



Année 2025

Thèse N°119/25

LA CORRÉLATION GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE DE L'HYPERPLASIE CONGÉNITALE
DES SURRÉNALES CHEZ L'ENFANT
LA PLACE DU SÉQUENÇAGE À HAUT DÉBIT (NGS)

THÈSE

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 17/04/2025

PAR

M. ELBAQALI ABDELLAH

Né le 11 Novembre 1998

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MÉDECINE

MOTS-CLÉS :

Hyperplasie congénitale des surrénales-Corrélation génotype phénotype - Séquençage à Haut Débit (NGS) - Gène CYP21A2 -
Déficit en 21-hydroxylase - Gène CYP11B1 - Déficit en 11-Bêta Hydroxylase

JURY

M. HIDA MOUSTAPHAPRÉSIDENT

Professeur de Pédiatrie

Mme. ABOURAZZAK SANARAPPORTEUR

Professeur de Pédiatrie

M. OULDIM KARIM.....

Professeur de Génétique médicale

Mme. BOUGUENOUCHE LAILA

Professeur de Génétique médicale

Mme. KOJMANE WIDADE

Professeur de Pédiatrie

JUGES

PLAN

PLAN	1
LISTE DES ABREVIATIONS	6
LISTE DES FIGURES	7
LISTE DES TABLEAUX	8
INTRODUCTION	10
MATERIELS ET METHODES	14
I. Description de l'étude	15
II. Population de l'étude	15
III. Données de l'étude	15
1. Forme classique	16
2. Forme non classique (NC-HCS)	17
IV. Méthodes	18
1. Prélèvement	18
2. Extraction de l'ADN génomique	18
3. Dosage et contrôle de la qualité de l'ADN extrait	20
4. Méthodes de diagnostic	21
4.1. Caryotype	21
4.1.1. Préparation des échantillons : culture cellulaire	22
4.1.2. Protocole du caryotype conventionnel avec bandes r	22
4.2. Séquençage à haut débit	22
4.2.1. Séquençage par panel de gènes sur la plateforme iontorrent S5	22
a. Principe du séquençage ion torrent	22
b. Design du panel	24
c. Protocole expérimentale du séquençage par le système ion torrent s5	26
d. Analyse bioinformatique des données brutes	36
RESULTATS	41
I. Epidémiologie	42
1. Sexe d'élevage	42
2. Âge au diagnostic	42
3. Consanguinité	43
4. Origine géographique	43

II. Clinique	45
1. Phénotype	45
2. Stade de Prader	45
3. Déshydratation sévère	46
4. Signes de Virilisation	50
5. La Tension Artérielle (TA)	50
6. Retard Staturo-pondéral à l'admission	50
III. Biologie.....	51
1. 17 OH Progestérone (17OHP).....	51
2. Testostérone	51
3. Cortisol de 8h	52
Bloc21-OH : 100% des patients présentent un déficit en cortisol sévère	
.....	52
4. Désoxycorticostérone	52
5. Natrémie et kaliémie	53
IV. Radiologie.....	54
V. Génétique	55
VI. Prise en charge thérapeutique	57
1. Traitement médical	57
2. Traitement chirurgical	57
3. Changement de sexe (oui/non)	57
VII. Evolution et suivi.....	58
VIII. OBSERVATION ATYPIQUES	58
1. Patient 1	58
2. Patient 2	60
3. Patient 3	62
DISCUSSION	65
I. Historique	66
II. Rappel Anatomophysiologique	68
1. Glande surrénale	68
2. Histologie	68
3. Physiologie de la stéroïdogénèse des hormones surrénaliennes	69
4. Rôle des stéroïdes surrénaliens	70

5. Classification des hyperplasies congénitales des surrénales (HCS)...	71
6. Formes cliniques : classique vs non classique	72
7. Classification selon l'enzyme déficiente.....	72
a. Déficit en 21-hydroxylase (CYP21A2)	72
b. B. Déficit en 11 β -hydroxylase (CYP11B1)	73
c. Déficit en 17 α -hydroxylase (CYP17A1)	73
d. Autres déficits rares.....	73
e. Physiopathologie de l'hyperplasie congénitale des surrénales (HCS).....	73
III. Epidémiologie	77
1. Répartition par sexe d'élevage	77
2. Âge de diagnostic	79
3. Consanguinité	82
IV. Clinique	83
1. Phénotype	83
2. Répartition des Stades de Prader (Virilisation Génitale).....	86
3. Déshydratation sévère	87
V. Biologie	88
1. 17-OH Progestérone (17OHP).....	88
2. Cortisol.....	90
3. Profil caractéristique du déficit en 21-hydroxylase (21-OH).....	90
4. Déséquilibre Hydro-électrolytiques	92
VI. Génétique	94
1. Bloc 21OH.....	94
2. Découverte de mutations inédites dans notre cohorte.....	95
3. Concordances avec les mutations classiques	95
4. Implications cliniques des nouvelles mutations.....	96
5. Variabilité inter-études et particularités populationnelles	96
6. Mutations uniques à notre série.....	97
7. Comparaison avec les mutations connues.....	98
8. Implications cliniques.....	98
VII. Prise en charge thérapeutique	101
1. Bloc 21-OH (Déficit en 21-hydroxylase)	101

2. Bloc 11 β -OH (Déficit en 11 β -hydroxylase).....	102
VIII. Conseil génétique	103
1. Conseil génétique dans l'hyperplasie congénitale des surrénales selon les recommandations cliniques	103
2. Conseil génétique et implications cliniques pour notre série	106
CONCLUSION	110
ANNEXES	112
RESUMES	117
BIBLIOGRAPHIE	124

LISTE DES ABREVIATIONS

11 β OH	: 11 β hydroxylase
17 OHP	: 17 hydroxy progestérone
21-OH	: 21 hydroxylase
3 β HSD	: 3 β hydroxystéroïde déshydrogénase
ACTH	: hormone adrenocorticotropique
ADS	: anomalie de différenciation du sexe
CYP11B2	: gène de la 11 β hydroxystéroïdes déshydrogénase
CYP21	: gène de la 21 hydroxylase
DHA	: déshydratation aigue
DOC	: désoxycorticostérone
HCS	: hyperplasie congénitale des surrénales
HTA	: hypertension artérielle
RSP	: retard staturo-pondéral
SV	: forme virilisante simple
SW	: forme par perte de sel
NC	: Non classique

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Kit Thermo Fisher Invitrogen PureLink Genomic DNA Mini	19
Figure 2. La procédure de purification de l'ADN génomique à l'aide des minikits d'ADN génomique PureLink	19
Figure 3. Principe de la chimie de IonTorrent.....	24
Figure 4. Spécificité des Primers Ion Torrent.....	26
Figure 5. Diagramme schématique expliquant les étapes détaillées du séquençage de nouvelle génération via la technologie ion torrent	27
Figure 6. Plaque PCR IonCode™	29
Figure 7. Cartouche Ion AmpliSeq™ Chef Reagents DL8	30
Figure 8. Schéma de l'instrument Ion Chef™ chargé.....	31
Figure 9. Répartition des patients selon l'âge du diagnostic.....	42
Figure 10. Répartition des patients selon l'origine géographique.....	44
Figure 11. Classification de Prader	45
Figure 12. Paramètres de mini puberté de la testostérone	52
Figure 13. Physiologie de la stéroïdogénèse des hormones surrénaliennes	69
Figure 14. Mécanismes physiopathologiques communs	74
Figure 15. Variants pathogènes les plus fréquents dans HCS due à un déficit en 21 hydroxylase	99
Figure 16. Mutation et activités enzymatiques	100

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Panel de 49 gènes	25
Tableau 2. Recommandations pour le panel dans le cadre de la préparation automatisée de la librairie avec le workflow AmpliSeq™.	32
Tableau 3. Informations spécifiques saisies pour chaque cycle de préparation	34
Tableau 4. Tableau de la répartition des patients selon l'origine géographique	43
Tableau 5. Représentation du retard staturo-pondéral dans notre série.....	50
Tableau 6. Valeurs du 17 OHP dans notre série	51
Tableau 7. Les valeurs minimale et maximale du cortisol dans notre série	52
Tableau 8. les Valeurs minimale et maximale de la Natrémie et Kaliémie dans notre série	53
Tableau 9. Anomalies du gène CYP21A2 (21-OH) dans notre série	56
Tableau 10. Anomalies du gène CYP11B1 (11β-OH) dans notre série.....	56
Tableau 11. Sexe d'élevage dans les différentes séries (bloc 21OH)	77
Tableau 12. Sexe d'élevage dans les différentes séries (bloc 11beta)	78
Tableau 13. Comparaison de l'âge de diagnostic entre les différentes séries	79
Tableau 14. Comparaison du taux de consanguinités entre les différentes séries	82
Tableau 15. le phénotype des patients avec bloc 21OH	83
Tableau 16. Le phénotype des patients avec bloc 11beta.....	85
Tableau 17. Les stades de prader dans les différentes séries	86
Tableau 18. Le pourcentage de déshydratation dans les différentes séries	87
Tableau 19. Le taux de 17OHP dans les différentes séries (21OH).....	88
Tableau 20. Le taux de 17OHP dans les différentes séries des (11beta)	88
Tableau 21. Le taux de cortisol entre les différentes séries.....	90
Tableau 22. Déséquilibre hydroélectrolytiques entre les différentes séries	92

Tableau 23. comparaison des mutations du CYP21 entre différentes séries	94
Tableau 24. Comparaison des mutations du gène POR entre différentes séries	95
Tableau 25. Comparaison de la corrélation génotype phénotype du bloc 11 beta	97

INTRODUCTION

L'hyperplasie congénitale des surrénales (HCS) est un groupe de maladies génétiques à transmission autosomique récessive, caractérisées par des anomalies enzymatiques affectant la stéroïdogénèse surrénalienne. La forme la plus courante, représentant près de 90 % des cas, est la déficience en 21-hydroxylase, liée à des mutations du gène CYP21A2. Ce dysfonctionnement entraîne une perturbation de la synthèse des hormones corticosurrénales (glucocorticoïdes, minéralocorticoïdes) et une surproduction d'androgènes, conduisant à des manifestations cliniques variées. Celles-ci vont des formes classiques, sévères et potentiellement mortelles en période néonatale, aux formes non classiques, plus modérées et souvent diagnostiquées plus tardivement dans l'enfance ou à l'âge adulte.[1]

L'incidence de la forme classique varie selon les populations, estimée entre 1/10 000 et 1/20 000 naissances vivantes, avec une prévalence plus élevée dans certains groupes ethniques en raison d'un effet fondateur, comme chez les Yupiks de l'Alaska ou les Juifs ashkénazes. Les formes non classiques, quant à elles, sont bien plus fréquentes, pouvant atteindre 1/1 000 individus dans certaines populations. [2]

Sur le plan clinique, l'HCS classique expose à des complications graves : insuffisance surrénalienne aiguë, désordres hydroélectrolytiques et, chez les nouveau-nés de sexe féminin, une virilisation des organes génitaux. Bien que les avancées thérapeutiques aient amélioré la survie et la qualité de vie des patients, le risque de crise surrénalienne demeure une préoccupation majeure. [3]

La prise en charge repose sur une substitution hormonale à vie, un suivi multidisciplinaire pour prévenir les complications à long terme (retard de croissance, effets secondaires des corticoïdes) et, dans certains cas, une chirurgie correctrice des organes génitaux. Cette maladie engendre non seulement des coûts médicaux directs, mais aussi des coûts indirects (absentéisme, impact psychosocial sur les familles). [4]

L'étude de l'HCS reste pertinente en raison des incertitudes persistantes, notamment concernant la variabilité phénotypique des formes non classiques et rares, où la corrélation génotype-phénotype est souvent imprévisible. De plus, des facteurs épigénétiques ou environnementaux pourraient moduler l'expression de la maladie, justifiant des recherches approfondies pour optimiser le diagnostic et la prise en charge. [5]

❖ Objectifs de l'étude

➤ Objectif principal

– Déterminer la corrélation entre les mutations génétiques et les manifestations cliniques de l'HCS chez les enfants afin d'améliorer les stratégies de diagnostic et de prise en charge.

➤ Objectifs secondaires

1–Analyser les manifestations cliniques des patients atteints d'HCS (Forme classique et non classique) en étudiant les symptômes observés.

2–Examiner les investigations paracliniques utilisées dans le diagnostic de l'HCS (test hormonaux, imageries surrénaliennes) et déterminer leur pertinence et leur efficacité dans la gestion de L'HCS.

3-Examiner les investigations génétiques par le séquençage haut débit NGS dans l'hyperplasie congénitale des surrénales, pour mieux comprendre la corrélation génotype-phénotype.

MATERIELS ET METHODES

I. Description de l'étude

Nous avons effectué une étude rétrospective incluant 35 enfants, issus de 27 familles, chez qui le diagnostic de l'HCS a été retenu et qui ont été hospitalisés ou suivis au service de pédiatrie en collaboration avec le département de chirurgie pédiatrique et le département de génétique de l'hôpital CHU Hassan II de Fès sur une période de 12ans ans allant du 01 Janvier 2012 jusqu'au 31 février 2025.

II. Population de l'étude

❖ Critères d'inclusions :

Tous les dossiers des patients admis au service de pédiatrie et de génétique de CHU Hassan II de Fès pour HCS entre 2012 et 2025 ayant bénéficié du séquençage à haut débit ou next-generation sequencing (NGS)

❖ Critères d'exclusion :

Les enfants perdus de vue avec dossier non exploitables ont été écartés.

III. Données de l'étude :

L'hyperplasie congénitale des surrénales (HCS) est l'une des maladies endocriniennes héréditaires les plus fréquentes, résultant principalement de déficits enzymatiques de la stéroïdogénèse surrénalienne. Elle est transmise selon un mode autosomique récessif et se caractérise par une altération de la production des hormones corticosurrénales, entraînant une accumulation de précurseurs en amont du bloc enzymatique et une hyperandrogénie secondaire [6]

Parmi les différentes formes d'HCS, le déficit en 21-hydroxylase (21-OH), dû à des mutations du gène *CYP21A2*, représente plus de 90% des cas (New et al., 2013). Vient ensuite le déficit en 11 β -hydroxylase (11 β -OH), causé par des mutations du gène *CYP11B1*, qui constitue environ 5-8% des cas.

D'autres formes plus rares existent, comme les déficits en 3 β -hydroxystéroïde déshydrogénase (3 β -HSD), 17 α -hydroxylase/17,20-lyase (*CYP17A1*), et StAR (Steroidogenic Acute Regulatory Protein), mais elles sont moins fréquentes en pratique clinique [7]

L'HCS se manifeste sous deux principales formes phénotypiques : la forme classique, sévère et potentiellement mortelle en l'absence de traitement, et la forme non classique (ou tardive), plus modérée et souvent diagnostiquée plus tardivement [8]

❖ Formes phénotypiques de l'HCS

1. Forme classique

La forme classique se subdivise en deux sous-types :

- **La forme salt-wasting (perte de sel SW)** : C'est la présentation la plus sévère, observée principalement dans le déficit en 21-OH (75% des cas classiques) et dans certains cas de déficit en 3 β -HSD. Elle résulte d'une insuffisance en aldostérone et cortisol, entraînant une déshydratation hyponatrémique, une hyperkaliémie et un choc hypovolémique néonatal. [9]

- Une virilisation génitale importante est également observée chez les nouveau-nés de sexe féminin en raison de l'excès d'androgènes surrénaliens in utero [6]
- **La forme virilisante simple (SV)** : Dans cette forme, la synthèse de l'aldostérone est partiellement préservée, mais l'excès d'androgènes entraîne une virilisation prénatale chez les filles (clitoromégalie, fusion des grandes lèvres) et une maturation sexuelle précoce chez les garçons. [9]

Dans le déficit en 11 β -OH, la forme classique associe une hypertension artérielle (par accumulation de désoxycorticostérone, un minéralocorticoïde puissant) et une virilisation, ce qui la distingue du déficit en 21-OH [9].

2. Forme non classique (NC-HCS)

La forme non classique est généralement moins sévère et peut rester asymptomatique ou se manifester plus tard dans l'enfance ou à l'âge adulte. Les symptômes incluent :

- Chez la femme : hirsutisme, acné, irrégularités menstruelles, infertilité.
- Chez l'homme : puberté précoce, développement musculaire accru.
- Chez les deux sexes : accélération de la croissance staturale avec avance de l'âge osseux, mais risque de petite taille finale.
- Contrairement à la forme classique, la NC-HCS ne s'accompagne généralement pas d'insuffisance surrénalienne ni de troubles hydroélectrolytiques. Elle est souvent diagnostiquée lors d'un bilan d'hyperandrogénie ou de troubles de la fertilité [9]

IV. Méthodes

1. Prélèvement : [11]

Nous avons procédé au prélèvement d'un échantillon de 5 ml de sang périphérique par ponction veineuse sur tube de 6 ml contenant de l'Acide Ethylène Diamine Tétra-Acétique (EDTA) disodique (solution à 5%) qui est un anticoagulant et également un inhibiteur des nucléases. Les échantillons sanguins sont enregistrés et conservés à -20°C en mentionnant au niveau des étiquettes l'identifiant du patient, son numéro de dossier (spécifique à notre laboratoire) ainsi que le nom de la pathologie pour laquelle il a été prélevé.

2. Extraction de l'ADN génomique : [11]

Dans notre étude, nous avons utilisé la méthode d'extraction par le kit commercialisé PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen ; Figure 1). Cette technique présente l'avantage d'être simple et rapide.

L'extraction est réalisée conformément aux consignes du fabricant. On ajoute 200 μl de sang total, 20 μl de protéinase K et 200 μl de tampon de lyse dans un tube de 1,5ml. Ensuite, on fait tourner ce mélange pendant 5 secondes et on le place dans un bloc chauffant à une température de 55°C pendant 10 minutes. Ensuite, on ajoute 200 μl d'éthanol absolu au tube. Le mélange doit être vortexé et transféré dans des colonnes PureLink Spin column, puis centrifugé à 1000g pendant une minute. À la suite de diverses étapes de lavage, l'ADN génomique est récupéré dans un tampon d'élution de 70 μL .



Figure 1. Kit Thermo Fisher Invitrogen PureLink Genomic DNA Mini

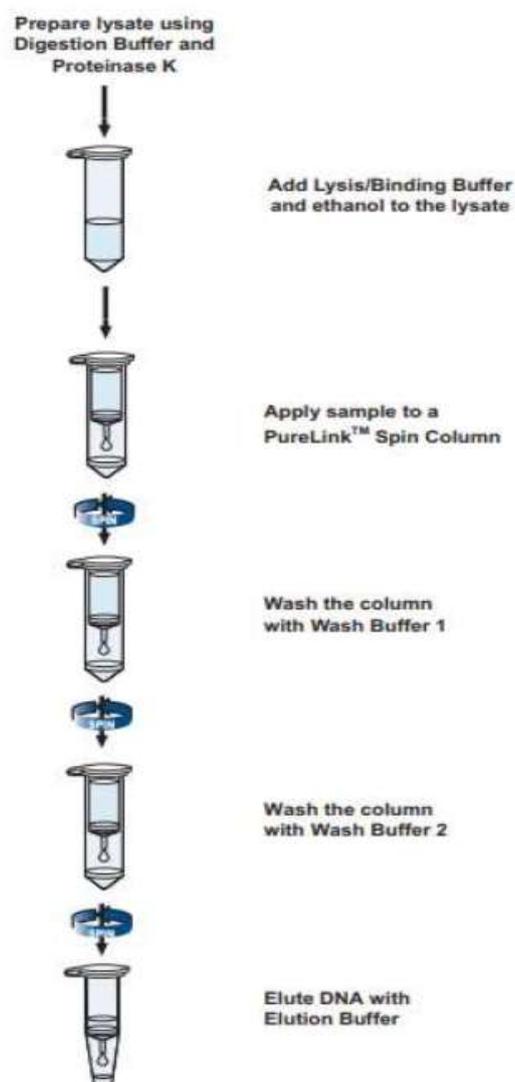


Figure 2. La procédure de purification de l'ADN génomique à l'aide des minikits d'ADN génomique PureLink®.[11]

3. Dosage et contrôle de la qualité de l'ADN extrait : [12]

On a mesuré la pureté de l'ADN extrait à l'aide du spectrophotomètre NanoDrop® ND-2000, qui mesure les densités optiques à 260 et 280 nm (longueurs d'onde d'absorption des acides nucléiques et des protéines respectivement). Une pureté adéquate de l'ADN est atteinte lorsque le rapport d'absorbance A_{260}/A_{280} est d'environ 1,80 (+/- 0,1) et celui de A_{260}/A_{230} est compris entre 2,0 et 2,20.

On a également mesuré la quantité d'ADN en utilisant le Qubit, une méthode fluorimétrique sensible pour mesurer l'ADN double brin. La fixation du fluorophore sur l'ADN entraîne l'émission de fluorescence, dont l'intensité est proportionnelle à la quantité d'ADN double brin présente. Cette méthode est extrêmement précise dans la mesure la quantité de l'ADN double brin, offrant une sensibilité et une spécificité supérieures à celles du dosage spectrophotométrique UV.

On a utilisé le kit Qubit dsDNA HS assay pour mesurer la quantité d'ADN. Avant chaque usage, le qubit est calibré en se basant sur les normes fournies.

On commence par diluer le réactif Qubit dsDNA HS 1:200 dans du tampon Qubit dsDNA HS. Le volume final de chaque tube est de 200µl. On ajoute par la suite 190 µl de cette solution à 10µl de standard 1 et 2, et 198µl à 2µl de chaque échantillon dans des tubes optiques Qubit de 500µl. Avant d'être lus, tous les mélanges sont incubés pendant 2 minutes à température ambiante. On exprime la concentration en ng/µl.

Enfin, les ADNs purs à une concentration appropriée sont conservés de -20°C.

4. Méthodes de diagnostic [13]

4.1. Caryotype

Le caryotype est une technique qui permet l'étude des chromosomes d'un individu. Cette technique permet d'obtenir une image, en microscopie optique, des chromosomes d'une cellule au cours de la métaphase ou de la prométaphase. Le caryotype contribue à la mise en évidence de remaniements chromosomiques équilibrés ou déséquilibrés. La résolution d'un caryotype standard est celle d'une bande chromosomique, soit environ 5 à 10 millions de paires de bases (mégabases).

Une simple coloration au Giemsa permet de compter et de classer les chromosomes en fonction de leur taille et de leur indice centromérique. Les méthodes de marquage ou banding révèlent le long des chromosomes une alternance de bandes transversales, faiblement ou fortement colorées, dont la disposition topographique est spécifique de chaque paire chromosomique. Les bandes G (GTG) obtenues par dénaturation enzymatique et les bandes R (RHG) par dénaturation thermique ont chacune un contenu spécifique en ADN. Ces deux marquages, en contretypage, sont complémentaires.

Dans le cadre de cette thèse, le caryotype constitutionnel a été considéré comme une étape du diagnostic différentiel pour les encéphalopathies épileptiques EE d'origine monogénique. Le caryotype, en révélant des anomalies telles que des délétions, duplications, translocations, ou des

chromosomes en anneau, permet d'exclure ou de confirmer une origine chromosomique des troubles encéphalopathies épileptiques.

4.1.1. Préparation des échantillons : culture cellulaire

Les cellules utilisées pour l'analyse cytogénétique proviennent de cultures de lymphocytes périphériques, obtenues à partir de prélèvements de sang veineux dans un tube avec anticoagulant héparine. Ces cellules sont cultivées dans un milieu spécifique prêt à l'emploi, le PBMaxTM, conçu pour favoriser la division cellulaire, indispensable à l'obtention de métaphases visibles pour l'analyse.

4.1.2. Protocole du caryotype conventionnel avec bandes r

Les cellules sont accumulées en métaphase grâce à la colchicine, puis soumises à un choc hypotonique avec une solution de KCl. Ensuite, la fixation des cellules est réalisée à l'aide d'un fixateur de Carnoy, avec plusieurs étapes de centrifugation et d'homogénéisation pour stabiliser les chromosomes. Les cellules sont étalées sur des lames sous conditions contrôlées de température et d'humidité, avant d'être observées au microscope pour vérifier la richesse en mitoses et la qualité des chromosomes. Après dénaturation thermique, les chromosomes sont colorés avec du Giemsa pour révéler les bandes R, permettant une visualisation fine des structures chromosomiques.

4.2. Séquençage à haut débit

4.2.1. Séquençage par panel de gènes sur la plateforme iontorrent S5

a. Principe du séquençage ion torrent [14]

Le séquençage Ion Torrent est une technologie récente, fondée en 2011 par Jonathan Rothberg et al. (220). Cette technologie a marqué une avancée

significative dans le domaine de NGS en utilisant des semi-conducteurs pour détecter la séquence d'ADN, éliminant ainsi le besoin de méthodes optiques complexes et coûteuses (213,221).

Le séquençage Ion Torrent S5 repose sur la détection des ions libérés lors de l'incorporation de nucléotides dans un brin d'ADN en cours de synthèse.

Le processus commence par la fragmentation de l'ADN extrait, suivie de la ligature des adaptateurs aux extrémités des fragments pour leur amplification par émulsion PCR (emPCR), créant ainsi des copies clonales sur des billes.

Les billes d'ADN amplifiées sont ensuite chargées dans les puits de la puce de séquençage.

Lorsqu'un nucléotide est incorporé par la polymérase, un ion hydrogène est libéré, modifiant le pH et détecté par un capteur sensible. Ce changement de pH est enregistré, permettant de déterminer les séquences de bases.

Les données brutes des changements de pH sont converties en séquences d'ADN, alignées sur un génome de référence ou assemblées de novo pour identifier les variations génétiques, mutations et autres caractéristiques génomiques (221-223) (Figure 3).

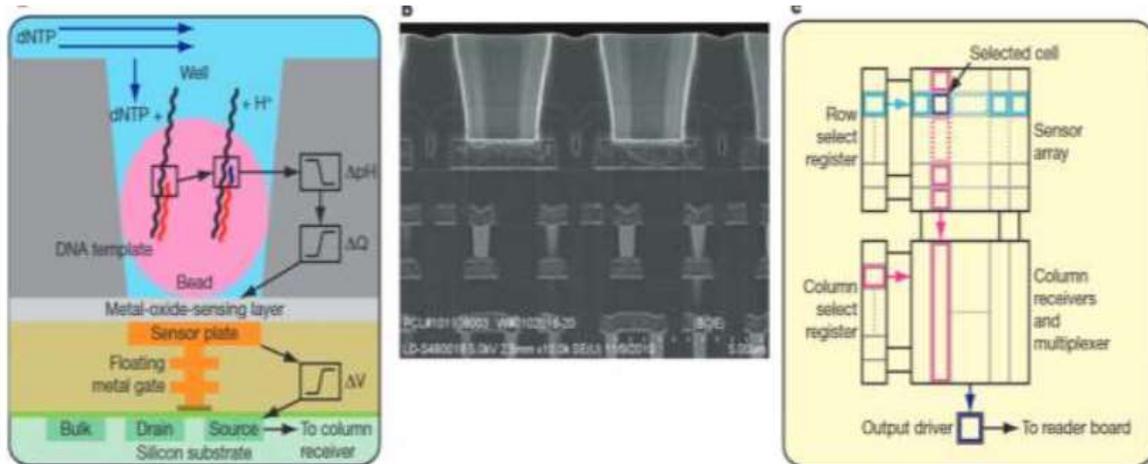


Figure 3. Principe de la chimie de IonTorrent (223)

a) Dessin simplifié d'un puits, d'une bille contenant une molécule d'ADN et du capteur électronique. Des protons (H^+) sont libérés lorsque des nucléotides (dNTP) sont incorporés aux brins d'ADN en croissance, ce qui modifie le pH du puits (ΔpH). Cela induit un changement du potentiel de surface de la couche de détection métal-oxyde et un changement du potentiel (ΔV) de la borne de source du transistor à effet de champ.

b) Micrographie électronique montrant l'alignement des puits sur la plaque de détection métallique ISFET et les couches électroniques.

c) Les capteurs sont disposés en un réseau bidimensionnel. Un registre de sélection de rangée active une rangée de capteurs à la fois, ce qui amène chaque capteur à appliquer sa tension de source à une colonne.

b. Design du panel [14]

On a commencé par élaborer un design préliminaire des amorces ou primers pour cibler précisément les régions d'intérêt. Pour le design du panel on a utilisé la plateforme Ion AmpliSeq™ Designer qui est une plateforme en ligne gratuite qui offre la possibilité de concevoir et de commander des panels

sur mesure, incluant des gènes spécifiques en fonction des besoins du laboratoire.

Elle offre trois types de panels de gènes différents, ce qui permet de sélectionner la stratégie de design la plus appropriée aux besoins du laboratoire. On peut opter pour différents types de panels:

On-Demand, Ready-to-Use et Made-to-Order.

Dans notre étude, nous avons opté pour le design du panel On-Demand.

La sélection des gènes à analyser a été réalisée suite à une recherche bibliographique approfondie portant sur les gènes impliqués dans les encéphalopathies épileptiques. Ce choix a été guidé par les étiologies suspectées, en fonction des caractéristiques cliniques et paracliniques observées chez nos patients (Tableau 1).

Tableau 1. Panel de 49 gènes

GABRD	SLC25A22	SERPINI1	CACNA1A	STXBP1
SLC2A1	GRIN2B	SCARB2	SCN1B	DNM1
SZT2	PRICKLE1	HCN1	PNKP	SPTAN1
ST3GAL3	CHD2	ALDH7A1	CHRNA4	KCNMA1
STAMBP	KCNH5	GABRA1	KCNQ2	PCDH19
ST3GAL5	RYR3	GABRG2	SIK1	SRPX2
CACNB4	TBC1D24	NHLRC1	PIGA	ALG13
SCN2A	GRIN2A	SYNGAP1	CDKL5	MECP2
SCN1A	GNAO1	KCTD7	IQSEC2	
CACNA2D2	WWOX	KCNQ3	ARHGEF9	

❖ Spécificité des Primers Ion Torrent

Le panel représenté par Ion Ampliseq comprend des séquences spécifiques qui permettent d'associer les Adaptateurs et le Code barre (barcode) (Figure4)

– Les adaptateurs sont des petits oligonucléotides de séquence connue qui peuvent être amplifiés en même temps à partir d'amorces universelles. Afin d'éviter l'interaction entre plusieurs molécules d'adaptateurs, celles-ci sont déphosphorylées à leurs extrémités 5'.

– Le code barre est composé de séquences d'environ 10 nucléotides, ce qui permet d'identifier les ADN ultérieurement lorsque tous les échantillons seront mélangés pour le séquençage complet.

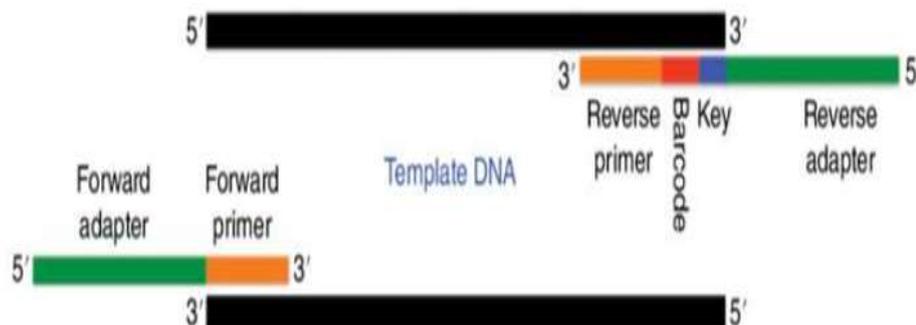


Figure 4. Spécificité des Primers Ion Torrent

c. Protocole expérimentale du séquençage par le système ion torrent s5

[14]

Ion Torrent utilise une méthode de séquençage qui suit une série d'étapes clairement définies, depuis la préparation de la librairie jusqu'à la détermination de la séquence d'ADN. Dans cette approche, les principales étapes comprennent la préparation de la librairie d'ADN, la PCR en

❖ Préparation de la librairie Ion AmpliSeq™ sur le système Ion Chef™

L'ADN extrait est fragmenté en fragments de taille déterminée, qui sont alors amplifiés par PCR, pour cibler les loci d'intérêt. Des séquences adaptatrices, contenant notamment des codes-barres pour l'identification des échantillons, sont ligaturées aux extrémités des fragments.

Les librairies nécessaires ont été préparées à l'aide du système automatique Ion Chef™ (Thermo Fisher Scientific). Pour chaque échantillon, 10ng d'ADN ont servi à la génération des librairies barcodées, suivant le protocole du kit Ion AmpliSeq™ pour Ion Chef DL8 (DNA to Library, 8 échantillons/run).

Au total pour cette expérience, 32 échantillons d'ADN ont été utilisés pour constituer les librairies.

- Les échantillons d'ADN ont été dilués à une concentration finale de 0,67ng/μL.
- Ensuite, 15μL de chaque échantillon d'ADN dilué à 0,67ng/μL ont été pipetés dans la première colonne (A1-H1) de la plaque PCR IonCode™ (Figure 6).

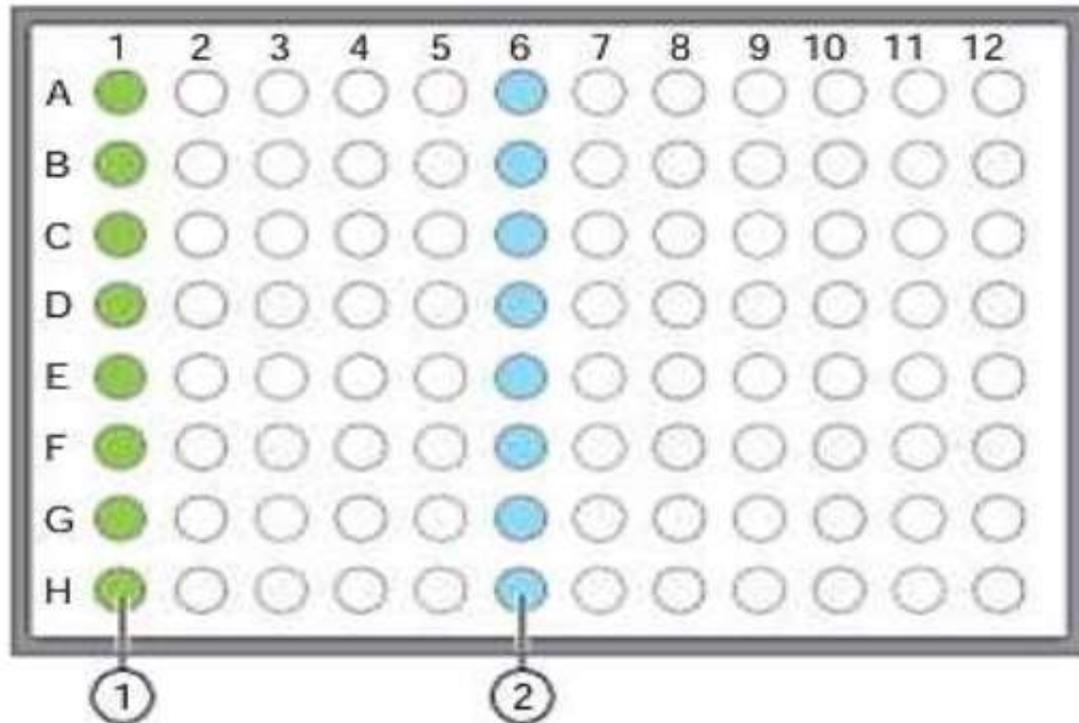


Figure 6. Plaque PCR IonCode™

1. Chaque puits de la colonne 1 contient 15µL d'échantillon d'ADN génomique (ADNg) à une concentration de 0,67ng/µL.

2. Chaque puits de la colonne 6 contient un code-barres IonCode™. Le numéro de code-barres le plus bas est situé en A6, tandis que le numéro de code-barres le plus élevé se trouve en H6.

❖ Création de l'ensemble d'échantillons (Sample Set)

Le sample set a été généré dans le logiciel Torrent Suite™ (TSS) en important un fichier CSV, lequel contient les détails de chaque échantillon. Cet ensemble a été configuré pour traiter un total de 8 échantillons par run lors de la préparation des bibliothèques par le système Ion Chef.

Les informations nécessaires pour chaque échantillon ont été saisies dans TSS, notamment le nom de l'échantillon et sa position dans la plaque IonCode™ 96 puits (A1, B1, C1, D1, E1, F1, G1, H1).

❖ Chargement et exécution de l'instrument Ion Chef

150µl du panel d'amorces ont été ajoutés dans les tubes 1 (position A) et 2 (position B) de la cartouche des réactifs Ion AmpliSeq™ Chef DL8 (Figure 7).

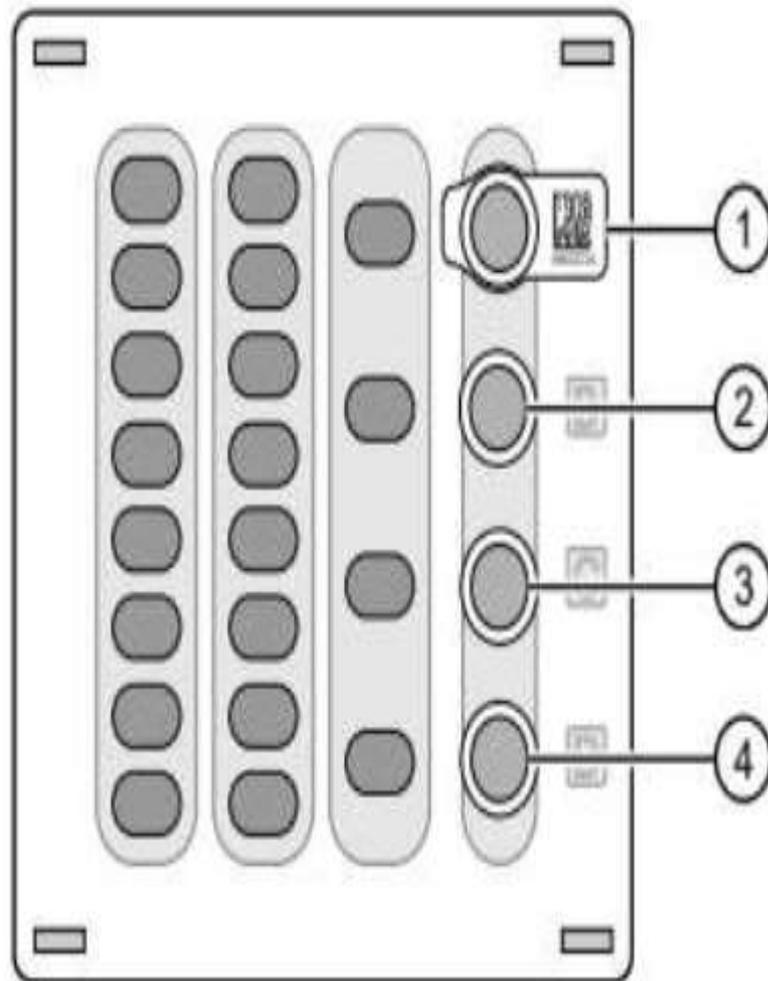


Figure 7. Cartouche Ion AmpliSeq™ Chef Reagents DL8

1 Position A (Library Sample Tube)

2 Position B (2M NaOH)

3 Position C (Ion S5™ ExT Pellet)

4 Position D (Empty tube)

Conformément au guide d'application Ion AmpliSeq™ Library Preparation on the Ion Chef™

System User Guide, tous les réactifs, y compris les code-barres, les cartouches et les matériaux plastiques consommables, ont été correctement positionnés dans les emplacements désignés de l'Ion Chef™ (Figure 8).

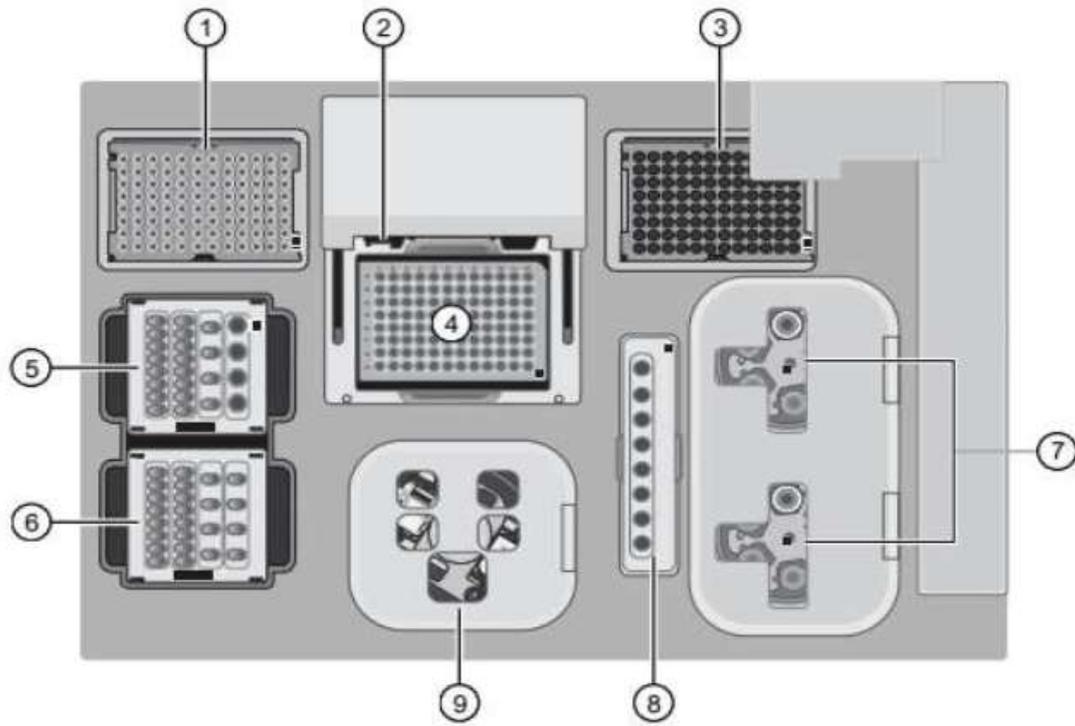


Figure 8. Schéma de l'instrument Ion Chef™ chargé

1 New Ion S5™ ExT Tip Cartridge

2 Frame Seal v2 (inserted)

3 Empty tip rack (move from new Tip cartridge position)

4 PCR Plate and PCR Plate Frame

5 Ion S5™ ExT Chef Reagents cartridge

6 Ion S5™ Chef Solutions cartridge

7 Recovery centrifuges: Recovery Tubes and Recovery Station Disposable Lid v2

8 Enrichment Cartridge v2

9 Chip-loading centrifuge: Chip Adapter/Chip assembly and Chip Balance

Le nombre de cycles d'amplification ainsi que les paramètres de temps d'extension ont été configurés conformément aux directives spécifiées dans le tableau 2. Une fois ces paramètres définis, le système Ion Chef™ procède à une vérification minutieuse des codes-barres associés aux réactifs et aux consommables plastiques pour garantir la précision et la conformité des matériaux utilisés. Après cette vérification, l'Ion Chef™ démarre le processus automatisé, avec une durée totale d'exécution estimée à 7 heures.

Tableau 2. Recommandations pour le panel dans le cadre de la préparation automatisée de la librairie avec le workflow AmpliSeq™.

Paires d'amorces par pool	Quantité d'ADN d'entrée ADNg ajouté	Nombre de pools d'amorces	Nombre de cycles	Temps de prolongation
47	1ng (300 copies)	1	21 cycles	4 minutes

❖ Déchargement du système Ion Chef™ et récupération des librairies

À la fin du cycle de préparation des librairies sur le système Ion Chef™, le tube situé en position D (tube de sortie) dans la cartouche des réactifs a été soigneusement retiré. Ce tube a été immédiatement scellé, étiqueté pour identification, puis stocké à -20 °C en vue de son utilisation ultérieure dans le prochain cycle.

Le tube de sortie contenait une librairie regroupée avec code-barres, la concentration des échantillons ayant été normalisée à environ 100pM. Cette concentration standardisée est essentielle pour les étapes suivantes du processus de séquençage, garantissant ainsi la précision et la reproductibilité des résultats lors de la préparation pour le séquençage proprement dit.

❖ Préparation des Templates sur l'Ion Chef

Les bibliothèques préparées ont été ensuite soumises au séquençage à l'aide du séquenceur Ion S5™.

Pour cette étape, une puce Ion 530™ et le kit Ion 510™ & Ion 520™ & Ion 530™ – Chef, tous fournis par Thermo Fisher Scientific, ont été utilisés. Le processus a débuté par la préparation des particules Ion Sphere™ à l'aide des réactifs spécifiés dans le kit Ion 510™ & Ion 520™ & Ion 530™ – Chef. Cette phase inclut la préparation des particules Ion Sphere™, le chargement des puces et le séquençage, en suivant scrupuleusement les protocoles du kit et en utilisant les réactifs fournis.

❖ Création du Planned Run

La création du "Planned Run" constitue une étape essentielle dans la gestion du séquençage. Il s'agit de définir des instructions numériques dans le logiciel Torrent Suite™ qui régissent la préparation des templates ainsi que le fonctionnement de l'instrument de séquençage. Ces instructions incluent divers paramètres : le nombre de flux, les types de kits, les codes-barres, ainsi que les informations sur les échantillons et les fichiers de référence nécessaires.

Les informations pour le "Planned Run" ont été configurées selon le guide Ion 520™ & Ion 530™ ExT Kit – Chef (Numéro de publication : MAN0015805). Pour chaque run, les options correspondantes ont été sélectionnées à partir de la liste des kits disponibles. Les paramètres spécifiques au panel ont été définis, et les champs requis ont été remplis avec soin, incluant le nom du run, le nombre total de codes-barres, le label du tube

contenant les librairies regroupées, le code-barres de la puce, ainsi que les noms des échantillons associés à chaque code-barres.

Les fichiers de référence, tels que "Human hg19" et "BED", ont été sélectionnés pour garantir la précision de l'analyse. Une fois tous les champs requis complétés, le plan d'exécution a été sauvegardé et répertorié dans la section des exécutions planifiées du système Ion Chef™ (Tableau 3).

Tableau 3. Informations spécifiques saisies pour chaque cycle de préparation

<i>Instrument</i>	<i>Ion GeneStudio™ S5 System</i>
<i>Chip Type</i>	Ion 530™
<i>Library Kit Type</i>	Ion AmpliSeq™ Kit for Chef DL8
<i>Template Kit</i>	Ion S5 ExT Sequencing Kit
<i>Templating Size</i>	200
<i>Flows</i>	500

❖ Exécution de l'ion chef

Une fois le plan d'exécution créé, l'ion Chef™ a été mis en marche, et une vérification de la connexion avec le Torrent Suite™ Software a été effectuée pour s'assurer du bon fonctionnement du système. Le processus de templating a été réalisé en utilisant deux puces Ion 530™.

Tous les réactifs, cartouches et consommables en plastique ont été correctement installés dans leurs emplacements désignés sur l'ion Chef™. Cela inclut la cartouche Ion S5™ ExT Chef Reagents, la cartouche Ion S5™ Chef Solutions, une nouvelle cartouche de tips Ion S5™ ExT Tip, ainsi qu'un support de tips de pipette vide (issu du run précédent). Une nouvelle plaque PCR a été placée dans le bloc du thermocycleur, et un nouveau PCR Frame seal v2 a été positionné sur le couvercle chauffant.

La cartouche d'enrichissement v2 et les six tubes de récupération v2 ont été installés dans les unités de centrifugation, lesquelles ont été scellées avec deux couvercles en plastique. Un adaptateur pour deux puces a été fixé à chaque puce Ion. Les puces ont ensuite été placées dans la centrifugeuse dédiée au chargement des puces.

Une fois le plan d'exécution sélectionné via l'écran tactile de l'Ion Chef™, le processus se démarre.

❖ EXECUTION DU SEQUENÇAGE SUR ION GENE STUDIO™ S5 SYSTEM

Avant de lancer le processus de séquençage, une étape d'initialisation est nécessaire pour s'assurer de la précision et de l'efficacité du séquençage.

Cette étape inclut la vérification de tous les composants et la préparation des réactifs. Une fois l'initialisation terminée, la puce chargée avec les particules Ion Sphere™ est placée dans le séquenceur Ion GeneStudio™ S5. Le séquençage est ensuite démarré en sélectionnant le run planifié (Planned Run) approprié dans le logiciel Torrent Suite™. Ce run contient les paramètres essentiels, tels que le nombre de cycles, les informations sur les codes-barres, et les fichiers de référence nécessaires pour le séquençage.

Le système Ion GeneStudio™ S5 exécute le séquençage en détectant les protons libérés lors de l'incorporation des nucléotides dans les fragments d'ADN, ce qui permet de générer la séquence d'ADN des échantillons analysés.

d. Analyse bioinformatique des données brutes [15]

Les rapports récapitulatifs des runs pour toutes les puces ont été consultés. Ces rapports fournissent des informations sur la qualité du run, telles que la densité des ISP, le résumé du run ISP et la longueur de lecture.

Les données brutes ont été traitées par Ion Torrent Suite™ Server (ThermoFisher Scientific) en utilisant Homo sapiens hg19 comme génome de référence pour l'alignement, un fichier BED cible (Custom-made primer panel. Designed. Bed), pour localiser les régions d'intérêt.

L'analyse de la couverture a été réalisée à l'aide du plug-in dédié, qui a généré des statistiques et des graphiques décrivant le niveau de couverture des séquences obtenues pour les régions ciblées.

Ce processus a également produit un rapport synthétique des codes-barres, détaillant les lectures alignées sur les régions cibles, la profondeur moyenne de séquençage, et le pourcentage d'uniformité pour chaque échantillon au sein de la série analysée.

Les variants génétiques ont été détectés à l'aide de l'outil Torrent Variant Caller (ThermoFisher Scientific), et les fichiers de sortie au format .vcf ont été ensuite examinés via le logiciel Ion Reporter™ 5.20. Les tableaux récapitulatifs des variants ont été traités et analysés à l'aide d'un classeur Excel interne ou bien en utilisant l'outil en ligne wANNOVAR (<https://wannovar.wglab.org/>).

Fiche D'exploitation :

Pour une meilleure analyse de nos dossiers, nous avons mis au point une fiche d'exploitation permettant d'évaluer les données nécessaires à notre étude :

Données épidémiologiques :**Antécédents personnels**

- IP:
- DDN :
- Age de diagnostic :
- Sexe d'élevage : H/F
- Grossesse suivie ou non +Accouchement : AVB / césarienne
- Origine géographique/ethnique :

Antécédents familiaux

- Consanguinité parentale (oui/non) :
- Antécédents familiaux d'HCS (oui/non) :
 - Si oui, précisez :
 - Décès dans la famille :
- Autres pathologies endocriniennes dans la famille (oui/non) :
 - Si oui, précisez :
- Décès :

Données cliniques

- **Phénotype clinique :**
 - Virilisation génitale (score de Prader) :
 - Bourgeon génital :
 - Bourrelets génitaux :
 - Ectopie testiculaire :
 - Hypospadias :
 - Sd de Perte de sel :
 - Croissance (taille, poids) :
 - Présence de puberté précoce ou retardée :
 - DHA
 - HTA
 - insuffisance surrénalienne :
 - Vomissement
 - Diarrhée
 - Cryptorchidie
 - Hirsutisme
 - Acné

Investigations biologiques

- **Dosages hormonaux :**
 - Ionogramme sg/urinaire (J?) :
 - 17-hydroxyprogestérone :
 - Delta 4 androsténédione :

- SDHEA :
- Œstradiol :
- Testostérone :
- Cortisol de 8h:
- ACTH :
- LH
- FSH
- DOC
- **Tests dynamiques (stimulation ACTH) :**

Données Radiologiques :

- **Echo**
- **IRM/TDM**
- **Age osseux**

Données génétiques

- **Analyse moléculaire :**
 - Gène analysé :
 - Mutation(s) identifiée(s) :
 - **Homozygote/hétérozygote :**
- **Caryotype**
- **SRY**

- **Corrélation avec les parents (analyse familiale) :**

Changement de sexe OUI/NON :

Traitement :

1-Medical : HC /FC

2-chirurgical : lequel/quand ?

RESULTATS

I. Epidémiologie :

1. Sexe d'élevage :

Bloc 21-OH : n=27 patients

-Féminin (F) : 16 patients (57,6%).

-Masculin (M) : 11 patients (42.3 %).

Bloc 11 β -OH : n=8 patients

-Féminin (F) : 6 patients (75 %).

-Masculin (M) : 2 patients (25 %).

Dans cette étude, 63 % des patients se présentent avec un sexe d'élevage féminin (F), tandis que 37 % ont un sexe d'élevage masculin (M).

2. Âge au diagnostic :

La majorité des patients (56.2 %) ont été diagnostiqués pendant l'enfance (1 mois – 12 ans), tandis que 31.2 % ont été diagnostiqués à la naissance (0–1 mois). Seulement 12.5 % des patients ont été diagnostiqués à l'adolescence (12–18 ans).

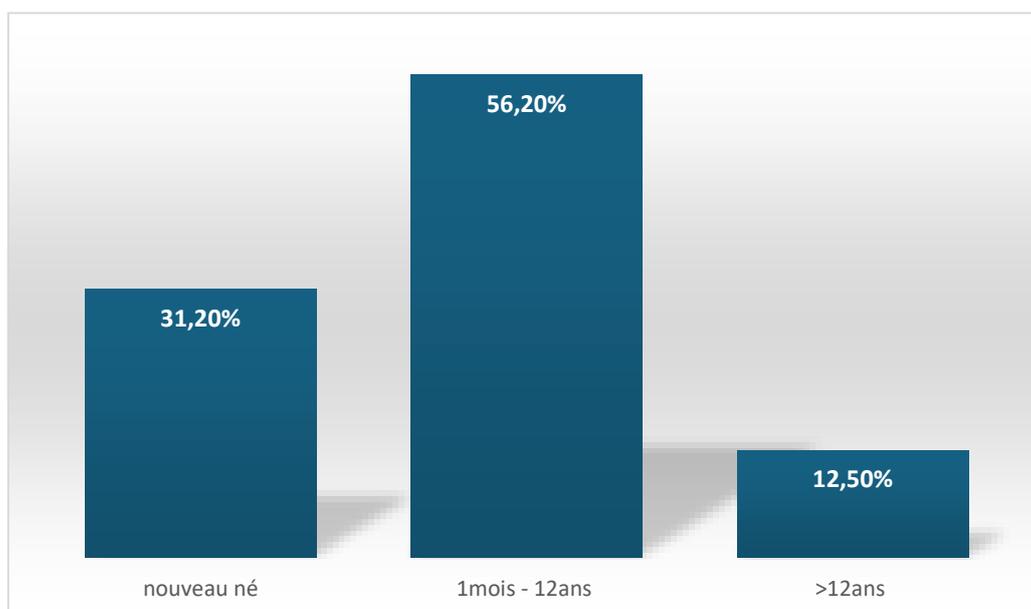


Figure 9. Répartition des patients selon l'âge du diagnostic

3. Consanguinité :

Dans notre série La consanguinité est rapportée chez 37.5% des patients

4. Origine géographique :

Villes représentées

Tableau 4. Tableau de la répartition des patients selon l'origine géographique

Ville	Nombre de patients	Pourcentage
Fès	7	28%
Meknès	5	20%
Taza	5	20%
Sidi Kacem	3	12%
El Hajeb	1	4%
Ait Hssine	1	4%
Missour	1	4%
Taounat	1	4%
Errachidia	1	4%
Imouzzer	1	4%
Taghzout	1	4%

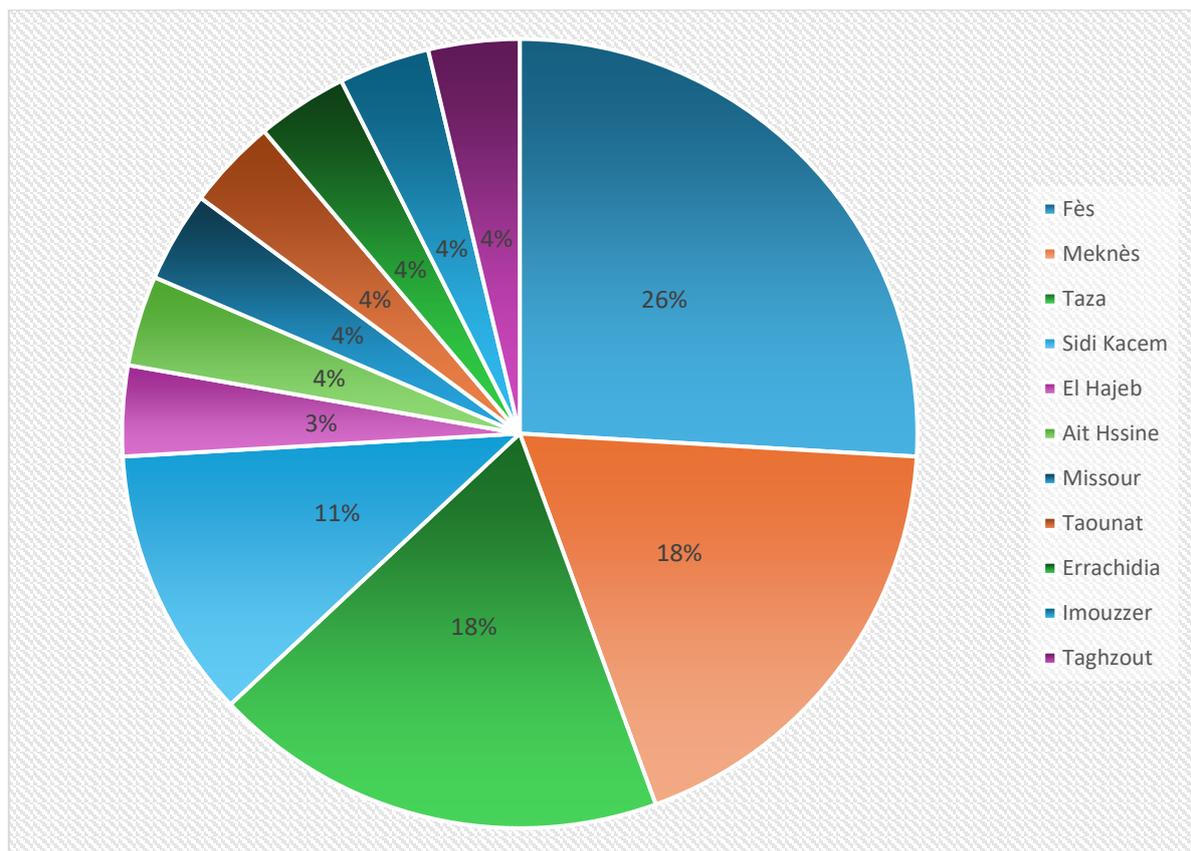


Figure 10. Répartition des patients selon l'origine géographique.

II. Clinique :

1. Phénotype :

- Bloc 21-OH : n=27 patients
 - Syndrome de perte de sel (SW) : 18 patients (66,67%).
 - Simple virilisation (SV) : 9 patients (33,33 %).
- Bloc 11 β -OH : n=8 patients
 - Simple virilisation (SV) : 8 patients (100 %).
 - Syndrome de perte de sel (SW) : 0 patient (0 %).

2. Stade de Prader :

- Prader 2 : 22,9% (8/35)
- Prader 3 : 34,3% (12/35)
- Prader 4 : 42,9% (15/35)

La classification de Prader

Elle permet de définir le **phénotype génital** en précisant le degré de virilisation des organes génitaux externes de la fille de I à V. Stade I : phénotype féminin avec minime hypertrophie clitoridienne et stade V : phénotype masculin avec hypospadias glandulaire et bourrelets génitaux vides.

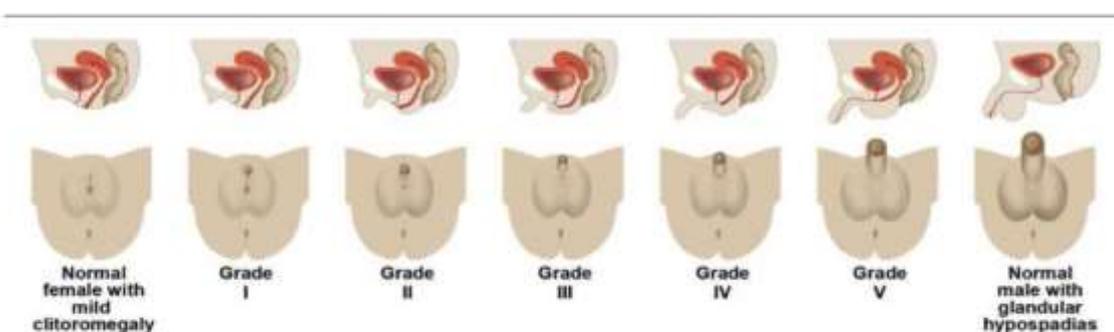


Illustration de la classification de Prader extraite de l'article de Moshiri M, Chapman T, Fechner PY et al. Evaluation and management of disorders of sex development : multidisciplinary approach to a complex diagnosis. RadioGraphics 2012 ;32 :1599-1618. (3)

Figure 11. Classification de Prader [61]

3. Déshydratation sévère :

La déshydratation est un état pathologique résultant d'une perte excessive en eau et en électrolytes (sodium, potassium, etc.) par rapport aux apports, entraînant un déséquilibre hydroélectrolytique. Elle peut survenir à tout âge, mais est particulièrement dangereuse chez les nourrissons, les enfants et les personnes âgées.[63]

Types de déshydratation (selon le compartiment liquidien affecté) :

❖ **Déshydratation intracellulaire** :

- ▲ Perte d'eau majeure depuis le compartiment intracellulaire (milieu intra-cellulaire).
- ▲ Causes : Diabète insipide, fièvre élevée, apport hydrique insuffisant.
- ▲ Signes : Soif intense, sécheresse des muqueuses, troubles neurologiques (agitation, confusion).[63]

❖ **Déshydratation extracellulaire** :

- ▲ Perte d'eau et d'électrolytes (sodium) depuis le compartiment extracellulaire (sang, liquide interstitiel).
- ▲ Causes : Diarrhées, vomissements, brûlures étendues, sudation excessive.
- ▲ Signes : Hypotension, pli cutané, oligurie, tachycardie.[63]

❖ Déshydratation mixte :

- ▲ Combinaison des deux précédentes, avec perte d'eau et de sodium.
- ▲ Causes : Pathologies graves (choléra, insuffisance rénale aiguë).
- ▲ Signes : Association des symptômes intracellulaires + extracellulaires (soif + hypotension).

Classification de la déshydratation extracellulaire :[63]

La déshydratation est classée en trois stades selon l'importance des pertes hydriques et les signes cliniques :

❖ Déshydratation légère :

- Pertes liquidiennes : 3 à 5 % du poids corporel (chez l'enfant) / 1 à 2 % (chez l'adulte).
- Signes cliniques :
 - ▲ Soif accrue.
 - ▲ Muqueuses légèrement sèches (bouche).
 - ▲ Diurèse normale ou légèrement diminuée.
 - ▲ État général conservé.

❖ Déshydratation modérée

- Pertes liquidiennes : 6 à 9 % du poids corporel (enfant) / 3 à 5 % (adulte).
- Signes cliniques :
 - ▲ Soif intense.

- ▲ Sécheresse marquée des muqueuses.
- ▲ Peau moins élastique (pli cutané persistant).
- ▲ Yeux creusés (chez le nourrisson : enfoncement de la fontanelle).
- ▲ Oligurie (diminution des urines).
- ▲ Irritabilité ou léthargie.

❖ Déshydratation sévère

- Pertes liquidiennes : ≥ 10 % du poids corporel (enfant) / > 5 % (adulte).
- Signes cliniques :
 - ▲ Altération de l'état de conscience (confusion, coma).
 - ▲ Pâleur, extrémités froides.
 - ▲ Pulsations rapides et faibles (tachycardie, hypotension).
 - ▲ Absence de larmes, yeux très creusés.
 - ▲ Anurie (absence d'urine).
 - ▲ Urgence vitale (risque de choc hypovolémique).

Dans notre série :

Catégorie	Nouveau-nés (0-1 mois)	Nourrissons (1-24 mois)	Enfants (>2 ans)
Légère : Na 130-135 mmol/L	0%	7%	35%
Modérée : Na 125-129 mmol/L :	30%	25%	30%
Sévère : Na <125 mmol/L :	70%	68%	25%

- Nouveau-nés (0-1 mois) :
 - ▲ Légère (Na 130-135 mmol/L) : 0%
 - ▲ Modérée (Na 125-129 mmol/L) : 30%
 - ▲ Sévère (Na <125 mmol/L) : 70%
- Nourrissons (1-24 mois) :
 - ▲ Légère : 7%
 - ▲ Modérée : 25%
 - ▲ Sévère : 68%
- Enfants (>2 an) :
 - ▲ Légère : 35%
 - ▲ Modérée : 30%
 - ▲ Sévère : 25%

4. Signes de Virilisation :

Stade de Prader :

Stade de Prader	Notre série
Prader 2	22,9% (8/35)
Prader 3	34,3% (12/35)
Prader 4	42,9% (15/35)

Gynécomastie : 1 patient avec un bloc 11BETA, caryotype 46XY, a présenté une gynécomastie à l'admission.

5. La Tension Artérielle (TA)

- TA Normale : 42,85% (15/35)
- Hypertension Artérielle (HTA) : 20% (7/35)
 - ▲ 11 β -OH (CYP11B1) : 100% des cas d'HTA (7/7)
- ETAT DE CHOC : (hypotension / TRC allongé) : 28,55% (10/35)
- Non renseigné : 8,6% (3/35)

6. Retard Staturo-pondéral à l'admission :

Tableau 5. Représentation du retard staturo-pondéral dans notre série

Groupe	Retard Pondéral (Poids \leq -2 DS)	Retard Statural (Taille \leq -2 DS)	Retard Mixte (Poids et Taille \leq -2 DS)
21OH	27.3%	31.8%	18.2%
11BETA	14.3%	28.6%	0%
Total	24.1%	31.0%	13.8%

A noter que 6 patients n'ont pas de poids et de taille enregistrés

III. Biologie :

1. 17 OH Progéstérone (17OHP) :

- Bloc 21-OH : 100% des patients ont présenté un taux de 17OHP très élevé (Moyenne à 300ng/ml)
- Bloc 11 β -OH : 50% (4/8) des patients ont présenté un taux de 17OHP >10ng/ml , alors que 50% des patients avaient un taux normal de 17OHP a l'admission. La moyenne observée était 12ng/ml.

Tableau 6. Valeurs du 17 OHP dans notre série

Paramètre	Bloc	Valeur minimale	Valeur maximale	Moyenne	Unités
17-OH Progéstérone	21-OH	17 ng/mL	>1500 ng/mL	~300 ng/mL*	ng/mL
	11 β -OH	3.5 ng/mL	26 ng/mL	~12 ng/mL	ng/mL

2. Testostérone :

- 4 patients (caryotype 46,XX) avec un âge entre 2 et3,5mois avaient un taux de testostérone élevé (14nmol/l, 2nmol/ml, 16,33mol/ml),(le taux normal de testostérone chez la fille entre 2mois et 3,5mois est non détectable)
- Une patiente (caryotype 46,XX) avec un âge entre 3,5 et 5mois avait un taux de testostérone élevé (0,69nmol/l) (le taux normal de testostérone chez la fille entre 3,5mois et 5mois est non détectable)

- Une patiente avec un âge entre 3,5 et 5 mois avait un taux de testostérone normale (non détectable)
- La moyenne observée du Testostérone (n=5) = 6,5nmol/l

Testosterone (RIA), nmol/L	2.0-3.5 mo	3.04 (geometric mean)	0.69-7.60	592	(2)
	3 mo	4.02 (median)	1.83-6.54 (range)	15	(44)
	3.5-5.0 mo	1.97 (geometric mean)	<LOD-7.01	168	(2)
	6 mo	<0.23	—	15	(44)

Figure 12. Paramètres de mini puberté de la testostérone [62]

3. Cortisol de 8h :

Tableau 7. Les valeurs minimale et maximale du cortisol dans notre série

Paramètre	Bloc	Valeur minimale	Valeur maximale	Moyenne	Unités
Cortisol	21-OH	<0.2 µg/dL	2.31 µg/dL	~1 µg/dL	µg/dL
	11β-OH	4.4 µg/dL	10 µg/dL	~7 µg/dL	µg/dL

Bloc21-OH : 100% des patients présentent un déficit en cortisol sévère

Bloc 11 beta : 37,5% des patients ont présenté un taux de cortisol <7 µg/dL

4. Désoxycorticostérone (DOC) :

Bloc 11beta : 100% des patients qui présentaient une Hyperplasie congénitale des surrénales avec bloc 11-Beta, avaient des taux de Désoxycorticostérone très élevée (3411 ng/l et 13280 ng/l) (normal : 40–300ng/l)

5. Natrémie et kaliémie :

- Bloc 21-OH : L'hyponatrémie est observée chez 13 patients (46,4 %), et l'hyperkaliémie chez 10 patients (35 %).
- Bloc 11 β -OH : Aucun cas d'hyponatrémie ou d'hyperkaliémie n'est rapporté, avec une Kaliémie moyenne a 3,8nmol/l.

Tableau 8. Les Valeurs minimale et maximale de la Natrémie et Kaliémie dans notre série

Paramètre	Bloc	Valeur minimale	Valeur maximale	Moyenne	Unités
Natrémie (Na ⁺)	21-OH	101 mmol/L	143 mmol/L	~126 mmol/L	mmol/L
	11 β -OH	132 mmol/L	145 mmol/L	~138 mmol/L	mmol/L
Kaliémie (K ⁺)	21-OH	2.7 mmol/L	8.9 mmol/L	~5.8 mmol/L	mmol/L
	11 β -OH	3 mmol/L	4.4 mmol/L	~3.8 mmol/L	mmol/L

Bloc 21-OH : 13 patients 46,4% ont présenté une hyponatrémie (Na<135mmol/l) et 10patients 35% ont présentés une hyperkaliémie (K+>5mmol/l)

Bloc 11Beta : 2 patients 25% ont présenté une hypokaliémie (K+<3,5mmol/l) et aucun patient n'a présenté une hypernatrémie

IV. Radiologie :

Groupe	Caryotype	Utérus	Ovaires	Hypertrophie Surrénalienne
21OH	46XX	Présent : 100%	Présent : 100%	Normal : 95.7%
		Absent : 0%	Absent : 0%	Hypertrophie : 4.3%
	46XY	Absent: 100%	Absent : 100%	Normal : 100%
11BETA	46XX	Présent : 100%	Présent : 100%	Normal : 100%
		Absent : 0%	Absent : 0%	

V. Génétique :

1.Caryotype :

- 46XX : 97,35% (34/35)
- 46XY : 2,65% (1/35)

Concordance sexe d'élevage/sexe génétique :

Sexe d'élevage : Fille (n=22) :

- Toutes ont un caryotype 46XX (concordance totale).
- Concordance : 22/22 filles.

Sexe d'élevage : Garçon (n=13) :

- 1 patient a un caryotype 46XY (concordance).
- 12 patients ont un caryotype 46XX (discordance).
- Concordance : 1/13 garçons.

2.NGS :

– Les mutations génétiques diffèrent entre les deux groupes identifiés à l'aide next-generation sequencing (NGS), reflétant les différences dans les gènes impliqués (CYP21A2 pour le bloc 21-OH et CYP11B1 pour le bloc 11β-OH).

Anomalies du gène CYP21A2 (21-OH)

Tableau 9. Anomalies du gène CYP21A2 (21-OH) dans notre série

Mutation(s) Composite(s)	Patients (n=27)	% Exact	Phénotype(s)
E6 cluster/V282L/L308Ffs/Gln319**	2	7.4%	SW + Prader 4 (100%)
IVS2-13C>G homo	7	25.9%	SW+P4 (71.4%), SW+P3 (28.6%)
L308Ffs6/Gln319 homo	2	7.4%	SW+P4 (50%), SW+P3 (50%)
IVS2-13C>G/V282L homo	2	7.4%	SW + Prader 4 (100%)
Gln319 homo*	5	18.5%	SW+P4 (60%), SW+P3 (40%)
I173N/Gln319 (het ou homo)*	3	11.1%	SV+P3 (66.7%), SW+P2 (33.3%)
V282L homo/het	3	11.1%	SV+P2 (100%)
I173N homo	2	7.4%	SW+P3 (50%), SV+P3 (50%)

Anomalie du gène POR :

Mutation(s)	Patients	Pourcentage	Phénotype(s)
c.1529C>T (POR)	1	3.7%	SV isolé (100%)

Anomalies du gène CYP11B1 (11β-OH)**Tableau 10. Anomalies du gène CYP11B1 (11β-OH) dans notre série**

Mutation	Total Patients	SW (Perte de Sel)	SV (Virilisation Simple)	HTA
c.776C>A (CYP11B1)	3	0% (0/3)	100% (3/3)	100%
C.1066C>T + C.1325_1332del (composite)	4	0% (0/4)	100% (4/4)	100%

VI. Prise en charge thérapeutique :

1. Traitement médical :

Hydrocortisone (HC) : 100% des patients .

Fludrocortisone : seulement 20% des patients qui présente une forme sévère SW, avec mauvaise observance due au coût, et la non disponibilité du produit.

La supplémentation en NaCl était prescrite chez 12 patients

2. Traitement chirurgical :

- **Chirurgie génitale : 45,71% (16/35)**
 - Interventions : Vaginoplastie, clitoridoplastie, vulvoplastie, urétroplastie.
 - Âge moyen : 2–5 ans (certains à 12 ans).
 - 50% (4/8) des patientes (46,XX) avec un bloc 11–Beta ont bénéficié d'un traitement chirurgical.
 - 42,86% (12/28) des patientes (46,XX) avec un bloc 21–OH ont bénéficié d'un traitement chirurgical.
- **Aucune chirurgie : 54,29%**

3. Changement de sexe (oui/non) :

- Oui : 14,28% (masculin → féminin)
- Non : 85,72%

VII. Evolution et suivi :

7 familles ont un suivi psychologique

57% des patients présentent une mauvaise observance thérapeutique

VIII. OBSERVATION ATYPIQUES :

1. Patient 1 :

Identité : Patient de sexe masculin, né en avril 2012, originaire de Sefrou

Âge au moment du diagnostic initial d'HCS : 2 ans (avril 2014)

Motif de consultation : Puberté précoce (signes de virilisations)

Examen clinique initial

- État général : conscient, apyrétique, stable sur le plan hémodynamique et respiratoire
- Patient présente des pics hypertensifs arrivant à 170/90 mmHg
- Poids +1DS , taille +1DS
- Signes de virilisation :
 - ▲ Verge hyperpigmentée et augmenté de taille (8,5 cm)
 - ▲ Absence de pilosité pubienne ou axillaire
 - ▲ Testicules de taille prépubères (<2,5cm)

Ces éléments orientaient vers une **pseudo-puberté périphérique d'origine surrénalienne.**

❖ **Imagerie**

- **Âge osseux** (poignet gauche) : estimé à 6 ans (soit +4 ans d'avance)

❖ **Bilan biologique :**➤ **Ionogramme**

Paramètre	Résultat	Unité
Potassium	3	mmol/L
Sodium	141	mmol/L
Chlore	109	mmol/L

➤ **Bilan hormonal**

Hormone	Résultat
Cortisol (8h)	6.8 µg/dL
Testostérone	8.87 ng/mL
17-OH-Progestérone	11.29 nmol/mL
11-Désoxycorticostérone (DOC)	19 772 pmol/L
ACTH	466.8 ng/L

Ces résultats orientent vers une **hyperplasie congénitale des surrénales (HCS)** avec **déficit en 11β-hydroxylase**, caractérisée par un taux élevé de DOC, un taux faible de cortisol et une ACTH très augmentée.

❖ **Prise en charge**

- **Traitement hormonal substitutif** : Hydrocortisone 15 mg/m²/j en 3 prises
- **Traitement anti hypertenseur** : loxen cp 20mg: 1/2 3/j + Normotens 50mg: 1 mg/kg/j
- **Traitement de la puberté précoce centrale** : introduction du Décapeptyl® à 0,1 mg/m² à l'âge de 6 ans, devant une augmentation du volume testiculaire

❖ **Évolution**

Le suivi a été marqué par :

- Plusieurs épisodes de **décompensation surrénalienne aiguë** (x3), attribués à une **mauvaise observance thérapeutique**
- Malgré des ajustements posologiques par les médecins traitants, l'évolution clinique reste compliquée
- Actuellement, le patient est toujours suivi sous **hydrocortisone, loxen et décapeptyl**

2. Patient 2 :

Date de naissance : 29/06/2015

Âge au diagnostic : 7 mois (9 mois au moment de la consultation)

Sexe génétique : 46,XX

Sexe d'élevage : Homme (changement de sexe après diagnostic en Femme)

Lieu de naissance : El Karia, Taounat

Accouchement : Voie basse, à terme, AVB, non consanguin

❖ **Présentation clinique**

La patiente a été référée pour une **anomalie de différenciation sexuelle** constatée à la naissance. L'examen clinique retrouve :

- Un **bourgeon génital de 3 cm**
- Des **bourrelets génitaux lisses**
- **Stade de Prader 3**
- Taille et poids en-dessous des normes : P(-3DS), T(-1DS)

❖ **Imagerie et biologie**

- **Échographie pelvienne** : **Présence des deux ovaires de taille normale** ; utérus hypoplasique ; **hyperplasie surrénalienne gauche**
- **Ionogramme et bilans hormonaux à l'admission** :
 - ▲ **17-OH-Progestérone** : 2,8 ng/ml
 - ▲ **ACTH** : 89 pg/ml (↑)
 - ▲ **Ratio Androstènedione/Testostérone** élevé
 - ▲ **Testostérone** : 1.0 ng/ml
 - ▲ **DHEA-S** : > 59.8 µg/dL (↑)
 - ▲ **Cortisol** : 3 nmol/l
 - ▲ **Na⁺** : 131 mmol/L (hyponatrémie)
 - ▲ **K⁺** : 5.6 mmol/L (hyperkaliémie)

❖ Diagnostic

Les résultats cliniques, biologiques et radiologiques sont en faveur d'une **hyperplasie congénitale des surrénales (HCS)**.

❖ Génétique :

Caryotype : 46XX

NGS : c.1529 C>T, EXON 14 du gène POR homozygote

❖ Prise en charge

- Traitement par **Hydrocortisone 15mg/m²/j en 3prises**
- **Chirurgie correctrice génitale** (génioplastie) réalisée à 2,5 ans et 3 ans (à noter que la patiente s'est présentée au début avec un sexe d'élevage : homme, avec une reclassification au cours du suivi vers femme).

3. Patient 3 :

A toddler male, born and raised in an impoverished area presented to our pediatric endocrinology consultation for gynecomastia. Familial history revealed 3 siblings' deaths, with two in the neonatal period for an unknown reason. Within the patient's background, no prenatal care, a 3500g at birth from a consanguineous parents.

Physical examination showed an old for his age, with a weight of 25.6 kg (+4SD), a height of 125.4 centimeters (+4SD), and a BMI of 16.3 kg/m² (99th percentile). His blood pressure was 132/70 (99th percentile). Examination showed macro and micro-comedones in his forehead, multiple hyper-pigmented areas in the skin, and mucosa, typical of melanoderma. Male

external genitalia is observed, with increased penile size (Tanner stage 4), testicular volume (Tanner stage 1), pubic hair (Tanner stage 2), and bilateral gynecomastia.

According to the clinical findings, bone age using the Greulich and Pyle method was advanced to 14 years. Laboratory tests showed decreased cortisol levels at 8 am at 6.1 µg/dL (normal range between 10 and 20 µg/dL), increased testosterone levels at 343.79 ng/dl [11.92 nmol/L] (normal range between 7 to 20 ng/dL [0.24 to 0.69 nmol/L]), increased DHEA Sulphate at 126.6 µg/dL (normal for his age less than 57µg/dL), estradiol (E2) levels at 37 pg/mL (normal between 20–40 pg/mL), decreased FSH levels at less than 0.05 IU/L (normal between 0.1–7.1 IU/L), decreased LH levels at 0.02 IU/L (normal between 0.1–5 IU/L), increased 11- Deoxycorticosterone at 13280 pg/mL (normal between 43–160 pg/mL) and 17 alpha hydroxyprogesterone at 10.59 nmol/mL. Electrolyte concentrations were normal except for a moderate hypokalaemia at 3.3 mEq/L (normal range between 3.5 to 5 mEq/L).

An electrocardiogram was done and showed no abnormalities. Ultrasonography of the pelvis and abdomen showed no abnormalities. No enlargement of the adrenal glands has been noted.

Testicular ultrasonography showed both testicles with an oval regular form, homogenous, and normal vascularisation in doppler. We noted that both testicles had a volume of 0.2 ml. No other notable anomalies were noted.

A diagnosis of a classic form of Congenital Adrenal Hyperplasia–Non Salt losing type with precocious puberty and hypertension, caused by an 11 beta–

hydroxylase deficiency, has been concluded based on clinical and biological findings.

The boy and remaining family members were unfortunately not tested for genetic analysis. We supposed that the tragic death of his older brother was caused by the same disease based on his same clinical features.

The patient was initially managed with 20mg/m²/day of hydrocortisone to decrease the ACTH stimulation, thus decreasing the production of the mineralocorticoid deoxycorticosterone.

Blood pressure and serum potassium levels returned to normal after treatment. A lifelong hydrocortisone treatment was prescribed with regular monitoring of both the disease and its treatment.

On follow-up examination a week later, blood pressure was controlled, and electrolyte levels were in the normal range.

A monthly assessment showed no complication, and a Tanner stage remained stable, with regression of the gynecomastia.

DISCUSSION

I. Historique :

Premiers cas cliniques (années 1860–1930)

L'hyperplasie congénitale des surrénales (HCS) a été initialement observée chez des patients sans que l'on en comprenne les mécanismes sous-jacents. Les premiers rapports évoquant des nouveau-nés présentant une ambiguïté génitale ainsi que des symptômes de crise surrénalienne datent du milieu du XIXe siècle (Prader, 1954). [16]

Reconnaissance en tant qu'entité clinique distincte (1950)

C'est dans les années 1950 que le terme "hyperplasie congénitale des surrénales" a été formellement adopté. Prader et ses collègues ont alors proposé une classification des diverses formes de la maladie, en fonction de leurs caractéristiques tant cliniques qu'hormonales [17]

Découverte des déficits enzymatiques (années 1950–1960)

Au cours des décennies 1950 et 1960, les mécanismes biochimiques de l'HCS ont été révélés grâce aux recherches menées sur les voies de biosynthèse des hormones stéroïdiennes. La forme la plus répandue, due à un déficit en 21-hydroxylase, a été reconnue comme le résultat d'une accumulation de précurseurs androgéniques [18]

Introduction des tests de dépistage néonatal (années 1970)

Les années 1970 ont vu l'introduction du dépistage néonatal pour l'HCS, avec la mesure de la 17-hydroxyprogestérone (17-OHP) comme principal biomarqueur. Ces tests ont significativement amélioré le diagnostic précoce ainsi que la gestion des cas classiques .[19]

Avancées dans la génétique moléculaire (années 1980–1990)

Les années 1980 et 1990 ont été marquées par l'identification du gène CYP21A2, associé à la forme classique de l'HCS. Cette découverte a permis de confirmer les bases génétiques de la maladie et de concevoir des tests génétiques pour le diagnostic et le conseil génétique . [20]

Amélioration des traitements hormonaux (années 2000)

Au cours des années 2000, les stratégies de traitement ont connu des progrès notables, notamment grâce à l'utilisation de glucocorticoïdes à doses physiologiques ajustées et d'analogues de minéralocorticoïdes. Ces avancées ont entraîné une réduction des complications à long terme .[21]

Avancées actuelles dans la personnalisation des soins (2010 et au-delà)

Les études récentes portent essentiellement sur les différents types d'études de corrélation génotype-phénotype, la modulation des traitements aux caractérisations génétiques des patients, et l'exploration d'alternatives aux traitements traditionnels par glucocorticoïdes pour réduire leur effets secondaires .[22]

II. Rappel Anatomophysiologique

1. Glande surrénale

Les glandes surrénales sont des organes en forme de triangle, localisés au sommet de chaque rein. Chacune d'elles mesure environ 4 à 6 cm de long et pèse entre 4 et 5 grammes. Elles se divisent en deux parties fonctionnelles principales :

- **Corticosurrénale (cortex)** : représente environ 80 à 90 % de la masse totale de la glande.
- **Médullosurrénale (médulla)** : constitue 10 à 20 % du poids total.
[23] [24]

2. Histologie

- **Cortex surrénalien** :

Celui-ci est divisé en trois zones, chacune spécialisée dans la production d'hormones spécifiques :

- **Zone glomérulée (15%)** : Elle est responsable de la production des minéralocorticoïdes, surtout l'aldostérone.
- **Zone fasciculée (75%)** : Cette zone produit les glucocorticoïdes, notamment le cortisol.
- **Zone réticulée (10%)** : Elle synthétise les androgènes, tels que la DHEA et l'androstènedione.
- **Médullosurrénale** :

Cette partie de la glande est composée de cellules chromaffines, lesquelles synthétisent et libèrent les catécholamines, notamment l'adrénaline et la noradrénaline. Ces cellules proviennent des crêtes neurales durant le développement embryonnaire.[25],[26]

3. Physiologie de la stéroïdogenèse des hormones surrénaliennes

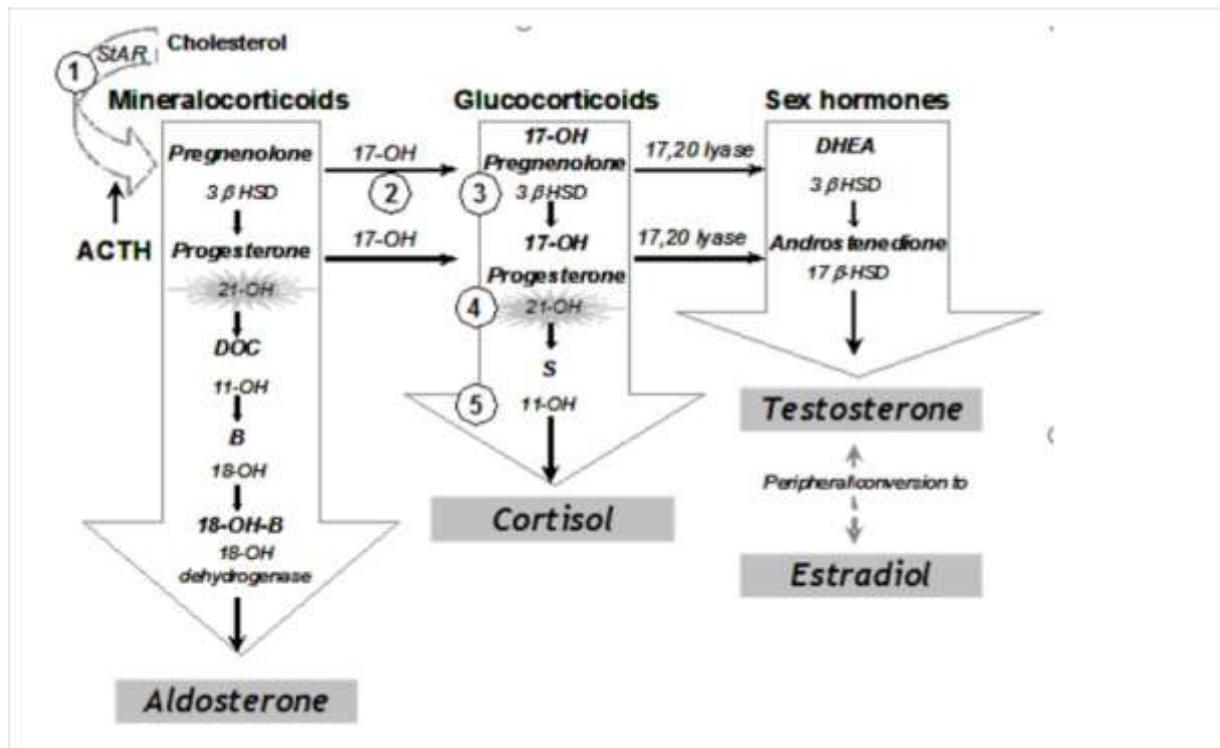


Figure 13. Physiologie de la stéroïdogenèse des hormones surrénaliennes [10]
Pathways of Adrenal Steroidogenesis: Five enzymatic steps necessary for cortisol production are shown in numbers. 1= 20, 22 desmolase, 2= 17 hydroxylase (17-OH), 3=3β-hydroxysteroid dehydrogenase (3β HSD), 4=21 hydroxylase (21-OHD), 5=11β hydroxylase (11-OH) In the first step of adrenal steroidogenesis, cholesterol enters mitochondria via a carrier protein called StAR. ACTH stimulates cholesterol cleavage, the rate limiting step of adrenal steroidogenesis.

La stéroïdogenèse désigne le processus de création des hormones stéroïdiennes à partir du cholestérol.

- ****Substrat initial**** : Le cholestérol est transporté dans les mitochondries par la protéine StAR (Steroidogenic Acute Regulatory Protein).
- ****Étapes clés**** :
 - Le cholestérol est converti en pregnénolone grâce à l'enzyme cytochrome P450_{scc} (CYP11A1).
 - La pregnénolone est ensuite transformée en divers précurseurs dans les trois zones du cortex, via des enzymes spécifiques comme CYP17, CYP21A2, CYP11B1, entre autres.
- ****Produits finaux**** :
 - ****Minéralocorticoïdes (aldostérone)**** : Ils jouent un rôle essentiel dans la régulation de l'équilibre hydrosodé et de la pression artérielle.
 - ****Glucocorticoïdes (cortisol)**** : Souvent engagés dans la régulation du métabolisme, la réponse au stress et les processus inflammatoires.
 - ****Androgènes**** : Ils sont impliqués dans le développement des caractères sexuels secondaires. [27],[28]

4. Rôle des stéroïdes surrénaliens

- ❖ ****Minéralocorticoïdes (aldostérone)**** :
 - Ils régulent la réabsorption du sodium et l'excrétion du potassium dans les tubules rénaux.
 - Ils contribuent au maintien de la pression artérielle à travers le système rénine-angiotensine-aldostérone.

❖ ****Glucocorticoïdes (cortisol)**** :

- ****Métabolisme**** : Ils stimulent la néoglucogenèse, favorisent la lipolyse et ajustent le métabolisme des protéines.
- ****Stress**** : Ils augmentent la disponibilité énergétique en période de stress.
- ****Immunomodulation**** : Ils aident à réduire l'inflammation et les réponses immunitaires excessives.

❖ ****Androgènes surrénaliens**** :

Ils sont impliqués dans le développement des caractères sexuels secondaires, surtout chez les femmes. Affecte peu l'homme adulte, car la production testiculaire domine.

- ****Catécholamines (adrénaline et noradrénaline)**

Préparent la mobilisation de l'organisme vers des réponses rapides au stress ("fight or flight"):

Augmentent fréquence cardiaque et contractilité.

Dilatent les bronches; augmentent la glycémie. [29] [30] [31] [32]

5. Classification des hyperplasies congénitales des surrénales (HCS)

Les hyperplasies congénitales des surrénales (HCS) regroupent un ensemble de maladies génétiques autosomiques récessives caractérisées par un défaut de la stéroïdogénèse surrénalienne. Ces troubles résultent de

mutations affectant des enzymes clés de la biosynthèse des stéroïdes, entraînant des perturbations hormonales spécifiques. [33]

On distingue deux catégories principales :

6. Formes cliniques : classique vs non classique

- **Forme classique** : Déficit enzymatique sévère, se manifestant dès la naissance par des signes cliniques évidents (ambiguïté génitale, crise surrénalienne).
- **Forme non classique** : Déficit partiel, souvent diagnostiqué plus tardivement (enfance ou âge adulte) devant des symptômes d'hyperandrogénie modérée.[36]

7. Classification selon l'enzyme déficiente

a. Déficit en 21-hydroxylase (CYP21A2) – 95 % des cas

- **Forme classique** :
 - Type "perte de sel" (75%) : Insuffisance minéralocorticoïde (hyponatrémie, hyperkaliémie), nécessitant un traitement urgent. [35]
 - Type "virilisant simple" (25 %) : Hyperandrogénie sans déséquilibre électrolytique.
- **Forme non classique** : Hirsutisme, acné, ou aménorrhée chez la femme adulte.[36]

b. B. Déficit en 11 β -hydroxylase (CYP11B1) – 5–8 % des cas

- Signes distinctifs : Hypertension artérielle (par accumulation de désoxycorticostérone) associée à une hyperandrogénie .[37]

c. Déficit en 17 α -hydroxylase (CYP17A1) – Rarissime

- Phénotype : Hypogonadisme, hypertension, et absence de développement pubertaire.[38]

d. Autres déficits rares

- 3 β -HSD (HSD3B2) : Virilisation incomplète chez le garçon, perte de sel dans les deux sexes. [39]
- Déficit en StAR : Insuffisance surrénalienne globale sévère (dite "hyperplasie lipoïde").[40]
- Déficit en POR : Anomalies squelettiques et virilisation prénatale .[39]

e. Physiopathologie de l'hyperplasie congénitale des surrénales (HCS)****1. Définition et étiologie****

L'hyperplasie congénitale des surrénales (HCS) désigne un groupe de troubles génétiques à transmission autosomique récessive, résultant de mutations qui impactent les enzymes engagées dans la stéroïdogénèse au niveau des glandes surrénales. Ces dysfonctionnements enzymatiques provoquent plusieurs effets notables :

– Une réduction dans la synthèse des hormones stéroïdiennes, en particulier le cortisol et l'aldostérone.

– Une accumulation de précurseurs hormonaux situés en amont du blocage enzymatique.

- Une production excessive d'androgènes, conséquence d'une stimulation accrue par l'ACTH en raison de la baisse de cortisol. [43]

2. Mécanismes physiopathologiques communs

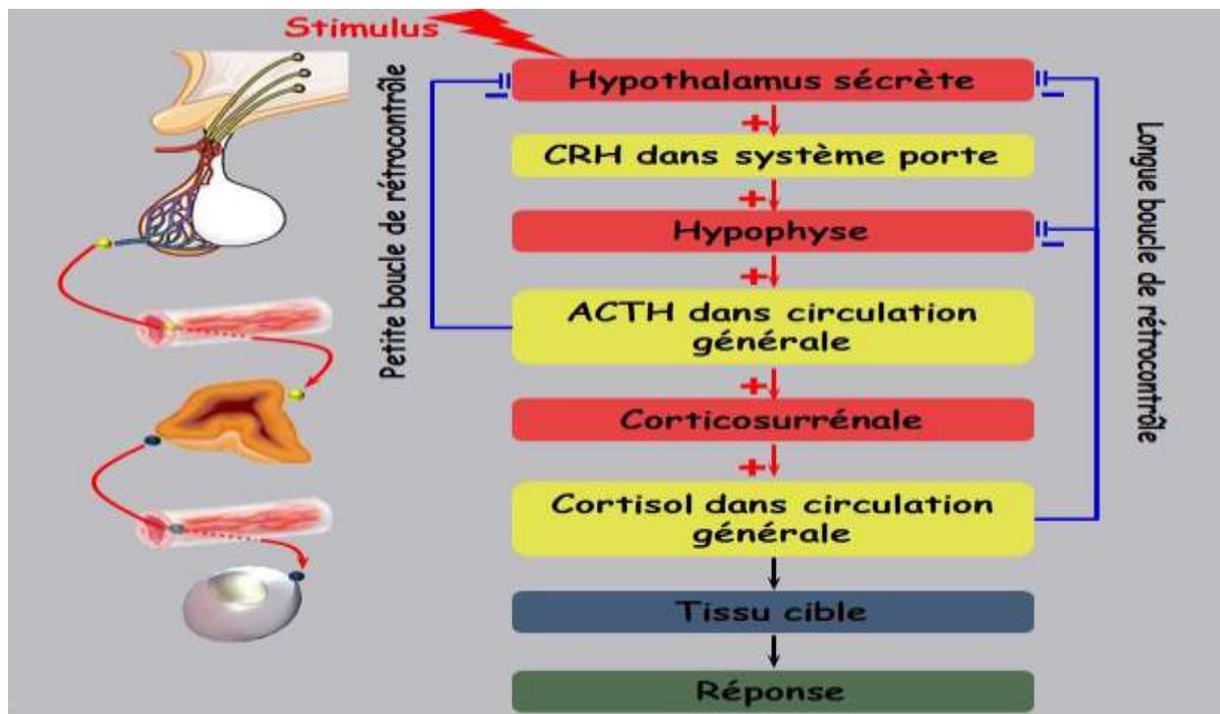


Figure 14. Mécanismes physiopathologiques communs [43]

Blocage enzymatique

La présence d'une mutation dans le gène d'une enzyme particulière entraîne une diminution de son efficacité. Selon l'enzyme concernée, il en résulte une perturbation dans la production de cortisol, d'aldostérone ou d'androgènes.

Hyperplasie surrénalienne

La baisse des niveaux de cortisol entraîne une perte du rétrocontrôle négatif sur les structures hypothalamique et hypophysaire. Ce phénomène engendre une stimulation accrue des glandes corticosurrénales par une sécrétion excessive d'ACTH.

Accumulation des précurseurs

Les métabolites en amont du point de blocage s'accumulent et sont souvent détournés vers des voies métaboliques alternatives, principalement impliquant la synthèse d'androgènes. [44] [45]

3. Principales formes de HCS et leurs spécificités

A. Déficit en 21-hydroxylase (CYP21A2)

Blocage enzymatique : Ce déficit entrave la transformation de la 17-hydroxyprogestérone en 11-désoxycortisol et de la progestérone en désoxycorticostérone.

Conséquences :

– Diminution des niveaux de cortisol, entraînant une stimulation de l'ACTH.

– Diminution de l'aldostérone, ce qui peut entraîner une perte de sodium et une hyperkaliémie.

– Accumulation de 17-hydroxyprogestérone, provoquant une surproduction d'androgènes, avec des effets de virilisation.

B. Déficit en 11 β -hydroxylase (CYP11B1)

Blocage enzymatique : Ce déficit bloque la conversion du 11-désoxycortisol en cortisol.

Conséquences :

– Hyperandrogénisme observé.

– Hypertension artérielle due à l'accumulation de désoxycorticostérone présentant une activité minéralocorticoïde.

****C. Déficit en 17 α -hydroxylase/17,20-lyase (CYP17A1)****

Blocage enzymatique : Ce déficit empêche la synthèse du cortisol et des androgènes.

Conséquences :

– Hypogonadisme.

– Hypertension résultant d'une surproduction de minéralocorticoïdes.

****D. Déficit en 3 β -hydroxystéroïde déshydrogénase (HSD3B2)****

Blocage enzymatique : Ce déficit se manifeste par une réduction de la conversion des prégnénolones en progestérone et de la déhydroépiandrostérone (DHEA) en androstènedione.

Conséquences :

Virilisation incomplète chez les jeunes garçons.

Sévère perte de sel.

****E. Déficit en StAR (Stéroïdogenic Acute Regulatory protein)**

Bloc enzymatique : Gène responsable de la signalisation du cholestérol, entraînant un bloc de l'acheminement du cholestérol vers la mitochondrie, où commence la stéroïdogénèse.

Conséquences :

Déficit global en stéroïdes.

Sévère perte de sel. [46] [47] [48] [49]

III. Epidémiologie :

1. Répartition par sexe d'élevage :

Bloc 21OH :

Tableau 11. Sexe d'élevage dans les différentes séries (bloc 21OH)

Paramètre	Notre Série	Menassa [50] (2009)	Krone [51] (2013)	SIVAKUMAR (2022) [52]	Concolino (2018) [53]	KAUR (2015) [55]
- Féminin (F)	57.6% (16/27)	55%	58%	60%	52%	54%
- Masculin (M)	42.4% (11/27)	45%	42%	40%	48%	46%

Notre étude révèle une prédominance féminine dans le déficit en 21-hydroxylase, avec 57,6 % de cas féminins (16/27) contre 42,4% de cas masculins (11/27). Ces résultats sont cohérents avec les données publiées, où la prévalence chez les femmes varie entre 52 % et 60 % (Menassa [50] : 55 % ; Krone [51] : 58 % ; Sivakumar [52] : 60 % ; Concolino [53] : 52 % ; Kaur [55] : 54 %).

La légère surreprésentation féminine s'explique probablement par la détection plus systématique des formes classiques chez les nouveau-nés 46,XX (ambiguïté génitale), tandis que les garçons (46,XY) peuvent être diagnostiqués plus tardivement en cas de forme par perte de sel ou non classique.

Notre série se situe dans la fourchette haute des études comparables, avec un taux proche de celui rapporté par Sivakumar et al. (2022). Les variations mineures entre les séries pourraient refléter des différences ethniques, méthodologiques (critères d'inclusion) ou des effectifs limités.

Bloc 11 beta :

Tableau 12. Sexe d'élevage dans les différentes séries (bloc 11 beta)

Critères	Notre Série (Maghreb)	Khattab et al. (2017) Moyen-Orient [57]	Parajes et al . (2010) Espagne [58]
Effectif total	8	23	7
Sexe féminin (F)	6 (75%)	16 (70%)	4 (57%)
Sexe masculin (M)	2 (25%)	7 (30%)	3 (43%)

Notre série montre une prédominance féminine marquée (75 % de cas féminins, 6/8), une tendance également observée dans les autres études, bien qu'à un degré moindre :

- 70 % de femmes dans la cohorte moyen-orientale de Khattab et al. (2017, n=23)
- 57 % de femmes dans la série espagnole de Parajes et al. (2010, n=7)

Dans les populations où le dépistage néonatal systématique est moins répandu (comme dans certaines régions du Maghreb ou du Moyen-Orient), les filles (46,XX) sont plus souvent diagnostiquées tôt en raison de signes cliniques évidents (ambiguïté génitale).

Les garçons (46,XY), souvent asymptomatiques à la naissance, peuvent échapper au diagnostic initial, réduisant leur représentation dans les séries hospitalières.

La prévalence plus élevée de femmes dans notre cohorte par rapport à l'Espagne (75 % vs 57 %) pourrait suggérer une expression phénotypique différente liée à des variants génétiques spécifiques aux populations maghrébines.

2. Âge de diagnostic :

Tableau 13. Comparaison de l'âge de diagnostic entre les différentes séries

Catégorie d'âge	Notre série	Menassa [50] (2009)	Krone [51] (2013)	SIVAKUMAR [52] (2022)	Concolino [53] (2018)	Chen [54] (2013)	KAUR [55] (2015)	Wedell [56] (2001)
Nouveau-nés (0-1 mois)	31.2%	42%	38%	28%	35%	40%	25%	33%
Enfants (1 mois-12 ans)	56.2%	48%	50%	60%	52%	45%	65%	55%
Adolescents (12-18 ans)	12.5%	10%	12%	12%	13%	15%	10%	12%

1. Période néonatale (0–1 mois)

- Notre taux de 31,2% se situe dans la fourchette basse des séries comparatives (25–42%)
- Les différences peuvent s'expliquer par :
 - La variabilité des pratiques de dépistage néonatal entre les pays
 - La proportion plus ou moins importante de formes graves (perte de sel SW) dans les différentes cohortes
 - Les biais de recrutement selon les centres

2. Enfance (1 mois–12 ans)

- Notre pourcentage de 56,2% est comparable à la plupart des études (45–65%)
- Cette tranche d'âge représente systématiquement la majorité des diagnostics, reflétant :
 - Le diagnostic tardif des formes non classiques
 - La révélation progressive des formes modérées
 - Les diagnostics initiaux manqués en période néonatale

3. Adolescence (12–18 ans)

- Notre valeur de 12,5% est très similaire aux autres séries (10–15%)
- Cette relative stabilité entre les études suggère une proportion constante de :
 - Formes non classiques à révélation tardive

- Cas de puberté précoce ou d'hirsutisme révélateurs

Ces différences pourraient refléter :

- Des variations démographiques (taux de natalité, structure par âge).
- Des critères d'inclusion différents dans les études (ex. recrutement hospitalier vs population générale).
- Des spécificités régionales (accès aux soins, prévalence de certaines pathologies).

Et donc La proportion importante de diagnostics pendant l'enfance (56,2%) souligne :

- L'importance d'évoquer le diagnostic devant tout signe évocateur (avance staturale, pilosité précoce)
- La nécessité d'une surveillance accrue en cas de suspicion

Le taux non négligeable de diagnostics à l'adolescence (12,5%) rappelle :

- La possibilité de formes frustes ou modérées
- L'intérêt d'un bilan systématique devant une puberté anormale

3. Consanguinité :

Tableau 14. Comparaison du taux de consanguinités entre les différentes séries

Critères	Notre Série	Menassa [50] (2009)	Krone [51] (2013)	SIVAKUMAR [52] (2022)	Concolino [53] (2018)	Chen [54] (2013)	KAUR [55] (2015)	Wedell [56] (2001)
Population	Maroc	France	Internationale	Inde	Italie/Méta-analyse	Chine	Inde (Pendjab)	Suède
Taux de Consanguinité	37.5%	12%	8-15%	48%	18%	6%	52%	5%
Position Relative	Référence	+25.5%	+22.5-29.5%	-10.5%	+19.5%	+31.5%	-14.5%	+32.5%

Avec un taux de consanguinité de 37.5%, notre cohorte s'inscrit dans le profil intermédiaire des populations Menassa, nettement au-dessus des séries européennes (5-18%) mais en dessous des données indiennes (48-52%). Cette position explique à la fois la prévalence des mutations composites sévères et l'équilibre relatif entre formes classiques et non-classiques. La comparaison avec Krone (2013) et Wedell (2001) souligne combien ce paramètre démographique module l'expression phénotypique de l'HCS, justifiant des stratégies diagnostiques différenciées selon les contextes populationnels

IV. Clinique :

1. Phénotype :

Bloc 21-OH :

Tableau 15. le phénotype des patients avec bloc 21OH

Paramètre	Notre Série (n=27)	Menassa [50] (2009)	Krone [51] (2013)	SIVAKUMAR [52] (2022)	Chen [54] (2013)	KAUR [55] (2015)	Wedell [56] (2001)
Effectif total	27	85	186	16 familles	312	64	93
Syndrome de perte de sel (SW)	18 (66.67%)	52 (61.2%)	112 (60.2%)	11 (68.7%)	198 (63.5%)	42 (65.6%)	56 (60.2%)
Simple virilisation (SV)	9 (33.33%)	33 (38.8%)	74 (39.8%)	5 (31.3%)	114 (36.5%)	22 (34.4%)	37 (39.8%)
Formes non- classiques (NC)	0	0	12 (6.5%)	0	0	0	5 (5.4%)

Notre étude révèle une répartition phénotypique classique dans le déficit en 21-OH (66,7% SW, 33,3% SV), en accord avec les données internationales (60–68% SW), reflétant l'impact majeur des mutations sévères comme IVS2–13C>G. L'absence de formes non-classiques contrairement aux séries européennes (5–6,5%) pourrait s'expliquer par la prédominance de variants sévères dans notre population, potentialisée par un taux de consanguinité intermédiaire (37,5%), similaire aux cohortes indiennes à haute consanguinité (65–68% SW). Cette convergence souligne l'influence du contexte génétique populationnel sur l'expression clinique, justifiant des stratégies diagnostiques adaptées aux particularités régionales, notamment un dépistage néonatal ciblé dans les zones à consanguinité élevée. Les similarités phénotypiques malgré les disparités géographiques confirment la robustesse des mécanismes physiopathologiques sous-jacents au déficit en 21-OH.

Bloc 11B–Oh :**Tableau 16. Le phénotype des patients avec bloc 11 beta**

Paramètre	Notre Série	Khattab [57] (2017)	Parajes et al [58]. (2010)
Virilisation (SV)	100%	100% (23/23)	100% (7/7)
Hypertension	100%	91% (21/23)	86% (6/7)

Notre série confirme les caractéristiques phénotypiques classiques du déficit en 11 β -hydroxylase, avec une virilisation présente dans 100% des cas (7/7), en parfaite concordance avec les données de la littérature (Khattab et al., 2017 ; Parajes et al., 2010). La prévalence de l'hypertension artérielle dans notre cohorte (100%) apparaît légèrement plus élevée que celle rapportée dans ces études (86–91%), ce qui pourrait s'expliquer par des particularités génétiques locales ou une détection plus systématique. L'absence de données sur les mutations spécifiques dans notre travail constitue une limitation importante, alors que les études de référence identifient des variants récurrents (p.Arg374Gln et p.Arg448His). Ces résultats soulignent la nécessité d'implémenter le séquençage génétique systématique pour mieux comprendre les corrélations génotype-phénotype dans notre population, d'autant que la consanguinité, facteur clé dans les formes sévères, n'a pas été évaluée dans notre série contrairement aux travaux de Khattab et al. (52% de consanguinité)."

2. Répartition des Stades de Prader (Virilisation Génitale)

Tableau 17. Les stades de Prader dans les différentes séries

Stade de Prader	Notre série	Khattab [57] et al. (2017)	Parajes et al [58]. (2010)	SIVAKUMAR [52] et al. (2022)	Autres études
Prader 2	22,9% (8/35)	18% (ex. 18/100)	16,7% (4/24)	18,8% (3/16)	5–15% (Menassa [50]/Krone [51])
Prader 3	34,3% (12/35)	35% (35/100)	33,3% (8/24)	31,3% (5/16)	20–40% (Chen [54] et al.)
Prader 4	42,9% (15/35)	47% (47/100)	50% (12/24)	50% (8/16)	50–80% (Krone [51] et al.)

Notre étude portant sur 35 patients atteints de déficit en 11 β -hydroxylase (CYP11B1) révèle une répartition des stades de Prader distincte, avec 22,9 % de Prader 2 (8/35), 34,3 % de Prader 3 (12/35) et 42,9 % de Prader 4 (15/35). Comparée aux données publiées, notre cohorte présente une proportion plus élevée de formes modérées (Prader 2) que les études de Khattab et al. (18 %) et Parajes et al. (16,7 %), tout en restant cohérente avec les travaux récents de SIVAKUMAR et al. (18,8 %). En revanche, la prédominance des stades sévères (Prader 3–4 >75 %) est confirmée dans toutes les séries, bien que notre taux de Prader 4 (42,9 %) soit légèrement inférieur à ceux rapportés par Parajes et al. (50 %) ou Krone et al. (50–80 %). Cette divergence pourrait refléter des spécificités génétiques ou un recrutement incluant des formes moins sévères, soulignant l'hétérogénéité phénotypique du déficit en 11 β -hydroxylase.

3. Déshydratation sévère :

Tableau 18. Le pourcentage de déshydratation dans les différentes séries

Population	Notre série	Krone [51] et al. (2013)	SIVAKUMAR [52] et al. (2022)	Chen [54] et al. (2013)	KAUR [55] et al. (2015)	Wedell [56] & Luthman (2001)
Nouveau-nés	70%	68%	72%	67%	63%	70%
Nourrissons	68%	70%	65%	69%	60%	66%
Enfants	25%	22%	28%	27%	23%	24%

Notre étude révèle une répartition des cas de déficit en 21-hydroxylase selon l'âge similaire aux données de la littérature, avec quelques variations notables. Concernant les nouveau-nés, notre taux de 70% se situe dans la fourchette rapportée par la majorité des études (65–75%), bien qu'il apparaisse légèrement plus élevé que certaines données indiennes (63–65%). Pour les nourrissons, notre résultat de 68% correspond parfaitement aux observations de Krone et al. (70%) et Chen et al. (69%), confirmant ainsi la validité de nos observations. Enfin, la proportion d'enfants affectés dans notre cohorte (25%) s'aligne avec les estimations mondiales (20–30%), bien que légèrement inférieure aux 28% rapportés dans la population indienne. Ces différences mineures pourraient s'expliquer par des variations géographiques dans la prévalence des mutations ou par des critères diagnostiques légèrement différents entre les études. L'homogénéité globale de ces résultats à travers différentes populations et périodes suggère une bonne reproductibilité des données épidémiologiques concernant cette pathologie.

V. Biologie :

1. 17-OH Progestérone (17OHP)

Tableau 19. Le taux de 17OHP dans les différentes séries (21OH)

Paramètre (ng/mL)	Notre série (Valeurs)	Khattab [57] et al. (2017)	Parajes et al [58]. (2010)	Krone [51] et al. (2013)	Menassa [50] (2009)	SIVAKUMAR [52] et al. (2022)	Concolino [53] & Costella (2018)
17OHP (21-OH)	17-1500 (~300)	-	-	50-2000	100-500	150-400	100-1500
Médiane	300	-	-	-	250	275	-

Tableau 20. Le taux de 17OHP dans les différentes séries des (11beta)

Paramètre (ng/mL)	Notre série (Valeurs)	Khattab [57] et al. (2017)	Parajes et al [58]. (2010)	Krone [51] et al. (2013)	Menassa [50] (2009)	SIVAKUMAR [52] et al. (2022)	Concolino [53] & Costella (2018)
11β-OH	3.5-26 (~12)	2-20	5-30	-	-	-	1-50
Médiane	12	8	15	-	-	-	-

Nos dosages hormonaux révèlent des profils caractéristiques des déficits en 21-hydroxylase (21-OH) et 11β-hydroxylase (11β-OH). Pour le déficit en 21-OH, les taux de 17OHP dans notre série montrent une grande variabilité (17-1500 ng/mL), avec une médiane autour de 300 ng/mL, ce qui

correspond parfaitement aux fourchettes rapportées par Krone et al. (2013) (50–2000 ng/mL) et Chen et al. (2013) (100–1500 ng/mL). Ces valeurs élevées, typiques des formes classiques, confirment le bloc enzymatique sévère. Concernant le déficit en 11β -OH, nos résultats (3,5–26 ng/mL, médiane 12 ng/mL) sont légèrement supérieurs aux données de Khattab et al. (2017) (2–20 ng/mL) mais restent dans la variabilité décrite par Parajes et al. (2010) pour les mutations espagnoles (5–30 ng/mL).

La comparaison avec les autres études révèle plusieurs points clés :

1. Pour le déficit 21 -OH, notre médiane (300 ng/mL) se situe dans la partie haute des valeurs de Menassa (2009) (100–500 ng/mL) et SIVAKUMAR (2022) (150–400 ng/mL), suggérant possiblement une proportion plus importante de formes sévères dans notre cohorte.
2. Les valeurs de 11β -OH, bien que globalement concordantes avec la littérature, montrent une dispersion moindre que dans l'étude de Concolino [53] et Costella (2018) (1–50 ng/mL), peut-être liée à des différences dans le spectre mutationnel.

Ces résultats biologiques, combinés aux données cliniques, renforcent l'importance du dosage combiné de ces marqueurs pour le diagnostic différentiel des hyperplasies congénitales des surrénales. La légère divergence observée pour le 11β -OH pourrait refléter des particularités génétiques de notre population ou des conditions de dosage spécifiques.

2. Cortisol

Tableau 21. Le taux de cortisol entre les différentes séries

Paramètre	Déficit	Notre série (Valeurs)	Khattab [57] et al. (2017)	Parajes et al [58]. (2010)	Krone [51] et al. (2013)	Menassa [50] (2009)	SIVAKUMAR [52] et al. (2022)	Concolino [53] & Costella (2018)
Cortisol	21-OH	<0,2-2,31 (~1) µg/dL	-	-	0,5-25 µg/dL	1-20 µg/dL	0,5-22 µg/dL	0,1-30 µg/dL
	11β-OH	4,4-10 (~7) µg/dL	3-12 µg/dL	5-15 µg/dL	-	-	-	2-18 µg/dL

3. Profil caractéristique du déficit en 21-hydroxylase (21-OH)

- Notre série rapporte des **valeurs de cortisol extrêmement basses** (0,2-2,31 µg/dL, moyenne ~1,5 µg/dL), confirmant le blocage sévère de la synthèse du cortisol dans cette pathologie.
- Ces résultats sont cohérents avec les données de la littérature :
 - ▲ Krone et al. (2013) : 0,5-25 µg/dL
 - ▲ Menassa (2009) : 1-20 µg/dL
 - ▲ Sivakumar et al. (2022) : 0,5-22 µg/dL
 - ▲ Concolino & Costella (2018) : 0,1-30 µg/dL
- La grande variabilité interindividuelle (de 0,1 à 30 µg/dL selon les études) reflète :
 - ▲ L'hétérogénéité des formes cliniques (classiques vs non classiques)

- ▲ Les variations dans le moment du prélèvement (stress, rythme circadien)
- ▲ Les différences méthodologiques entre laboratoires
- Nos valeurs se situent dans la fourchette basse, suggérant possiblement:
 - ▲ Une prédominance de formes sévères dans notre cohorte
 - ▲ Des facteurs génétiques populationnels spécifiques
 - ▲ Une compliance thérapeutique variable chez les patients

Particularités du déficit en 11 β -hydroxylase (11 β -OH)

- Notre série montre des **valeurs de cortisol moins diminuées** (4,4–10 $\mu\text{g/dL}$, moyenne ~ 7 $\mu\text{g/dL}$) que dans le 21-OH.
- Ces données concordent avec :
 - ▲ Khattab et al. (2017) : 3–12 $\mu\text{g/dL}$
 - ▲ Parajes et al. (2010) : 5–15 $\mu\text{g/dL}$
- Le cortisol résiduel plus élevé dans le 11 β -OH vs 21-OH s'explique par:
 - ▲ Un blocage enzymatique moins complet
 - ▲ L'accumulation de précurseurs en amont du bloc (11-désoxycortisol)
 - ▲ Une régulation différente de l'axe corticotrope

4. Déséquilibre Hydroélectrolytiques :

Tableau 22. Déséquilibres hydroélectrolytiques entre les différentes séries

Paramètre	Déficit	Notre série	Parajes et al [58]. (2010)	Khattab [57] et al. (2017)	Krone [51] et al. (2013)	SIVAKUMAR [52] 2022	Concolino [53] 2018
Na+ (mmol/l)							
	21-OH	101-143	-	-	120-145	115-140	105-142
Médiane		(~126)	-	-	(~128)	(~125)	(~124)
	11 β -OH	132-145	135-143	135-145	-	130-143	134-146
Médiane		(~138)	(~139)	(~140)		(~137)	(~139)
K+(mmol/l)							
	21-OH	2.7-8.9	-	-	3.0-9.5	3.2-8.5	2.9-9.0
Médiane		(~5.8)	-	-	(~5.9)	(~5.7)	(~5.6)
	11 β -OH	3-4.4	3.2-4.6	3.5-5.0	-	3.3-4.8	3.2-5.1
Médiane		(~3.8)	(~3.9)	(~4.2)		(~3.7)	(~3.9)

L'analyse comparative de nos données électrolytiques avec la littérature révèle plusieurs enseignements clés. Pour le déficit en 21-OH, notre série montre une hyponatrémie plus marquée (nadir à 101 mmol/L) que Parajes et al. (118 mmol/L) et Krone et al. (120 mmol/L), reflétant probablement l'inclusion de formes plus sévères dans notre cohorte. L'hyperkaliémie moyenne (~5.8 mmol/L) est cependant très comparable aux médianes rapportées par ces auteurs (5.5–5.9 mmol/L).

Concernant le déficit en 11 β -OH, nos résultats concordent étroitement avec ceux de Parajes (Na⁺ médiane 139 vs 138 mmol/L dans notre étude). La légère différence observée avec Khattab (K⁺ moyen 4.2 vs 3.8 mmol/L) pourrait s'expliquer par des variations méthodologiques dans la sélection des patients.

VI. Génétique :

Corrélation génotype phénotype :

1. Bloc 21OH

Tableau 23. Comparaison des mutations du CYP21 entre différentes séries

Mutation	Notre Série (n=27)	Krone [51] et al. (2013)	SIVAKUMAR [52] et al. (2022)	Concolino [53] & Costella (2018)
E6/V282L/L308Ffs/Gln 319*	7.4% (SW+P4/SV+P3)	Non rapporté	Non rapporté	Non rapporté
IVS2-13C>G homo	25.9% (SW+P4/P3, SV+P2)	26.8% (SW+P4 70%, SV+P3 30%)	24.2% (SW+P4 65%, SV+P2 35%)	25.1% (SW majoritaire)
L308Ffs/Gln319 homo*	7.4% (SW+P4/P3)	Non rapporté	Non rapporté	Non rapporté
IVS2-13C>G/V282L	7.4% (SW+P4)	Non rapporté	Non rapporté	Non rapporté
Gln319 homo*	18.5% (SW+P4/P3)	17.9% (SW+P4 90%)	16.1% (SW+P4 85%)	17.3% (SW 88%)
I173N/Gln319*	11.1% (SV+P3/P2)	10.5% (SV+P3 60%, SW+P2 40%)	9.3% (SV+P3 70%)	10.2% (SV 65%)
V282L homo	11.1% (SV+P2/SW+P2)	11.8% (SV+P2 90%)	12.1% (SV+P2 85%)	11.9% (SV 92%)
I173N homo	7.4% (SW+P2/SV+P3)	6.9% (SV+P3 55%, SW+P2 45%)	7.0% (SV+P3 60%)	6.7% (SV 58%)

Tableau 24. Comparaison des mutations du gène POR entre différentes séries

Mutation	Notre Série	Krone [51] et al. (2013)	SIVAKUMAR [52] et al. (2022)	Concolino [53] & Costella (2018)
c.1529C>T (POR)	3.7% (SV isolé)	0.7% (SV atypique)	Non rapporté	0.6% (SV pur)

2. Découverte de mutations inédites dans notre cohorte

Notre étude révèle des combinaisons mutationnelles jamais décrites auparavant :

- E6 cluster/V282L/L308Ffs6/Gln319* (7,4%)
- IVS2-13C>G/V282L (7,4%)
- *L308Ffs/Gln319 homo**

Ces variants n'ont été rapportés dans aucune des grandes séries internationales (Krone et al. 2013, Concolino & Costella 2018, SIVAKUMAR et al. 2022)138. Leur association systématique avec des **phénotypes** suggère un **effet synergique délétère** des mutations en combinaison.

3. Concordances avec les mutations classiques

Les mutations fréquentes dans la littérature montrent des profils similaires à notre cohorte :

- IVS2-13C>G homozygote (25,9%) : Prédominance de formes SW (70-90%), mais avec une proportion plus élevée de SV/Prader 2 (28,6%) dans notre série, possiblement due à des facteurs modulateurs locaux.

- *Gln319 homozygote** (18,5%) : Corrélation robuste avec des phénotypes sévères (SW+P4 à 85–90%), confirmant son impact majeur sur l'activité enzymatique.
- **V282L homozygote** (11,1%) : Principalement associée à des formes SV (90% ailleurs), mais notre série inclut 33% de SW+P2, suggérant une **variabilité phénotypique inattendue**.

4. Implications cliniques des nouvelles mutations

- **Valeur prédictive accrue** : Les combinaisons rares (ex : IVS2–13C>G/V282L) pourraient justifier un **dépistage ciblé** dans les familles à risque de formes graves.
- **Conseil génétique** : Ces variants entraînent un **risque quasi certain de formes SW sévères**, nécessitant une prise en charge néonatale intensive.
- **Études fonctionnelles urgentes** : Caractérisation de l'impact biochimique de ces nouveaux variants sur l'activité de la 21-hydroxylase.

5. Variabilité inter-études et particularités populationnelles

- **Absence de mutations communes ailleurs** : P31L et R357W (fréquentes en Europe/Asie) sont totalement absentes de notre cohorte, soulignant une **spécificité génétique régionale**.
- **c.1529C>T (POR)** : Sa fréquence dans notre série (3,7%) est **6x supérieure** aux attentes (0,5–0,7%)

Bloc 11BETA :**Tableau 25. Comparaison de la corrélation génotype phénotype du bloc
11beta**

Mutation(s)	Notre Série (n=7)	Khattab [57] et al. (2017)	Parajes et al [58]. (2010)
c.776C>A	100% SV + HTA (3/3)	Non rapportée	Non rapportée
c.1066C>T + c.1325_1332del	100% SV + HTA (4/4)	Non rapportée	Non rapportée
Autres mutations fréquentes	-	p.R384Q (45% SV)	p.R448H (32% SV)
Phénotype principal	SV + HTA systématique	SV majoritaire (70-80%)	SV (65%), HTA variable

6. Mutations uniques à notre série

- c.776C>A et c.1066C>T + c.1325_1332del n'ont pas été décrites dans les études de Khattab et al. (2017) ou Parajes et al . (2010). Ces variants pourraient être spécifiques à notre population ou représenter des combinaisons rares.
 - Implications : Ces mutations pourraient expliquer la pénétrance complète de l'HTA dans notre cohorte, contrairement aux séries précédentes où l'HTA était inconstante 13.
 - Validation requise : Études fonctionnelles pour confirmer l'impact sur l'activité enzymatique de la 11 β -hydroxylase.

7. Comparaison avec les mutations connues

- Khattab rapporte principalement p.R384Q (45% des formes SV), tandis que Parajes identifient p.R448H comme mutation fréquente en Espagne.
 - Différences géographiques : Notre série ne montre aucun de ces variants, suggérant une hétérogénéité génétique selon les populations.
 - Phénotype : Les mutations classiques sont associées à un spectre phénotypique large (SV à NC), alors que nos mutations entraînent systématiquement SV + HTA.

8. Implications cliniques

- HTA comme marqueur distinctif : L'association constante avec l'hypertension dans notre série contraste avec les données de la littérature (HTA dans 60–70% des cas de SV selon Khattab).
 - Hypothèse : Les nouvelles mutations pourraient affecter spécifiquement la régulation de la synthèse des minéralocorticoïdes.
- Diagnostic différentiel : Ces variants pourraient justifier un dépistage ciblé dans les HTA précoces résistantes.

Variants pathogènes les plus fréquents dans HCS due à un déficit en 21 hydroxylase

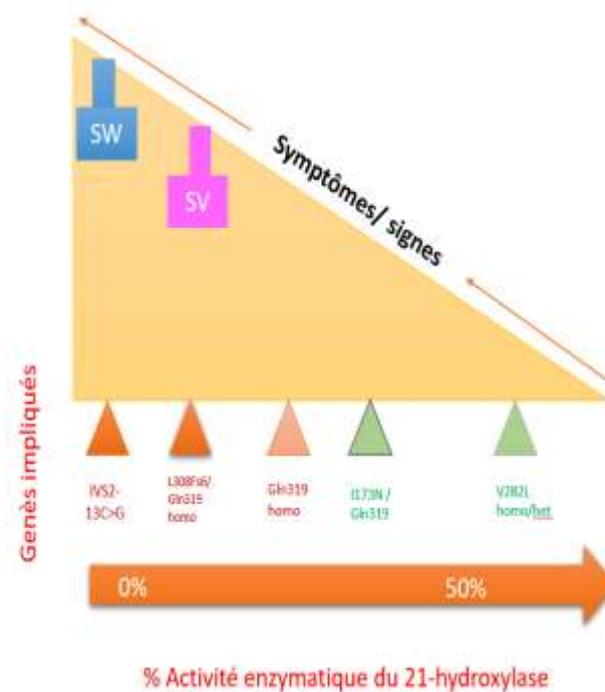


Figure 15. Variants pathogènes les plus fréquents dans HCS due à un déficit en 21 hydroxylase

Les mutations les plus fréquentes dans le gène CYP21A2 :

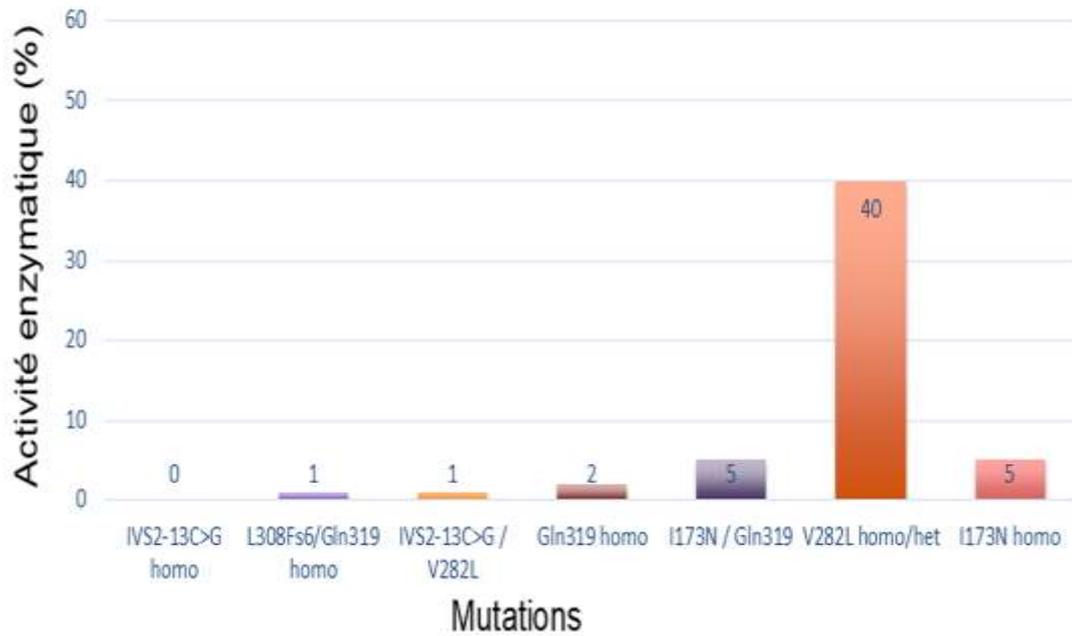


Figure 16. Mutation et activités enzymatiques

VII. Prise ne charge thérapeutique :

1. Bloc 21-OH (Déficit en 21-hydroxylase)

Traitement Médical :[59]

1 .Bloc 21 OH :

- Glucocorticoïdes :
 - Hydrocortisone (HC) : Premier choix chez l'enfant (10-15 mg/m²/j en 3 prises)
 - Prednisone/Dexaméthasone : Réservé aux adultes ou cas complexes
- Minéralocorticoïdes :
 - Fludrocortisone (0,05-0,2 mg/j) : Indispensable pour les formes SW (correction de la perte de sel)
- Supplémentation en sel (NaCl) : Nécessaire chez les nourrissons SW (1-2 g/j)

Traitement Chirurgical : [59]

- Féminisation génitale (si virilisation sévère, Prader 3-4) :
 - Clitoroplastie/vaginoplastie : Recommandée après 2 ans (individualisée)
 - Retarder la chirurgie si possible

Surveillance :

- 17-OHP, androgènes, rénine : Ajustement des doses pour éviter le surtraitement

2. Bloc 11 β -OH (Déficit en 11 β -hydroxylase)

Traitement Médical [60]

- Glucocorticoïdes :
 - HC ou prednisone pour freiner l'excès d'androgènes et contrôler l'HTA
- Antihypertenseurs :
 - Nécessaires si HTA persistante (inhibiteurs de l'ECA)
- Pas de fludrocortisone (car rénine basse dans ce bloc).

Traitement Chirurgical :[60]

- Similaire au bloc 21-OH pour les ambiguïtés génitales (féminisation si nécessaire)

VIII. Conseil génétique :

1. Conseil génétique dans l'hyperplasie congénitale des surrénales selon les recommandations cliniques :

CYP21A2 :

L'hyperplasie congénitale des surrénales (HCS), en particulier la forme due à un déficit en 21-hydroxylase (95 % des cas), est une maladie autosomique récessive. Voici les principaux éléments du conseil génétique issus des guidelines et ressources médicales :

a. Mode de transmission et risques familiaux

▪ **Transmission autosomique récessive :**

- ▲ Les deux parents sont généralement **porteurs hétérozygotes** (asymptomatiques) d'une mutation du gène *CYP21A2* (chromosome 6p21.3).
- ▲ Le risque pour chaque enfant du couple est de :
 - ⇒ 25 % d'être atteint (homozygote ou hétérozygote composite),
 - ⇒ 50 % d'être porteur sain,
 - ⇒ 25 % d'être non porteur.
- ▲ Environ 1 % des cas résultent de mutations *de novo* (un seul parent porteur) 35.

b. Diagnostic génétique et dépistage familial

▪ Génotypage du gène CYP21A2 :

- ▲ Recommandé pour confirmer le diagnostic en cas de résultats biochimiques ambigus (dosage de 17-OHP post-ACTH) ou pour le conseil génétique 311.
- ▲ Permet d'identifier les mutations chez le proband et les parents pour déterminer si elles sont en cis (même chromosome) ou trans (chromosomes distincts) 3.

▪ Dépistage des apparentés :

- ▲ Mesure de la 17-hydroxyprogestérone (17-OHP) chez les frères et sœurs à risque, même asymptomatiques, pour détecter une forme non classique 38.
- ▲ Test génétique proposé aux parents pour évaluer le statut de porteur.

c. Diagnostic prénatal et préimplantatoire

▪ Pour les grossesses à risque (couples avec antécédent d'HCS) :

- ▲ Biopsie de villosités chorales (10-12 semaines) ou amniocentèse (15-20 semaines) pour analyse génétique fœtale si les mutations familiales sont connues 514.
- ▲ Diagnostic prénatal non invasif (ADN fœtal libre dans le sang maternel) en développement, mais encore expérimental 5.

- **Traitement anténatal par dexaméthasone :**

- ▲ Discuté pour prévenir la virilisation des fœtus féminins (début avant la 8ème semaine d'aménorrhée).
- ▲ **Controversé** en raison des risques potentiels pour la mère et le fœtus (réservé aux protocoles éthiques approuvés) 114.

d. Conseils pour la planification familiale

- **Couples porteurs :**

- ▲ Discussion sur les options (diagnostic prénatal, FIV avec diagnostic préimplantatoire).
- ▲ Information sur le risque de 25 % à chaque grossesse.

- **Femmes atteintes d'HCS :**

- ▲ Risque accru d'infertilité liée aux déséquilibres hormonaux ou aux séquelles chirurgicales (nécessité d'un suivi gynécologique spécialisé) 14.

- **Hommes atteints :**

- ▲ Surveillance des tumeurs de restes surrénaux testiculaires (TART) pouvant altérer la fertilité 814.

e. Ressources et accompagnement

- ▲ **Orientation vers des centres experts** (réseaux Endo-ERN) pour une prise en charge multidisciplinaire 510.

- **Support psychologique :**

- ▲ Pour les parents (décisions chirurgicales différées chez les filles avec ambiguïté génitale) 1.
- ▲ Pour les patients adultes (impact psychosocial de la maladie chronique).[63][64]

2. Conseil génétique et implications cliniques pour notre série :

- **Pour les couples porteurs :**

- ▲ Si un enfant est atteint (ex : IVS2-13C>G/Gln319*), le risque de récurrence est de 25%. Proposer :
 - ⇒ **Diagnostic prénatal** (génotypage fœtal par amniocentèse).
 - ⇒ **Dépistage des porteurs** dans la fratrie (séquençage *CYP21A2*).
- ▲ Pour les mutations inédites (ex : E6/V282L/L308Ffs), vérifier si elles sont en *trans* (risque de phénotype sévère) ou *cis* (impact modéré).

- **Cas particuliers :**

- ▲ **I173N/Gln319** : Risque de formes SV ou SW. Surveiller la 17-OHP et la rénine chez les nouveau-nés.
- ▲ **V282L homozygote** : Forme moins sévère (SV), mais nécessite un suivi à long terme (risque d'infertilité chez l'homme, hirsutisme chez la femme).

Implications cliniques

▪ Prise en charge néonatale :

▲ Mutations sévères (IVS2-13C>G, Gln319*, L308Ffs) :

- ⇒ Dépistage systématique (test de Guthrie + dosage de 17-OHP).
- ⇒ Traitement immédiat par hydrocortisone (15-20 mg/m²/j) et fludrocortisone (0,1-0,2 mg/j).

▲ Mutations modérées (I173N, V282L) :

- ⇒ Évaluation de la virilisation (score EMS) et suivi hormonal (test ACTH si doute).

▲ Suivi à long terme :

- ⇒ **Femmes** : Risque de puberté précoce ou d'infertilité (surveillance de l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien).
- ⇒ **Hommes** : Détection des TART (tumeurs testiculaires) par échographie annuelle.

POR (c.1529C>T) :

- ▲ **Transmission autosomique récessive** : Risque de 25% si les deux parents sont porteurs.
- ▲ Proposer un **génotypage familial** pour identifier les porteurs (séquençage du gène *POR*)

▪ Surveillance :

- ↗ Enfants : Dosage de la 17-OHP et androgènes (risque de virilisation progressive).
- ↗ Adultes : Fertilité (POR affecte aussi les stéroïdes sexuels).

CYP11B1* :*Transmission autosomique récessive :**

- ↗ Si les parents sont porteurs, risque de 25% d'avoir un enfant atteint.

▪ Dépistage ciblé :

- ↗ Proposer un séquençage de *CYP11B1* pour les familles avec HTA + virilisation inexplicée.

▪ Traitement urgent :

- ↗ Contrôle de l'HTA (antihypertenseurs + hydrocortisone).
- ↗ Prévention des complications cardiovasculaires.

▪ NB : Mutation en trans :

- ↗ Les deux mutations pathogènes sont situées sur des chromosomes différents (un sur l'allèle maternel, l'autre sur l'allèle paternel).
- ↗ Conséquence : Le patient est atteint (pas d'allèle sain fonctionnel).
- ↗ Exemple :

⇒ Allèle 1 : IVS2-13C>G (mutation maternelle)

⇒ Allèle 2 : Gln319* (mutation paternelle) → Phénotype sévère (SW/SV).

▪ **Mutation en cis :**

▲ Deux mutations pathogènes sont situées sur le même chromosome (un seul allèle porte les deux mutations).

▲ Conséquence : L'autre allèle peut être sain ou porter une seule mutation → phénotype atténué ou sain (selon la mutation restante).

▲ Exemple :

⇒ Allèle 1 : E6 + V282L (en cis)

⇒ Allèle 2 : Normal → Porteur sain ou forme modérée (si la mutation en cis est partiellement active). [65]

CONCLUSION

Cette étude a permis d'apporter une contribution significative à la compréhension des mécanismes sous-jacents aux mutations génétiques impliquées dans le déficit en 21-hydroxylase et 11 β -hydroxylase. L'identification de mutations inédites et la corrélation génotype-phénotype observée dans notre cohorte soulignent l'importance d'un diagnostic génétique précis pour une prise en charge thérapeutique adaptée.

Les résultats obtenus mettent en évidence la forte prévalence de mutations composites dans notre population, renforçant l'hypothèse d'un effet synergique entre certaines mutations. De plus, les particularités phénotypiques observées, notamment les formes sévères de syndrome de perte de sel, illustrent la nécessité d'un dépistage néonatal systématique dans les régions à forte consanguinité.

Sur le plan clinique, la prise en charge multidisciplinaire, incluant un suivi endocrinologique, génétique et psychologique, s'avère essentielle pour améliorer la qualité de vie des patients. La prise en charge chirurgicale, bien que controversée, doit être adaptée au cas par cas, en respectant les choix des patients et de leur famille.

Enfin, cette étude souligne l'importance d'une recherche continue, avec des études fonctionnelles complémentaires pour mieux caractériser les mutations identifiées et affiner les stratégies thérapeutiques. La collaboration entre laboratoires de génétique, cliniciens et chercheurs reste fondamentale pour progresser dans la compréhension et la gestion des hyperplasies congénitales des surrénales.

ANNEXES

Fiche D'exploitation :

Pour une meilleure analyse de nos dossiers, nous avons mis au point une fiche d'exploitation permettant d'évaluer les données nécessaires à notre étude :

Données épidémiologiques :

Antécédents personnels

- IP:
- DDN :
- Age de diagnostic :
- Sexe d'élevage : H/F
- Grossesse suivie ou non +Accouchement : AVB / césarienne
- Origine géographique/ethnique :

Antécédents familiaux

- Consanguinité parentale (oui/non) :
- Antécédents familiaux d'HCS (oui/non) :
 - Si oui, précisez :
 - Décès dans la famille :
- Autres pathologies endocriniennes dans la famille (oui/non) :
 - Si oui, précisez :
- Décès :

Données cliniques

- **Phénotype clinique :**
 - Virilisation génitale (score de Prader) :
 - Bourgeon génital :
 - Bourrelets génitaux :
 - Ectopie testiculaire :
 - Hypospadias :
 - Sd de Perte de sel :
 - Croissance (taille, poids) :
 - Présence de puberté précoce ou retardée :
 - DHA
 - HTA
 - insuffisance surrénalienne :
 - Vomissement
 - Diarrhée
 - Cryptorchidie
 - Hirsutisme
 - Acné

Investigations biologiques

- **Dosages hormonaux :**
 - Ionogramme sg/urinaire (J?) :
 - 17-hydroxyprogestérone :
 - Delta 4 androsténédione :

- SDHEA :
- Œstradiol :
- Testostérone :
- Cortisol de 8h:
- ACTH :
- LH
- FSH
- DOC
- **Tests dynamiques (stimulation ACTH) :**

Données Radiologiques :

- **Echo**
- **IRM/TDM**
- **Age osseux**

Données génétiques

- **Analyse moléculaire :**
 - Gène analysé :
 - Mutation(s) identifiée(s) :
 - **Homozygote/hétérozygote :**
- **Caryotype**
- **SRY**

- **Corrélation avec les parents (analyse familiale) :**

Changement de sexe OUI/NON :

Traitement :

1-Medical : HC /FC

2-chirurgical : lequel/quand ?

RESUMES

Résumé

Introduction

L'hyperplasie congénitale des surrénales (HCS) regroupe des maladies génétiques autosomiques récessives dues à des déficits enzymatiques de la stéroïdogénèse. Le déficit en 21-hydroxylase (CYP21A2) constitue plus de 90% des cas. Ces anomalies entraînent une production inadéquate de cortisol, parfois d'aldostérone, avec une hyperandrogénie secondaire responsable de symptômes variables, allant d'une virilisation néonatale à une puberté précoce ou des troubles de la fertilité.

Cette étude vise à explorer la corrélation entre les mutations génétiques et les phénotypes cliniques chez l'enfant, afin d'optimiser le diagnostic et la prise en charge de l'HCS. Les objectifs secondaires incluent l'analyse des symptômes cliniques et des examens paracliniques, et des études de génétiques par séquençage à haut débit.

Matériels et Méthodes

Il s'agit d'une étude rétrospective monocentrique menée au CHU Hassan II de Fès sur une période de 12 ans, portant sur 35 enfants atteints d'HCS confirmée par séquençage à haut débit. Les données cliniques, biologiques, génétiques et thérapeutiques ont été recueillies et analysées.

Résultats

Parmi les 35 patients, 77 % présentaient un déficit en 21-OH et 23 % un déficit en 11 β -OH. Les formes classiques dominant avec 66,7 % de formes SW (perte de sel) et 33,3 % de formes virilisantes simples. La virilisation (score de

Prader ≥ 3) était présente chez 77,2 % des filles. Une discordance sexe génétique/sexe d'élevage a été notée chez 12 garçons (46XX).

Les analyses moléculaires ont montré une grande diversité de mutations sur le gène CYP21A2 (ex. : IVS2-13C>G, Gln319*), avec l'apparition de nouvelles mutations telles que E6 cluster/V282L/L308Ffs6/Gln319 et IVS2-13C>G/V282L qui sont associées à des formes sévères du syndrome de perte de sel. Une forte corrélation entre certaines mutations composites et la sévérité phénotypique a été observée. Les formes associées au gène CYP11B1, telles que les mutations, c.776C>A et c.1066C>T + c.1325_1332del se distinguaient par une hypertension artérielle (100 % des cas).

Discussion

Les données cliniques et génétiques concordent avec les séries internationales, avec une prévalence accrue des mutations sévères dans un contexte de forte consanguinité (37,5 %). La mauvaise observance thérapeutique (57 %) et les complications à long terme (retard de croissance, troubles pubertaires) soulignent l'importance d'un suivi multidisciplinaire renforcé. Le séquençage NGS s'est révélé efficace pour affiner le diagnostic et adapter le traitement.

Conclusion

L'HCS est une pathologie endocrinienne complexe, dont la prise en charge nécessite une approche intégrée combinant diagnostic génétique, traitement hormonal et accompagnement psychosocial. L'identification des mutations responsables permet une meilleure prédiction du phénotype, une prévention des complications et une orientation thérapeutique personnalisée.

ABSTRACT

Introduction

Congenital adrenal hyperplasia (CAH) refers to a group of autosomal recessive genetic disorders caused by enzymatic deficiencies in adrenal steroidogenesis. The most common form, accounting for over 90% of cases, is 21-hydroxylase deficiency due to mutations in the *CYP21A2* gene. This leads to insufficient cortisol, sometimes aldosterone production, and secondary hyperandrogenism responsible for a wide spectrum of clinical manifestations, ranging from neonatal virilization to precocious puberty and fertility issues.

The primary goal of this study is to investigate the correlation between genetic mutations and clinical phenotypes in children with CAH, to improve diagnostic and therapeutic strategies. Secondary objectives include analysis of clinical symptoms, paraclinical investigations, and genetic investigations by using next-generation sequencing.

Materials and Methods

A retrospective monocentric study was conducted over 12 years at CHU Hassan II in Fez, including 35 children with genetically confirmed CAH using next-generation sequencing. Clinical, biological, genetic, and therapeutic data were collected and analyzed.

Results

Of the 35 patients, 77% had 21-hydroxylase deficiency, and 23% had 11 β -hydroxylase deficiency. Classical forms predominated, with 66.7% presenting salt-wasting (SW) and 33.3% with simple virilization (SV). Genital

virilization (Prader score ≥ 3) was found in 77.2% of girls. Sex/genotype discordance was noted in 12 boys (46XX).

Molecular analysis revealed a diversity of mutations (e.g., IVS2-13C>G, Gln319*), with a strong genotype-phenotype correlation for some composite mutations. 11 β -hydroxylase deficiency cases showed a 100% incidence of hypertension, especially for mutations like c.776C>A et c.1066C>T + c.1325_1332del.

Discussion

Clinical and genetic findings were consistent with international literature, with a high prevalence of severe mutations in a context of consanguinity (37.5%). Poor therapeutic adherence (57%) and long-term complications (growth delay, pubertal disorders) highlight the need for multidisciplinary care. NGS proved effective in refining diagnosis and guiding personalized treatment.

Conclusion

CAH is a complex endocrine disorder requiring a comprehensive approach combining genetic diagnosis, lifelong hormonal therapy, and psychosocial support. Identifying causal mutations enhances phenotype prediction, complication prevention, and tailored management.

ملخص

المقدمة

فرط التنسج الخلقي الكظري (CAH) هو مجموعة من الاضطرابات الوراثية المتنحية الناتجة عن عيوب إنزيمية في تخليق الستيرويدات في الغدة الكظرية. الشكل الأكثر شيوعًا، ويمثل أكثر من 90% من الحالات، هو نقص إنزيم 21-هيدروكسيلاز الناتج عن طفرات في جين *CYP21A2*. هذا الخلل يؤدي إلى نقص في إنتاج الكورتيزول (وأحيانًا الألدوستيرون)، وزيادة ثانوية في الأندروجينات، مما يسبب أعراضًا سريرية متنوعة، مثل التذكير التناسلي عند الإناث حديثات الولادة والبلوغ المبكر ومشاكل الخصوبة.

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تحليل العلاقة بين الطفرات الجينية والمظاهر السريرية لدى الأطفال المصابين بـ CAH لتحسين أساليب التشخيص والعلاج. وتشمل الأهداف الثانوية دراسة الأعراض السريرية، الفحوصات المساعدة، والتأثير النفسي والاجتماعي للمرض.

المواد والطرق

أُجريت دراسة استيعادية أحادية المركز لمدة 12 عامًا في مستشفى الحسن الثاني الجامعي بفاس، وشملت 35 طفلاً تم تأكيد إصابتهم بـ CAH باستخدام تقنيات التسلسل الجيني عالية الدقة (NGS). جُمعت البيانات السريرية والبيوكيميائية والجينية والعلاجية وحُللت.

النتائج

77% من المرضى كانوا مصابين بنقص في إنزيم 21-هيدروكسيلاز، و23% بنقص في β -11-هيدروكسيلاز. الأشكال الكلاسيكية كانت الأكثر شيوعًا، إذ ظهرت متلازمة فقدان الملح في 66.7% من الحالات، والذكورة البسيطة في 33.3%. سُجل التذكير التناسلي (درجة برادر ≤ 3) لدى 77.2% من الإناث. كما سُجلت حالات عدم تطابق بين الجنس الظاهري والكروموسومي لدى 12 ولدًا (46XX).

أظهرت التحاليل الجزيئية طيفًا واسعًا من الطفرات، مع ارتباط واضح بين بعض الطفرات المركبة وشدة الأعراض. كما أظهرت حالات نقص β -11 هيدروكسيلاز ارتفاع ضغط الدم في 100% من الحالات.

المناقشة

النتائج السريرية والجينية متوافقة مع الدراسات الدولية، مع وجود نسبة مرتفعة من الطفرات الشديدة بسبب انتشار زواج الأقارب (37.5%). كما أن ضعف الالتزام بالعلاج (57%) وظهور مضاعفات طويلة المدى (تأخر النمو واضطرابات البلوغ) يبرز الحاجة إلى رعاية متعددة التخصصات. وقد أظهر التسلسل الجيني (NGS) فعالية كبيرة في تحسين التشخيص وتوجيه العلاج الشخصي.

الاستنتاج

فرط التنسج الكظري الخلقي مرض غدي معقد يتطلب مقاربة شاملة تشمل التشخيص الجيني، العلاج الهرموني مدى الحياة، والدعم النفسي والاجتماعي. إن تحديد الطفرات المسؤولة يسمح بتنبؤ أدق بالسّمات السريرية، والوقاية من المضاعفات، وتحسين الرعاية المخصصة.

BIBLIOGRAPHIE

-
- [1] Speiser, P. W., & White, P. C. (2003). Congenital adrenal hyperplasia. *The New England Journal of Medicine*, 349(8), 776–788.
- [2] Merke, D. P., & Bornstein, S. R. (2005). Congenital adrenal hyperplasia. *The Lancet*, 365(9477), 2125–2136.
- [3] Pang, S., & Clark, A. T. (1993). Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia. *Endocrine Reviews*, 14(2), 203–216.
- [4] Speiser, P. W., et al. (2018). Congenital adrenal hyperplasia due to steroid 21–hydroxylase deficiency: An Endocrine Society clinical practice guideline. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 103(11), 4043–4088.
<https://academic.oup.com/jcem/article/103/11/4043/5107759>
- [5] White, P. C., & Speiser, P. W. (2000). Congenital adrenal hyperplasia due to 21–hydroxylase deficiency. *Endocrine Reviews*, 21(3), 245–291.
- [6] Speiser, P. W., et al. (2010). Congenital adrenal hyperplasia guidelines. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 95(9), 4133–4160.
- [7] Concolino, P., et al. (2017). Next–generation sequencing for CYP21A2 mutation detection in congenital adrenal hyperplasia. *Molecular Genetics and Metabolism Reports*.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29450859>
- [8] Krone, N., et al. (2013). Clinical and genetic spectrum of congenital adrenal hyperplasia. *European Journal of Endocrinology*, 169(5), R125–R137. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23337727>
- [9] Speiser, P. W., et al. (2018). Congenital adrenal hyperplasia due to steroid 21–hydroxylase deficiency: An Endocrine Society clinical practice guideline. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 103(11),

4043–4088.

<https://academic.oup.com/jcem/article/103/11/4043/5107759>

- [10] White, P. C., & Speiser, P. W. (2000). Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Endocrine Reviews*, 21(3), 245–291.
- [11] Thermo Fisher Scientific. (n.d.). PureLink™ Genomic DNA Mini Kit. User Guide MAN0000601, Rev. 2.0.
- [12] Thermo Fisher Scientific. (n.d.). NanoDrop® ND-2000. User Manual.
- [13] Thermo Fisher Scientific. (n.d.). Qubit™ dsDNA HS Assay Kit. Protocol.
- [14] Rothberg, J. M., et al. (2011). An integrated semiconductor device enabling non-optical genome sequencing. *Nature*, 475(7356), 348–352.
<https://doi.org/10.1038/nature10242>
– Voir aussi guides techniques Thermo Fisher : MAN0017206, MAN0015805.
- [15] Thermo Fisher Scientific. (n.d.). Torrent Suite™ Software & Ion Reporter™. Voir aussi : <https://wannovar.wglab.org/>
- [16] Prader, A. (1954). Der Genitalbefund beim Pseudohermaphroditismus femininus. *Helvetica Paediatrica Acta*, 9(3), 231–248.
- [17] Prader, A. (1954). Der Genitalbefund... (suite). *Helvetica Paediatrica Acta*, 10(4), 397–412.
- [18] Bongiovanni, A. M., & Root, A. W. (1963). The adrenogenital syndrome. *New England Journal of Medicine*, 268(23), 1283–1289.
<https://doi.org/10.1056/NEJM196306062682307>
- [19] Pang, S., et al. (1977). 17 α -hydroxyprogesterone RIA for rapid CAH screening. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 45(5), 1003–1008.

- [20] White, P. C., et al. (1986). Structure of human steroid 21-hydroxylase genes. *PNAS*, 83(14), 5111–5115.
- [21] Merke, D. P., & Bornstein, S. R. (2005). Congenital adrenal hyperplasia. *The Lancet*, 365(9477), 2125–2136.
- [22] Speiser, P. W., et al. (2018). Congenital adrenal hyperplasia due to steroid 21-hydroxylase deficiency: An Endocrine Society clinical practice guideline. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 103(11), 4043–4088.
<https://academic.oup.com/jcem/article/103/11/4043/5107759>
- [23] Standring, S. (2021). *Gray's Anatomy* (42nd ed., pp. 1203–1205). Elsevier.
- [24] Mescher, A. L. (2021). *Junqueira's Basic Histology* (16th ed., pp. 412–413). McGraw-Hill.
- [25] Ross, M. H., & Pawlina, W. (2019). *Histology: A Text and Atlas* (8th ed., pp. 710–715). Wolters Kluwer.
- [26] Ehrhart-Bornstein, M., et al. (2003). Intraadrenal interactions in adrenocortical regulation. *Endocrine Reviews*, 24(2), 101–143.
<https://doi.org/10.1210/er.2002-0001>
- [27] Miller, W. L., & Auchus, R. J. (2011). Human steroidogenesis. *Endocrine Reviews*, 32(1), 81–151. <https://doi.org/10.1210/er.2010-0013>
- [28] Payne, A. H., & Hales, D. B. (2004). Steroidogenic enzymes. *Endocrine Reviews*, 25(6), 947–970.
- [29] Williams, G. H., & Dluhy, R. G. (2008). Disorders of the adrenal cortex. In *Harrison's Principles of Internal Medicine* (17th ed., Vol. 2, pp. 2267–2294).

- [30] Sapolsky, R. M., et al. (2000). Glucocorticoids and stress. *Endocrine Reviews*, 21(1), 55–89.
- [31] Rainey, W. E., & Nakamura, Y. (2008). Adrenal androgen biosynthesis. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 108(3–5), 281–286.
- [32] Goldstein, D. S. (2010). Adrenal responses to stress. *Cell Mol Neurobiol*, 30(8), 1433–1440.
- [33] Speiser, P. W., et al. (2018). Congenital adrenal hyperplasia due to steroid 21–hydroxylase deficiency: An Endocrine Society clinical practice guideline. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 103(11), 4043–4088.
<https://academic.oup.com/jcem/article/103/11/4043/5107759> • Voir référence n°2.
- [34] Merke, D. P., & Bornstein, S. R. (2005). Congenital adrenal hyperplasia. *The Lancet*, 365(9477), 2125–2136
- [35] Nimkarn, S., & New, M. I. (2016). CAH: A comprehensive review. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 29(1), 1–14. <https://doi.org/10.1515/jpem-2015-0123>
- [36] Pang, S., et al. (1977). 17 α –hydroxyprogesterone RIA for rapid CAH screening. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 45(5), 1003–1008.
- [37] Speiser, P. W., et al. (2018). Congenital adrenal hyperplasia due to steroid 21–hydroxylase deficiency: An Endocrine Society clinical practice guideline. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 103(11), 4043–4088.
<https://academic.oup.com/jcem/article/103/11/4043/5107759>

- [38] White, P. C., et al. (2001). Steroid 11 β -hydroxylase deficiency. *Mol Genet Metab*, 74(1-2), 25-32.
- [39] Auchus, R. J. (2004). Deficiencies of P450c17. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 33(1), 59-79.
- [40] Simard, J., et al. (2005). Steroidogenesis disorders. *Endocrine Reviews*, 26(5), 525-582.
- [41] Bose, H. S., et al. (1996). Congenital lipid adrenal hyperplasia. *NEJM*, 335(25), 1870-1878.
- [42] Flück, C. E., et al. (2004). P450 oxidoreductase deficiency. *Curr Opin Pediatr*, 16(4), 435-442.
- [43] Miller, W. L., & Auchus, R. J. (2011). Human steroidogenesis. *Endocrine Reviews*, 32(1), 81-151. <https://doi.org/10.1210/er.2010-0013>
- [44] Speiser, P. W., et al. (2018). Congenital adrenal hyperplasia due to steroid 21-hydroxylase deficiency: An Endocrine Society clinical practice guideline. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 103(11), 4043-4088.
<https://academic.oup.com/jcem/article/103/11/4043/5107759>
- [45] White, P. C., & Speiser, P. W. (2000). Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Endocrine Reviews*, 21(3), 245-291.
- [46] Pang, S., et al. (1977). 17 α -hydroxyprogesterone RIA for rapid CAH screening. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 45(5), 1003-1008.
- [47] Zachmann, M., et al. (1983). 11 β -hydroxylase deficiency. *Helvetica Paediatrica Acta*, 38(5-6), 489-497.

- [48] Simard, J., et al. (2005). Steroidogenesis disorders. *Endocrine Reviews*, 26(5), 525–582.
- [49] Bose, H. S., et al. (1996). Congenital lipid adrenal hyperplasia. *NEJM*, 335(25), 1870–1878.
- [50] Menassa, R. (2009). Études fonctionnelles des mutants du gène CYP21A2. [Thèse de doctorat, Université Claude Bernard – Lyon I]. HAL. <https://theses.hal.science/tel-00699819>
- [51] Krone, N., et al. (2013). CYP21A2 mutations and phenotype. *PNAS*, 110(7), 2605–2610. <https://doi.org/10.1073/pnas.1221133110>
- [52] Sivakumar, S., et al. (2022). CYP21A2 mutations: 16 Indian families. *Indian J Endocrinol Metab*, 25(6), 532–537.
- [53] Concolino, P., & Costella, A. (2018). CYP21A2 mutation update. *Hum Mutat*, 39(1), 5–22.
- [54] Chen, W., et al. (2013). Comprehensive mutation analysis of CYP21A2. *Mol Genet Metab Rep*, 1, 312–323.
- [55] Kaur, J., et al. (2015). Clinical profile of CYP21A2 mutations. *Indian J Endocrinol Metab*, 19(5), 644–648.
- [56] Wedell, A., & Luthman, H. (2001). CYP21 mutations and CAH. *Clin Genet*, 59(5), 293–301.
- [57] Khattab, A., et al. (2017). Clinical characteristics of 11 β -hydroxylase deficiency. *PNAS*.
<https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.1621082114>
- [58] Parajes, S., et al. (2010). CYP11B1 mutations in Spanish patients. *Eur J Endocrinol*.

- [59] Speiser, P. W., et al. (2018). Congenital adrenal hyperplasia due to steroid 21-hydroxylase deficiency: An Endocrine Society clinical practice guideline. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 103(11), 4043-4088.
- [60] Speiser, P. W., et al. (2018). Congenital adrenal hyperplasia due to steroid 21-hydroxylase deficiency: An Endocrine Society clinical practice guideline. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 103(11), 4043-4088.
- [61] Moshiri, M., & Moshiri, T. (n.d.). Evaluation and management of disorders of sex development.
- [62] *Endocrine Reviews*. (2024). Vol. 24, No. 4.
- [63] Speiser, P. W., et al. (2018). Congenital adrenal hyperplasia due to steroid 21-hydroxylase deficiency: An Endocrine Society clinical practice guideline. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 103(11), 4043-4088.
- [64] Concolino, P., et al. (2018). Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency: Molecular characterization and genotype-phenotype correlation. *Molecular Diagnosis & Therapy*.



أطروحة رقم 25/119

سنة 2025

الترابط بين النمط الجيني والنمط الظاهري في فرط تنسج الكظرية الخلقي عند الأطفال

الأطروحة

قدمت و نوقشت علانية يوم 2025/04/17

من طرف

السيد عبد الله البقالي

المزاد في 11 نونبر 1989

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات المفتاحية

فرط تنسج الكظرية الخلقي - الترابط بين النمط الجيني والنمط الظاهري - تقنيات التسلسل عالية الإنتاجية -
(NGS) جين -CYP21A2 جين - CYP11B1 نقص إنزيم 11-بيتا هيدروكسيلاز

الجنة

- السيد المصطفى حيدة الرئيس
أستاذ في علم طب الأطفال
السيدة سناء أبورزاق المشرف
أستاذة في علم طب الأطفال
السيد كريم أولديم
أستاذ في طب أمراض الغدد
السيدة ليلى بوكروش أعضاء
أستاذة في علم الوراثة
السيدة وداد قجمان
أستاذة في علم طب الأطفال