. Les cellules de la médullosurrénale étaient positives avec les anticorps anti-CgA anti-NCAM et anti-Ki-67. Les cellules des îlots de neuroblastes n'ont pas exprimé ni la 3 $\beta$ -HSD ni la P450 c21. Elles sont donc incapables de synthèse de stéroïdes comme dans une surrénale normale de même âge (**Figure 16**) et (**Figure 17**).





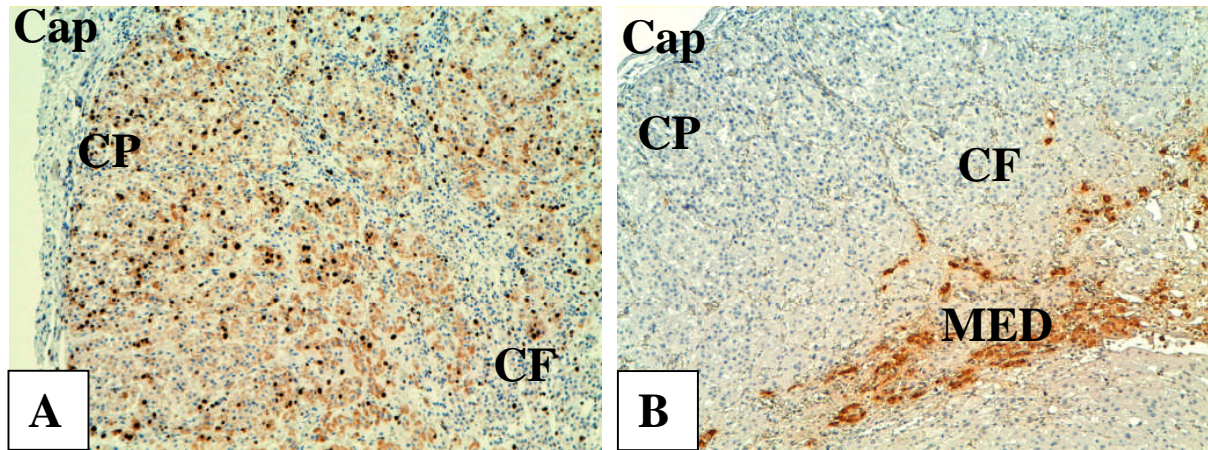
**Figure 15 : Aspect macroscopique et microscopique des surrénales du cas n° 3 comparées à des surrénales de même âge.**

*A – Aspect macroscopique hypoplasique des surrénales du cas n° 3 (a) avec des reins d'aspect macroscopique normal (b).*

*B – Aspect macroscopique normal des surrénales (a) et des reins (b) d'un fœtus de 25SD*

*C – Aspect microscopique de la surrénale du cas n° 3. Notez de l'extérieur vers l'intérieur : la capsule conjonctive (Cap), le cortex permanent (CP), le cortex fœtal (CF) et la médullosurrénale (MED). Coloration HE. Obj4.*

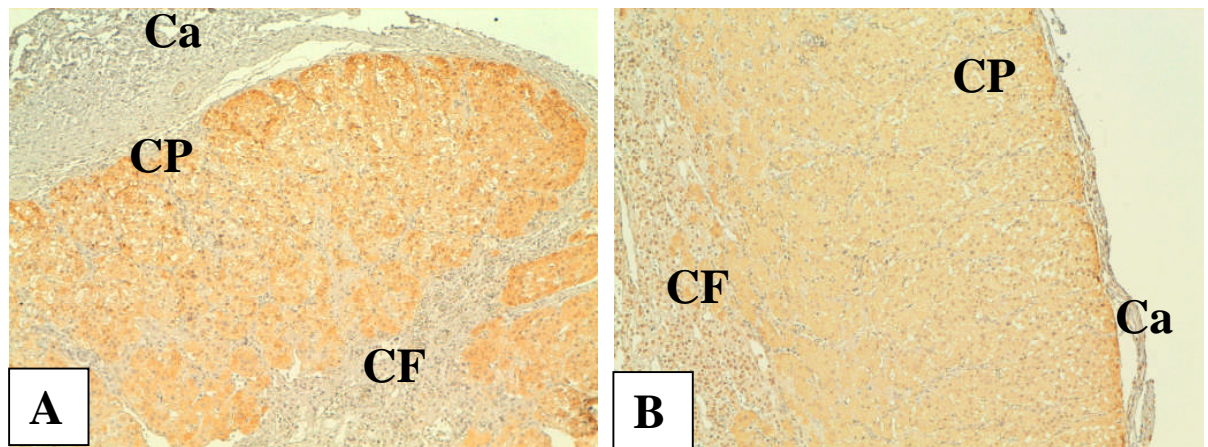
*D – Aspect microscopique normal de la surrénale d'un fœtus de 25SD. Notez de l'extérieur vers l'intérieur : la capsule conjonctive (Cap), le cortex permanent (CP), le cortex fœtal (CF) et la médullosurrénale (MED). Coloration HE. Obj4*



**Figure 16 : Etude immunocytochimique de la prolifération et de la différenciation de la surrénale du cas n° 3**

*A – Les cellules positives avec l'anticorps anti-Ki-67 dans le cortex permanent des surrénales du cas n° 3 sont nombreuses. Leur pourcentage est de 10 à 15%. Technique immunoperoxydase. Obj10B – Toutes les cellules de la médullosurrénale du cas n° 3 sont positives avec l'anticorps anti-CgA. Technique immunoperoxydase. Obj10*

*B – Toutes les cellules de la médullosurrénale du cas n° 3 sont positives avec l'anticorps anti-CgA. Technique immunoperoxydase. Obj10*



**Figure 17 : Etude immunocytochimique de la stéroïdogénèse de la surrénale du cas n° 3**

*A – Les cellules du cortex permanent (CP) de la surrénale du cas n° 3 présentent un marquage cytoplasmique avec l'anticorps anti-3β-HSD. Toutes les cellules du cortex fœtal (CF) sont négatives. Immunoperoxydase. Obj. 10*

*B – Les cellules du cortex permanent (CP) et du cortex fœtal (CF) ont présenté un marquage cytoplasmique avec l'anticorps anti-P450 c21. Technique immunoperoxydase. Obj10*

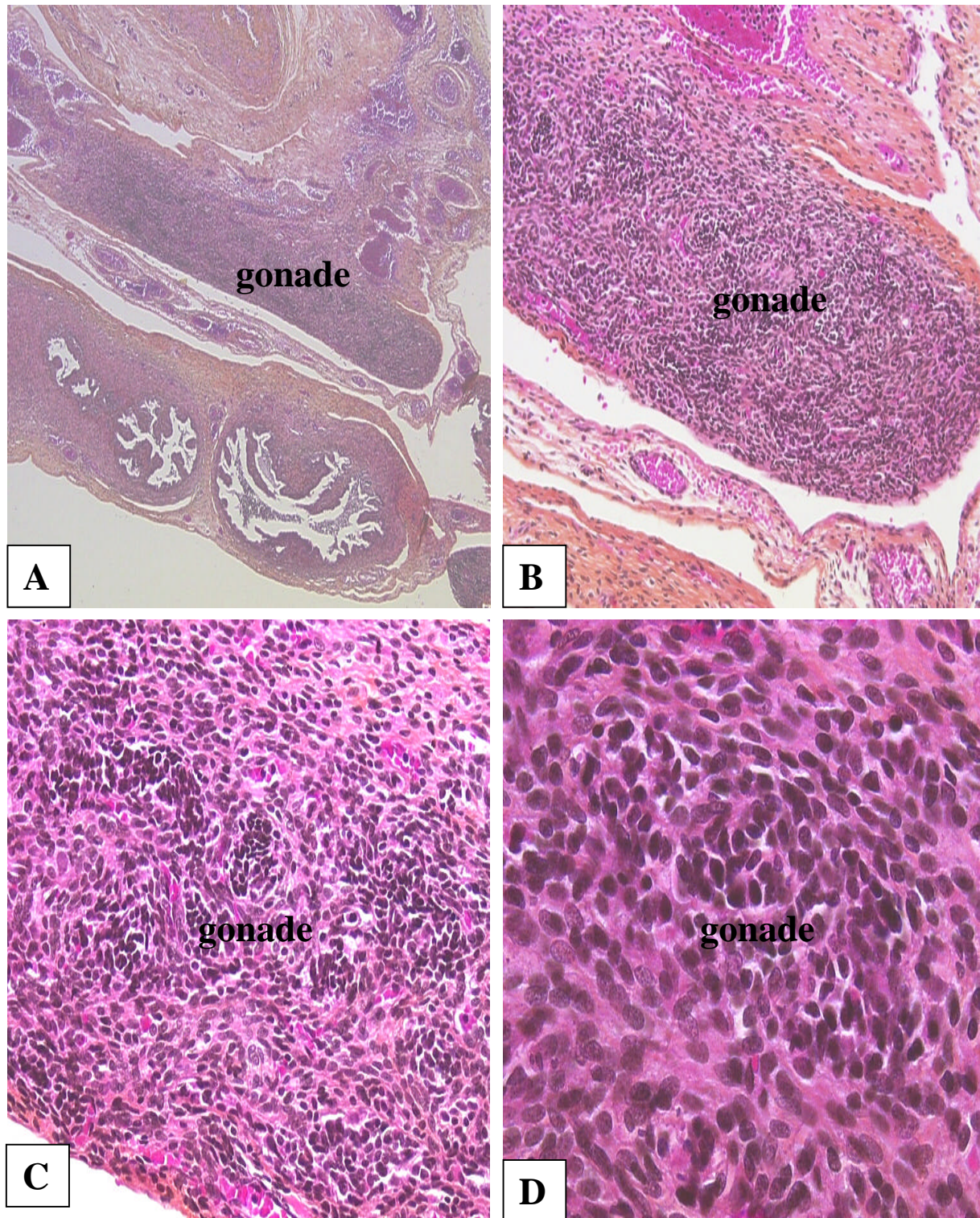


**Pour l'appareil génital**, les organes génitaux étaient de type féminin avec une vulve, un utérus et des trompes de Fallope (**Figure 18**). Pour ce qui concerne la gonade, il ne s'agissait ni du testicule, ni de l'ovaire mais d'une gonade hypoplasique et anormale (**Figure 19**).



**Figure 18 : Aspect macroscopique des organes génitaux internes du cas n° 3**

*Notez la présence d'un utérus d'aspect normal (a), de trompes de Fallope d'aspect normal (b) et de gonades très hypoplasiques et d'aspect anormal (c).*



**Figure 19 : Aspect microscopique de la gonade du cas n° 3**

*Quel que soit le grossissement considéré, on note la présence d'un stroma cellulaire sans cordons sexuels ni de follicules primordiaux. Il s'agit de bandelettes fibreuses ou « streak gonade ».*

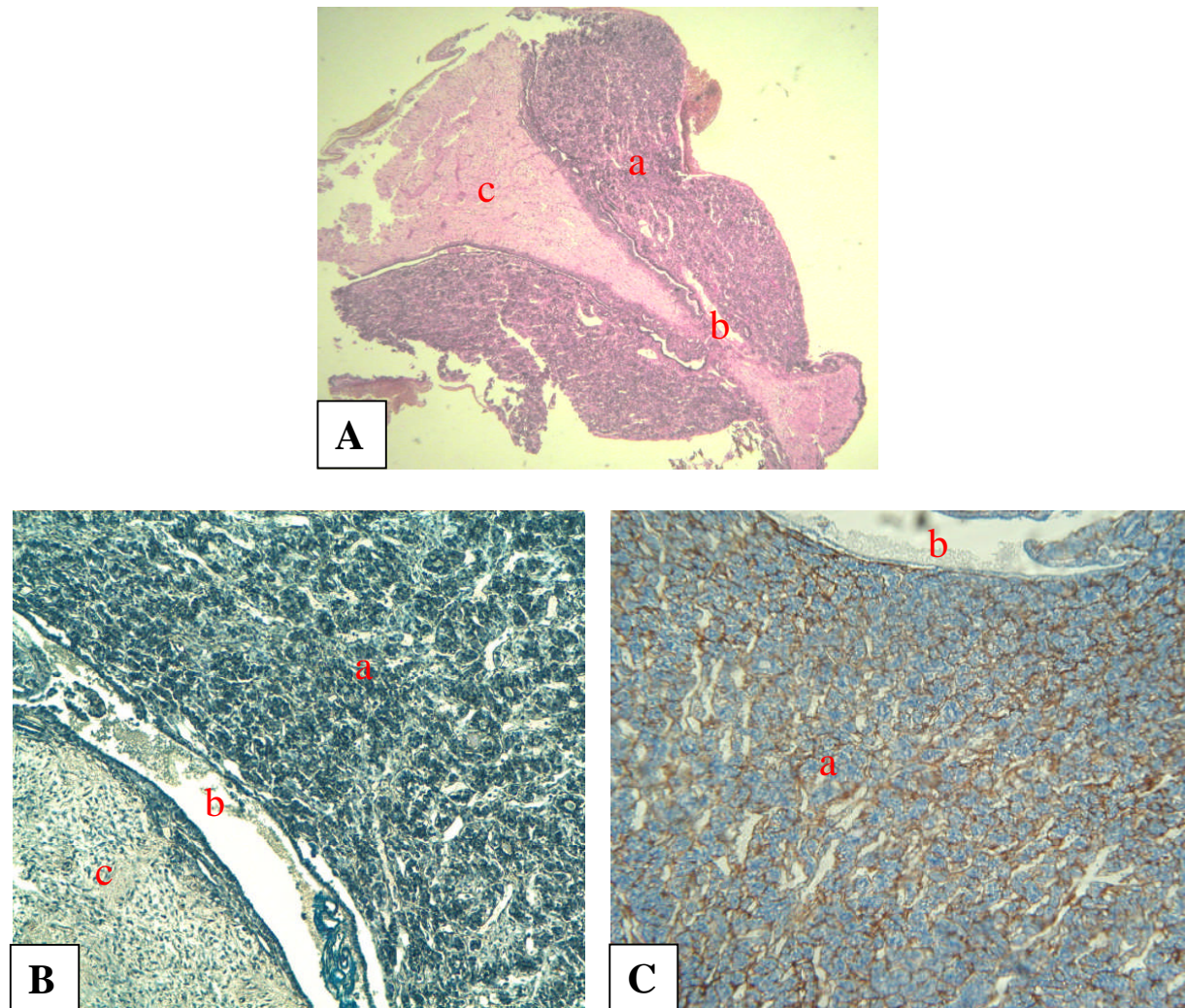
*A – Coloration HE. Obj4. B – Coloration HE. Obj10. C – Coloration HE. Obj20.*

*D – Coloration HE. Obj40.*



**Le cerveau** était normalement présent. On a noté une hémorragie intra-ventriculaire gauche et dans la fosse cérébrale postérieure, des lésions d'ischémie neuronale et une nécrose du lobe cérébelleux droit.

**L'hypophyse** était de taille et d'aspect histologique normaux, notamment la posthypophyse. Au tétrachrome d'Herlant et au PAS-Orange G, il a été observé d'exceptionnelles cellules orangeophiles mais pas de cellule basophile et PAS positive. L'étude immunocytochimique a noté : les lames basales des capillaires sont fortement positives avec l'anticorps anti-collagène IV et 80% des cellules sont positives avec l'anticorps anti-chromogranine A (**Figure 20**).



**Figure 20 : Aspect histologique de l'hypophyse du cas n° 3**

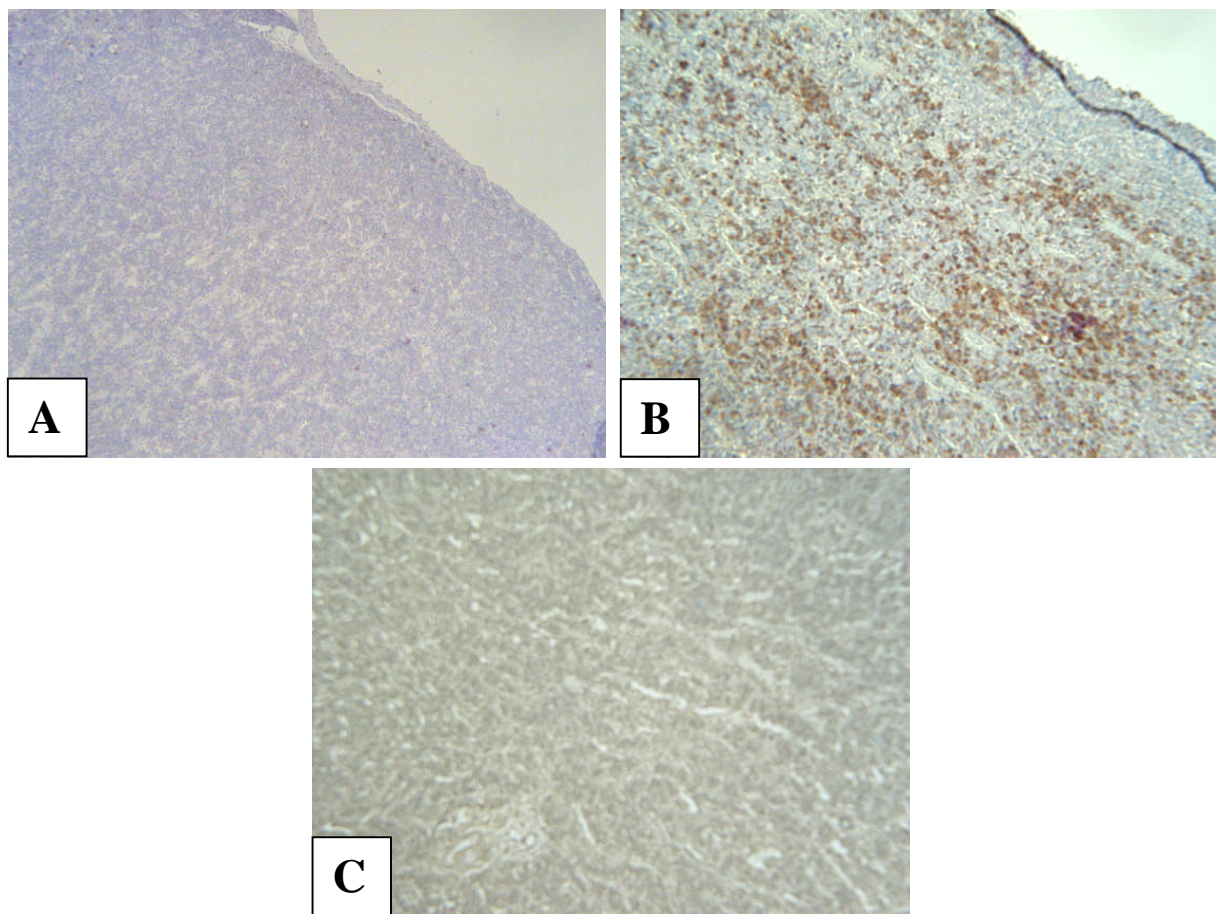
*A – Notez la présence de l'adénohypophyse (a), de la fente hypophysaire (b) et de la posthypophyse (c) Coloration HE. Obj4.*

*B – On n'observe aucune coloration orangée ou rouge. Notez l'architecture cordonale de l'adénohypophyse (a) formée de petites cellules à noyau arrondi. Coloration au Tétrachrome d'Herlant. Obj10.*

*C – Les lames basales des capillaires sont fortement positives avec l'anticorps anti-collagène IV. Technique immunopéroxydase. Obj10.*

Les cellules somatotropes de petite taille et les cellules à prolactine sont nombreuses et réparties dans toutes les régions de l'anté-hypophyse (somatotropes : 20%, témoin : 50% et cellules à prolactine : 30% ; témoin : 30%). Aucune cellule corticotrope positive avec l'anticorps anti-ACTH n'a été observée dans le lobe antérieur. Seules d'exceptionnelles cellules positives sont présentes dans le lobe intermédiaire. Toutes les cellules sont négatives avec l'anticorps anti- $\alpha$  SU et avec les anticorps anti- $\beta$ FSH, anti- $\beta$ LH et anti- $\beta$ TSH (fond aspécifique) (**Figure 21**) et (**tableau IV**).

Les cellules positives (marquage nucléaire) avec l'anticorps anti-PTX-1 sont nombreuses (cas: 40 à 50%, témoin : > 80%). De rares cellules présentent un marquage nucléaire avec l'anticorps anti-TPIT (1 à 2%) (Témoin : 5%.) (**Figure 22**), et (**tableau IV**).



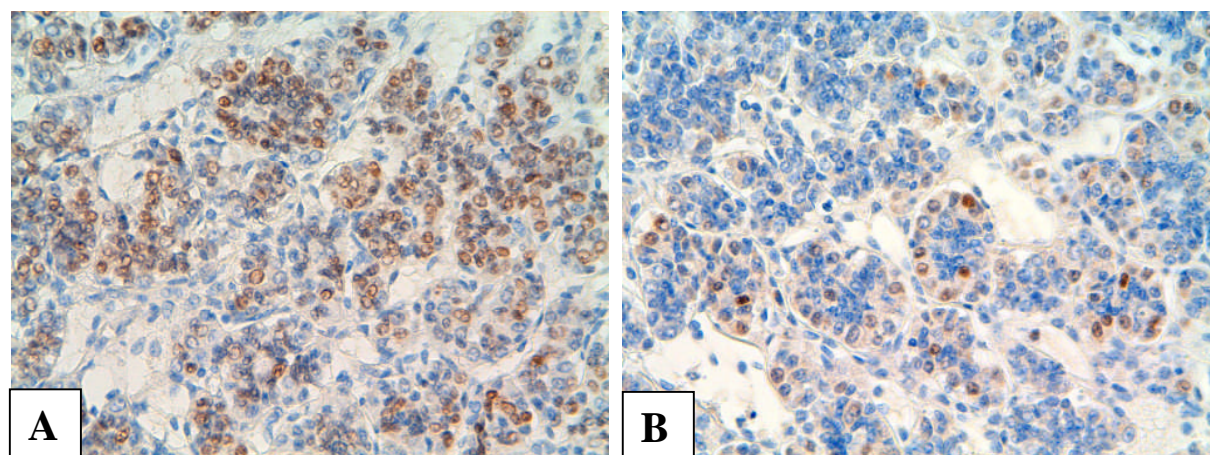
**Figure 21 : Immunocytochimie de l'hypophyse du cas n° 3**

*A – Les cellules de l'adénohypophyse du cas n° 3 sont négatives avec l'anticorps anti-ACTH. Technique immunoperoxydase. Obj10.*

*B – Dans l'adénohypophyse d'un foetus de 25SD (27SA), notez la présence de cellules positives avec l'anticorps anti-ACTH. Technique immunoperoxydase. Obj10.*

*C – Notez l'absence de cellules positives avec l'anticorps anti- $\beta$ LH dans l'adénohypophyse du cas n° 3. Technique immunoperoxydase. Obj10.*





**Figure 22 : Immunocytochimie de l'hypophyse du cas n° 3**

*A – Notez le marquage nucléaire de nombreuses cellules de l'adénohypophyse avec l'anticorps anti-PTX-1 (40 à 50%). Technique immunoperoxydase. Obj40*

*B– De rares cellules de l'adénohypophyse présentent un marquage nucléaire avec l'anticorps anti-Tpit (1 à 2%). Technique immunoperoxydase. Obj40*

**Tableau IV : Comparaison de la différenciation des cellules antéhypophysaires du cas n° 3 et d'un témoin de même âge à l'étude immunocytochimique.**

	<b>Cas</b>	<b>Témoin normal</b>
Cg A	80%	
GH	20%	50%
PRL	30%	30%
ACTH	0%	10%
$\alpha$ SU	0%	50%
$\beta$ LH	0%	15%
$\beta$ FSH	0%	15%
$\beta$ TSH	0%	15%
PTX-1	40 à 50%	80%
TPIT	1 à 2%	5%

L'examen macroscopique et histologique l'hypothalamus était normal et sans anomalie à l'étude immunocytochimique.

L'étude du caryotype a noté une formule chromosomique de 46,XY sans anomalie décelable. La recherche des mutations de *DAX-1*, de *SF-1*, de *SRY*, de *FGF9*, de *SOX2*, *SOX3*, *SOX5* et *SOX9* est négative.

Les prélèvements suivants ont été congelés: la moitié de la surrénale gauche, un fragment du rein droit, du muscle psoas, du foie, du poumon droit et de la rate.

Au total: Prématurée né à 26 SA + 6 jours (24SD + 6jours) par césarienne et décédée à J4 chez qui, l'examen nécropsique a noté :

- un RCIU majeur,
- une hypoplasie surrénalienne congénitale majeure,
- un sexe phénotypique féminin, un sexe génétique masculin, un sexe gonadique indéterminé, un sexe gonophorique féminin,
- une absence de différenciation des cellules corticotropes, gonadotropes et thyroïdiques hypophysaires. Une absence d'anomalie d'expression de *PTX-1* et *TPIT-1*.
- et une absence de mutations de *DAX-1*, de *SF-1*, de *SRY*, de *FGF9*, de *SOX2*, *SOX3*, *SOX5* et *SOX9*.

**Tableau V : Principaux caractères cliniques, pathologiques et génétiques des trois cas.**

	<b>Cas n° 1</b>	<b>Cas n° 2</b>	<b>Cas n° 3</b>
<b>Age</b>	NN à terme, mort à 15h de vie	NN à terme, mort à 20h de vie	Prématuré de 26 SA + 6 jours mort à 4j de vie
<b>Sexe</b>	Masculin	Masculin	Féminin
<b>Poids de naissance</b>	3660g (eutrophique)	3220g (eutrophique)	586g (RCIU)
<b>Antécédents familiaux</b>	Non précisés	Stérilité primaire	Non précisés
<b>Nature du décès</b>	Mort subite	Mort subite	Mort dans un contexte de convulsion
<b>Examen externe</b>	Normal	Dysmorphie faciale	Normal
<b>Surrénales</b>			
Poids	0,5g (N : 5,1+/-1g)	0,4g (N: 5,1+/-1g)	0,1g (N : 1,1g)
CF	Réduit	Absent	Présent
CP	Présent	Présent	Présent
MED	Présente	Présente	Présente
<b>Appareil génital</b>	Masculin avec testicules et pénis normaux	Masculin avec testicules normaux et hypoplasie de la verge	Féminin avec vulve, utérus et trompes normaux et gonades indifférenciées sans cellules germinales
<b>Caryotype</b>	Non fait	46, XY	46, XY
<b>Système nerveux central</b>			
<b>Hypothalamus</b>	Non étudié	Neurones vacuolisés	Normal
<b>Hypophyse</b>	Hypoplasie	Hypoplasie	Hypoplasie
Histologie	Posthypophyse absente	Posthypophyse absente	Normale
<b>Différenciation cellulaire</b>			
C corticotropes	5% (N : > 5%)	< 1% (N : > 5%)	0% (N : > 5%)
C somatotropes	10% (N : 40%)	40% (N : 40%)	20% (N : 50%)
C prolactine	30% (N : 30%)	30% (N : 30%)	30% (N : 30%)
C thyroïdiques	< 1% (N : < 1%)	< 1% (N : < 1%)	0% (N : 15%)
C gonadotropes	0% (N : > 5%)	0% (N : > 5%)	0% (N : > 5%)
C TPIT-1	1 à 2% (N : 5%)	1 à 2% (N : 5%)	1 à 2% (N : 5%)
C PTX-1	Non fait	Non fait	40 à 50% (N : 80%)
<b>Radiographie</b>	Squelette normal	Squelette normal	Squelette normal
<b>Mutations</b>			
<i>DAX-1</i>	ND	Négative	Négative
<i>SF-1</i>	ND	Négative	Négative
<i>SRY</i>	ND	ND	Négative
<i>FGF9</i>	ND	ND	Négative
<i>SOX2</i>	ND	ND	Négative
<i>SOX3</i>	ND	ND	Négative
<i>SOX5</i>	ND	ND	Négative
<i>SOX9</i>	ND	ND	Négative



**Tableau VI : Hypoplasie surrénale congénitale de type anencéphalique : revue de la littérature.**

<b>Auteurs (ann)</b>	<b>Age</b>	<b>Sexe</b>	<b>SNC</b>	<b>Surrénales</b>	<b>Hypophyse</b>	<b>App. génital</b>
<b>Welsh 1954</b>	NN	F	Normal	Absente et hypoplasique	Normale	Nm
<b>Mosier 1956</b> - Cas n° 1 - Cas n° 2	NN NN	F F	Normal Normal	Hypoplasiques Hypoplasiques	Nm Normal	Nm Normal
<b>Williams 1956</b> - Cas n° 1 - Cas n° 2	4 se 2 j	M F	Nm Nm	Hypoplasiques Hypoplasiques	Nm Nm	Nm Nm
<b>Brewer 1957</b>	4 j	F	Normal	Hypoplasiques	Absente	Normal
<b>Reid 1960</b>	NN	M	Normal	Hypoplasiques	Absente	Normal
<b>Roselli 1965</b> - Cas n° 1 - Cas n° 2	NN NN	F F	Nm Nm	Hypoplasiques Hypoplasiques	Hypoplasique Hypoplasique	Nm Nm
<b>Dunn 1965</b>	18 h	F	An. vascul.	Absentes	Absente	Nm
<b>O'Donohoe 1968</b> - Cas n° 1 - Cas n° 2	15m 28 h	F M	Nm Normal	Hypoplasiques Hypoplasiques	Normale Normale	Normal Normal
<b>Zondek 1968</b>	6 se	M	Normal	Hypoplasiques	Nm	Normal
<b>Favara 1972</b> 10 cas	9h à 2ans	2 F 8 M	Normal Normal	Hypoplasiques Sauf 1	Normale Normale	Normal Normal
<b>Moncrieff 1972</b>	5 j	M	Normal	Hypoplasiques	Absente	Normal
<b>Laverty 1973</b> 10 cas	NN à 24 j	6 M 4 F	Normal Hémorragie	Hypoplasiques Hypoplasiques	Normale Normale	Nm Nm
<b>Russel 1977</b>	9 m	F	Normale	Hypoplasiques	Normale	Nm
<b>Kauschansky 1979</b> Cas n° 1 Cas n° 2	13 j 18 h	F F	Normal Oedème cérébral	Hypoplasiques Hypoplasique à g et absente à dt	Absente Absente	Normal Normal
<b>Babala 1982</b> - Cas n° 1 - Cas n° 2	NN NN	F F	Nm Nm	Hypoplasiques Hypoplasiques	Aplasique Hypoplasique	Nm Nm
<b>Newman 1988</b>	NN	F	Nm	Hypoplasiques	Absente	Nm
<b>Blizzard 1956</b>	NN	M	Normal	Hypoplasique	Absente	Micropénis, testicule pelvien
<b>Burke 1988</b> - Cas III-3 - Cas III-4 - Cas III-5	14j 4j 13j	F M F	Anoxie Normal Normal	Hypoplasiques Hypoplasiques Hypoplasiques	Normale C LH absente Normale C LH absente Hypoplasique C LH absente	Normal Micropénis Follicules absents
<b>Bourgeois 1989</b> - Cas n° 1 - Cas n° 2	NN NN	M M	Normal Normal	Hypoplasiques Hypoplasiques	Absente Présente	Micropénis Micropénis
<b>Cas personnels</b> - Cas n° 1 - Cas n° 2	15h 20h	M M	Anoxie Vacuoles neuronales	Hypoplasiques Hypoplasiques	Hypoplasique C. $\beta$ FSH= 0 C. $\beta$ LH= 0 C. $\alpha$ SU = 10% Hypoplasique C. $\beta$ FSH= 0 C. $\beta$ LH= 0 C. $\alpha$ SU = 10%	Normal Micropénis

# **DISCUSSION**

Les objectifs de notre travail étaient d'étudier le développement de la surrénale humaine, d'identifier les différentes protéines spécifiques exprimées au cours du développement et de déterminer leurs éventuelles anomalies dans l'hypoplasie congénitale des surrénales. Nous avons ainsi déterminé les caractéristiques histologiques et moléculaires des différentes zones de la surrénale fœtale humaine. Nous avons étudié la cinétique de la prolifération, de la différenciation cellulaires et la migration cellulaire de chacune de ces zones. Les techniques histologiques modernes et de biologie moléculaire ont été appliquées dans trois cas d'hypoplasie congénitale des surrénales, associant des anomalies hypophysaires et gonadiques, pour comprendre la pathogénie de cette dysembryoplasie. Il s'agit de deux cas d'hypoplasie congénitale des surrénales de type anencéphalique, avec anomalies hypophysaires et d'un cas, non encore décrit, associant un RCIU, une hypoplasie congénitale des surrénales, une ambiguïté sexuelle et des anomalies de différenciation gonadique et hypophysaire.

## **I – Etude morphofonctionnelle et moléculaire de la surrénale fœtale normale**

Pour cette étude, nous avons sélectionné les fœtus n'ayant pas présenté de pathologie pouvant influencer le développement surrénalien normal (comme les pathologies chromosomiques, les anencéphalies et les grossesses multiples) ou n'ayant pas présenté de phénomènes pouvant modifier la structure des surrénales (comme la souffrance fœtale, la macération et la congestion). Ces critères de sélection ne sont pas toujours aussi rigoureux. Dans certaines études, seuls les fœtus anencéphales ont été éliminées (Spencer et al. 1999) et Gaillard et al. (Gaillard et al. 1990). Nous présentons ici la plus importante série de surrénales humaines normales (n = 119). Dans les 3 études récentes comparables à la nôtre, le nombre de cas reste inférieur : 31 (Narasaka et al. 2001), 25 (Spencer et al. 1999) et 7 (Coulter et al. 1998). La répartition des cas selon l'âge nous a permis d'établir une cinétique précise des différents phénomènes observés.

L'ensemble de nos résultats sur la croissance des surrénales corroborent ceux de la littérature (Langlois et al. 2002 ; Mesiano et al. 1997 ; Gaillard et al. 1990 ; Carr et al. 1982 ; Tanimura et al. 1971). En effet dans la littérature comme dans notre série, la croissance des surrénales et des reins est très rapide au premier trimestre puis ralentit à partir du 4<sup>ème</sup> mois pour les surrénales et au 7<sup>ème</sup> mois pour les reins. Notre étude sur la différence de poids entre la surrénale droite et la surrénale gauche et l'absence de différence entre le sexe confirme les constations faites par Gaillard et al (Gaillard et al. 1990).

Nous avons retrouvé sur le plan histologique et cytologique les deux zones et les deux types de cellules de la corticosurrénale décrits par tous les auteurs: le cortex permanent, externe, formé de petites cellules arrondies et basophiles et le cortex fœtal, interne, dont les volumineuses cellules éosinophiles, à limites floues, présentent un volumineux noyau nucléolé. D'après nos résultats, seules les cellules du cortex permanent prolifèrent entre 12<sup>ème</sup> et la 25<sup>ème</sup> SD. Ils sont en contradiction avec ceux de Spencer et al (Spencer et al. 1999) qui affirment que les cellules du cortex permanent et les cellules du cortex fœtal prolifèrent. Or ces auteurs ont détecté le PCNA, marqueur nucléaire de prolifération sur des surrénales fixées au formol. On sait que cet anticorps anti-PCNA donne des réactions aspécifiques sur des tissus fixés au formol. D'après nos observations, basées sur la détection du Ki-67 avec un anticorps spécifique sur tissu fixé au formol ou au bouin, les cellules en prolifération du cortex fœtal sont des cellules endothéliales ou des neuroblastes en migration.

Les cellules du cortex permanent expriment la 3 $\beta$ -HSD dès la 12<sup>ème</sup>SD et cette expression augmente progressivement avec l'âge. Ces cellules ont donc la capacité de synthèse des minéralocorticoïdes et ou des glucocorticoïdes. Les cellules du cortex fœtal

n'expriment à aucun moment la  $3\beta$ -HSD. Si nos résultats sur la localisation immunocytochimique de la  $3\beta$ -HSD corroborent ceux de la littérature (Dupont et al. 1990 ; Mesiano et al. 1993 ; Narasaka et al. 2001), la cinétique de l'expression de cette enzyme clé de la stéroïdogénèse est différente. Pour les auteurs qui ont utilisé l'immunocytochimie (Mesiano et al. 1993 ; Narasaka et al. 2001), l'hybridation in situ (Mesiano et al. 1993), le Northern blot et la PCR-RT par Voutilainen in (Mesiano et al. 1993), la  $3\beta$ -HSD est presque indétectable entre la 14<sup>ème</sup> et la 20<sup>ème</sup> SD. Dans ces études immunocytochimiques, l'anticorps primaire est dilué à 1/1000 (Narasaka et al. 2001) et à 1/2000 (Mesiano et al. 1993). Dans notre étude, l'anticorps primaire est dilué à 1/40000. Nous pensons que l'anticorps que nous avons utilisé est plus sensible et a permis de détecter un faible niveau d'expression. Pour les techniques de détection d'ARN, se pose le même problème de seuil de détection et de conservation des acides nucléiques. En tenant compte de toutes ces données, nous pouvons dire que l'activité de la  $3\beta$ -HSD est présente depuis la 12<sup>ème</sup> SD dans le cortex permanent, mais que son niveau d'expression est faible. Cette activité augmente avec l'âge pour devenir forte à partir de la 21<sup>ème</sup> SD. Nous confirmons que les cellules du cortex permanent et du cortex fœtal expriment la P450 c21. Ces résultats sont conformes aux données de la littérature (Narasaka et al. 2001 ; Coulter et al. 1998). Outre la  $3\beta$ -HSD, les cellules externes du cortex permanent expriment également une protéine d'adhérence, la NCAM. Entre cette région externe du cortex permanent, intensément positif avec l'anticorps anti-NCAM et le cortex fœtal négatif, il existe une zone intermédiaire formée de volumineuses cellules faiblement marquées (14<sup>ème</sup> – 17<sup>ème</sup> SD), puis négatives (à partir de la 19<sup>ème</sup> SD) avec la NCAM ; les cellules de cette zone intermédiaire deviennent positives avec l'anticorps anti-  $3\beta$ HSD à partir de la 21<sup>ème</sup> SD. En tenant compte de ces données morphofonctionnelles, nous pensons que cette zone « intermédiaire » n'est pas une zone de transition, mais plutôt une zone de différenciation morphofonctionnelle du cortex permanent. De plus nous n'avons pas observé de phénomène de migration des cellules du cortex permanent externe vers le cortex permanent profond, ni vers le cortex fœtal, comme on l'observe pour les neuroblastes. Notre étude ne nous a pas permis de préciser s'il existe une relation morphofonctionnelle entre le cortex permanent et le cortex fœtal.

Il existe donc deux populations très différentes de cellules dans la corticosurrénale fœtale. Les cellules du cortex permanent qui vont donner la zone glomérulée et les zones fasciculée et réticulée de la corticosurrénale adulte ; les cellules du cortex fœtal vont disparaître.

Nous avons constaté que la répartition de la médullosurrénale est variable selon le niveau de coupe et l'âge (Carnay 1992). Cette répartition inégale rend difficile son étude et pourrait expliquer la rareté des travaux sur cette partie de la surrénale humaine fœtale. Sur le plan histologique et cytologique, nous avons retrouvé les trois types cellulaires de la médullosurrénale fœtale : les neuroblastes immatures, les neuroblastes matures et les cellules sustentaculaires (Cooper et al. 1990 ; Diaz-Flores et al. 2008). Tous les neuroblastes expriment une protéine d'adhérence, la NCAM (Poltorak et al. 1990 ; Diaz-Flores et al. 2008).

Nous avons montré, pour la première fois, que certaines cellules médullosurréaliennes expriment la NCAM mais pas la CgA et prolifèrent, comme en témoigne l'index de marquage élevé du Ki-67: ce sont des neuroblastes immatures en voie de prolifération. D'autres expriment la NCAM et la Cg A, mais ne prolifèrent pas (index de marquage du Ki-67 à 0): ce sont des neuroblastes matures. D'autres encore expriment la NCAM et la protéine S100, mais pas la CgA : ce sont des cellules sustentaculaires. Les cellules de la médullosurrénale n'expriment ni la  $3\beta$ -HSD ni la P450 c 21. Elles ne sont donc pas capables de synthétiser ni les minéralocorticoïdes, ni les glucocorticoïdes.

## II – Les trois cas d’hypoplasie congénitale des surrénales :

D’après les données actuelles de la littérature, avec la découverte des gènes, la classification des hypoplasies congénitales des surrénales est faite sur les données cliniques et morphologiques et génétiques. Actuellement, on décrit deux groupes d’hypoplasie congénitale des surrénales. Le premier groupe est représenté par l’hypoplasie congénitale des surrénales par atteinte gluco-minéralocorticoïdes qui comporte l’hypoplasie congénitale des surrénales liée à l’X par mutation du gène *DAX-1* ou l’hypoplasie congénitale des surrénales de type cytomégalique, l’hypoplasie congénitale des surrénales autosomique dominante par mutation de *SF-1*, le syndrome IMAGE (Intra uterin growth retardation, Metaphyseal dysplasia, Adrenal hypoplasia, Genital anomaly) et l’hypoplasie congénitale des surrénales de type anencéphalique ou forme miniature. Le deuxième groupe est représenté par l’hypoplasie congénitale des surrénales par atteinte isolée des glucocorticoïdes dont l’hypoplasie congénitale des surrénales liée à une atteinte des récepteurs à l’ACTH, le syndrome de triple AAA, l’hypoplasie congénitale des surrénales liée à une mutation de *TPIT* et l’hypoplasie congénitale des surrénales liée à *CITED2*. D’après les données cliniques et paracliniques, nos deux premières observations (cas n° 1 et cas n°2) entrent dans le cadre de l’hypoplasie congénitale des surrénales par atteinte glucominéralocorticoïdes. Elles répondent aux principaux critères de l’hypoplasie congénitale des surrénales de type anencéphalique ou forme miniature avec quelques caractères particuliers. En effet, il s’agissait de nouveaux-nés à terme, de sexe masculin, décédé d’une mort subite dans les premiers jours de vie, dans un contexte d’insuffisance surrénale majeure. A l’examen autopsique, le système nerveux central était normal, les surrénales étaient hypoplasiques avec un cortex fœtal réduit ou absent et un cortex permanent d’épaisseur normale et sans zonation particulière. L’hypophyse était hypoplasique dans les deux observations avec une absence de la posthypophyse et une anomalie de différenciation cytologique antéhypophysaire avec absence de différenciation du type gonadotrope. Il n’y avait pas d’anomalie d’expression de *PTX-1*, ni de *TPIT*. La recherche de la mutation de *SF-1* et de *DAX-1* était négative. On notait un micropénis dans le cas n° 2. Dans une revue de la littérature, nous avons dénombré 46 cas d’hypoplasie congénitale des surrénales de type anencéphalique ou forme miniature dont 23 de sexe féminin et 23 de sexe masculin (Welsh et al. 1954 ; Williams et al. 1956 ; Mosier et al. 1956 ; Blizzard et al. 1956 ; Brewer et al. 1957 ; Reid et al. 1960 ; Roselli et al. 1965 ; Dunn et al. 1965 ; Zondek et al. 1968 ; O’Donohoe et al. 1968 ; Moncrieff et al. 1972 ; Favara et al. 1972 ; Laverty et al. 1973 ; Russel et al. 1977 ; Kauschansky et al. 1979 ; Babala et al. 1982 ; Newman et al. 1988 ; Burke et al. 1988 ; Bourgeois et al. 1989). Neuf cas familiaux sont répartis en trois familles. Il s’agit d’une insuffisance surrénalienne néonatale, le plus souvent majeure. Les surrénales sont toujours hypoplasiques, avec disparition du cortex fœtal et avec un cortex permanent peu développé. L’hypophyse n’est le plus souvent étudiée que macroscopiquement (42 cas) et n’est considérée comme pathologique que dans douze cas (Blizzard et al. 1956 ; Brewer et al. 1957 ; Reid et al. 1960 ; Roselli et al. 1965 ; Moncrieff et al. 1972 ; Kauschansky et al. 1979 ; Babala et al. 1982 ; Bourgeois et al. 1989 ; Burke et al. 1988). Nos deux observations ressemblent aux 6 cas décrits par Blizzard et al. (Blizzard et al. 1956), Bourgeois et al. (Bourgeois et al. 1989) et Burke et al. (Burke et al. 1988). Si on ajoute nos deux cas personnels, cela fait au total huit patients, six garçons et deux filles, tous décédés subitement dans la période néonatale (8h à 14 jours de vie). L’hypoplasie surrénalienne de type cytomégalique et de type anencéphalique sont bien des entités différentes. La transmission est récessive lié au sexe dans le type cytomégalique. L’hypoplasie surrénalienne de type anencéphalique est le plus souvent sporadique ou de transmission récessive autosomique. Nos deux cas sont de sexe masculin et non apparentés. L’enquête génétique n’a pas été réalisée. L’hypoplasie surrénale avec absence de cellules gonadotropes est-elle une

entité (Burke et al 1988)? Est-ce une anomalie commune à tous les cas d'hypoplasie surrénale de type anencéphalique? Existe-t-il aussi une absence de cellules gonadotropes dans l'hypoplasie surrénalienne de type cytomégalique, associée à un hypogonadisme hypogonadotrophique. La LH a-t-elle un rôle dans l'embryogenèse surrénalienne? Dès 1956, Gardner suggéra que la persistance du cortex fœtal était sous la dépendance d'une LH-like hormone hypophysaire (Gardner 1956). Cette hypothèse ancienne a été récemment confirmée. En effet chez des souris femelles transgéniques surexprimant la  $\beta$ -LH, on observe une hyperplasie des surrénales avec disparition du cortex fœtal, une hypersécrétion stéroïdienne et une augmentation des récepteurs à l'HCG (Kero et al. 2000). Ainsi la LH contrôlerait la croissance et la sécrétion de la corticosurrénale et la régression du cortex fœtal. L'absence de la posthypophyse pourrait être aussi la cause.

Dans la classification actuelle des hypoplasies surrénales congénitales, à quel tableau notre cas n°3 correspond-il ? Il s'agissait d'un prématuré, né à 24 SA + 6 jours par césarienne et décédé à J4 dans un tableau d'insuffisance surrénale aiguë. A l'examen nécropsique il a été noté : un RCIU majeur, une hypoplasie surrénalienne congénitale majeure avec présence du cortex permanent, du cortex fœtal, de la médullosurrénale, un sexe phénotypique féminin, un sexe génétique masculin, un sexe gonadique indéterminé, un sexe gonophorique féminin, une absence de différenciation des cellules corticotropes, gonadotropes et thyrotropes hypophysaires. Toutes ces anomalies ont-elle la même et unique cause génétique ou s'agit-il d'un syndrome polymalformatif impliquant des anomalies génétiques diverses ?

L'hypoplasie des surrénales peut entrer dans le cadre général du RCIU ou être en relation avec l'absence de différenciation des cellules corticotropes hypophysaires. Cette hypoplasie surrénalienne n'est ni de type anencéphalique, ni de type cytomégalique. En effet, à l'examen histologique des surrénales le cortex permanent et fœtal était présent ainsi que la médullosurrénale. Cette hypoplasie surrénalienne n'entre pas dans le cadre de l'hypoplasie congénitale des surrénales avec déficit en glucomineralocorticoïdes, ni dans celui de l'hypoplasie congénitale des surrénales avec déficit isolé en glucocorticoïdes. L'étude génétique très complète a été négative : absence d'anomalie d'expression de *PTX-1* et *TPIT-1* et absence de mutations de *DAX-1*, de *SF-1*, de *SRY*, de *FGF9*, de *SOX2*, *SOX3*, *SOX5* et *SOX9*.

Au total, cette observation n°3 ne répond à aucun type connu d'hypoplasie congénitale des surrénales. Elle peut faire partie d'un nouveau syndrome. La complexité de cette observation suggère l'existence de nouveaux gènes et/ou de mécanismes encore inconnus dans l'embryologie normale surrénalienne, gonadique et hypophysaire. Les efforts conjugués des foetopathologistes, des histo-embryologistes et des généticiens permettront d'expliquer cette pathologie complexe de l'embryologie surrénalienne, gonadique et hypophysaire et de trouver un ou plusieurs gènes intervenant dans la différenciation précoce du mésoblaste intermédiaire à l'origine de la gonade et de la surrénale et dans la différenciation de l'hypophyse et de l'hypothalamus comme *SF-1*.

# CONCLUSION

Au terme de notre étude nous pouvons faire les constatations suivantes :

Cinq siècles après la première description de la glande surrénale par Eustachi en 1563, son développement normal et pathologique suscite encore l'intérêt.

Cette étude cinétique et cytofonctionnelle du développement de la surrénale humaine de la 12<sup>ème</sup> à la 36<sup>ème</sup> SD apporte de nouvelles connaissances :

Pour la corticosurrénale

- de la 12<sup>ème</sup> à la 25<sup>ème</sup> SD, seules les cellules du cortex permanent prolifèrent. Elles expriment une protéine d'adhérence (la NCAM), et les enzymes de la stéroïdogénèse (3 $\beta$ -HSD et la P450 c21) à partir de la 12<sup>ème</sup> SD ; elles ont donc la capacité de synthétiser des minéralocorticoïdes et / ou de cortisol. Par contre les cellules du cortex fœtal ne prolifèrent pas et n'expriment ni la 3 $\beta$ -HSD ni la NCAM.

- à partir de la 14<sup>ème</sup> SD, on observe une zone « intermédiaire » qui pourrait être une zone de différenciation du cortex permanent dont les cellules expriment la 3 $\beta$ -HSD à partir de la 21<sup>ème</sup> SD.

Pour la médullosurrénale

Elle est formée de :

- neuroblastes immatures qui prolifèrent, expriment une protéine d'adhérence (NCAM) et sont négatifs avec l'anticorps anti chromgranine A
- neuroblastes matures qui ne prolifèrent pas, expriment une protéine d'adhérence (NCAM), et sont positifs au marqueur de la neurodifférenciation (chromogranine A)
- cellules sustentaculaires positives avec l'anticorps anticorps anti- protéine S-100 et qui ne sont pas visibles à l'étude histologique classique.

Les neuroblastes prolifèrent au cours de leur migration pour la formation de la future médullosurrénale avant leur différenciation en cellules neuroendocrines Cg-A fortement positives. Cette prolifération s'arrête à la 21<sup>ème</sup> SD. Les neuroblastes et cellules sustentaculaires n'expriment ni la 3 $\beta$ -HSD, ni la P450 c21. Ils ne peuvent pas synthétiser ni les minéralocorticoïdes ni les glucocorticoïdes. La mise en place de la médullosurrénale au centre de la glande débute au 4<sup>ème</sup> mois de grossesse.

A la lumière des connaissances nouvelles en Biologie Moléculaire et d'une revue complète de la littérature sur l'hypoplasie surrénale congénitale de type anencéphalique, nous avons recherché de nouvelles anomalies dans trois cas complexes d'hypoplasie congénitale des surrénale avec anomalies gonadiques et hypophysaires. L'étude négative de tous les gènes connus, suggère l'existence de nouveaux gènes et/ou de mécanismes encore inconnus dans l'embryologie normale surrénalienne, gonadique et hypophysaire. Cette étude souligne l'importance de l'analyse pluridisciplinaire de ces observations exceptionnelles. Les efforts conjugués des foetopathologistes, des histo-embryologistes et des généticiens permettront de faire progresser la connaissance sur cette pathologie.



## Références Bibliographiques

**Achermann JC., Ozisik G., Ito M., Orun UA., Hamanci K., Gurakan B., Jameson JL.** Gonadal determination and adrenal development are regulated by the orphan nuclear receptor steroidogenic factor-1, in dose- dependent manner. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87 :1829-1833.

**Babala VJ., Brozman M., Halamova V.** Kongenitale läsion der neurohypophyse mit nebennierenhypoplasie. *Zentralbl Pathol* 1982; 126:277-285.

**Bakke M., Zhao L., Hanley NA., Parker KL.** *SF-1*: a critical mediator of steroidogenesis. *Mol Cell Endocrinol* 2001; 171 : 5-7.

**Barboux S., Niaudet P., Gubler MC., Grünfeld JP., Jaubert F., Kuttent F., Fékété CN., Souleyreau-Therville N., Thibaud E., Fellous M., McElreavey K.** Donor splice-site mutations in *WT1* are responsible for Frasier syndrome. *Nat Genet* 1997; 17: 467-470.

**Birk OS, Casiano DE, Wassif CA, Cogliati T, Zhao L, Zhao Y, Grinberg A, Huang S, Kreidberg JA, Parker KL, Porter FD, Westphal H.** The *LIM* homeobox gene *Lhx9* is essential for mouse gonad formation. *Nature* 2000; 403 : 909-13.

**Birnbacher R., Amann G., Breitschopf H., Lassmann H., Suchanek G., Heinz Erian P.** Cellular localization of insulin-like growth factor II mRNA in the human fetus and placenta: detection with a digoxigenin-labeled cRNA probe and immunocytochemistry. *Pediatr Res* 1998; 43 : 614-620.

**Blizzard RN. and Albert M.** Hyperpituitarism, hypoadrenalism and hypogonadism in the newborn infant. *J Pediatr* 1956; 48 : 782-792.

**Bocian-Sobkowska J, Wozniak W, Malendowicz LK, Ginda W.** Stereology of human fetal medulla. *Histol Histopathol* 1996; 11: 389-393.

**Bonhomme J.** L'insuffisance surrénale familiale (Etude clinique, nosologique et génétique). Thèse Lyon. 1971; 150 pages.

**Bourgeois MJ., Jones B., Waagner DC. and Dunn D.** Micropenis and congenital adrenal hypoplasia. *Am J Perinatol* 1989; 6 : 69-71.

**Breault L., Lehoux JG., Gallo-Payet N.** Angiotensin II receptors in the human adrenal gland. *Endocr Res.* 1996; 22 : 355-361.

**Breault L., Chamoux E., Lehoux JG., Gallo-Payet N.** The role of angiotensin II in human adrenal gland development. *Endocr Res* 1998; 24 : 953-954.

**Brewer DB.** Congenital absence of the pituitary gland and its consequences. *J Pathol Bacteriol* 1957; 73: 59-67.

**Burke BA., Wick MR., King R., Thomson T., Hansen J., Darrae BT.** Congenital adrenal hypoplasia and selective absence of pituitary luteinizing hormone: a new autosomal recessive syndrome. *Am J Med Genet* 1988; 31:75-97.

**Burrows HL., Douglas KR., Seasholtz AF., Camper SA.** Genealogy of the anterior pituitary gland : tracing a family tree. *Trends Endocrinol Metab* 1999; 10 :343-352.

**Carnay JA.** Adrenal gland. *Histology for Pathologist*. Edited by Stephen S. Sternberg. Raven Press. Ltd; New York c 1992.

**Carr BR., Casey ML.** Growth of adrenal gland of the normal fetus during early gestation. *Early Hum Devel* 1982; 4: 121 – 124.

**Catala M.** Embryologie, développement précoce chez l'humain. Paris : Masson ; 2003.

**Catala M., Trouillas J.** Embryologie de l'hypophyse humaine. *Endocrinologie-Nutrition*. EMC, Elsevier 2006 10-017-A-10.

**Chamoux E., Breault L., Lehoux JG., Gallo-Payet N.** Involvement of angiotensin II type 2 receptor in apoptosis during human fetal adrenal gland development. *J Endocrinol Metab* 1999; 84 : 4722-4730.

**Chamoux E., Bolduc L., Lehoux JG., Gallo-Payet N.** Identification of extracellular matrix components and their integrin receptors in the human fetal adrenal gland. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86 : 2090-2098.

**Chamoux E., Narcy A., Lehoux JG., Gallo-Payet N.** Fibronectin, laminin and collagen IV as modulators of cell behavior during adrenal gland in human fetus. *J Clin Endocrinol. Metab* 2002; 87 : 1819-1828. (a).

**Chamoux E., Narcy A., Lehoux JG., Gallo-Payet N.** Fibronectin, laminin, and collagen IV interact with ACTH and Angiotensin II to dictate specific cell behavior and secretion in human fetal adrenal cells in culture. *Endocr Res* 2002; 28 : 637-640. (b).

**Chan SA., Polo-Parada L., Landmesser LT., Smith C.** Adrenal chromaffin cells exhibit impaired granule trafficking in NCAM knockout mice. *J. Neurophysiol* 2005; 94 : 1037-47.

**Chang CH., Yu CH., Chang FM., Ko HC. Chen HY.** Assessment of fetal adrenal gland volume using three dimensional ultrasound. *Ultrasound Med Biol* 2002; 28 :1383 – 1387.

**Charles MA., Suh H., Hjalt TA., Drouin J., Camper SA., and Gage PJ.** *PITX* genes are required for cell survival and *Lhx3* activation. *Mol Endocrinol* 2005; 19: 1893-1903.

**Clark AJ., McLoughlin L. and Grossman A.** Familial glucocorticoid deficiency associated with point mutation in the adrenocorticotropin receptor. *Lancet* 1993; 341: 461-462.

**Colvin JS., Green RP., Schmahl J., Capel B., Ornitz DM.** Male-to-female sex reversal in mice lacking fibroblast growth factor 9. *Cell* 2001; 104 : 875-889.

**Cooper MJ., Hutchins GM., Israel MA.** Histogenesis of human adrenal medulla. An evaluation of the ontogeny of chromaffin and non chromaffin lineage. *Am J pathol* 1990 ; 137 : 605-615.

**Coulter CL., Goldsmith PC., Mesiano S., Voytek CC., Masson JL., Jaffe RB.** Functional maturation of primate fetal adrenal in vivo. II. Ontogeny of corticosteroid synthesis is dependent upon specific zonal expression of 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase/isomerase. *Endocrinology* 1996; 137: 4953- 4959.

**Coulter CL., Jaffe RB.** Functional maturation of primate fetal adrenal in vivo: 3. Specific zonal localization and developmental regulation of CYP21A2 (P450c21) and CYP11B1/CYP11B2 (P450c11/ aldosterone synthetase) lead to integrate concept of zonal and temporal steroid biosynthesis. *Endocrinology* 1998; 139 : 5144-5150.

**Cox CJ., Espinoza HM., Mc Williams B., Chappell K., Morton L., Hjalt TA., Semina EV., and Amendt BA.** Differential regulation of gene expression by *PITX-2* isoforms. *J Biol Chem* 2002; 277 : 25001-25010.

**Dattani MT., Martinez-Barbera JP., Thomas PQ., Brickman JM., Gupta R., Mårtensson IL., Toresson H., Fox M., Wales JK., Hindmarsh PC., Krauss S., Beddington RS., Robinson IC.** Mutations in the homeobox gene *HESX1/Hesx1* associated with septo-optic dysplasia in human and mouse. *Nat Genet* 1998;19 : 125-133.

**Díaz-Flores L, Gutiérrez R, Varela H, Valladares F, Alvarez-Argüelles H, Borges R.** Histogenesis and morphofunctional characteristics of chromaffin cells. *Acta physiol* 2008; 192 : 145-163.

**Dubois PM., El Amraoui A.** Embryology of pituitary gland. *Trends Endocrinol Metab* 1995 ; 6 : 1-7.

**Dunn JM.** Anterior pituitary and adrenal absence in a live born normocephalic infant. *Am J Obstet Gynecol* 1966; 96 : 893-894.

**Dupont E., Luu-The V., Labrie F., Pelletier G.** Ontogeny of 3 $\beta$ - hydroxysteroid dehydrogenase/ $\Delta$ 5- $\Delta$ 4 isomerase (3 $\beta$ -HSD) in human adrenal gland performed by immunocytochemistry. *Mol Cell Endocrinol* 1990;74 : R7-R10.

**Eberhart CG., Agarni P.** Wnt signaling in human development: beta catenin nuclear translocation in fetal lung, kidney, placenta, capillaries, adrenal and cartilage. *Pediatr Dev Pathol* 2001; 4 : 351-357.

**Favara BE., Franciosi RA. and Miles V.** Idiopathic adrenal hypoplasia in children. *Am J Clin Pathol* 1972; 57 : 287-296.

**Feitge JJ., Baird A.** Growth factor regulation cortex growth and function. *Prog Growth Factor Res* 1991; 3 : 103-113.

**Ferraz-de-Souza B., Martin F., Mallet D., Hudson-Davies RE., Cogram P., Lin L., Gerrelli D., Beuschlein F., Morel Y., Huebner A., Achermann JC.** CBP/p300-interacting transactivator, with Glu/Asp-rich C-terminal domain, 2, and pre-B-cell leukemia transcription factor 1 in human adrenal development and disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94:678-83.

**Folligan K., Roume J., Encha-Razavi F., Sépaniak S., Bouvier R., Morel Y., Trouillas J.** L'hypoplasie surrénale congénitale de type anencéphalique : deux cas avec anomalies hypophysaires, sans mutation de *DAX-1* et *SF-1* et revue de la littérature. *Morphologie* 2010; 138 : 1-8.

**Folligan K., Bouvier R., Targe F., Morel Y., Trouillas J.** étude histologique et moléculaire de la corticosurrénale fœtale humaine (12<sup>ème</sup> - 36<sup>ème</sup> SD). *Ann. Endocrinol* 2005; 66, 6:519-526 (a).

**Folligan K., Bouvier R., Targe F., Morel Y., Trouillas J.** Le développement de la surrénale humaine. *Ann. Endocrinol* 2005 ; 66, 4 : 325-332 (b).

**Freemark M., Driscoll P., Maaskant R., Petryk A., Kelly PA.** Ontogenesis of prolactin receptors in the human fetus in early gestation. Implications for tissue differentiation and development. *J Clin Invest* 1997; 99 : 1107-1117.

**Freemark M.** Ontogenesis of prolactin receptors in the human fetus: roles in fetal development. *Biochem Soc Trans* 2001; 29 : 38-41.

**Fujieda K., Tajima T.** Molecular basis of adrenal insufficiency. *Pediatr Res* 2005; 57:62R-69R.

**Gadner L.I.** Adrenocortical metabolism of the fetus, infant and child. *Pediatrics* 1956 ; 17 : 897-924.

**Gage PJ., and Camper SA.** Pituitary homeobox 2, a novel member of the bicoid-related family of homeobox genes, is a potential regulator of anterior structure formation. *Hum Mol Genet* 1997; 6 : 457-464.

**Gaillard DA., Lallemand AV., Moiro H., Visseaux-Coletto BJ., Paradis PH.** Fetal adrenal development during the second trimester of gestation. *Pediatr Pathol* 1990 ; 10 : 335-350.

**Goto M., Brickwood S., Wilson DI., Wood PJ., Mason JL., Hanley NA.** Steroidogenic enzyme expression within the adrenal cortex during early human gestation. *Endocr Res* 2002; 28 : 641-645.

**Guo W., Burris TP., Mc Cabe ER.** Expression of *DAX-1*, the responsible for X-linked adrenal hypoplasia congenita and hypogonadotropic hypogonadism in the hypothalamic-pituitary-adrenal/gonadal axis. *Biochem Mol Med* 1995; 56 : 8-13.

**Hadj-Rabia S., Salomon R., Pelet A., Penet C., Rotschild A., de Laët MH., Chaouachi B., Hannachi R., Bakiri F., Brauner R., Chaussain JL., Munnich A., Lyonnet S.** Linkage disequilibrium in inbred North African families allows fine genetic and physical mapping of triple A syndrome. *Eur J Hum Genet* 2000; 8 : 613-20.

**Han VK.** The ontogeny of growth hormone, insulin-like growth factors and sex steroids: molecular aspect. *Horm Res* 1996; 45 : 61-66.

**Hatano O., Takakusu A., Nomura M., Morohashi K.** Identical origin of adrenal and gonad revealed by expression profiles of Ad4BP/SF-1. *Genes cell* 1996; 1: 663-671.

**Ikeda Y., Swain A., Weber TJ., Hentges KE., Zanaria E., Lalli E., Tamari KT., Sassone-Corsi P., Lovell-Badge R., Camerino G., Parker KL.** *Steroidogenic Factor-1* and *Dax-1* colocalize in multiple cell lineages: potential links in endocrine development. *Mol Endocrinol* 1996; 10 : 1261-1272.

**Jaffe RB., Mesiano S., Smith R., Coulter CL., Spencer SJ., Chakravorty A.** The regulation and role of fetal development in human pregnancy. *Endocr Res* 1998; 24 : 919-926.

**Jirasek J.** Human fetal endocrines. Martinus Nijhoff, London 1980; pp 69-82.

**Johannisson E.** The fetal adrenal cortex in human. Its ultrastructure at different stages of development and in different functional states. *Acta Endocrinol* 1968; 130 : 7-107.

**Jozan S., Aziza J., Châtelin S., Evra C., Courtade-Saïdi M., Parant O., Sol JC., Zhou H., Lazorthes Y.** Human fetal chromaffin cells: a potential tool for cell pain therapy. *Exp Neurol* 2007; 205 : 525-35.

**Kampmeir OF.** Giant epithelial cells of the human fetal adrenal. *Anat Rec* 1927; 58 : 95-102.

**Katsetos CD., Karkavelas G., Herman MM., Viores SA., Provencio J., Spano AJ., Frankfurter A.** Class III  $\beta$ - Tubulin isotype ( $\beta$  III) in the adrenal medulla: I. Localization in the developing human adrenal medulla. *Anat Rec* 1998; 250 : 335-343.

**Kastury K., Druck T., Huebner K., Barletta C., Acampora D., Simeone A., Faiella A., Boncinelli E.** Chromosome locations of human *EMX* and *OTX* genes. *Genomics* 1994; 22: 41-45.

**Kauschansky A., Genel M., Smith GJY.** Congenital hypopituitarism in female infants: association with hypoglycemia and hypothyroidism. *Am J Dis Child* 1979; 133:165-169.

**Keene MFL., Hewer EE.** Observations on the development of the human suprarenal gland. *J Anat* 1927 ; 61 : 302-324.

**Kelch RP., Virdis R., Rapaport R., Greig F., Levine LS., and New MI.** Congenital adrenal hypoplasia. *Pediatr Adolesc Endocrinol* 1984; 13:156-161.

**Kereny N.** Congenital adrenal hypoplasia. *Arch Pathol* 1971; 71:336.

- Kero J., Poutanen M., Zhang F.P., Rahman N., McNicol A.M., Nilson J.H., Keri R.A., Huhtaniemi I.T.** Elevated luteinizing hormone induces expression of its receptor and promotes steroidogenesis in adrenal cortex. *J Clin Invest* 2000; 105: 633-641.
- Kiiveri S., Liu J., Westerholm-Ormio M., Narita N., Wilson DB., Voutilainen R., Heikinheimo M.** Differential expression of *GATA-4* and *GATA-6* in fetal and adult mouse and human adrenal tissue. *Endocrinology* 2002; 143 : 3136-3143.
- Kim Y. and Capel B.** Balancing the bipotential gonad between alternative organ fates: a new perspective on an old problem. *Developmental Dynamics* 2006; 235 : 2292-2300.
- Labat-Moleur F., Trouillas J., Seret-Begue D., Kujas M., Delisle M.B., Ronin C.** Evaluation of 28 monoclonal and polyclonal antibodies used in diagnosis of pituitary adenomas. *Path. Pract* 1991; 187: 534-538.
- L'Allemand D., Penhoat A., Blum W., Saez JM.** Is there a local IGF-system in human adrenal cortical cells? *Mol Cell Endocrinol* 1998 25; 140 : 169-173.
- Lalli E., Bardoni B., Zazopoulos E., Wurtz JM., Strom TM., Moras D., Sassone-Corsi P.** A transcriptional silencing domain in *DAX-1* whose mutation causes adrenal hypoplasia congenita. *Mol Endocrinol* 1997; 11:1950-60.
- Lako M., Strachan T., Bullen P., Wilson DI., Robson SC., Lindsay S.** Isolation, characterisation and embryonic expression of *Wnt 11*, a gene which maps to 11q13.5 and has possible roles in the development of skeleton, kidney and lung: *Gene* 1998; 219 : 101-110.
- Lamolet B., Pulichino AM., Lamonerie T., Gauthier Y., Brue T., Enjalbert A., Drouin J.** A pituitary cell-restricted T-box factor, *TPIT*, activates POMC transcription in cooperation with *PITX* homeoproteins. *Cell* 2001;104 : 849-859.
- Langlois D., Li JY., Saez JM.** Development and function of the human fetal adrenal cortex. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2002; 15 : 1311-1322.
- Lanman JT.** The adrenal gland in the human fetus. An interpretation of its physiology and unusual developmental pattern. *Pediatrics* 1961; 27: 140-158.
- Larsen W. et Dhem A.** Embryologie humaine 2003, 568 pages, 2<sup>ème</sup> édition.
- Laverty CR., Fortune DW., Beischer NA.** Congenital idiopathic adrenal hypoplasia. *Obstet Gynecol* 1973; 41:655-664.
- Little M., Wells C.** A clinical overview of *WT-1* gene mutations. *Hum Mutat* 1997; 209-225.
- Ljubic V., Petkovic S., Radunovic N.** The fetal adrenal gland in risk pregnancy. *Srp Arh Celok Lek* 2002; 130 : 198-200.
- Lloyd R.V., Blaivas M., Wilson B.S.** Distribution of chromogranin and S-100 protein in normal and abnormal adrenal medullary tissues. *Arch Pathol* 1985; 109 : 633-605.

**Malpuech G., Vanlieferinghen P., Dechelotte P., Gaulme J., Labbe A. and Guiot F.** Isolated familial adrenocorticotropin deficiency : prenatal diagnosis by maternal plasma estriol assay. *Am J Med Genet* 1988; 29 : 125-130.

**Mamelle JC., David M, Riou D., Gilly J., Trouillas J., Dutruge J. and Gilly R.** Hypoplasie surrénalienne congénitale de type cytomégalye forme récessive liée au sexe. *Arch Franç Ped* 1974; 32 : 139-159.

**Meeks JJ., Crawford SE., Russell TA., Morohashi K., Weiss J., Jameson JL.** Dax1 regulates testis cord organization during gonadal differentiation. *Development* 2003 ; 130 :1029-36.

**Mesiano S., Mellon SH., Gospodarowicz D., Di Blasio AM., Jaffe RB.** Basic fibroblast growth factor expression is regulated by corticotropin in the human fetal adrenal: a model adrenal growth regulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88 : 5428-5432.

**Mesiano S., Coulter CL., Jaffe RB.** Localization of cytochrome P450 cholesterol side chain cleavage, cytochrome P450 17  $\alpha$ -hydroxylase/17,20 and 3 $\beta$  hydroxysteroid dehydrogenase isomerase steroidogenic enzymes in the human and rhesus fetal adrenal gland: reappraisal of functional zonation. *J Clin Endo Metab* 1993; 77: 1184-1189.

**Mesiano S., Fujimoto VY., Nelson LR., Lee JY., Voytek CC., Jaffe RB.** Localization and regulation of corticotropin receptor expression in the midgestation human fetal adrenal cortex: implications for in utero homeostasis. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81 : 340-345.

**Mesiano S. and Jaffe RB.** Developmental and functional biology of the primate fetal adrenal cortex. *Endocr Rev* 1997;18 : 378-403.

**Mitchell RG., and Rhaney K.** Congenital adrenal hypoplasia in siblings. *Lancet* 1959; 1: 488.

**Molenaar WM, Lee VM, Trojanowski JQ.** Early fetal acquisition of chromaffin and neuronal immunophenotype by human adrenal medullary cells. An immunohistological study using monoclonal antibodies to chromogranin A, synaptophysin, tyrosine hydrolase, and neuronal cytoskeletal proteins. *Exp Neurol* 1990; 108 : 1-9.

**Moncrieff MW., Hill DS., Archer DS., Arthur LJH.** Congenital absence of pituitary gland and adrenal hypoplasia. *Arch Dis Child* 1972; 47: 136-137.

**Morel Y, Mallet D, Dijoud F, Trouillas J, Tardy V, Michel-Calemard L.** Gènes du développement de la surrénale. In "Surrénale de l'enfant" Paris, Publi-fusion 2003 ; 3 :77-94.

**Morel Y., Mallet D., Menassa R.** La différenciation sexuelle du fœtus. *Médecine clinique endocrinologie et diabète* 2006 Hors série page 1-9.

**Morohashi K., Mukai T., Kawabe K., Suzuki, Mizusaki H, Ishihaval S, Umessno K, Kawajiri K.** Adrenocortical and gonadal differentiation regulated by transcription factors Ad4BP/SF-1 (NR5A1) and DAX-1 (NR0B1). *Endocr Res* 2000; 26 : 953-960.

- Mosier HD.** Hypoplasia of the pituitary and adrenal cortex. *J Pediatr* 1956; 48:633-639.
- Muscatelli F., Strom TM., Walker AP., Zanaria E., Récan D., Meindl A.** Mutations in the *DAX-1* gene give rise to both X-linked adrenal hypoplasia congenital and hypogonadotropic hypogonadism. *Nature* 1994; 372 : 672-676.
- Narasaka T., Suzuki T., Moriya T., Sasano H.** Temporal and spatial distribution of corticosteroidogenic enzymes immunoreactivity in developing human adrenal. *Mol Cell Endocrinol* 2001; 174 : 111- 120.
- Newman NM., Welch E., Challis DR.** Adrenal hypoplasia and pituitary agenesis in a normocephalic infant, with a review of the literature. *Aust Pediatr J* 1988; 24 : 300-303.
- O'Donohoe NV., Holland PDJ.** Familial congenital adrenal hypoplasia. *Arch Dis* 1968; 43 : 717-723.
- Parker K.L., Schimmer B.** The roles of nuclear receptor steroidogenic factor-1 in endocrine differentiation and development. *Trends Endocrinol Metab* 1996; 7 : 203-207.
- Parker KL., Rice DA., Lala DS., Ikeda Y., Luo X., Wong M., Bakke M., Zhao L., Frigeri C., Hanley NA., Stallings N., Schimmer BP.** Steroidogenic factor 1: an essential mediator of endocrine development. *Recent Prog Horm Res* 2002 ; 57 : 19-36.
- Pélissier P., Merlin E., Prieur F., David M., Malpuech G., Forest MG.** Hypoplasie congénitale des surrénales: à propos de quatre observations. *Arch Pediatr* 2005; 12 : 380-384.
- Peter M., Partsch CJ, Dorr HG. and Sippell.** Prenatal diagnosis of congenital adrenal hypoplasia. *Horm Res* 1996; 46 : 41-45.
- Peter M., Viemann M., Partsch CJ., and Sippell WG.** Congenital adrenal hypoplasia : clinical spectrum, experience with hormonal diagnosis, and report on new point mutations of the *DAX-1* gene. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83 : 2666-2674.
- Pitynski K., Litwin JA., Nowogrodzka-Zagorska M., Moidonski AJ.** Vascular architecture of the human fetal adrenal gland: a SEM study of corrosion casts. *Anat Anz.* 1996; 178 : 215-222.
- Pitynski K, Skawina A, Polakiewicz J, Walocha J.** Extraorganic vascular system of adrenal glands in human fetuses. *Anat Anz* 1998; 180 : 361-368.
- Poltorak M, Shimoda K, Freed WJ.** Cell adhesion molecules (CAMs) in adrenal medulla in situ and in vitro: enhancement of chromaffin cell L1 / Ng-CAM expression by NGF. *Exp Neurol* 1990; 110 : 52-72.
- Poulin G., Lebel M., Chamberland M., Paradis FW., Drouin J.** Specific protein: protein interaction between basic helix-loop-helix transcription factors and homeoproteins of the Pitx family. *Mol Cell Biol* 2000; 20 : 4826-4837.
- Pulichino AM., Valette-Kasic S., Couture C., Brue T., and Drouin J.** Mutations du facteur Tpit et différenciation hypophysaire. *Médecine sciences* 2004 ; 20 : 1009-1013.



**Reid JD.** Congenital absence of the pituitary gland. *J Pediatr* 1960; 56 : 658-664.

**Roselli A., Barbosa LT.** Congenital hypoplasia of the adrenal glands: Report of two cases in sisters with necropsy. *Pediatrics* 1965; 40:70-75.

**Russel MA., Opitz JM., Viskul C., Gilbert EF., Bargman GJ.** Sudden infant death due to congenital adrenal hypoplasia. *Arch Pathol Lab Med* 1977; 101:168-169.

**Sadler TW.** Langman's medical embryology. 531 pages, Eighth edition, 2000.

**Savage JJ., Yaden BC., Kiratipranon P., Rhodes SJ.** Transcriptional control during mammalian anterior pituitary development. *Gene* 2003; 319 : 1-9.

**Schutz S., Le Moullec JM., Corvol P., Gasc JM.** Early expression of all the components of renin-angiotensin-system in human development. *Am J Pathol* 1996; 149 : 2067-2079.

**Sekido R., Lovell-Badge R.** Sex determination involves synergistic action of SRY and SF1 on a specific Sox9 enhancer. *Nature* 2008; 12 : 930-4.

**Semina EV., Reiter R., Leysens NJ., Alward WL., Small KW., Datson NA., Siegel-Bartelt J., Bierke-Nelson D., Bitoun P., Zabel BU. Carey JC., and Murray JC.** Cloning and characterization of a novel bicoid-related homeobox transcription factor gene, RIEG, involved syndrome. *Nature* 1996 ; 14 : 392-399.

**Sheng HZ. and Westphal H.** Early steps in pituitary organogenesis. *Trends Genet* 1999; 15 : 236-240.

**Sikl H.** Addison's disease due to congenital hypoplasia of adrenals in infant aged 33 days. *J Pathol Bacteriol* 1948; 60: 323-324.

**Smith MP., Cox JJ., Van Schaick HS., Coolen M., Schepers J., Van Der Kleij AM., and Burbach JP.** Analysis of three *PITX2* splice variants on transcriptional activity and differential expression pattern in the brain. *J Neurochem* 2000 ; 75 : 1818-1825.

**Spencer SJ., Mesiano S., Lee JY., Jaffe RB.** Proliferation and apoptosis in the human adrenal cortex during the fetal and perinatal periods: implication for growth and remodeling. *J clin Endocrinol Metab* 1999; 84 : 1110-1115.

**Stankovic AK, Grizzle WE, Stockard CR, Parker CR Jr.** Interaction between TGF-beta and adrenocorticotropin in growth regulation of human adrenal fetal zone cells. *Am J Physiol* 1994; 226 : 495-500.

**Sucheston ME., Canon MS.** Development of zonular patterns in the human adrenal gland. *J Morphol* 1968; 126: 477-491.

**Tanimura T., Nelson T., Hollingsworth RR., Shepard TH.** Weight standards for organs from early human fetuses. *Anat Rec* 1971; 171: 227-236.

**Tullio-Pelet A., Salomon R., Hadj-Rabia S., Mugnier C., de Laet MH., Chaouachi B., Bakiri F., Brottier P., Cattolico L., Penet C., Bégeot M., Naville D., Nicolino M., Chaussain JL., Weissenbach J., Munnich A., Lyonnet S.** Mutant WD-repeat protein in triple-A syndrome. *Nat Genet* 2000;26 : 332-335.

**Umehara F., Tate G., Itoh K., Yamaguchi N., Douchi T., Mitsuya T., Osame M.** A novel mutation of desert hedgehog in a patient with 46,XY partial gonadal dysgenesis accompanied by minifascicular neuropathy. *Am J Hum Genet* 2000 ;67 : 1302-1305.

**Valette S., Pellegrini-Bouillet I., Jaquet P., Enjalbert A., Brue T.** Facteurs de transcription anté-hypophysaires et hypopituitarismes multiples. *Ann Endocrinol.* 1999 ; 60 : 216-223.

**Vidal V, Schedl A.** Requirement of Wt-1 for gonad and adrenal development: insights from transgenic animals. *Endocr Res* 2000; 26 :1075-1082.

**Vilain E, Le Merrer M, Lecointre C, Desangles F, Kay MA, Maroteaux P, McCabe ER.** IMAGE, a new clinical association of intra-uterin growth retardation, metaphysal dysplasia, adrenal hypoplasia congenita, and genital anomalies. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84 : 4335-4340.

**Weiss L. and Mellinger RC.** Congenital adrenal hypoplasia. An X-linked disease. *J Med Genet* 1970; 7:27-32.

**Welsh JB., Mehlin GB.** Congenital adrenal hypoplasia. *Am J Dis Child* 1954; 87:319-320.

**Williams A., Robinson MJ.** Addison's disease in infancy. *Arch Dis Child* 1956; 31:265-269.

**Yu RN., Ito M., Saunders TL., Camper SA., Jameson JL.,** Role of Ahch in gonadal development and gametogenesis. *Nat Genet* 1998; 20 : 353-357.

**Zhou H, Aziza J, Sol JC, et al.** Cell therapy of pain: Characterization of human fetal chromaffin cells at early adrenal medulla development. *Exp Neurol* 2006; 198 : 370-81

**Zondek LH., Zondek T.** Congenital adrenal hypoplasia in two infants. *Acta Pediatr Scand* 1968; 57 : 250-254.

# **ANNEXES**

# Le développement de la surrénale humaine

K. Folligan<sup>(1,4)</sup> R. Bouvier<sup>(2)</sup>, F. Targe<sup>(1)</sup> Y. Morel<sup>(3)</sup>, J. Trouillas<sup>(1)</sup>

(1) Laboratoire d'Histologie et Embryologie moléculaires. Faculté de Médecine Lyon-RTH Laennec, rue Guillaume Paradin, 69372 Lyon Cedex 08, France.

(2) Laboratoire Central d'Anatomie et de Cytologie pathologiques. Hôpital Edouard Herriot, 5 place d'Arsonval, 69437 Lyon Cedex 03, France.

(3) Laboratoire de Biochimie endocrinienne et moléculaire. EA 3739, Hôpital Debrousse, 29 rue Sœur Bouvier, 69322 Lyon Cedex 05, France.

(4) Laboratoire d'Histologie-Embryologie, Cytologie et Biologie de la Reproduction. CHU Tokoin. B.P. 57 Lomé – Togo.

Tirés à part : J. Trouillas, à l'adresse ci-dessus.

e-mail : secretariat.lhem@recherche.univ-lyon1.fr

## Development of the human adrenal glands

K. Folligan R. Bouvier, F. Targe Y. Morel, J. Trouillas

*Ann. Endocrinol., 2005 ; 66, 4 : 325-332*

The human adrenal is an endocrine gland located at the superior part of the kidney. Composed of the adrenal cortex of mesoblastic origin and the adrenal medulla of neuroectoblastic origin, the human fetal adrenal grows considerably during the first three months of development. From 12 to 18 weeks of development (WD), the weight of the adrenals increases seven-fold. The gland's weight doubles from 18 to 28 WD and from 28 to 36 WD. At birth, the two adrenals weigh on average 10g.

At the 8<sup>th</sup> week, two zones are individualized in the adrenal cortex: the definitive zone and the fetal inner zone. At the second trimester, according to ultrastructural and biochemical studies, a third zone, called the transition zone, is individualized between the definitive zone and the fetal inner zone. The definitive zone persists, but the origin of the three zones (glomerular, fascicular and reticular) of adult adrenal cortex is not known. The fetal inner zone regresses from the 5<sup>th</sup> month of gestation and disappears totally one year after birth.

At the 8<sup>th</sup> week, the immature neuroblasts migrate to the definitive zone, then to the fetal inner zone to compose the adrenal medulla, which develops essentially after birth and during the first year.

Before the 10<sup>th</sup> week, the human fetal adrenal is able to produce steroid hormones, in particular dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S); the secretion of cortisol remains discussed.

The development of the human fetal adrenal is complex and is under the control of hormones (ACTH, LH and  $\beta$ HCG), growth factors (ACTH essentially) and transcription factors (essentially SF1 and DAX-1).

Knowledge of morphological and molecular phenomena of this development permits to understand the pathophysiology of congenital adrenal deficiencies.

**Key words:** Human fetal adrenal, development.

## Le développement de la surrénale humaine

La surrénale humaine est une glande endocrine, paire, située au pôle supérieur des reins. Constituée de la corticosurrénale ou cortex surrénalien, d'origine mésoblastique et de la médullosurrénale, d'origine neuroectoblastique, la surrénale fœtale humaine subit une hypertrophie considérable pendant les trois premiers mois de la vie embryonnaire. Entre 12 et 18 semaines de développement (SD), les surrénales multiplient leur poids par 7. Elles doublent leur poids entre 18-28 et entre 28-36 SD. A la naissance, le poids moyen des deux surrénales est de 10 g.

À partir de la 8<sup>e</sup> SD, deux zones sont individualisées dans le cortex surrénalien : le cortex permanent ou définitif et le cortex fœtal ou provisoire. Au deuxième trimestre, d'après des études ultrastructurales et biochimiques, une troisième zone, appelée zone de transition, est individualisée entre le cortex permanent et le cortex fœtal. Le cortex permanent persiste, mais on ignore l'origine des trois zones (glomérulée, fasciculée et réticulée) de la corticosurrénale adulte. Le cortex fœtal,

## INTRODUCTION

La surrénale est une glande endocrine, paire, située au pôle supérieur des reins, dont les sécrétions, en particulier de la corticosurrénale, sont indispensables à la vie chez l'adulte et essentielles pour la maturation du fœtus et sa survie en période néonatale [46, 47, 51, 56].

D'un point de vue historique, les glandes surrénales auraient été décrites pour la première fois chez l'homme par Eustachi en 1563. Cette assertion reste discutable. En effet, Léonard de Vinci, vers l'année 1510, représenta sur une planche de son atlas d'anatomie le dessin d'une surrénale (la gauche, avec son aspect en virgule caractéristique). Cependant, la signification fonctionnelle de cette glande endocrine n'a été mise en évidence que trois siècles plus tard par Addison et Brown-Séquard [27].

Si l'histologie et l'histophysiologie de la surrénale adulte humaine sont connues avec certitude et acceptées par tous, ce n'est pas le cas pour la surrénale fœtale humaine. Les techniques récentes d'immunohistochimie et de biologie moléculaire et l'identification de gènes impliqués dans le développement de la surrénale ont fait progresser nos connaissances embryologiques. Cela a permis de mieux comprendre la pathogénie des hypoplasies surrénaliennes congénita-

lui, involue à partir du 5<sup>e</sup> mois de grossesse et disparaît totalement un an après la naissance.

À la 8<sup>e</sup> semaine, les sympathogonies ou neuroblastes immatures migrent dans le cortex permanent, puis le cortex foetal pour former la médullosurrénale qui se développe essentiellement après la naissance et au cours de la première année.

Avant la 10<sup>e</sup> semaine la surrénale foetale humaine est capable de produire des hormones stéroïdes en particulier du DHEA-S (dihydroépiandrostérone-sulfate) ; la sécrétion du cortisol reste discutée.

Le développement de la surrénale foetale humaine est complexe et sous le contrôle d'hormones (ACTH, LH et  $\beta$ HCG), de facteurs de croissance (IGF II principalement) et de facteurs de transcription ou de différenciation (SF1 et DAX-1 principalement).

La connaissance des phénomènes morphologiques et moléculaires du développement de la surrénale permet de mieux comprendre la physiopathologie des insuffisances surrénales congénitales.

**Mots-clés :** Surrénale foetale humaine, développement.

les et d'améliorer la prise en charge thérapeutique des patients et le conseil génétique.

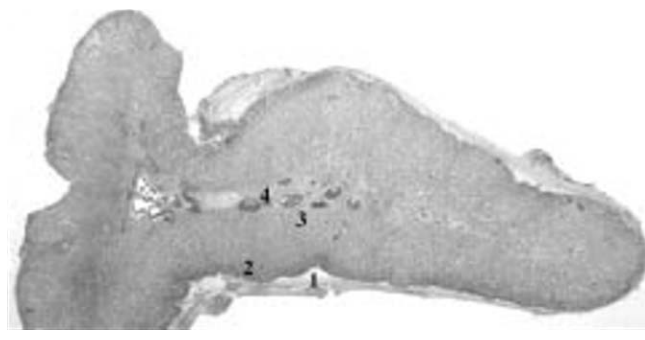
## CROISSANCE ET HISTOLOGIE DE LA SURRÉNALE FŒTALE

Pendant les trois premiers mois de la vie embryonnaire, la surrénale subit une hypertrophie considérable ; sa croissance continue tout au long de la grossesse [44, 76]. D'après les données échographiques modernes, il existe une bonne corrélation entre le volume des surrénales et l'âge gestationnel [16]. Entre 12 et 18 semaines de développement (SD), les surrénales multiplient leur poids par 7. Elles doublent leur poids entre 18 – 28 et entre 28 – 36 SD. Quel que soit l'âge considéré, le poids de la surrénale gauche est supérieur au poids de la surrénale droite [23, 25]. À la 28 SD, il est 10 à 20 fois supérieur à celui d'une surrénale adulte [38]. Le rapport du poids de la surrénale et du rein évolue dans le temps. Ce rapport est  $\geq 1$  à 12-13 SD, de 2/3 à 18 SD et  $\leq 1/3$  après 26 SD. À la naissance, le poids moyen des deux surrénales est de 10 g. Pendant toute l'enfance, la croissance est faible. En effet le poids des deux surrénales est de 13 g à l'âge adulte.

La surrénale humaine, constituée de la corticosurrénale et de la médullosurrénale (fig. 1), a une double origine embryologique : mésoblastique et neurectoblastique.

### La corticosurrénale

La corticosurrénale, lieu de sécrétion des corticostéroïdes, se différencie à partir du mésoblaste intermédiaire. Les premières cellules sont identifiables au niveau de l'épithélium coelomique dès la 4<sup>e</sup> SD, sous forme d'un épaississement situé entre la racine mésentérique de l'intestin primitif en dedans, la crête génitale à l'extérieur et en avant du corps de Wolff [32, 35, 56]. Une étude récente suggère que les cellules surrénales et gonadiques, à activité stéroïdogénique, proviennent de cellules morphologiquement identiques situées sous l'épithélium coelomique [32]. À la 5<sup>e</sup> SD, ces cellules migrent et prolifèrent en cordons à l'extrémité de la partie crâniale du mésonéphros. Elles forment de part et



**Figure 1 :** Surrénale humaine fœtale de 15SD. Notez de l'extérieur vers l'intérieur : la capsule conjonctive (1), le cortex permanent (2), le cortex fœtal (3) et, disposés au centre de la glande, les îlots de neuroblastes (4) qui formeront la future médullosurrénale. Coloration HE. Obj  $\times 6$ .

**Figure 1:** Human fetal adrenal of 15WD. We described in human adrenal gland three parts: The capsule (1), the adrenal cortex with the definitive zone (2) and the fetal zone (3), the medulla adrenal (4). HE staining. Obj  $\times 6$ .

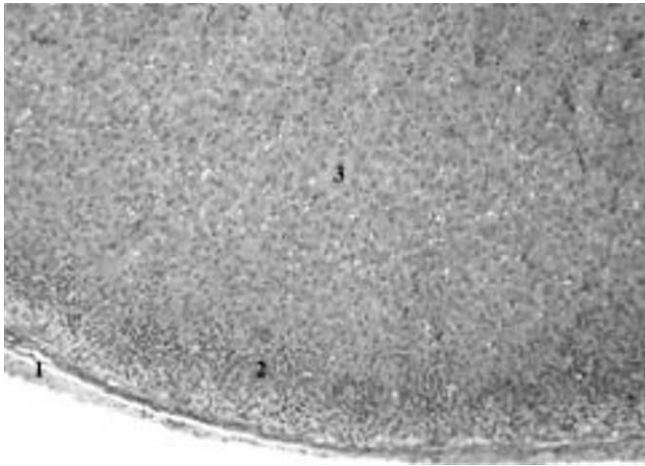
d'autre de l'aorte dorsale une glande arrondie, constituée de grandes cellules. Entre la 5<sup>e</sup> et la 6<sup>e</sup> SD, apparaissent en périphérie des cellules plus petites qui forment une couche plus superficielle.

À partir de la 8<sup>e</sup> SD, deux zones sont individualisées dans le cortex surréalien (fig. 2) [13, 25, 28] :

— Une zone superficielle ou cortex permanent ou définitif, mince, constituée de 10 à 15 assises de petites cellules (10  $\mu$ m à 20  $\mu$ m), basophiles à noyaux hypercolorables disposées en cordons,

— Une zone profonde ou cortex foetal ou provisoire, épaisse qui représente 80 % du volume du cortex surréalien. Elle est formée de grandes cellules (20  $\mu$ m à 50  $\mu$ m), à limites peu nettes, éosinophiles, à noyaux volumineux. Ces cellules sont disposées en cordons parallèles, séparés par de nombreux capillaires. Elles ont les caractères ultrastructuraux d'une activité stéroïdogénique (liposomes, réticulum endoplasmique lisse très développé et mitochondries à crêtes tubulaires).

D'après des études ultrastructurales et biochimiques, une troisième zone a été individualisée au deuxième



**Figure 2 :** Corticosurrénale humaine fœtale de 19SD. Notez de l'extérieur vers l'intérieur : la capsule conjonctive, le cortex permanent et le cortex fœtal. Coloration HE. Obj  $\times 10$ .

**Figure 2:** Human fetal adrenal cortex of 19WD. From the periphery to the centrum: the capsule (1), the definitive zone (2) and the fetal zone (3). HE staining. Obj  $\times 10$ .

trimestre sous le nom de zone de transition [52, 54]. En effet, entre le cortex permanent et le cortex fœtal, des cellules ont des caractéristiques intermédiaires ; elles ont l'équipement enzymatique pour synthétiser du cortisol et semblent analogues aux cellules de la zone fasciculée de la surrénale adulte. Notre étude portant sur 119 surrénales fœtales, de 12 à 36 SD, confirme que cette zone, difficile à visualiser par l'étude histologique classique, peut être individualisée d'un point de vue fonctionnel grâce à l'immunohistochimie comme une zone de différenciation [23].

Pour certains, la croissance de la surrénale fœtale serait liée à la prolifération du cortex fœtal et du cortex permanent [38] ; il existerait une migration et une différenciation des cellules du cortex permanent en cellules du cortex fœtal [23]. Nos résultats prouvent que seules les cellules du cortex permanent prolifèrent de la 12<sup>e</sup> à la 25<sup>e</sup> SD ; ils ne sont pas en faveur de l'hypothèse de la migration et de la transformation des cellules du cortex permanent en cortex fœtal [23].

L'évolution post-natale du cortex surrénalien et l'origine de la zonation fonctionnelle sont encore discutées. La zone fasciculée s'individualise dès la deuxième semaine après la naissance, la zone glomérulée après un mois et la zone réticulée ultérieurement. Selon certains auteurs [15], la zone de transition se différencie pour donner les trois zones de la corticosurrénale adulte. Pour d'autres, le cortex permanent se différencie en zone glomérulée et la zone de transition en zone fasci-

culée de la corticosurrénale adulte [54, 56, 73, 75]. Quant à la zone réticulée, son origine demeure inconnue. Alors que le cortex permanent se différencie, le cortex fœtal involue. Son involution commence avant la naissance, au 5<sup>e</sup> mois de la grossesse [7, 73] et se poursuit après la naissance [75]. Il disparaît totalement après un an. La nature de cette involution serait apoptotique [73, 80].

### La médulosurrénale

La médulosurrénale, lieu de synthèse des catécholamines, est d'origine neuroectoblastique et dérive des cellules des crêtes neurales dorsolombaires qui migrent dans l'ébauche mésoblastique à partir de la 8<sup>e</sup> SD [56]. Ces cellules se regroupent autour de la veine centrale surrénalienne pour former la médulosurrénale (fig. 1).

À la 8<sup>e</sup> semaine, les sympathogonies ou neuroblastes immatures migrent dans le cortex permanent, puis le cortex fœtal [56]. La médulosurrénale se développe essentiellement après la naissance et au cours de la première année.

L'encapsulation de la surrénale et la vascularisation intraglandulaire apparaissent au 41<sup>e</sup> jour de développement et sont similaires à celles de l'adulte [28].

## LA SÉCRÉTION DE LA SURRÉNALE FŒTALE

### La corticosurrénale

Des études *in vitro* et *in vivo* ont montré que la surrénale fœtale est capable de produire des hormones stéroïdes avant la 10<sup>e</sup> semaine de gestation [44].

La surrénale fœtale synthétise essentiellement du DHEA-S (dihydroépiandrostérone-sulfate), car le cortex fœtal, possède toutes les enzymes de la stéroïdogénèse, à l'exception de la 3 $\beta$ -hydroxystéroïde déshydrogénase (3 $\beta$ -HSD) [4, 17, 18, 20, 24, 54, 63, 64, 67]. Cette sécrétion débute vers la 8<sup>e</sup> semaine [70] ; elle est multipliée par 100 autour de la 12<sup>e</sup> semaine, période d'hypertrophie du cortex fœtal. L'oestriol dosé dans le sang maternel provient de la transformation de DHEA-S par deux enzymes placentaires, la 3 $\beta$ -HSD et l'aromatase. Un taux bas d'oestriol et l'absence d'augmentation lors de prélèvements répétés sont pathognomoniques d'une atteinte surrénalienne du fœtus, en particulier d'une hypoplasie surrénalienne congénitale.

En revanche la sécrétion de cortisol par la surrénale fœtale et son rétrocontrôle sur la sécrétion d'ACTH restent encore difficiles à évaluer. Le cortisol foetal peut être soit d'origine placentaire à partir de la progestérone, soit synthétisé de novo par la surrénale fœtale. Certaines études sont en faveur d'une sécrétion

de cortisol par la corticosurrénale fœtale dès 8-12 SD [57, 65]. Cependant, les cellules responsables de cette sécrétion demeurent inconnues à ce jour. En effet, les cellules du cortex permanent expriment toutes les enzymes de la corticostéroïdogénèse [3, 19, 56, 63, 64], à l'exception de la P450 C17 : elles sont capables de synthétiser des minéralocorticoïdes, en particulier l'aldostérone, mais elles sont incapable de synthétiser le cortisol.

La zone de transition, à partir du deuxième trimestre de grossesse, exprimant toutes les enzymes de la corticostéroïdogénèse, à l'exception de la P450 11B2, synthétiserait le cortisol et les androgènes [44].

Les surrénales jouent un rôle fondamental dans le métabolisme et la maturation de différents organes fœtaux et la survie du nouveau-né en période néonatale. Des pathologies comme le diabète et l'hypertension artérielle maternels perturbent le développement des surrénales. Leur volume est augmenté dans le diabète et diminué dans l'hypertension artérielle [78]. Les enfants prématurés présentent souvent une élévation du taux d'androgènes et un déficit en cortisol. [9, 10, 14].

### La médullosurrénale

Les hormones sécrétées sont l'adrénaline et la noradrénaline ; mais chez le fœtus l'enzyme permettant la transformation de la noradrénaline en adrénaline est absente.

## MÉCANISMES MOLÉCULAIRES ET GÉNÉTIQUES

La croissance de la surrénale, la régression du cortex fœtal et la différenciation du cortex permanent sont sous le contrôle de processus complexes comprenant des hormones et des facteurs génétiques.

### Les hormones fœtales hypophysaires et placentaires

La sécrétion d'ACTH apparaît vers la 6<sup>e</sup> SD et son taux est élevé vers la 12<sup>e</sup> SD [2, 56]. Cependant la croissance des surrénales est indépendante de l'ACTH au premier trimestre de grossesse [44]. Ainsi les fœtus anencéphales avant la 15<sup>e</sup> SD ont des surrénales normales et une antéhypophyse normale. Au-delà, on observe une hypoplasie corticosurrénalienne aux dépens du cortex fœtal qui est réduit à quelques couches en voie de dégénérescence. Le cortex fœtal peut être totalement absent [8, 46]. L'ACTH stimulerait la croissance et la sécrétion du cortex fœtal après la 15<sup>e</sup> SD [8, 29, 36, 44, 46, 56]. Cependant le faible rôle trophique de l'ACTH est ren-

forcé par l'observation de la régression du cortex fœtal à la naissance alors que la sécrétion d'ACTH persiste.

La LH hypophysaire et l'HCG placentaire contrôlent également le développement surrénalien, la sécrétion et peut-être la régression du cortex fœtal. Le rôle de l'HCG dans le développement des surrénales a été proposé pour la première fois par Lanman en 1957 [45]. De plus, dès 1956 Gardner suggéra que la persistance du cortex fœtal était sous la dépendance d'une LH-like hormone hypophysaire [26]. Cette hypothèse ancienne a été récemment confirmée. En effet chez des souris femelles transgéniques surexprimant la  $\beta$ -LH, on observe une hyperplasie des surrénales avec disparition du cortex fœtal, une hypersécrétion stéroïdienne et une augmentation des récepteurs à l'HCG [39]. La disparition rapide du cortex fœtal après la naissance suggère que le placenta joue un rôle dans le développement et le maintien du cortex fœtal dans les 5 premiers mois de grossesse [39].

### Les facteurs de croissance

Les hormones hypophysaires et placentaires stimulent la production locale de facteurs de croissance qui jouent un rôle clé [22, 31, 34, 55, 56, 58, 69, 74].

Parmi les facteurs de croissance, le FGFb (basic Fibroblast Growth Factor), l'EGF (Epidermal Growth Factor) et les TGF $\beta$  1, 2, 3 ( $\beta$ Transforming Growth Factor) sont les plus importants. Ils stimulent la prolifération, en particulier celle du cortex permanent [44, 73]. IGF (insulin like Growth Factor) I et II sont impliqués, non seulement dans la prolifération, mais aussi dans la différenciation cellulaire surrénalienne [5, 31, 42, 57, 68].

L'apoptose de la zone fœtale est régulée par l'actine A, le TGF $\beta$  [34, 73] et les récepteurs de type 2 de l'angiotensine II [11, 15]. Ces facteurs de croissance agissent par un processus autocrine et/ou paracrine [44].

### Les gènes et les facteurs de transcription

Des gènes et les protéines dont ils déterminent la synthèse, jouent un rôle fondamental dans le développement des surrénales. Les gènes actuellement mis en évidence sont : Dax-1, SF-1, WNT et WT-1.

#### SF-1

Ce récepteur nucléaire est impliqué dans le développement et la différenciation des surrénales et des gonades et dans le maintien des fonctions stéroïdogéniques [1, 3, 33, 59, 60]. Ce facteur de transcription, dont le gène est localisé sur le chromosome 9, s'exprime parallèlement à Dax-1, mais plus précocement.



cement [1, 3, 33, 60]. C'est une protéine de 461 acides aminés, à deux doigts de zinc et un domaine de liaison à l'ADN dans sa partie C-terminale. Sa partie N-terminale très courte, est différente des autres récepteurs nucléaires. C'est un récepteur orphelin. SF-1 se lie à l'ADN en amont des gènes de l'hormone antimullérienne et de son récepteur [71] de WT-1, de DAX-1, du récepteur de l'ACTH, des gonadotrophines et de leurs récepteurs. SF-1 se lie comme un monomère, mais pourrait former un hétérodimère avec DAX-1. En effet les mêmes tissus expriment SF-1 et DAX-1 [33]. Son profil d'expression dans différentes cellules (la surrénale, la crête génitale, les cellules gonadotropes antéhypophysaires et l'hypothalamus ventromédian) et les anomalies observées chez les souris KO pour le gène SF-1 [48] confirment le rôle fondamental de SF-1 dans le développement de la surrénale, de la gonade et de l'axe gonadotrope hypothalamo hypophysaire. Une expression minimale de SF-1 est nécessaire au développement de la surrénale. En effet des souris hétérozygotes KO pour SF-1 ont de petites surrénales, mais une fonction subnormale grâce à une surexpression de StAR. En revanche, elles présentent une insuffisance surrénale latente, révélée en cas de stress. L'homme semble beaucoup plus sensible à une diminution de SF-1. En effet, chez trois patients, une mutation isolée à l'état hétérozygote donne le même phénotype que chez la souris homozygote. Dans ces cas, l'haplo insuffisance (diminution maximale de 50 % de la protéine SF-1 car l'allèle est muté) n'explique pas ce phénotype. Un effet dominant négatif se surajoute. Cette hypothèse a été récemment confirmée par deux mutations non sens C15X à l'état hétérozygote chez un patient présentant une dysgénésie gonadique, sans insuffisance surrénalienne [49].

En pratique, la recherche d'une mutation du gène SF-1 devrait être faite devant toute insuffisance surrénale associée à une dysgénésie gonadique, mais aussi devant une dysgénésie gonadique isolée, sans mutation de SRY.

### DAX-1

L'implication du gène DAX-1 dans le développement de la surrénale fœtale est certaine, car la mutation de ce gène est responsable de l'hypoplasie congénitale des surrénales.

La protéine DAX-1 est apparentée à la famille des récepteurs nucléaires orphelins par sa partie C-terminale. L'expression de DAX-1 est mise en évidence dès les premiers stades du développement du cortex surrénalien, des testicules (cellules de Leydig et cellules de Sertoli), des cellules de la thèque de la granulosa de l'ovaire, des

cellules gonadotropes hypophysaires et de l'hypothalamus ventromédian [30, 33, 59, 62].

Actuellement, la plupart des mutations sont ponctuelles, entraînant un déplacement du cadre de lecture. Ces mutations testées *in vitro* lèvent l'inhibition induite par DAX-1 sur l'effet stimulant de SF-1 [43]. Son mécanisme d'action reste obscur. Ainsi, l'inactivation du gène DAX-1 chez la souris transgénique n'entraîne pas d'insuffisance surrénalienne, mais laisse persister le cortex fœtal dans la surrénale adulte [81]. Cela souligne des différences phénotypiques entre la souris et l'homme. En effet, aucun patient ayant des mutations du gène DAX-1 ne présente d'anomalies testiculaires et d'ambiguïté sexuelle. Alors que chez des souris dont le gène DAX-1 a été invalidé, des anomalies du développement testiculaire précoce (cordons testiculaires désorganisés, discontinuité de la lame basale des tubes séminifères, diminution des cellules myoïdes périvitubulaires) sont observées [53].

Certains membres de la famille des gènes WNT dont le WNT 11 ont été identifiés dans les surrénales, les poumons, les reins, le placenta et les capillaires [21, 41].

WT-1 aurait également un rôle dans la formation des surrénale [77].

GATA-4 et GATA-6 sont des facteurs de transcription détectables à partir de la 19<sup>e</sup> SD qui régulent la différenciation [40].

## LES HYPOPLASIES SURRÉNALIENNES

Il existe deux types d'insuffisances surrénaliennes d'origine embryonnaire, mais de causes différentes : l'hypoplasie surrénale cytomégaly et l'hypoplasie surrénale de type anencéphalique.

### L'hypoplasie surrénale cytomégaly

Dès 1927, Kampmeier avait souligné l'analogie entre les cellules fœtales et l'aspect de certaines surrénales hypoplasiques [37]. La première observation a été décrite par Sikl en 1948 [72]. Les principaux caractères de cette pathologie ont été précisés par Mamelle *et al.* en 1974 [50] et par Peter *et al.* en 1998 [66]. La transmission récessive liée au sexe a été invoquée pour la première fois en 1970 par Weiss et Mellinger [79]. Cette maladie héréditaire, liée au chromosome X, est due à une mutation du gène DAX-1 décrite en 1994 par Muscatelli *et al.* [62] et Zanaria *et al.* [82]. Cette mutation est également responsable de l'hypogonadisme hypogonadotrope (HHG) parfois associé à l'hypoplasie surrénalienne congénitale. Les mutations de DAX-1 modifient la partie C-terminale de la protéine, responsable de l'activité inhibitrice. Les mutations



observées chez les malades atteints de l'HSC sont une délétion, un codon-stop, un décalage du cadre de lecture ; quelques faux-sens ont également été rapportés [30, 33, 59]. C'est une insuffisance surrénalienne néonatale ou plus tardive avec hypoglycémie et perte de sel, qui fait porter le diagnostic. Le déficit affecte complètement la synthèse des minéralocorticoïdes, des glucocorticoïdes et des androgènes surrénaliens. Chez les enfants traités, cette insuffisance surrénalienne s'accompagne d'un hypogonadisme hypogonadotrope diagnostiqué pendant la période pubertaire. À l'examen morphologique les surrénales sont petites (< 10 g), mais non microscopiques avec un cortex permanent pratiquement absent. Le cortex fœtal avec ses grandes cellules caractéristique est bien développé.

Dans le cadre des syndromes des gènes contigus, l'HSC peut être associée à un déficit en glycérol kinase et à une myopathie de Duchenne [59].

### L'hypoplasie surrénale de type anencéphalique

L'hypoplasie surrénale anencéphalique est beaucoup plus rare que la précédente et atteint aussi bien les filles que les garçons. Elle survient toujours en période néonatale. L'insuffisance surrénalienne est le plus souvent majeure, avec une cortisolémie basse, et entraîne le décès dans les 15 premiers jours. À l'examen morphologique, les surrénales sont très petites (< 1 g) [6] avec un cortex fœtal pratiquement absent. L'examen du système nerveux central est normal [61]. Il n'a pas été décrit de mutation génétique, en particulier de DAX-1. Mais l'existence de formes familiales suggère une cause génétique [12].

### CONCLUSION

Le développement de la surrénale humaine est complexe : la corticosurrénale, d'origine mésoblastique, comporte deux zones, le cortex fœtal lieu de synthèse de la DHEA, qui régresse en période post-natale et le cortex permanent dont la synthèse de cortisol reste discutée. Le développement de la médullosurrénale, d'origine neuroectoblastique, est très peu connu. La croissance surrénalienne est régulée par des hormones (ACTH, LH et HCG) et des facteurs de croissance (IGF II principalement). Deux gènes, SF-1 et DAX-1, jouent un rôle primordial dans le développement de la surrénale fœtale. La connaissance des phénomènes morphologiques et moléculaires du développement de la surrénale permet de mieux comprendre la physiopathologie des deux types d'insuffisance surrénale congénitale : l'hypoplasie surrénale cytomégalique liée à l'X due à une mutation du gène DAX-1 et l'hypoplasie surrénale de type anencéphalique, d'origine encore inconnue.

### RÉFÉRENCES

1. Achermann JC, Ozisik G, Ito M, et al. Gonadal determination and adrenal development are regulated by the orphan nuclear receptor steroidogenic factor-1, in a dose-dependent manner. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002 ; 87 : 1829-33.
2. Baker BL, Jaffe RB. The genesis of cell types in the adeno-hypophysis of the human fetus as observed with immunocytochemistry. *Am J Anat*, 1975 ; 143 : 137-61.
3. Bakke M, Zhao L, Hanley NA, Parker KL. SF-1 : a critical mediator of steroidogenesis. *Mol Cell Endocrinol*, 2001 ; 171 : 5-7.
4. Barker EV, Hume R, Hallas A, Coughtrie WH. Dehydroepiandrosterone sulfotransferase in the developing human fetus : quantitative biochemical and immunological characterization of the hepatic, renal, and adrenal enzymes. *Endocrinology*, 1994 ; 134 : 982-9.
5. Birnbacher R, Amann G, Breitschopf H, Lassmann H, Suchanek G, Heinz-Erian P. Cellular localization of insulin-like growth factor II mRNA in the human fetus and the placenta : detection with a digoxigenin-labeled cRNA probe and immunocytochemistry. *Pediatr Res*, 1998 ; 43 : 614-20.
6. Blizzard RM, Alberts M. Hypopituitarism, hypoadrenalism, and hypogonadism in the newborn infant. *J Pediatr*, 1956 ; 48 : 782-92.
7. Bocian-Sobkowska J, Malendowicz LK, Wozniak T. Cytological aspects of the human adrenal cortex development in the course of intra-uterine life. *Histol Histopathol*, 1993 ; 8 : 725-30.
8. Bocian-Sobkowska J, Malendowicz LK, Wozniak W. Comparative stereological study on zonation and cellular composition of adrenal glands of normal and anencephalic human fetuses. I. Zonation of the gland. *Histol Histopathol*, 1997 ; 12 : 311-7.
9. Bolt RJ, van Weissenbruch MM, Lafeber HN, Delemarre-van de Waal HA. Development of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the fetus and preterm infant. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 2002 ; 15 : 759-69.
10. Bolt RJ, van Weissenbruch MM, Popp-Snijders C, Sweep CG, Lafeber HN, Delemarre-van de Waal HA. Fetal growth and the function of the adrenal cortex in preterm infants. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002 ; 87 : 1194-9.
11. Breault L, Chamoux E, Lehoux JG, Gallo-Payet N. The role of angiotensin II in human adrenal gland development. *Endocr Res*, 1998 ; 24 : 953-4.
12. Burke BA, Wick MR, King R, et al. Congenital adrenal hypoplasia and selective absence of pituitary luteinizing hormone : a new autosomal recessive syndrome. *Am J Med Genet*, 1988 ; 31 : 75-97.
13. Buster JE. Fetal adrenal cortex. *Clin Obstet Gynecol*, 1980 ; 23 : 803-24.
14. Challis JRG, Matthews SG, Gibb W, Lye SJ. Endocrine and paracrine regulation of birth at term and preterm. *Endocr Rev*, 2000 ; 21 : 514-50.
15. Chamoux E, Breault L, Lehoux JG, Gallo-Payet N. Involvement of the angiotensin II type 2 receptor in apoptosis during human fetal adrenal gland development. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999 ; 84 : 4722-30.
16. Chang CH, Yu CH, Chang FM, Ko HC, Chen HY. Assessment of fetal adrenal gland volume using three-dimensional ultrasound. *Ultrasound Med Biol*, 2002 ; 28 : 1383-7.
17. Coulter CL, Goldsmith PC, Mesiano S, et al. Functional maturation of the primate fetal adrenal in vivo : I. Role of insulin-like growth factors (IGFs), IGF-I receptor, and IGF binding proteins in growth regulation. *Endocrinology*, 1996 ; 137 : 4487-98.

18. Coulter CL, Goldsmith PC, Mesiano S, *et al.* Functional maturation of the primate fetal adrenal in vivo. II. Ontogeny of corticosteroid synthesis is dependent upon specific zonal expression of 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase/isomerase. *Endocrinology*, 1996 ; 137 : 4953-9.
19. Coulter CL, Jaffe RB. Functional maturation of the primate fetal adrenal in vivo : 3. Specific zonal localization and developmental regulation of CYP21A2 (P450c21) and CYP11B1/CYP11B2 (P450c11/aldosterone synthase) lead to integrated concept of zonal and temporal steroid biosynthesis. *Endocrinology*, 1998 ; 139 : 5144-50.
20. Doody KM, Carr BR, Rainey WE, *et al.* 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase/isomerase in the fetal zone and neocortex of the human fetal adrenal gland. *Endocrinology*, 1990 ; 126 : 2487-92.
21. Eberhart CG, Argani P. Wnt signaling in human development : beta-catenin nuclear translocation in fetal lung, kidney, placenta, capillaries, adrenal, and cartilage. *Pediatr Dev Pathol*, 2001 ; 4 : 351-7.
22. Feige JJ, Baird A. Growth factor regulation of adrenal cortex growth and function. *Prog Growth Factor Res*, 1991 ; 3 : 103-13.
23. Folligan K, Bouvier R, Targe F, Morel Y, Trouillas J. Etude histologique et moléculaire de la cortico-surrénale foetale humaine (12-36 SD). *Ann Endocrinol*. In press 2005.
24. Forbes KJ, Hagen M, Glatt H, Hume R, Coughtrie MW. Human fetal adrenal hydroxysteroid sulphotransferase : cDNA cloning, stable expression in V79 cells and functional characterisation of the expressed enzyme. *Mol Cell Endocrinol*, 1995 ; 112 : 53-60.
25. Gaillard DA, Lallemand AV, Moirot HH, Visseaux-Coletto BJ, Paradis PH. Fetal adrenal development during the second trimester of gestation. *Pediatr Pathol*, 1990 ; 10 : 335-50.
26. Gardner LI. Adrenocortical metabolism of the fetus, infant and child. *Pediatrics*, 1956 ; 17 : 897-924.
27. Girod C. Les surrénales. In « Introduction à l'étude des glandes endocrines », 1980. Simep : pp. 237-300.
28. Goto M, Brickwood S, Wilson DI, Wood PJ, Mason JI, Hanley NA. Steroidogenic enzyme expression within the adrenal cortex during early human gestation. *Endocr Res*, 2002 ; 28 : 641-5.
29. Gray ES, Abramovich DR. Morphologic features of the anencephalic adrenal gland in early pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, 1980 ; 137 : 491-5.
30. Guo W, Burris TP, McCabe ER. Expression of DAX-1, the gene responsible for X-linked adrenal hypoplasia congenita and hypogonadotropic hypogonadism, in the hypothalamic-pituitary-adrenal/gonadal axis. *Biochem Mol Med*, 1995 ; 56 : 8-13.
31. Han VK. The ontogeny of growth hormone, insulin-like growth factors and sex steroids : molecular aspects. *Horm Res*, 1996 ; 45 : 61-6.
32. Hatano O, Takakusu A, Nomura M, Morohashi K. Identical origin of adrenal cortex and gonad revealed by expression profiles of Ad4BP/SF-1. *Genes Cells*, 1996 ; 1 : 663-71.
33. Ikeda Y, Swain A, Weber TJ, *et al.* Steroidogenic factor 1 and Dax-1 colocalize in multiple cell lineages : potential links in endocrine development. *Mol Endocrinol* ; 1996. 10 : 1261-72.
34. Jaffe RB, Mesiano S, Smith R, Coulter CL, Spencer SJ, Chakravorty A. The regulation and role of fetal adrenal development in human pregnancy. *Endocr Res*, 1998 ; 24 : 919-26.
35. Jirasek J. Human fetal endocrines. In. Martinus Nijhoff, London, 1980 : pp 69-82.
36. Johannisson E. Aspects of the ultrastructure and function of the human fetal adrenal cortex. *Contrib Gynecol Obstet*, 1979 ; 5 : 109-30.
37. Kampmeier OF. Giant epithelial cells of the human fetal adrenal. *Anat Rec*, 1927 ; 37 : 95-102.
38. Keene M, Hewer E. Observations on the development of the human suprarenal gland. *J Anat*, 1927 ; 61 : 302-24.
39. Kero J, Poutanen M, Zhang FP, *et al.* Elevated luteinizing hormone induces expression of its receptor and promotes steroidogenesis in the adrenal cortex. *J Clin Invest*, 2000 ; 105 : 633-41.
40. Kiiveri S, Liu J, Westerholm-Ormio M, *et al.* Differential expression of GATA-4 and GATA-6 in fetal and adult mouse and human adrenal tissue. *Endocrinology*, 2002 ; 143 : 3136-43.
41. Lako M, Strachan T, Bullen P, Wilson DI, Robson SC, Lindsay S. Isolation, characterisation and embryonic expression of WNT11, a gene which maps to 11q13.5 and has possible roles in the development of skeleton, kidney and lung. *Gene*, 1998 ; 219 : 101-10.
42. l'Allemand D, Penhoat A, Blum W, Saez JM. Is there a local IGF-system in human adrenocortical cells? *Mol Cell Endocrinol*, 1998 ; 140 : 169-73.
43. Lalli E, Bardoni B, Zazopoulos E, *et al.* A transcriptional silencing domain in DAX-1 whose mutation causes adrenal hypoplasia congenita. *Mol Endocrinol*, 1997 ; 11 : 1950-60.
44. Langlois D, Li JY, Saez JM. Development and function of the human fetal adrenal cortex. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 2002 ; 15 Suppl 5 : 1311-22.
45. Lanman JT. The adrenal fetal zone : its occurrence in primates and a possible relationship to chorionic gonadotropin. *Endocrinology*, 1957 ; 61 : 684-91.
46. Lanman JT. The adrenal gland in the human fetus. An interpretation of its physiology and unusual developmental pattern. *Pediatrics*, 1961 ; 27 : 140-58.
47. Liggins GC, Fairclough RJ, Grieves SA, Kendall JZ, Knox BS. The mechanism of initiation of parturition in the ewe. *Recent Prog Horm Res*, 1973 ; 29 : 111-59.
48. Luo X, Ikeda Y, Parker KL. A cell-specific nuclear receptor is essential for adrenal and gonadal development and sexual differentiation. *Cell*, 1994 ; 77 : 481-90.
49. Mallet D, Bretones P, Michel-Calemard L, Dijoud F, David M, Morel Y. Gonadal dysgenesis without adrenal insufficiency in a 46, XY patient heterozygous for the nonsense C16X mutation : a case of SF1 haploinsufficiency. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004 ; 89 : 4829-32.
50. Mabelle JC, David M, Riou D, *et al.* Hypoplasie surrénalienne congénitale de type cytomégalique forme récessive liée au sexe. *Arch Fr Pediatr*, 1975,32 : 139-59.
51. Mason JI, Rainey WE. Steroidogenesis in the human fetal adrenal : a role for cholesterol synthesized de novo. *J Clin Endocrinol Metab*, 1987 ; 64 : 140-7.
52. Mc Nutt NS, Jones AL. Observation of the ultrastructure of cytodifferentiation in the human fetal adrenal cortex. *Lab Invest*, 1970 ; 22 : 513-527.
53. Meeks JJ, Crawford SE, Russell TA, Morohashi K, Weiss J, Jameson JL. Dax1 regulates testis cord organization during gonadal differentiation. *Development*, 2003 ; 130 : 1029-36.
54. Mesiano S, Coulter CL, Jaffe RB. Localization of cytochrome P450 cholesterol side-chain cleavage, cytochrome P450 17 alpha-hydroxylase/17, 20-lyase, and 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase isomerase steroidogenic enzymes in human and rhesus monkey fetal adrenal glands : reappraisal of functional zonation. *J Clin Endocrinol Metab*, 1993 ; 77 : 1184-9.
55. Mesiano S, Fujimoto VY, Nelson LR, Lee JY, Voytek CC, Jaffe RB. Localization and regulation of corticotropin receptor expression in the midgestation human fetal adrenal cortex : implications for in utero homeostasis. *J Clin Endocrinol Metab*, 1996 ; 81 : 340-5.

56. Mesiano S, Jaffe RB. Developmental and functional biology of the primate fetal adrenal cortex. *Endocr Rev*, 1997 ; 18 : 378-403.
57. Mesiano S, Katz SL, Lee JY, Jaffe RB. Insulin-like growth factors augment steroid production and expression of steroidogenic enzymes in human fetal adrenal cortical cells : implications for adrenal androgen regulation. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997 ; 82 : 1390-6.
58. Mesiano S, Mellon SH, Gospodarowicz D, Di Blasio AM, Jaffe RB. Basic fibroblast growth factor expression is regulated by corticotropin in the human fetal adrenal : a model for adrenal growth regulation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1991 ; 88 : 5428-32.
59. Morel Y, Mallet D, Dijoux F, Trouillas J, Tardy V, Michel-Calemar L. Gènes du développement de la surrénale. In "Surrénale de l'enfant" Paris, Publi-fusion., 2003 ; 3 : pp 77-94.
60. Morohashi K, Mukai T, Kawabe K, et al. Adrenocortical and gonadal differentiation regulated by transcription factors, Ad4BP/SF-1 (NR5A1) and Dax-1 (NROB1). *Endocr Res*, 2000 ; 26 : 953.
61. Mosier HD. Hypoplasia of the pituitary and adrenal cortex ; report of occurrence in twin siblings and autopsy findings. *J Pediatr*, 1956 ; 48 : 633-9.
62. Muscatelli F, Strom TM, Walker AP, et al. Mutations in the DAX-1 gene give rise to both X-linked adrenal hypoplasia congenita and hypogonadotropic hypogonadism. *Nature*, 1994 ; 372 : 672-6.
63. Narasaka T, Suzuki T, Moriya T, Sasano H. Temporal and spatial distribution of corticosteroidogenic enzymes immunoreactivity in developing human adrenal. *Mol Cell Endocrinol*, 2001 ; 174 : 111-20.
64. Parker KL, Schimmer BP. Steroidogenic factor 1 : a key determinant of endocrine development and function. *Endocr Rev*, 1997 ; 18 : 361-77.
65. Partsch CJ, Sippell WG, MacKenzie IZ, Aynsley-Green A. The steroid hormonal milieu of the undisturbed human fetus and mother at 16-20 weeks gestation. *J Clin Endocrinol Metab*, 1991 ; 73 : 969-74.
66. Peter M, Viemann M, Partsch CJ, Sippell WG. Congenital adrenal hypoplasia : clinical spectrum, experience with hormonal diagnosis, and report on new point mutations of the DAX-1 gene. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998 ; 83 : 2666-74.
67. Rainey WE, Carr BR, Wang ZN, Parker CR, Jr. Gene profiling of human fetal and adult adrenals. *J Endocrinol*, 2001 ; 171 : 209-15.
68. Rainey WE, Parker CR, Jr., Rehman K, Carr BR. The adrenal genetic puzzle : how do the fetal and adult pieces differ? *Endocr Res*, 2002 ; 28 : 611-22.
69. Riopel L, Branchaud CL, Goodyer CG, et al. Effect of placental factors on growth and function of the human fetal adrenal in vitro. *Biol Reprod*, 1989 ; 41 : 779-89.
70. Seron-Ferre M, Lawrence CC, Siiteri PK, Jaffe RB. Steroid production by definitive and fetal zones of the human fetal adrenal gland. *J Clin Endocrinol Metab*, 1978 ; 47 : 603-9.
71. Shen WH, Moore CC, Ikeda Y, Parker KL, Ingraham HA. Nuclear receptor steroidogenic factor 1 regulates the mullerian inhibiting substance gene : a link to the sex determination cascade. *Cell*, 1994 ; 77 : 651-61.
72. Sikl H. Addison's disease due to congenital hypoplasia of adrenals in infant aged 33 days. *J pathol Bacteriol*, 1948 ; 60 : 323-324.
73. Spencer SJ, Mesiano S, Lee JY, Jaffe RB. Proliferation and apoptosis in the human adrenal cortex during the fetal and perinatal periods : implications for growth and remodeling. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999 ; 84 : 1110-5.
74. Stankovic AK, Grizzle WE, Stockard CR, Parker CR, Jr. Interactions between TGF-beta and adrenocorticotropin in growth regulation of human adrenal fetal zone cells. *Am J Physiol*, 1994 ; 266 : E495-500.
75. Sucheston ME, Cannon MS. Development of zonular patterns in the human adrenal gland. *J Morphol*, 1968 ; 126 : 477-91.
76. Tanimura T, Nelson T, Hollingsworth RR, Shepard TH. Weight standards for organs from early human fetuses. *Anat Rec*, 1971 ; 171 : 227-36.
77. Vidal V, Schedl A. Requirement of WT1 for gonad and adrenal development : insights from transgenic animals. *Endocr Res*, 2000 ; 26 : 1075-82.
78. Watterberg KL. Adrenocortical function and dysfunction in the fetus and neonate. *Semin Neonatol*, 2004 ; 9 : 13-21.
79. Weiss L, Mellinger RC. Congenital adrenal hypoplasia--an X-linked disease. *J Med Genet*, 1970 ; 7 : 27-32.
80. Wyllie AH, Kerr JF, Currie AR. Cell death in the normal neonatal rat adrenal cortex. *J Pathol*, 1973 ; 111 : 255-61.
81. Yu RN, Ito M, Saunders TL, Camper SA, Jameson JL. Role of Ahch in gonadal development and gametogenesis. *Nat Genet*, 1998 ; 20 : 353-7.
82. Zanaria E, Muscatelli F, Bardoni B, et al. An unusual member of the nuclear hormone receptor superfamily responsible for X-linked adrenal hypoplasia congenita. *Nature*, 1994 ; 372 : 635-41.

# Étude histologique et moléculaire de la corticosurrénale fœtale humaine (12<sup>e</sup>-36<sup>e</sup> SD)

## La corticosurrénale fœtale humaine (12<sup>e</sup>-36<sup>e</sup> SD)

K. Folligan<sup>(1,4)</sup>, R. Bouvier<sup>(2)</sup>, F. Targe<sup>(1)</sup>, Y. Morel<sup>(3)</sup>, J. Trouillas<sup>(1)</sup>

(1) Laboratoire d'Histologie et Embryologie moléculaires. Faculté de Médecine Lyon-RTH Laennec, rue Guillaume Paradin, 69372 Lyon Cedex 08, France.

(2) Laboratoire Central d'Anatomie et de Cytologie pathologiques. Hôpital Edouard Herriot, 5 place d'Arsonval, 69437 Lyon Cedex 03, France.

(3) Laboratoire de Biochimie endocrinienne et moléculaire. EA 3739, Hôpital Debrousse, 29 rue Sœur Bouvier, 69322 Lyon Cedex 05, France.

(4) Laboratoire d'Histologie-Embryologie, Cytologie et Biologie de la Reproduction. CHU Tokoin. B.P. 57 Lomé – Togo.

Tirés à part : J. Trouillas, à l'adresse ci-dessus.

e-mail : secretariat.lhem@recherche.univ-lyon1.fr

### Histological and molecular study of fetal human adrenal cortex (12-36 wk)

K. Folligan, R. Bouvier, F. Targe, Y. Morel, J. Trouillas

*Ann. Endocrinol.*, 2005 ; 66, 6 : 519-526

Histological and functional characteristics of the fetal human adrenals was studied in 119 normal fetuses aged 12 to 36 weeks development (WD). Immunocytochemical detection of steroidogenesis enzyme (3 $\beta$ -HSD and P450 c21) and evaluation of cell proliferation using two nuclear markers (Ki-67 and PCNA) were performed in 70 of them.

The human fetal adrenal cortex is composed of two morphologically distinct zones: the definitive peripheral zone and the fetal inner zone. From the 12<sup>th</sup> WD, we observed expression of an adherence protein (NCAM) and two steroidogenesis enzymes (3 $\beta$ -HSD and P450 c21) in the definitive zone cells, attesting to the capacity of these cells to synthesize mineralocorticoids and/or cortisol. In the fetal zone, only P450 c21 immunoreactivity was detected. From the 14<sup>th</sup> WD, a transitional zone between the definitive zone and the fetal zone was identified by immunocytochemistry, with expression of 3 $\beta$ -HSD from the 21<sup>st</sup> WD.

Only cells of the definitive zone proliferated from the 12<sup>th</sup> to 25<sup>th</sup> WD. The indexes of proliferation of PCNA and Ki-67, 40% and 25% respectively, decreased gradually and were lower than 1% at the 25<sup>th</sup> WD.

**Key words:** Fetal human adrenal cortex, differentiation, proliferation, steroidogenesis.

### Étude histologique et moléculaire de la corticosurrénale fœtale humaine (12<sup>e</sup> -36<sup>e</sup> SD). La corticosurrénale fœtale humaine (12<sup>e</sup>-36<sup>e</sup> SD)

À partir de 119 surrénales de fœtus humains normaux, âgés de 12 à 36 semaines développement (SD), nous avons étudié les caractères histologiques et fonctionnels de la corticosurrénale humaine fœtale par la coloration HE (hémalum éosine) classique et par la détection immunocytochimique (n = 70) des enzymes de la corticostéroïdogénèse (3 $\beta$ -HSD et P450 c21). Nous avons également précisé la cinétique de la prolifération cellulaire par détection immunocytochimique de deux marqueurs nucléaires de prolifération : le PCNA et le Ki-67.

Nous retrouvons les deux zones de la corticosurrénale fœtale humaine : le cortex permanent périphérique et le cortex fœtal profond.

À la 12<sup>e</sup> SD, les cellules du cortex permanent expriment une protéine d'adhérence (la NCAM) et les enzymes de la stéroïdogénèse (3 $\beta$ -HSD et la P450 c21) attestant de leur capacité de synthétiser des minéralocorticoïdes et/ou du cortisol. Par contre les cellules du cortex fœtal, positives avec l'anticorps anti-P450 c21, n'expriment ni la 3 $\beta$ -HSD, ni la NCAM.

### INTRODUCTION

Si l'histologie et l'histophysiologie de la corticosurrénale adulte humaine sont bien connues, ce n'est pas le cas pour la corticosurrénale fœtale humaine dont les études sont rares et pour la plupart anciennes [6-8, 14]. On sait que la corticosurrénale humaine fœtale est composée de deux zones morphologiquement distinctes : le cortex permanent périphérique et le cortex fœtal profond. D'après des données ultrastructurales et biochimiques, on décrit, entre le cortex permanent et le cortex fœtal, une troisième zone appelée zone de transition, qui, apparaîtrait au deuxième trimestre de développement [9, 10]. La sécrétion de la corticosurrénale fœtale, la relation entre le cortex permanent et le cortex fœtal et l'origine des cellules de la corticosurrénale adulte restent discutées. Si la sécrétion de la 3 $\beta$ -HSD par le cortex permanent est reconnue par tous, la cinétique de l'expression de cette enzyme clé de la stéroïdogénèse est différente selon les auteurs [4, 10, 12].

Pour répondre à certaines de ces questions, nous avons réalisé une étude cytofonctionnelle et cinétique de la prolifération et de la différenciation cellulaires de la corticosurrénale fœtale humaine, chez 119 fœtus



À partir de la 14<sup>e</sup> SD, la réaction immunocytochimique permet d'identifier une zone de différenciation, « zone de transition », entre le cortex permanent et le cortex foetal dont les cellules expriment la 3 $\beta$ -HSD à la 21<sup>e</sup> SD. Seules les cellules du cortex permanent prolifèrent de la 12<sup>e</sup> à la 25<sup>e</sup> SD. Les index de prolifération du PCNA et du Ki-67, respectivement de 40 % et 25 % à 14 SD, décroissent progressivement pour être inférieurs à 1 % à la 25<sup>e</sup> SD.

**Mots-clés :** Corticosurrénale foetale humaine, différenciation, prolifération, stéroïdogénèse.

normaux, âgés de 12 à 36 semaines de développement (SD).

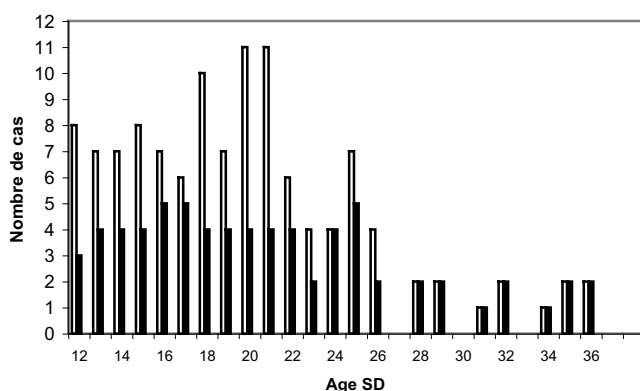
## MATÉRIEL ET MÉTHODES

À partir de 169 dossiers de fœtus eutrophiques, âgés de 12 à 36 SD, examinés à l'état frais, dans le cadre d'un examen fœtopathologique (laboratoire d'anatomie pathologique, Hôpital Edouard Herriot, Lyon, France), nous avons sélectionné 119 fœtus dont la répartition selon l'âge de développement est représentée dans la *figure 1*. De cette étude ont été exclus : les fœtus macérés ou présentant une anomalie externe, viscérale, ou chromosomique, une souffrance fœtale, une anomalie du liquide amniotique, autre qu'une récente rupture prématurée des membranes. Les grossesses multiples et les prématurés ayant vécu ont également été éliminés.

Les surrénales ont été fixées dans deux fixateurs différents : le liquide de Bouin (n = 69) et le formol tamponné à 10 % (n = 50). Pour chaque fœtus les coupes

des deux surrénales ont été examinées. Seules ont été retenues, les surrénales dont les coupes permettaient d'étudier la structure histologique et ne montraient aucun signe de congestion et/ou de cytolysse post-mortem. Pour chaque surrénale, incluse en paraffine et recoupée, une série de huit lames de 3 coupes contiguës (5  $\mu$ m a été réalisée. Les 119 surrénales ont bénéficié d'une étude histologique classique avec coloration par l'hémalum éosine (HE).

L'étude immunocytochimique (méthode d'immunoperoxydase indirecte) a été réalisée sur 70 surrénales de toutes les tranches d'âge (2 à 5 par SD). Après déparaffinage, les lames subissent 3 cycles de 5 minutes dans un four à micro-ondes. Cette technique de démasquage des antigènes a été utilisée pour tous les anticorps, sauf pour l'anti-PCNA. Après élimination des peroxydases endogènes par un traitement à l'eau oxygénée, les différents anticorps dilués sont déposés sur les coupes pendant une nuit à 4 °C. Le lendemain, le deuxième anticorps (l'immunoglobuline de chèvre biotinylée anti-souris/lapin kit Duet de Dako) est déposé sur les coupes pendant 30 minutes. La réaction est révélée par le complexe d'amplification Streptavidine/Biotine/Peroxydase (Dako) et un chromogène. Les anticorps monoclonaux de souris testés et la dilution utilisée sont les suivants : anti-Ki-67, 1/150, (Dako Cp, Carpinteria CA 93013 USA), anti-PCNA, 1/400 et anti-NCAM, 1/50 (Tebu, Novocastra, Newcastle-upon Tyne, UK), anti-3 $\beta$ -HSD, 1/40 000 (don de Jacques SIMARD, Université de Laval, Québec) et anti-P450 c21, 1/40 000 (don de Walter MILLER, UCSF, San Francisco CA). Le marquage nucléaire avec les marqueurs de prolifération, PCNA et Ki-67, a été observé à l'objectif  $\times$  40 et le pourcentage de noyaux marqués a été établi sur 500 noyaux. Pour l'anticorps anti-Ki-67, tous les noyaux marqués ont été comptés alors que pour l'anticorps anti-PCNA seuls les noyaux présentant un intense marquage ont été considérés comme positifs. Pour chaque anticorps, nous avons réalisé l'étude à la fois sur des surrénales fixées dans le liquide de Bouin et sur des surrénales fixées dans du formol tamponné à 10 %. Nous avons utilisé comme témoins positifs des coupes d'embryon de 4 à 6 SD pour les anticorps anti-Ki-67 et anti-PCNA et des coupes de surrénale adulte pour les anticorps anti-P450 c21 et anti-3 $\beta$ -HSD.



**Figure 1 :** Répartition des surrénales étudiées en fonction de l'âge et des techniques utilisées

Nombre de surrénales étudiées en technique standard (barres blanches) et en immunocytochimie (barres noires).

**Figure 1:** Repartition of adrenal gland studied according to the age and to the methods

Number of adrenal glands studied by histological staining (white bars) and by immunoperoxidase reaction (black bars)

## RÉSULTATS

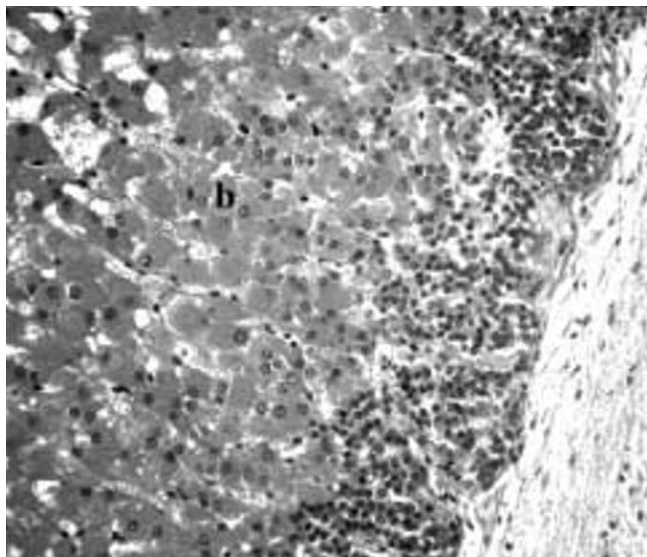
### Identification morphofonctionnelle des différents types cellulaires

#### Les caractères histologiques et cytologiques

Nous avons retrouvé les deux zones de la corticosurrénale fœtale : le cortex permanent, externe et mince et le cortex fœtal, interne et épais dont les deux types cellulaires sont bien distincts (*fig. 2*) :

— Les cellules du cortex permanent, de petite taille, sont arrondies, à cytoplasme basophile et à noyau hypercolorable. Elles sont disposées en 10 à 15 assises cellulaires sans organisation particulière jusqu'à 15 SD. À partir de 16 SD on observe un début d'organisation en glomérules et des coulées cellulaires qui pénètrent dans le cortex fœtal. Les glomérules deviennent nets à partir de la 19<sup>e</sup> SD.

— Les cellules du cortex fœtal sont de volumineuses cellules à limites floues, à cytoplasme éosinophile, contenant un volumineux noyau avec un nucléole bien visible. Elles sont organisées en colonnes cellulaires, séparées par des vaisseaux sanguins.



**Figure 2 :** Les deux zones de la corticosurrénale fœtale en technique histologique classique.

Surrénale humaine fœtale de 15 SD. On observe les deux types cellulaires de la corticosurrénale fœtale : les petites cellules du cortex permanent à noyau arrondi, hypercolorable (a) et les volumineuses cellules du cortex fœtal à limites floues, à noyau bien nucléolé (b). Coloration HE. Obj □ 40.

**Figure 2:** Human fetal adrenal of 15 WD: Two types of cells are typical of the adrenal cortex: small cells of the definitive zone (a), and large cells of the fetal zone (b). HE staining, Obj □ 40.

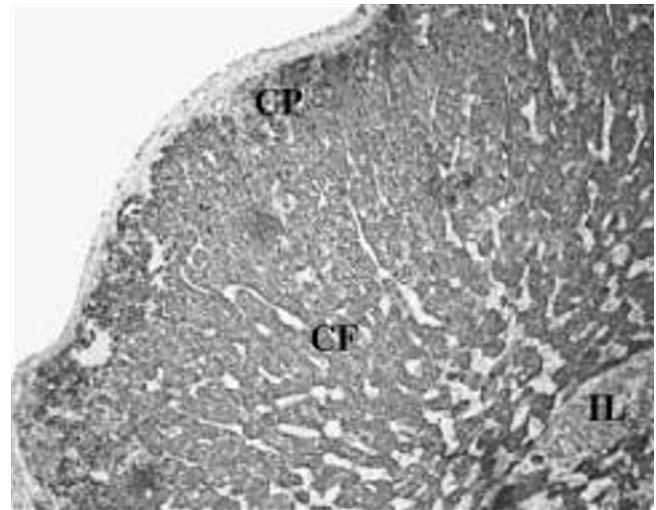
### Expression de la P450 c21, de la NCAM et de la 3 $\beta$ -HSD

#### Les cellules du cortex permanent

Quels que soient le fixateur utilisé et l'âge, toutes les cellules du cortex permanent présentent un marquage cytoplasmique avec l'anticorps anti-P450 c21 (*fig. 3*). Par contre le nombre des cellules positives et l'intensité du marquage cytoplasmique avec l'anticorps anti-3 $\beta$ -HSD augmentent en fonction de l'âge (*fig. 4a-b-c*). On observe également un marquage membranaire avec l'anticorps anti-NCAM. (*fig. 4d*). Le nombre de cellules positives et l'intensité de la réaction diminuent avec l'âge (*fig. 4e-f*).

#### Évolution chronologique de l'expression de la NCAM et de la 3 $\beta$ -HSD

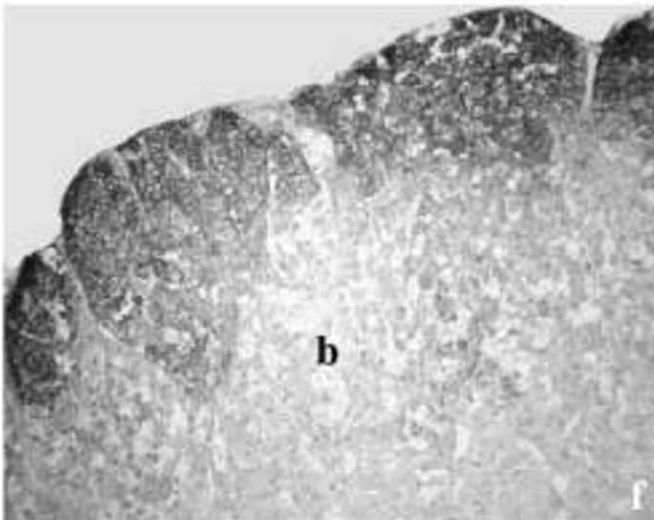
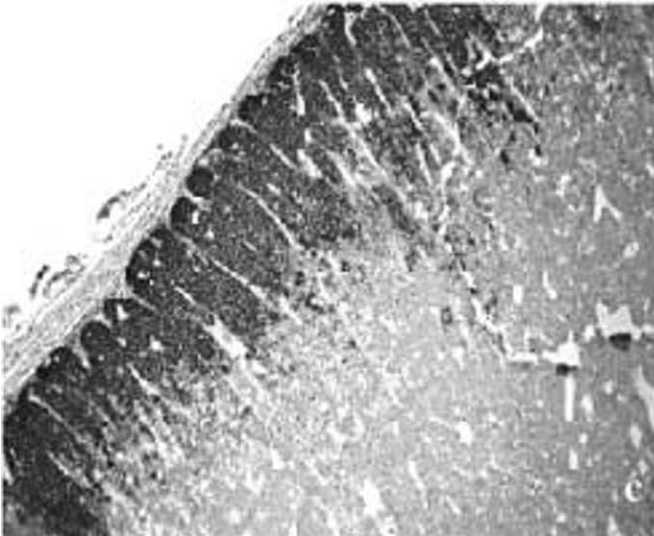
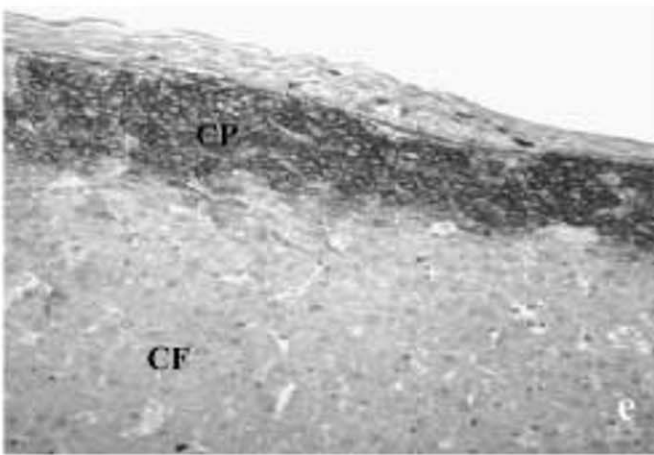
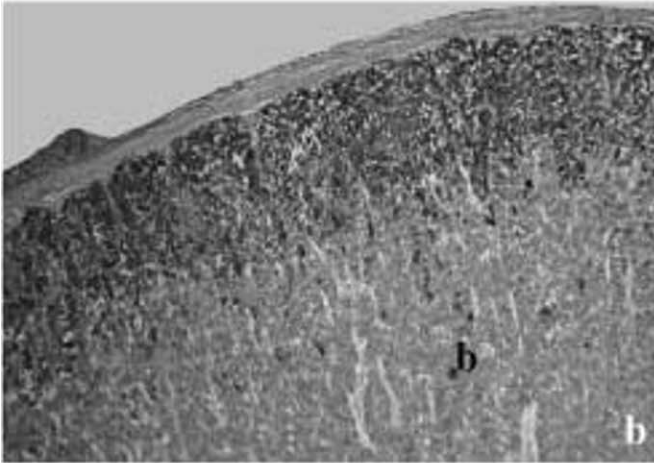
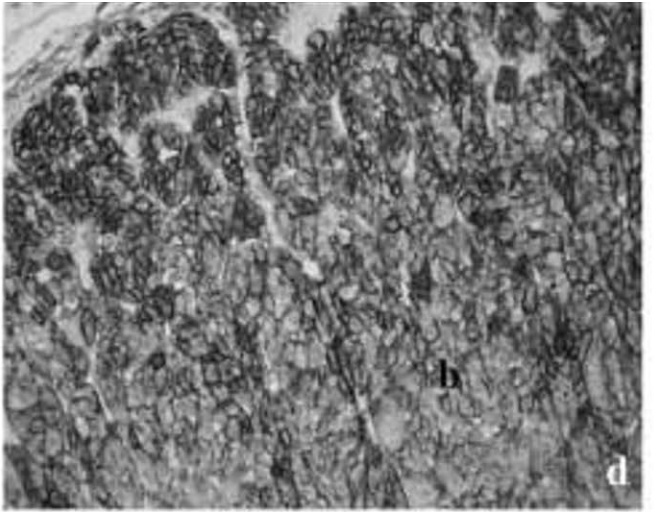
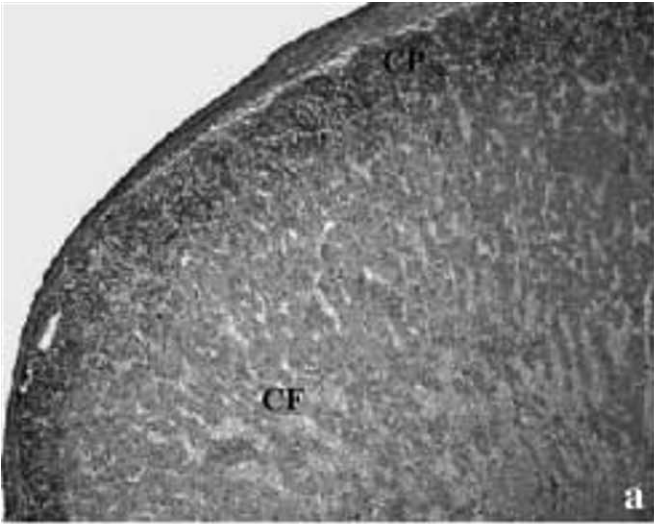
Entre 12-13 SD, toutes les cellules du cortex permanent sont intensément marquées par l'anticorps anti-NCAM. Le passage du cortex permanent positif au cortex fœtal négatif est brutal (*fig. 4e*). Entre 14-17 SD, dans la partie la plus externe du cortex permanent, les petites cellules sont intensément marquées avec l'anticorps anti-NCAM et présentent un début d'organisation en glomérule ; en profondeur les cellules, sans organisation particulière, plus volumineuses (taille intermédiaire entre les cellules



**Figure 3 :** Expression de la P450 c21.

Surrénale humaine fœtale de 16 SD. Les cellules du cortex permanent (CP) et du cortex fœtal (CF) sont positives avec l'anticorps anti-P450 c21 (aspect dense). Les îlots de neuroblastes (IL) sont négatifs (aspect clair). Méthode d'immunoperoxydase. Obj □ 25.

**Figure 3:** Human fetal adrenal of 16 WD. The P450 c21 immunoreactivity was detected in the definitive zone and the fetal zone. The neuroblasts were negative. Immunoperoxidase reaction. Obj □ 25.



522



**Figure 4 : Cinétique de l'expression de la 3 $\beta$ -HSD et de la NCAM dans la corticosurrénale fœtale.**

- a - Surrénale humaine fœtale de 14 SD. De rares cellules sont positives en périphérie du cortex permanent (CP). Réaction d'immunoperoxydase avec l'anticorps anti-3 $\beta$ -HSD. Obj □ 25.
- b - Surrénale humaine fœtale de 21 SD. La plupart des cellules du cortex permanent sont fortement positives avec l'anticorps anti-3 $\beta$ -HSD (a). On observe également un marquage dans de rares cellules volumineuses profondes (b). Réaction d'immunoperoxydase avec l'anticorps anti-3 $\beta$ -HSD. Obj □ 25.
- c - Surrénale humaine fœtale de 36 SD. Toutes les cellules du cortex permanent expriment la 3 $\beta$ -HSD. Réaction d'immunoperoxydase avec l'anticorps anti-3 $\beta$ -HSD. Obj □ 10
- d - Cortex permanent d'une surrénale humaine fœtale de 14 SD. Toutes les cellules sont positives avec l'anticorps anti-NCAM ; celles de la région externe (a) sont de petite taille et celles de la région interne (b) sont volumineuses. Réaction d'immunoperoxydase. Obj □ 40.
- e - Surrénale humaine fœtale de 12 SD. Notez le passage brutal du marquage avec les anticorps anti-NCAM entre le cortex permanent (CP) positif et le cortex fœtal (CF) négatif. Réaction d'immunoperoxydase. Obj □ 25.
- f - Surrénale humaine fœtale de 36 SD. Les cellules externes du cortex permanent expriment la NCAM (a), celles du cortex permanent interne sont négatives (b). Réaction d'immunoperoxydase. Obj □ 25.

**Figure 4:** a - Human fetal adrenal of 14 WD. A cytoplasmic immunoreactivity for 3 $\beta$ -HSD was detected in rare cells of the external definitive zone. Immunoperoxidase reaction, Obj □ 25.

b - Human fetal adrenal of 21 WD. Immunoreactivity for 3 $\beta$ -HSD was detected in almost all the cells of the definitive zone and in rare inner large cells. Immunoperoxidase reaction, Obj □ 25.

c - Human fetal adrenal of 36WD. All the cells of the definitive zone express the 3 $\beta$ -HSD. Immunoperoxidase reaction, Obj □ 10.

d - Human fetal adrenal cortex of 14WD. The immunoreactivity for NCAM was detected in small and large cells of the definitive zone. Immunoperoxidase reaction. Obj □ 40.

e - Human fetal adrenal of 12WD. The passage from the definitive zone positive with anti-NCAM to the fetal zone was clear cut. Immunoperoxidase reaction, Obj □ 40.

f - Human fetal adrenal of 36WD. Only the cells of the external definitive zone express the NCAM. Immunoperoxidase reaction. Obj □ 25.

du cortex permanent et celles du cortex fœtal) sont faiblement marquées ; elles sont négatives à partir de 19SD (fig. 4f).

Jusqu'à 18 SD seules de rares cellules en périphérie du cortex expriment la 3 $\beta$ -HSD (fig. 4a). Entre 19-20 SD, la majorité des cellules du cortex permanent sont positives, sauf les cellules volumineuses de la partie profonde qui expriment faiblement la NCAM. À partir de 21 SD, toutes les petites cellules du cortex permanent sont fortement positives avec l'anticorps anti-3 $\beta$ -HSD. On observe également un marquage dans de rares cellules volumineuses profondes (fig. 4b). À partir de 28 SD, toutes les cellules du cortex permanent sont positives (fig. 4c).

**Les cellules du cortex fœtal**

Quels que soient l'âge et le fixateur utilisé, toutes les cellules du cortex fœtal sont positives avec l'anticorps anti-P450 c21 et négatives avec les anticorps anti-3 $\beta$ -HSD et anti-NCAM (fig. 3, 4).

**Zone de transition et relations entre cortex permanent et cortex fœtal**

Avec une coloration à l'HE, nous n'avons pas observé nettement de zone intermédiaire ou zone de transition entre le cortex permanent et le cortex fœtal. Par contre en immunocytochimie, on constate qu'il existe entre la région externe du cortex permanent, intensément positif avec l'anticorps anti-NCAM et le cortex fœtal négatif,

une zone intermédiaire formée de volumineuses cellules faiblement marquées (14-17 SD), puis négatives (à partir de la 19<sup>e</sup> SD) avec la NCAM ; ces cellules deviennent positives avec l'anticorps anti-3 $\beta$ -HSD à partir de la 21<sup>e</sup> SD (fig. 4b-c).

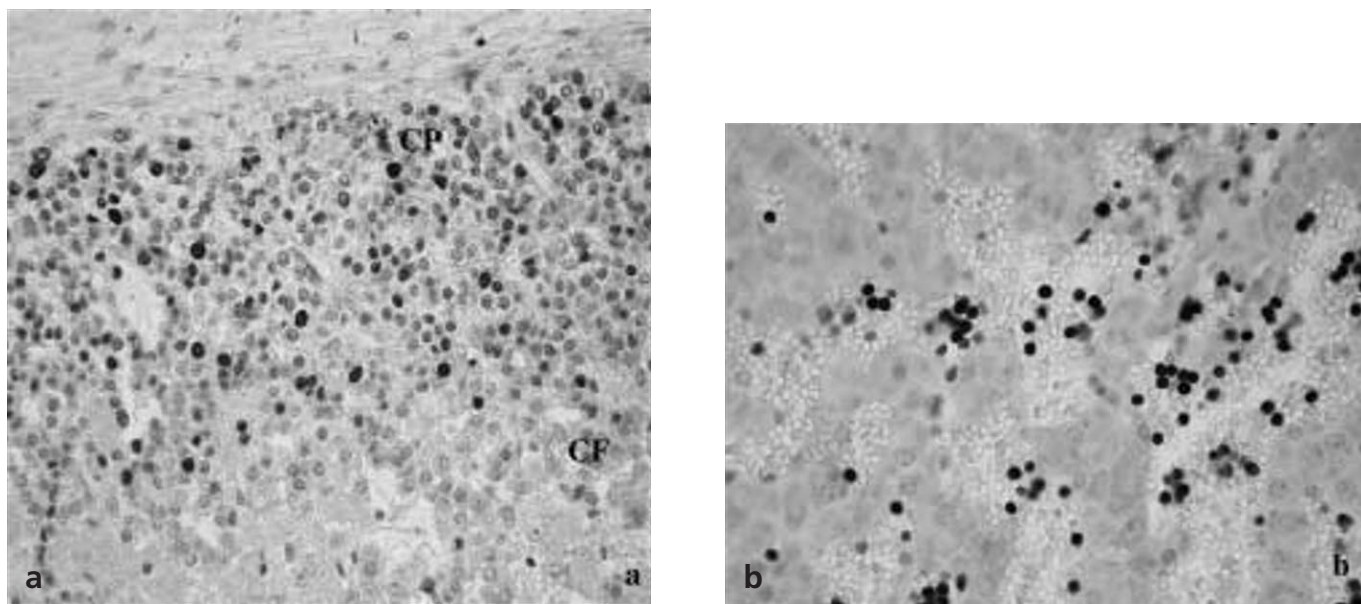
**Étude cinétique de la prolifération cellulaire****Le cortex permanent**

Des cellules du cortex permanent présentent un marquage nucléaire avec les deux marqueurs de prolifération. (fig. 5a). Sur les surrénales fixées au formol, on observe un marquage aspécifique avec l'anticorps anti-PCNA et un faible marquage avec l'anticorps anti-Ki-67. Seuls les résultats de l'anticorps anti-PCNA sur les surrénales fixées au liquide de Bouin et ceux de l'anticorps anti-Ki-67 sur les surrénales fixées au formol sont interprétables et présentés sur la figure 6. Le pourcentage des cellules positives est plus élevé avec l'anticorps anti-PCNA qu'avec l'anticorps anti-Ki-67, mais les index de prolifération décroissent avec l'âge, suivant le même profil de courbe, de 40 % pour l'anticorps anti-PCNA et 25 % pour l'anti-Ki-67 à 14 SD, à < 1 % à 25 SD.

**Le cortex fœtal**

Les grandes cellules à cytoplasme éosinophile, caractéristiques du cortex fœtal sont exceptionnellement positives. Les cellules positives avec les anticorps anti-PCNA et anti-Ki-67 sont des cellules endothéliales des capillaires ou des neuroblastes en migration (fig. 5b).





**Figure 5 : Prolifération des cellules du cortex permanent**

a - Surrénale humaine fœtale de 18 SD. 35 % des cellules du cortex permanent présentent un marquage nucléaire avec l'anticorps anti-PCNA. Méthode d'immunoperoxydase. Obj  $\square$  40.

b - Surrénale humaine fœtale de 18 SD. Dans le cortex fœtal, les seules cellules présentant un marquage nucléaire avec l'anticorps anti-Ki-67 sont des cellules endothéliales ou des neuroblastes en migration. Les cellules surrénaliennes du cortex fœtal sont négatives. Méthode d'Immunoperoxydase. Obj  $\square$  40.

**Figure 5:** a- Human fetal adrenal of 18WD. 35% of the cells of the definitive zone were positive with anti-PCNA antibodies. Immunoperoxidase reaction. Obj  $\square$  40.

b- Human fetal adrenal of 18WD. In the fetal zone, the nuclear immunoreactivity for Ki-67 was not detected in the fetal zone cells Immunoperoxidase reaction. Obj  $\square$  40.

524

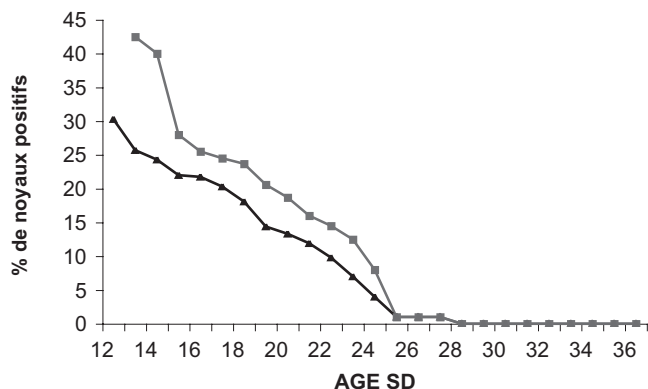
## DISCUSSION

Cette étude cytofonctionnelle de la corticosurrénale fœtale humaine a été réalisée à partir de la plus importante série de surrénales humaines normales ( $n = 119$ ). En effet, dans trois études récentes, le nombre de cas est inférieur à 30 [2, 12, 13]. Bien que les surrénales aient été prélevées dans le cadre d'examen foetopathologique, elles peuvent être considérées comme normales, car nous avons sélectionné des fœtus n'ayant aucune pathologie pouvant influencer le développement surrénalien (pathologies chromosomiques, anencéphalie et grossesses multiples) et n'ayant pas présenté de phénomènes pouvant modifier la structure des surrénales (souffrance fœtale, macération et congestion). Ces critères de sélection ne sont pas toujours aussi rigoureux, les fœtus anencéphales étant parfois seuls éliminés [5, 13]. La répartition des cas selon l'âge, nous a permis d'établir une cinétique précise des différents phénomènes observés de la 12<sup>e</sup> SD à la naissance, ce qui, à notre connaissance, n'a jamais été réalisé.

Sur le plan histologique et cytologique, nous avons retrouvé les deux zones et les deux types cellulaires de la corticosurrénale fœtale : le cortex permanent, externe, formé de petites cellules arrondies et basophiles et le cortex fœtal, interne, dont les volumineuses cellules éosinophiles, à limites floues, présentent un volumineux noyau bien nucléolé [11].

En utilisant deux marqueurs de prolifération, le Ki-67 et le PCNA, nous avons montré que seules les cellules du cortex permanent prolifèrent entre la 12<sup>e</sup> et la 25<sup>e</sup> SD. Spencer et al affirment que les cellules du cortex fœtal prolifèrent aussi [13]. Cette contradiction s'explique par l'utilisation du seul anticorps anti-PCNA sur des surrénales fixées au formol qui donne des réactions aspécifiques et l'absence d'identification précise des cellules marquées. En effet, il existe bien des cellules en prolifération dans la zone du cortex fœtal, mais elles sont rares et il s'agit de cellules endothéliales des capillaires ou de neuroblastes en migration.

Les cellules du cortex permanent expriment la 3 $\beta$ -HSD et cette expression augmente progressivement avec



**Figure 6 :** Cinétique de la prolifération du cortex permanent en fonction de l'âge.

Les pourcentages de noyaux positifs avec les anticorps anti-PCNA (rectangle) sont plus élevés que ceux des noyaux positifs avec les anticorps anti-Ki-67 (triangle) ; mais les deux courbes sont parallèles.

**Figure 6:** Proliferative indexes of PCNA (square) and Ki-67 (triangle) labellings according to the age.

l'âge, alors que les cellules du cortex fœtal n'expriment jamais la 3 $\beta$ -HSD. Ces résultats corroborent ceux de la littérature [1, 3, 4, 10, 12]. Mais la cinétique de l'expression de cette enzyme clé de la stéroïdogénèse est différente. Avec différentes méthodes, immunocytochimie [10, 12], hybridation in situ [10], Northern blot et PCR-RT [15], la 3 $\beta$ -HSD est presque indétectable entre la 14<sup>e</sup> et la 20<sup>e</sup> SD. En immunocytochimie, les anticorps anti-3 $\beta$ -HSD sont d'origine différente et leur dilution est de l'ordre du 1/1 000 [12] [10]. L'anticorps primaire utilisé dans cette étude est dilué à 1/40 000 et ne donne aucun fond, ce qui témoigne de sa spécificité et de sa sensibilité permettant de détecter une faible sécrétion. Pour les techniques de détection d'ARN, se pose également le problème de seuil de détection et de conservation des acides nucléiques. D'après nos résultats, seules les cellules du cortex permanent présentent une activité de la 3 $\beta$ -HSD, dès la 12<sup>e</sup> SD, son niveau d'expression est faible ; il augmente avec l'âge pour devenir intense à partir de la 21<sup>e</sup> SD. Seules ces cellules ont la capacité de synthétiser des minéralocorticoïdes et/ou des glucocorticoïdes alors que les cellules du cortex permanent et du cortex fœtal expriment toutes la P450 c21 [2, 12].

Nous montrons pour la première fois que certaines cellules corticosurréaliennes expriment une protéine d'adhérence, la NCAM. L'expression de la NCAM est limitée aux cellules externes du cortex permanent et aux neuroblastes (résultats non montrés). À 14-17 SD, entre cette région externe du cortex permanent, intensément positif avec l'anticorps anti-NCAM et le cortex fœtal négatif, apparaît une zone intermédiaire formée de volumineuses cellules faiblement marquées, puis négatives à

partir de la 19<sup>e</sup> SD avec la NCAM, devenant positives avec l'anticorps anti-3 $\beta$ -HSD à partir de la 21<sup>e</sup> SD. D'après ces données cytofonctionnelles, cette zone « intermédiaire » ou zone de transition, est bien une zone de différenciation cytofonctionnelle du cortex permanent, mais nous n'avons pas observé de phénomène de migration des cellules du cortex permanent externe vers le cortex permanent profond, ni vers le cortex fœtal, comme cela est évident pour les neuroblastes.

## CONCLUSION

Cette étude cinétique et cytofonctionnelle de la corticosurrénale humaine de la 12<sup>e</sup> à la 25<sup>e</sup> SD a permis de préciser que les cellules du cortex permanent prolifèrent et expriment une protéine d'adhérence (NCAM) et les enzymes de la stéroïdogénèse (3 $\beta$ -HSD et la P450 c21) à partir de la 12<sup>e</sup> SD ; elles ont donc la capacité de synthétiser des minéralocorticoïdes et/ou de cortisol. Par contre les cellules du cortex fœtal ne prolifèrent pas et n'expriment ni la 3 $\beta$ -HSD ni la NCAM. À partir de la 14<sup>e</sup> SD, s'individualise une zone « intermédiaire » considérée comme une zone de différenciation du cortex permanent dont les cellules exprimant la 3 $\beta$ -HSD acquièrent la capacité de synthétiser des minéralocorticoïdes et/ou de cortisol à partir de la 21<sup>e</sup> SD.

L'étude des surrénales de la période embryonnaire et de la période périnatale, l'identification d'un marqueur spécifique du cortex fœtal et l'étude de l'expression des gènes par microarrays avec la technique de microdissection laser permettront d'approfondir les connaissances sur les relations cytofonctionnelles des différentes couches de la corticosurrénale.

525

## RÉFÉRENCES

1. Coulter CL, Goldsmith PC, Mesiano S, *et al.* Functional maturation of the primate fetal adrenal in vivo. II. Ontogeny of corticosteroid synthesis is dependent upon specific zonal expression of 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase/isomerase. *Endocrinology*, 1996 ; 137 : 4953-9.
2. Coulter CL, Jaffe RB. Functional maturation of the primate fetal adrenal in vivo : 3. Specific zonal localization and developmental regulation of CYP21A2 (P450c21) and CYP11B1/CYP11B2 (P450c11/aldosterone synthase) lead to integrated concept of zonal and temporal steroid biosynthesis. *Endocrinology*, 1998 ; 139 : 5144-50.
3. Doody KM, Carr BR, Rainey WE, *et al.* 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase/isomerase in the fetal zone and neocortex of the human fetal adrenal gland. *Endocrinology*, 1990 ; 126 : 2487-92.
4. Dupont E, Luu-The V, Labrie F, Pelletier G. Ontogeny of 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase/delta 5-delta 4 isomerase (3 beta-HSD) in human adrenal gland performed by immunocytochemistry. *Mol Cell Endocrinol*, 1990 ; 74 : R7-10.

5. Gaillard DA, Lallemand AV, Moiroth HH, Visseaux-Coletto BJ, Paradis PH. Fetal adrenal development during the second trimester of gestation. *Pediatr Pathol*, 1990 ; 10 : 335-50.
6. Johannisson E. Aspects of the ultrastructure and function of the human fetal adrenal cortex. *Contrib Gynecol Obstet*, 1979 ; 5 : 109-30
7. Keene M, Hewer E. Observations on the development of the human suprarenal gland. *J Anat*, 1927 ; 61 : 302-24.
8. Lanman JT. The adrenal gland in the human fetus. An interpretation of its physiology and unusual developmental pattern. *Pediatrics*, 1961 ; 27 : 140-58.
9. Mc Nutt NS, Jones AL. Observation of the ultrastructure of cytodifferentiation in the human fetal adrenal cortex. *Lab Invest*, 1970 ; 22 : 513-527.
10. Mesiano S, Coulter CL, Jaffe RB. Localization of cytochrome P450 cholesterol side-chain cleavage, cytochrome P450 17 alpha-hydroxylase/17, 20-lyase, and 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase isomerase steroidogenic enzymes in human and rhesus monkey fetal adrenal glands : reappraisal of functional zonation. *J Clin Endocrinol Metab*, 1993 ; 77 : 1184-9.
11. Mesiano S, Katz SL, Lee JY, Jaffe RB. Insulin-like growth factors augment steroid production and expression of steroidogenic enzymes in human fetal adrenal cortical cells : implications for adrenal androgen regulation. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997 ; 82 : 1390-6.
12. Narasaka T, Suzuki T, Moriya T, Sasano H. Temporal and spatial distribution of corticosteroidogenic enzymes immunoreactivity in developing human adrenal. *Mol Cell Endocrinol*, 2001 ; 174 : 111-20.
13. Spencer SJ, Mesiano S, Lee JY, Jaffe RB. Proliferation and apoptosis in the human adrenal cortex during the fetal and perinatal periods : implications for growth and remodeling. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999 ; 84 : 1110-5.
14. Sucheston ME, Cannon MS. Development of zonular patterns in the human adrenal gland. *J Morphol*, 1968 ; 126 : 477-91.
15. Voutilainen R, Ilvesmaki V, Miettinen PJ. Low expression of 3 beta-hydroxy-5-ene steroid dehydrogenase gene in human fetal adrenals in vivo ; adrenocorticotropin and protein kinase C-dependent regulation in adrenocortical cultures. *J Clin Endocrinol Metab*, 1991 ; 72 : 761-7.

#### Subvention :

K Folligan a bénéficié d'une bourse de trois ans du Gouvernement de la République Française.  
Ce travail a bénéficié d'une subvention des Laboratoires EXCELGYN.

#### Remerciements :

Nous remercions les Docteurs Walter MILLER et Jacques SIMARD qui nous ont donné les anticorps anti-P450 c21 et anti-3 $\beta$ -HSD et Madame Patricia GERARDI pour son aide dans la préparation du manuscrit.


#### ERRATUM

Dans le numéro 5/2005 des *Annales d'Endocrinologie*, une erreur s'est glissée concernant la communication orale **CO03** (session thyroïde, page 388) et le poster **P209** (session thyroïde, page 485).

Dans la liste des auteurs, aurait dû apparaître le nom de **Régine Millon** ou **R. Millon**, respectivement 1<sup>re</sup> et 2<sup>e</sup> auteur des communications CO03 et P209.

L'éditeur remercie les auteurs de lui avoir notifié cette erreur.



Disponible en ligne sur  
 ScienceDirect  
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France  
 EM|consulte  
www.em-consulte.com



REVUE GÉNÉRALE

# L'hypoplasie surrénale congénitale de type anencéphalique : deux cas avec anomalies hypophysaires, sans mutation de *DAX-1* et *SF-1* et revue de la littérature

*Hypoplasia adrenal congenita of anencephalic type: Two cases with pituitary abnormalities and review of literature*

K. Folligan<sup>a,d</sup>, J. Roume<sup>e</sup>, F. Razavi<sup>f</sup>, S. Sepaniak<sup>a</sup>,  
R. Bouvier<sup>b</sup>, Y. Morel<sup>c</sup>, J. Trouillas<sup>a,\*,b</sup>

<sup>a</sup> Laboratoire d'histologie et embryologie moléculaires, faculté de médecine Lyon-Est, rue Guillaume-Paradin, 69372 Lyon cedex 08, France

<sup>b</sup> Centre de pathologie Est, 59, boulevard Pinel, 69677 Bron cedex, France

<sup>c</sup> Endocrinologie moléculaire et maladies rares, 59, boulevard Pinel, 69677 69677 Bron cedex, France

<sup>d</sup> Laboratoire d'histologie-embryologie, cytologie et biologie de la reproduction, CHU Tokoin, BP 57, Lomé, Togo

<sup>e</sup> Service de génétique médicale, centre hospitalier Poissy-Saint-Germain, 10, rue du Champ-Gaillard, 78303 Poissy cedex, France

<sup>f</sup> Unité de fœtopathologie, service histologie-embryologie-génétique, hôpital Necker-Enfants-malades, 149, rue de Sèvres, 75743 Paris cedex, France

## MOTS CLÉS

Hypoplasie surrénale  
congénitale ;  
Hypophyse

**Résumé** L'hypoplasie surrénale congénitale est une affection rare, de révélation précoce et létale en absence de traitement. Certaines formes sont dues à l'hypoplasie surrénale congénitale de type anencéphalique dont nous rapportons ici deux observations. Les deux nouveaux-nés, de sexe masculin, étaient décédés dans un tableau d'insuffisance surrénale aiguë. Les surrénales hypoplasiques présentaient une structure histologique de type anencéphalique, avec présence de cortex permanent et disparition du cortex fœtal. Le cerveau et l'hypothalamus étaient macroscopiquement normaux. L'hypophyse était hypoplasique, avec absence de posthypophyse. L'étude immunocytochimique de l'antéhypophyse a révélé l'absence de cellules gonadotropes ; les autres types cellulaires étant présents, notamment, les cellules corticotropes. La recherche des mutations des gènes *DAX-1* et *SF-1* était négative. À la lumière de la revue de la littérature, nous présentons les différences avec l'hypoplasie de type cytomégalique par mutation de *DAX-1* et discutons les causes de cette hypoplasie surrénalienne congénitale de type anencéphalique, le plus souvent sporadique et de cause encore inconnue.  
© 2010 Publié par Elsevier Masson SAS.

\* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : [jacqueline.trouillas@univ-lyon1.fr](mailto:jacqueline.trouillas@univ-lyon1.fr) (J. Roume).



**KEYWORDS**

Hypoplasia adrenal  
congenita;  
Pituitary

**Summary** Hypoplasia adrenal congenita is an extremely uncommon disease of early onset. This condition can be lethal in the absence of treatment. Some forms are due to the congenital adrenal hypoplasia of anencephalic type whose origin is even unknown. Here, we present two cases of congenital adrenal hypoplasia of anencephalic type with pituitary abnormalities. The two male newborns died because adrenal insufficiency in the neonatal period. The adrenal glands were hypoplastic with a histological structure of anencephalic type. Immunocytochemical study of the pituitary revealed an absence of the gonadotrophs. No mutation of *DAX 1* and *SF-1* was found.

© 2010 Published by Elsevier Masson SAS.

**Introduction**

L'hypoplasie surrénale congénitale est un terme créé par opposition à l'hyperplasie surrénale congénitale. À l'époque où l'absence de traitement conduisait au décès des patients, ces deux formes d'insuffisance surrénale congénitale étaient différenciées à l'autopsie sur l'aspect anatomique et histologique des surrénales. Ainsi, l'hypoplasie surrénale congénitale se définissait par un poids des deux surrénales inférieur à 1 g selon Kerény et al. [1], ou 1,8 g d'après Dhom et al. [2], chez un nouveau-né à terme, décédé d'insuffisance surrénale. C'est une affection rare, avec une incidence de 1/12 500 naissances [3]. Sur le plan histologique, on décrit deux formes: l'hypoplasie surrénale congénitale cytomégaly et l'hypoplasie surrénale congénitale de type anencéphalique ou miniature. L'hypoplasie surrénale congénitale relève de plusieurs pathogénies [3,4]. Certaines formes sont héréditaires et l'établissement d'un diagnostic précis est important pour le conseil génétique. L'hypoplasie surrénale congénitale cytomégaly est due à une mutation d'un facteur de transcription *DAX-1*. De nombreux travaux ont été consacrés à cette affection récessive liée au sexe [3–12]. Elle est différente de l'hypoplasie surrénale congénitale anencéphalique dont l'origine est encore inconnue [4]. L'hypoplasie surrénale congénitale de type anencéphalique est appelée ainsi sur l'aspect histologique des surrénales qui ressemble à celui des surrénales des fœtus anencéphales, mais s'en différencie par l'absence d'anomalies cérébrales macroscopiques. Elle est beaucoup plus rare que la précédente et atteint aussi bien les filles que les garçons. Dans une revue de la littérature que nous espérons exhaustive, nous avons dénombré 46 cas dont 23 de sexe féminin et 23 de sexe masculin (références dans le Tableau 1). Neuf cas familiaux sont répartis en trois familles. Il s'agit d'une insuffisance surrénalienne néonatale, le plus souvent majeure qui entraîne la mort dans les 15 premiers jours. Les surrénales sont toujours hypoplasiques, avec disparition du cortex fœtal et avec un cortex permanent peu développé. L'hypophyse n'est le plus souvent étudiée que macroscopiquement (42 cas) et est considérée comme normale (27 cas). Elle n'a bénéficié d'une étude immunocytochimique que dans trois cas appartenant à la même famille [13]. Nous rapportons ici deux observations d'hypoplasie surrénale congénitale anencéphalique, de sexe masculin, avec des anomalies hypophysaires, sans anomalie du cerveau et sans mutation de *DAX-1* et *SF-1*.

**Patients**

Les deux cas d'hypoplasie surrénale congénitale de type anencéphalique ont été observés en 1989 et en 1998 à l'hôpital Saint-Antoine de Paris (France).

**Cas n°1**

Nouveau-né de sexe masculin, né à terme, retrouvé mort dans son berceau à 15 heures de vie. À l'examen externe, il était eutrophique et eumorphique. L'examen des différents viscères thoraciques, abdominaux et pelviens était normal. Les surrénales étaient très petites, pesant chacune 0,5 g (N : 10,2 ± 1,9 g pour les deux). Il n'y avait pas d'anomalie des organes génitaux externes et internes. Les clichés radiographiques du squelette étaient normaux. Tous les organes (thyroïde, thymus, cœur, poumons, foie, rate, pancréas, surrénale, organes génitaux) étaient normaux sur le plan macroscopique et histologique. L'encéphale, de 450 g, était macroscopiquement normal. Le caryotype et la recherche des mutations des gènes *DAX-1* et *SF-1* n'ont pas été réalisés.

**Cas n°2**

Nouveau-né de sexe masculin, issu d'une procréation médicalement assistée (PMA), né à terme, décédé sans prodrome dans les bras de sa mère à 20 heures de vie. L'examen externe avait noté une discrète dysmorphie faciale, associant un front haut, un nez hypoplasique avec une ensellure marquée et une petite bouche. Il existait une hypoplasie isolée de la verge, sans ambiguïté sexuelle et sans hypospade. Les testicules étaient normaux. Les cellules de Leydig étaient présentes, mais peu actives. À l'examen macroscopique et microscopique, les différents organes étaient normaux. Seule une hypoplasie bilatérale majeure des surrénales a été observée: chaque surrénale pesait 0,4 g. La preuve de l'insuffisance surrénale sévère, cause du décès, a été apportée par un taux très bas de cortisol dans le sang fœtal, en postmortem.

Le caryotype réalisé sur la biopsie de peau était 46, XY. La recherche des mutations des gènes *DAX-1* et *SF-1* a été négative.

**Tableau 1** Hypoplasie surrénale congénitale de type anencéphalique : revue de la littérature.  
*Hypoplasia adrenal congenita of anencephalic type: review of the literature.*

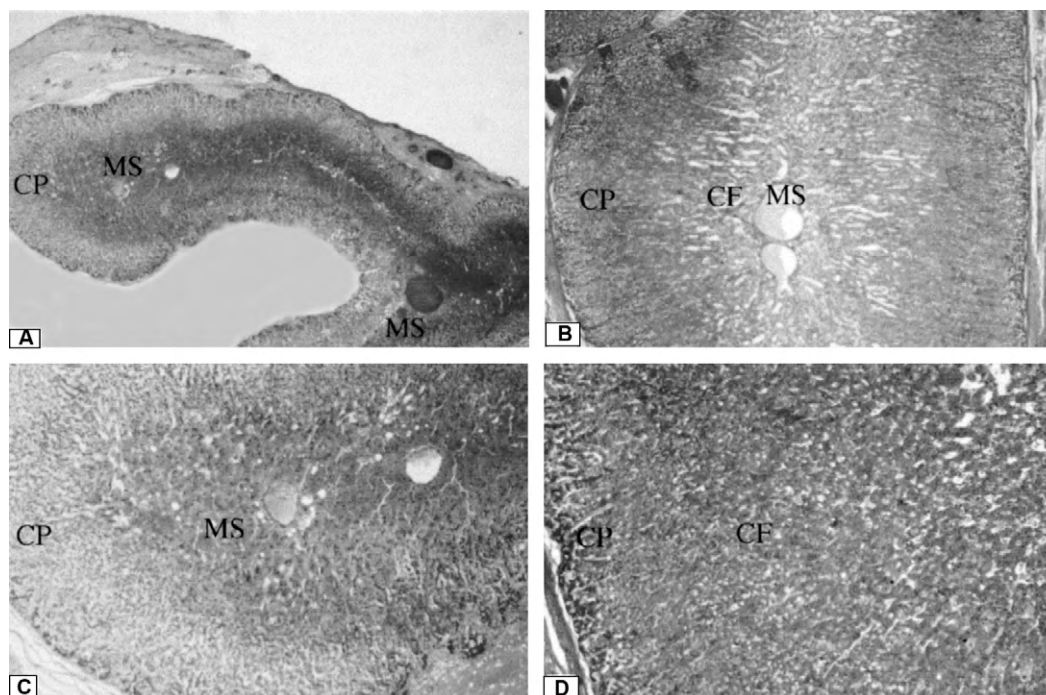
Auteurs (Référence)	Âge	Sexe	SNC	Surrénales	Hypophyse	Appareil génital
Welsh et Mehlin [26]	NN	F	Normal	Absente et hypo- plasique	Normale	Nm
Mosier [27] Cas n° 1 Cas n° 2	NN NN	F F	Normal Normal	Hypoplasiques Hypoplasiques	Nm Normal	Nm Normal
Williams et Robinson [28] Cas n° 1 Cas n° 2	4 semaines 2 j	M F	Nm Nm	Hypoplasiques Hypoplasiques	Nm Nm	Nm Nm
Brewer [18]	4 j	F	Normal	Hypoplasiques	Absente	Normal
Reid [20]	NN	M	Normal	Hypoplasiques	Absente	Normal
Roselli et Barbosa [21] Cas n° 1 Cas n° 2	NN NN	F F	Nm Nm	Hypoplasiques Hypoplasiques	Hypoplasique Hypoplasique	Nm Nm
Dunn [29]	18 h	F	An. vascul.	Absentes	Absente	Nm
O'Donohoe et Holland [30] Cas n° 1 Cas n° 2	15 m 28 h	F M	Nm Normal	Hypoplasiques Hypoplasiques	Normale Normale	Normal Normal
Zondek [31]	6 semaines	M	Normal	Hypoplasiques	Nm	Normal
Favara et al. [14] 10 cas	9 h à 2 ans	2 F 8 M	Normal Normal	Hypoplasiques Sauf 1	Normale Normale	Normal Normal
Moncrieff et al. [19]	5 j	M	Normal	Hypoplasiques	Absente	Normal
Laverty et al. [32] 10 cas	NN à 24 j	6 M 4 F	Normal Hémorragie	Hypoplasiques Hypoplasiques	Normale Normale	Nm Nm
Russel et al. [33]	9 m	F	Normale	Hypoplasiques	Normale	Nm



Tableau 1 (Continued)

Auteurs (Référence)	Âge	Sexe	SNC	Surrénales	Hypophyse	Appareil génital
Kauschansky et al. [5]						
Cas n° 1	13 j 18 h	F F	Normal	Hypoplasiques	Absente	Normal
Cas n° 2			Œdème cérébral	Hypoplasique à gauche et absente à droite	Absente	Normal
Babala et al. [17]						
Cas n° 1	NN NN	F F	Nm	Hypoplasiques	Aplasique	Nm
Cas n° 2			Nm	Hypoplasiques	Hypoplasique	Nm
Newman et al. [34]	NN	F	Nm	Hypoplasiques	Absente	Nm
Blizzard et Albert [15]	NN	M	Normal	Hypoplasiques	Absente	Micropénis, testicule pelvien
Burke et al. [13]						
Cas III-3	14j4j13j	FMF	Anoxie	Hypoplasiques	Normale	Normal
Cas III-4			Normal	Hypoplasiques	C LH absente	Micropénis
Cas III-5			Normal	Hypoplasiques	Normale C LH absente Hypoplasique C LH absente	Follicules absents
Bourgeois et al. [16]						
Cas n° 1	NN NN	M M	Normal Normal	Hypoplasiques	Absente	Micropénis
Cas n° 2				Hypoplasiques	Présente	Micropénis
Cas personnels	15 h	M	Anoxies	Hypoplasiques	Hypoplasique	Normal
Cas n° 1					C. $\beta$ FSH = 0 C. $\beta$ LH = 0 C. $\alpha$ SU = 10 %	
Cas n° 2	20 h	M	Vacuoles neuronales	Hypoplasiques	Hypoplasique	Micropénis
					C. $\beta$ FSH = 0 C. $\beta$ LH = 0 C. $\alpha$ SU = 10 %	

NN : nouveau-né ; Nm : non mentionné.



**Figure 1** Surrénales. Comparaison d'une surrénale normale à terme (B et D) et d'une surrénale hypoplasique de type anencéphalique cas n° 1 (A et C). Coloration HPS  $\times 65$  (A et B)  $\times 160$  (C et D). CP : cortex permanent CF : cortex fœtal MS : médullosurrénale. Le cortex permanent dans le cas n° 1 est présent et d'épaisseur comparable à la surrénale témoin, mais ne présente pas de zonation caractéristique. En revanche le cortex fœtal est réduit à quelques îlots cellulaires alors qu'il très épais chez le fœtus normal. *Adrenal glands. Comparison of an adrenal of a normal fetus (B and D) with an adrenal of a fetus with hypoplasia adrenal congenita of anencephalic type case no 1 (A and C). HP coloration  $\times 65$  (A and B)  $\times 160$  (C and D). CP: Definitive zone CF: Fetal zone MS: medullar. The definitive zone in the case no 1 is present and similar to the normal adrenal, but does not present the characteristic zonation. The fetal zone is reduced to some cellular islets whereas it is very thick in the normal fetus.*

## Méthodes

Les surrénales et les hypophyses coupées en totalité ont fait l'objet d'une étude histologique et immunocytochimique (immunoperoxydase indirecte). Ces glandes des deux cas ont été comparées aux surrénales et à l'hypophyse de quatre nouveaux-nés normaux de même âge étudiées en même temps et avec la même méthode.

Pour l'hypophyse les anticorps suivants ont été testés : anti-prolactine (Immunotech, au 1/400), anti-GH (NIH, 1/15 000), anti-ACTH (M. Dubois, au 1/20 000), anti- $\beta$ FSH (Dako, au 1/6000), anti- $\beta$ LH (NIH, au 1/8000), anti- $\alpha$ SU (Immunotech, au 1/100000), anti- $\beta$ TSH (Dako, au 1/400) et anti-collagène IV (Tebu, au 1/50). L'hypothalamus du cas n° 2 a été également étudié en immunocytochimie avec les anticorps suivants : anti-neurofilament (Dako, au 1/50), anti-synaptophysine, anti-GH-RH (R. Guillemin, au 1/1000), anti-CRH (R. Guillemin, au 1/100), anti-GnRH (M. Dubois, au 1/1000) et anti-somatostatine (Dubois, au 1/1000).

## Résultats

Dans les deux cas, l'examen histologique des surrénales révèle une hypoplasie de type anencéphalique avec un cortex permanent présent et sans zonation caractéristique et un cortex fœtal réduit à quelques îlots cellulaires à la partie interne du cortex permanent dans le cas n° 1 et absent dans

le cas n° 2. La comparaison avec les surrénales témoins de même âge révèle que le cortex permanent est d'épaisseur comparable. La médullosurrénale était présente dans les deux cas (Fig. 1).

La comparaison avec l'hypophyse normale permet de préciser qu'il existait une hypoplasie hypophysaire, avec absence de la posthypophyse dans les deux cas. L'immunocytochimie de l'antéhypophyse a révélé la présence de cellules corticotropes immunoréactives pour l'ACTH, vacuolisées et l'absence des cellules gonadotropes réagissant avec les anticorps anti- $\beta$ FSH et anti- $\beta$ LH (Fig. 2). La réaction était positive avec l'anticorps anti- $\alpha$ SU, dans 10% des cellules.

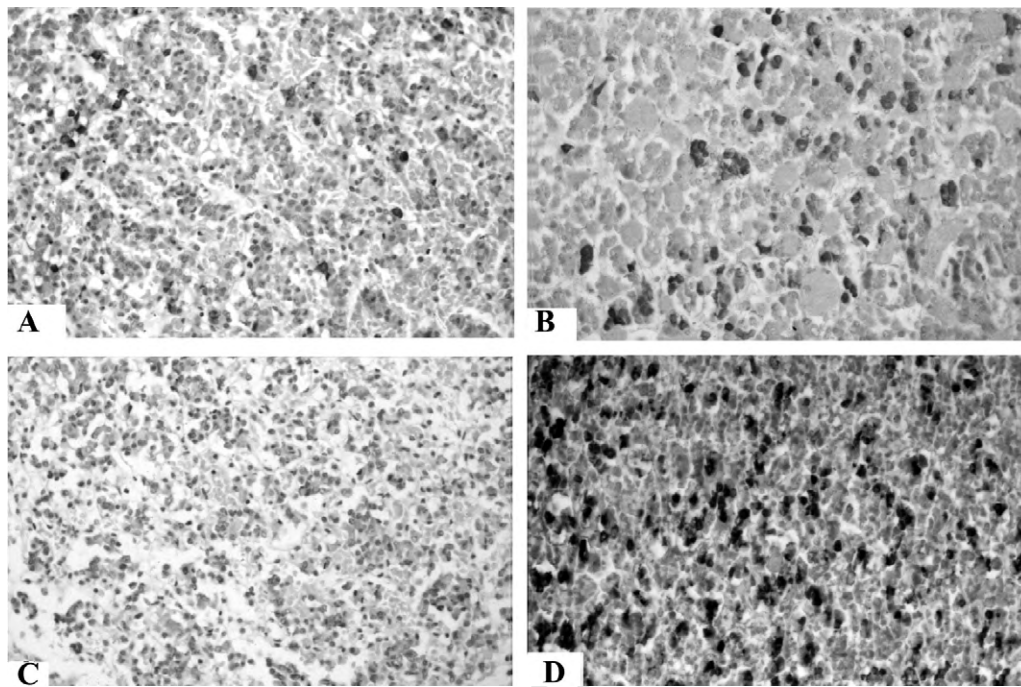
Les cellules somatotropes et à prolactine étaient nombreuses et les cellules thyrotropes présentes. Dans le cas n° 2, des neurones hypothalamiques présentaient une vacuolisation cytoplasmique. La réaction était négative avec tous les anticorps testés (anti-GnRH, anti-CRH, anti-somatostatine).

L'examen histologique du cerveau et de tous des organes prélevés à l'autopsie était normal.

Ces données concernant ces deux cas sont résumées dans le Tableau 2.

## Discussion

D'après les observations retrouvées dans la littérature (Tableau 1), l'hypoplasie surrénale congénitale de type



**Figure 2** Hypophyse. Comparaison d'une hypophyse normale à terme avec celle du cas n° 1. Détection immunocytochimique des cellules corticotropes et gonadotropes dans une hypophyse normale à terme (B et D) et dans le cas n° 1 (A et C). Réaction d'immunoperoxydase avec un anticorps anti-ACTH (A et B) et avec un anticorps anti- $\beta$  LH (C et D). Ces quatre photos prises au même grandissement ( $\times 640$ ) montrent la présence des cellules corticotropes et l'absence de cellules gonadotropes (A et C).

*Pituitary gland. Comparison of a normal pituitary gland with the pituitary gland of the case no 1. Immunocytochemical detection of the corticotroph and gonadotroph cells in a normal pituitary gland (B and D) and in the case no 1 (A and C). Reaction of immunoperoxydase with ACTH antibody (A and B) and with  $\beta$ LH antibody (C and D). These four pictures, taken at the same magnification ( $\times 640$ ), show the presence of the corticotroph cells and the absence of gonadotroph cells (A and C).*

anencéphalique se manifeste par une insuffisance surrénale, toujours en période néonatale, survenant aussi bien chez le garçon que chez la fille. Elle est le plus souvent majeure et entraîne la mort dans les 15 premiers jours. Le système nerveux ne présente pas d'anomalie macroscopique, mais l'histologie est rarement rapportée. Les surrénales sont toujours hypoplasiques, voire même non retrouvées dans un cas. Seul un cas, considéré par Favara et al. [14] comme une insuffisance surrénale, présentait des surrénales normales. L'aspect histologique, lorsqu'il est décrit, constate la disparition du cortex fœtal. Le cortex permanent est présent, d'épaisseur normale et sans zonation caractéristique. Cet aspect des surrénales rappelle en tout point celui des surrénales de fœtus anencéphale, d'où le nom.

Nos deux observations répondent à ces principaux critères et présentent des caractères particuliers. La preuve biologique de l'insuffisance surrénale sévère, cause du décès, a pu être apporté dans le cas n° 2, grâce au dosage du cortisol réalisé, en post-mortem, sur le sang du nouveau-né. Un micropénis est observé le cas n° 2, comme dans quatre cas de la littérature [13, 15, 16].

Dans le cas n° 1, l'aspect des organes génitaux externes n'ayant pas été noté, un micropénis a pu passer inaperçu. Les testicules sont le plus souvent normaux. L'absence de cellules de Leydig est soulignée dans trois cas [13, 15]. Dans notre cas n° 2, elles sont présentes, mais peu actives. L'hypophyse est macroscopiquement pathologique dans nos

deux cas comme dans 12 cas de la littérature [5, 13, 15–21] : absente dans huit cas et hypoplasique dans quatre cas. Une étude histologique avec réaction immunocytochimique n'a été réalisée que dans les trois cas [13] où il est noté une absence de cellules gonadotropes LH. Dans nos deux observations, il existait une hypoplasie hypophysaire et une anomalie de la différenciation cytologique antéhypophysaire avec absence de différenciation du type gonadotrope, prouvée par l'absence de détection de  $\beta$ FSH et de  $\beta$ LH. Dans les cas de Burke et al. [13], l'hypophyse était hypoplasique dans un cas sur trois. Seules les cellules gonadotropes LH sont notées absentes. Des cellules gonadotropes.

FSH sont observées, mais l'anticorps anti- $\beta$ FSH utilisé n'est peut être pas spécifique. En effet, le seul anticorps utilisé à l'époque reconnaît la sous-unité  $\alpha$  [22]. Nos observations associant une hypoplasie surrénalienne, un micropénis et des anomalies de la différenciation gonadotropes ressemblent aux six cas décrits par Blizzard et al. [15], Bourgeois et al. [16] et Burke et al. [13]. Si on ajoute nos deux personnels, cela fait au total huit patients, six garçons et deux filles, tous décédés subitement dans la période néonatale (huit heures à 14 jours de vie).

L'hypoplasie surrénalienne cytomégaly et anencéphalique sont bien des entités différentes.

La transmission est récessive liée au sexe dans le type cytomégaly. L'hypoplasie surrénalienne anencéphalique est le plus souvent sporadique ou de transmission récessive

163  
164  
165  
166  
167  
168  
169  
170  
171  
172  
173  
174  
175  
176  
177  
178  
179  
180  
181  
182  
183  
184  
185  
186  
187  
188  
189

**Tableau 2** Principaux caractères cliniques, pathologiques et génétiques des deux cas personnels.  
*Main clinical, pathological and genetic characters of the two personal cases.*

	Cas n° 1	Cas n° 2
Âge	NN à terme, mort à 15 h de vie	NN à terme, mort à 20 h de vie
Sexe	Masculin	Masculin
Examen externe	Normal	Dysmorphie faciale
<b>Surrénales</b>		
Poids (N : 5,1± 1 g)	0,5 g chacune	0,4 g chacune
Cortex fœtal	Absent	Absent
Cortex permanent	Présent	Présent
Caryotype	Non fait	46, XY
<b>Appareil génital</b>		
Testicules	Normaux	Normaux
Pénis	Normal	Micropénis
<b>Système nerveux central</b>		
Hypothalamus	Non étudié	Neurones vacuolisés
<b>Hypophyse</b>		
Histologie	Hypoplasie	Hypoplasie
Différenciation cellulaire	Posthypophyse absente	Posthypophyse absente
<b>C. Corticotropes (N : ≥ 5 %)</b>		
C. Somatotropes (N : 40 %)	5 %	< 1 %
C. Prolactine (N : 30 %)	10 %	40 %
C. Thyrotropes (N : < 1 %)	30 %	30 %
C. Gonadotropes	< 1 %	< 1 %
<b>βFSH (N : &gt; 5 %)</b>		
βLH (N : ≥ 20 %)	0 %	0 %
αSU (N : ≥ 10 %)	0 %	0 %
<b>Mutations</b>		
DAX-1	Non recherché	Négative
SF-1	Non recherché	Négative

190 autosomique. Nos deux cas sont de sexe masculin et non  
191 apparentés. L'enquête génétique n'a pas été réalisée, mais  
192 nous apportons la preuve, dans le cas n° 2 qu'il n'existe pas  
193 de mutation de *DAX-1*.

194 L'hypoplasie surrénale avec absence de cellules gona-  
195 dotropes est-elle une entité [13]? Est-ce une anomalie  
196 commune à tous les cas d'hypoplasie surrénale de type  
197 anencéphalique? Existe-t-il aussi une absence de cel-  
198 lules gonadotropes dans l'hypoplasie surrénalienne de type  
199 cytomégalique, associée à un hypogonadisme hypogona-  
200 dotrophique. La LH a-t-elle un rôle dans l'embryogenèse  
201 surrénalienne? Dès 1956, Gardner suggéra que la persistance  
202 du cortex fœtal était sous la dépendance d'une LH-like hor-  
203 mone hypophysaire [23]. Cette hypothèse ancienne a été  
204 récemment confirmée. En effet, chez des souris femelles  
205 transgéniques surexprimant la b-LH, on observe une hyper-  
206 plasie des surrénales avec disparition du cortex fœtal, une  
207 hypersécrétion stéroïdienne et une augmentation des récep-  
208 teurs à l'HCG [24].

209 Ainsi, la LH contrôlerait la croissance et la sécrétion de  
210 la corticosurrénale et la régression du cortex fœtal.

211 Cette hypoplasie surrénalienne anencéphalique est-elle  
212 primaire ou secondaire à des lésions hypothalamiques dis-

213 crètes? D'après nos observations, elle peut être secondaire  
214 à des lésions hypothalamiques. En effet, l'hypophyse est  
215 comparable à celle des fœtus anencéphales à la naissance,  
216 avec notamment une absence de la post-hypophyse. Cette  
217 anomalie n'est jamais mentionnée dans les cas de la lit-  
218 térature et avait échappé à notre premier examen. En  
219 effet, elle ne peut être affirmée que si l'hypophyse est  
220 coupée en totalité et en série, ce qui n'a jamais été réa-  
221 lisé dans les autres cas. Des lésions de vacuolisation de  
222 l'hypothalamus et de l'hypophyse et de souffrance céré-  
223 brale ont été notées dans un cas dont l'étude histologique  
224 a été réalisée par une spécialiste. Dans les autres observa-  
225 tions, ces anomalies discrètes ont pu passer inaperçues. Il ne  
226 s'agit pas d'une mutation de *SF-1* qui s'exprime notamment  
227 au niveau de l'hypothalamus et des cellules gonadotropes  
228 [25]. Chez la souris homozygote dont le gène *SF-1* a  
229 été inactivé, les surrénales et les gonades sont absentes  
230 [25].

231 Au total, cette étude souligne l'importance de l'analyse  
232 pluridisciplinaire de ces observations exceptionnelles.  
233 Les efforts conjugués des fœtopathologistes, des histo-  
234 embryologistes et des généticiens permettront de faire  
progresser la connaissance sur cette pathologie.



Références

- 235
- 236 [1] Kereny N. Congenital adrenal hypoplasia. Arch Pathol 279  
237 1971;71:336. 280
- 238 [2] Dhom G. Die Nebennierenrinde in Kindesalter. Berlin, Heidel- 281  
239 berg: New-York Spinger; 1965. 282
- 240 [3] Pélissier P, Merlin E, Prieur F, David M, Malpuech G, Forest 283  
241 MG, et al. Hypoplasie congénitale des surrénales : à propos de 284  
242 quatre observations. Arch Pediatr 2005;12:380–4. 285
- 243 [4] Fujieda K, Tajima T. Molecular basis of adrenal insufficiency. 286  
244 Pediatr Res 2005;57:62R–9R. 287
- 245 [5] Kauschansky A, Genel M, Smith GJY. Congenital hypopituitarism 288  
246 in female infants: association with hypoglycemia and hypothy- 289  
247 roidism. Am J Dis Child 1979;133:165–9. 290
- 248 [6] Kelch RP, Viridis R, Rapaport R, Greig F, Levine LS, New 291  
249 MI. Congenital adrenal hypoplasia. Pediatr Adolesc Endocrinol 292  
250 1984;13:156–61. 293
- 251 [7] Mamelle JC, David M, Riou D, Gilly J, Trouillas J, Dutruge 294  
252 J, et al. Hypoplasie surrénalienne congénitale de type cyto- 295  
253 mégalique forme récessive liée au sexe. Arch Fr Pediatr 296  
254 1974;32:139–59. 297
- 255 [8] Mitchell RG, Rhaney K. Congenital adrenal hypoplasia in 298  
256 siblings. Lancet 1959;1:488. 299
- 257 [9] Muscatelli F, Strom TM, Walker AP, Zanaria E, Récan D, Meindl 300  
258 A, et al. Mutations in the *DAX-1* gene give rise to both X-linked 301  
259 adrenal hypoplasia congenital and hypogonadotropic hypogo- 302  
260 nadism. Nature 1994;372:672–6. 303
- 261 [10] Peter M, Viemann M, Partsch CJ, Sippell WG. Congenital adre- 304  
262 nal hypoplasia: clinical spectrum, experience with hormonal 305  
263 diagnosis, and report on new point mutations of the *DAX- 306  
264 1* gene. J Clin Endocrinol Metab 1998;83:2666–74. 307
- 265 [11] Sikl H. Addison's disease due to congenital hypoplasia of adre- 308  
266 nals in infant aged 33 days. J Pathol Bacteriol 1948;60:323–4. 309
- 267 [12] Weiss L, Mellinger RC. Congenital adrenal hypoplasia. An X- 310  
268 linked disease. J Med Genet 1970;7:27–32. 311
- 269 [13] Burke BA, Wick MR, King R, Thomson T, Hansen J, Darrae BT, 312  
270 et al. Congenital adrenal hypoplasia and selective absence of 313  
271 pituitary luteinizing hormone: a new autosomal recessive syn- 314  
272 drome. Am J Med Genet 1988;31:75–97. 315
- 273 [14] Favara BE, Franciosi RA, Miles V. Idiopathic adrenal hypoplasia 316  
274 in children. Am J Clin Pathol 1972;57:287–96. 317
- 275 [15] Blizzard RN, Albert M. Hyperpituitarism, hypoadrena- 318  
276 lism and hypogonadism in the newborn infant. J Pediatr 319  
277 1956;48:782–92. 320
- 278 [16] Bourgeois MJ, Jones B, Waagner DC, Dunn D. Micropenis and 321  
congenital adrenal hypoplasia. Am J Perinatol 1989;6:69–71. 322
- [17] Babala VJ, Brozman M, Halamova V. Kongenitale läsion der 323  
neurohypophyse mit Nebennierenhypoplasie. Zentralbl Pathol 324  
1982;126:277–85. 325
- [18] Brewer DB. Congenital absence of the pituitary gland and its 326  
consequences. J Pathol Bacteriol 1957;73:59–67. 327
- [19] Moncrieff MW, Hill DS, Archer DS, Arthur LJH. Congenital 328  
absence of pituitary gland and adrenal hypoplasia. Arch Dis 329  
Child 1972;47:136–7. 330
- [20] Reid JD. Congenital absence of the pituitary gland. J Pediatr 331  
1960;56:658–64. 332
- [21] Roselli A, Barbosa LT. Congenital hypoplasia of the adrenal 333  
glands: report of two cases in sisters with necropsy. Pediatrics 334  
1965;40:70–5. 335
- [22] Labat-Moleur F, Trouillas J, Seret-Begue D, Kujas M, Delisle 336  
MB, Ronin C. Evaluation of 28 monoclonal and polyclonal anti- 337  
bodies used in diagnosis of pituitary adenomas. Pathol Pract 338  
1991;187:534–8. 339
- [23] Gardner LI. Adrenocortical metabolism of the fetus, infant and 340  
child. Pediatrics 1956;17:897–924. 341
- [24] Kero J, Poutanen M, Zhang FP, Rahman N, McNicol AM, Nilson 342  
JH, et al. Elevated luteinizing hormone induces expression of 343  
its receptor and promotes steroidogenesis in adrenal cortex. J 344  
Clin Invest 2000;105:633–41. 345
- [25] Parker KL, Schimmer B. The roles of nuclear receptor steroido- 346  
genic factor-1 in endocrine differentiation and development. 347  
Trends Endocrinol Metab 1996;7:203–7. 348
- [26] Welsh JB, Mehlh GB. Congenital adrenal hypoplasia. Am J Dis 349  
Child 1954;87:319–20. 350
- [27] Mosier HD. Hypoplasia of the pituitary and adrenal cortex. J 351  
Pediatr 1956;48:633–9. 352
- [28] Williams A, Robinson MJ. Addison's disease in infancy. Arch Dis 353  
Child 1956;31:265–9. 354
- [29] Dunn JM. Anterior pituitary and adrenal absence in a live born 355  
normocephalic infant. Am J Obstet Gynecol 1966;96:893–4. 356
- [30] O'Donohoe NV, Holland PDJ. Familial congenital adrenal hypo- 357  
plasia. Arch Dis 1968;43:717–23. 358
- [31] Zondek LH, Zondek T. Congenital adrenal hypoplasia in two 359  
infants. Acta Pediatr Scand 1968;57:250–4. 360
- [32] Laverty CR, Fortune DW, Beischer NA. Congenital idiopathic 361  
adrenal hypoplasia. Obstet Gynecol 1973;41:655–64. 362
- [33] Russel MA, Opitz JM, Viseskul C, Gilbert EF, Bargman GJ. Sudden 363  
infant death due to congenital adrenal hypoplasia. Arch Pathol 364  
Lab Med 1977;101:168–9. 365
- [34] Newman NM, Welch E, Challis DR. Adrenal hypoplasia and pitui- 366  
tary agenesis in a normocephalic infant, with a review of the 367  
literature. Aust Pediatr J 1988;24:300–3. 368

**TITRE : PROFIL D'EXPRESSION DE PROTEINES SPECIFIQUES AU COURS DU DEVELOPPEMENT DE LA SURRENALE HUMAINE ET APPLICATIONS A LA PATHOLOGIE (HYPOPLASIE SURRENALE CONGENITALE)**

**RESUME**

L'embryologie de la surrénale humaine et la pathogénie de l'hypoplasie congénitale des surrénales sont mal connues et complexes. L'une pouvant expliquer l'autre, nous présentons, à partir de 119 fœtus humains normaux de 12 à 36 semaines de développement (SD), une étude cinétique histologique et moléculaire de la surrénale fœtale et nous décrivons 3 cas d'hypoplasie surrénalienne.

Après un rappel des mécanismes moléculaires connus, régulant ensemble l'embryologie surrénalienne, gonadique et hypophysaire et ceux de l'hypoplasie surrénale congénitale, nous présentons nos résultats.

Dans la corticosurrénale humaine fœtale normale, les cellules du cortex permanent prolifèrent et, dès la 12<sup>ème</sup> SD, expriment la NCAM, la 3 $\beta$ -HSD et la P450 c21. Elles ont la capacité de synthétiser des minéralocorticoïdes et/ou du cortisol. Les cellules du cortex fœtal ne prolifèrent pas et expriment ni la 3 $\beta$ -HSD, ni la NCAM. La médullosurrénale est formée par des neuroblastes immatures (CgA-, NCAM+) qui migrent et prolifèrent de la périphérie vers le centre de la glande, où ils se différencient en neuroblastes matures (CgA+).

Dans les deux cas d'hypoplasie surrénale de type anencéphalique, avec absence de mutation de *DAX-1* et de *SF-1*, la dysembryoplasie surrénalienne est probablement d'origine hypophysaire, par absence de cellules gonadotropes. Dans le 3<sup>ème</sup> cas, jamais décrit, associant un RCIU, une hypoplasie surrénalienne congénitale, une ambiguïté sexuelle, une absence de différenciation des cellules antéhypophysaires, l'absence de mutation de gènes connus (*DAX-1*, *SF-1*, *SRY*, *FGF9*, *SOX2*, *SOX3*, *SOX5* et *SOX9*) suggère l'existence de nouveaux gènes régulant la différenciation précoce de ces trois glandes endocrines.

**Mots clés:** Surrénale fœtale humaine, différenciation, prolifération, stéroïdogénèse, hypoplasie surrénale congénitale, hypophyse.

**TITLE: PROFILE OF SPECIFIC PROTEINS EXPRESSION IN THE DEVELOPMENT OF THE HUMAN ADRENAL AND APPLICATION TO THE PATHOLOGY (HYPOPLASIA ADRENAL CONGENITAL)**

**SUMMARY**

The embryology of the human adrenal and the pathogenesis of the hypoplasia adrenal congenital are complex and not well known. We studied the histological and functional characteristics of the fetal human adrenal in normal fetuses aged 12 to 36 weeks development (WD) and presented three cases of congenital adrenal hypoplasia with pituitary abnormalities.

In the human fetal adrenal cortex, only the cells of the definitive zone proliferate from the 12<sup>th</sup> WD. We observe the expression of an adherence protein (NCAM) and of two steroidogenesis enzymes (3 $\beta$ -HSD and P450 c21) in the definitive zone cells, attesting to the capacity of these cells to synthesize mineralocorticoids and/or cortisol. In the fetal zone, only P450 c21 immunoreactivity is detected. The adrenal medulla is formed by immature neuroblasts (CgA -, NCAM+) which migrate and proliferate from the periphery toward the center of the gland, where they differentiate in mature neuroblasts (CgA+).

In the two cases of congenital adrenal hypoplasia of anencephalic type without *DAX 1* and *SF-1* mutation, the cause is probably from pituitary origin and related to absence of gonadotrope cells.

In the third case of congenital adrenal hypoplasia, never described, combining a retard intrauterine development, a congenital adrenal hypoplasia, sexual ambiguity, pituitary abnormalities. The absence of mutation of known genes (*DAX -1*, *SF -1*, *SRY*, *FGF9*, *SOX2*, *SOX3*, *SOX5* and *SOX9*) suggests the existence of new genes regulating early differentiation of the adrenal, the gonad and the pituitary.

**Key Words:** Fetal human adrenal, differentiation, proliferation, steroidogenesis, hypoplasia adrenal congenita, pituitary.