

II) Mise en place embryologique des surrénales et physiopathologie de la maladie surrénalienne du furet

1. La surrénale saine, un organe structuré et responsable de nombreuses sécrétions

Avant d'aller plus avant dans l'étude des surrénales, un petit rappel des différentes zones et sécrétions existantes des surrénales peut s'avérer nécessaire. Le Tableau 5 ci-dessous rassemble les différentes fonctions des zones du cortex surrénalien adulte humain, qui, comme nous le verrons par la suite, sont sensiblement similaires à celles du furet. La zone glomérulée, périphérique est un lieu de production de minéralocorticoïdes comme l'aldostérone, permettant une régulation du volume intravasculaire. La zone fasciculée, plus au centre produit des glucocorticoïdes comme le cortisol, permettant une homéostasie du glucose et une mobilisation des réserves énergétiques. Enfin, la zone réticulée située avant la médullo-surrénale sécrète des stéroïdes sexuels comme la DHEA et la DHEA-S. Comme nous le verrons, ces différentes productions sont soumises au cortège enzymatique cellulaire disponible.

Tableau 5: Fonction des différentes zones du cortex surrénalien adulte chez l'Homme.

	Zone glomérulée	Zone fasciculée	Zone réticulée
Localisation	Niveau extérieur	central	interne
Stimulus	Angiotensine II (ACTH)	ACTH	ACTH
Récepteur membranaire primaire	Récepteurs à l'angiotensine II	MC2R: récepteur à ACTH	MC2R
Activité enzymatique spécifique	CYPB11B2 : aldostérone synthase	CYP17: 17-hydroxylase (17-OH) et CYP11B1: 11 β -hydroxylase	CYP17: 17-OH et 17-20 lyase
Hormone produite	Minéralocorticoïdes (aldostérone)	Glucocorticoïdes (cortisol)	Stéroïdes sexuels (DHEAS)
Fonction	Régulation du volume intravasculaire	Homéostasie du glucose, mobilisation des réserves énergétiques	Adrénarchie, bien-être
Conséquences d'un déficit	Hyponatrémie, hypotension, hyperkaliémie	Hypoglycémie, pas de réponse au stress	inconnu

Tiré de: Keegan et Hammer, 2002

2. Mise en place du cortex surrénalien au cours du développement embryonnaire

Le cortex surrénalien est un composant crucial de l'axe hypothalamus-hypophyse-surrénale, qui coordonne la réponse des mammifères au stress. Les événements se produisant précocément dans la morphogénèse des surrénales n'ont été que récemment explorés en détail. Des études sur les facteurs de régulation qui guident la prolifération et la différenciation des cellules stéroïdogéniques se sont concentrées sur les anomalies humaines de mise en place de la cortico-surrénale et des analyses génétiques, moléculaires et cellulaires chez les souris. Bien qu'il existe indéniablement des différences spécifiques d'espèces dans l'organisation structurelle et fonctionnelle du cortex surrénalien des mammifères, les principes de base du développement corticosurrénalien qui régulent sa propre croissance et sa différenciation ont en commun de nombreuses caractéristiques.

Nous allons ici développer les événements importants dans le développement corticosurrénalien depuis la condensation initiale des cellules épithéliales cœlomiques dans le primordium surréno-gonadique jusqu'à la croissance et la différenciation en un cortex surrénalien comportant des zones bien différenciées (Keegan et Hammer, 2002 ; Kima et Hammer, 2007).

2.1. Observations chez l'Homme

Des observations histologiques indiquent que le cortex définitif/adulte serait issu de la migration d'une population distincte de cellules issues de l'épithélium cœlomique et/ou du mésenchyme mésonéphrique sous jacent (voir Figure 26) (Kima et Hammer, 2007).

Chez l'Homme, le développement des surrénales se fait en phases distinctes. Durant la quatrième semaine de gestation, les cellules cœlomiques épithéliales et/ou les cellules mésenchymateuses mésonéphriques sous jacentes se situent entre le pont urogénital primitif et le mésentère dorsal commencent à proliférer et à migrer depuis le mésonéphros pour former les prémices d'un tissu stéroïdogénique, le primordium surréno-gonadique (Mesiano et Jaffe, 1997, Peterson *et al.*, 2003). L'aspect caudal de cette structure, le primordium surrénalien, est organisé en ultra-structures formant des sortes de cordons, ce qui concorderait avec son potentiel stéroïdogénique.

L'étape principale de ce développement est la séparation entre le primordium gonadique et le primordium surrénalien en organes fœtaux distincts dans la huitième semaine de gestation (Kima et Hammer, 2007). Ce prémice de primordium surrénalien existant chez l'Homme est appelé la « zone surrénalienne fœtale » (cortex fœtal) et le développement d'un cortex définitif commence à se mettre en place après sa formation.

Des études ont montré que la capsule mésenchymateuse commencerait à se former autour de la portion principale de cortex fœtal sous forme de condensations diffuses de cellules peu épaisses sur toute la surface de la glande, suivie plus tard par le développement d'un cortex définitif entre la huitième et la neuvième semaine de gestation chez l'Homme (Mesiano et Jaffe, 1997 ; Kima et Hammer, 2007). La glande encapsulée ne change ensuite pratiquement pas de morphologie, jusqu'à ce qu'entre la seizième et la vingtième semaine de gestation les cellules de la zone fœtale possédant une morphologie stéroïdogénique prennent place (Kima et Hammer, 2007). Le cortex définitif ne subit pas de différenciation jusqu'à la trentième semaine de gestation où il se différencie finalement en zone fasciculée (ZF) et zone

glomérulée (ZG). Des remaniements importants du cortex surrénalien ont lieu après la naissance, via une régression du cortex fœtal par apoptose et une expansion concomitante des ZF et ZG pré-existantes.

Ce processus d'expansion de la zone définitive se fait via un turnover centripète des cellules corticales définitives externes qui subissent des mitoses (Kima et Hammer, 2007).

Sur la Figure 22, un des modèles de migration cellulaire proposé par Mesiano et Jaffe en 1997, est exposé, avec une hyperplasie de la zone définitive, une hypertrophie au niveau de la zone foetale et des apoptoses dans la zone centrale de la zone foetale. Les cellules migrent de la périphérie vers le centre de la glande.

Figure 22: Modèle de migration cellulaire selon Mesiano et Jaffe

Structure schématique de la surrénale foetale humaine en milieu de gestation et proposition de migrations cellulaires au niveau de chaque zone corticale

Ce modèle propose une hyperplasie de la zone définitive, une hypertrophie au niveau de la zone foetale et des apoptoses dans la zone centrale de la zone foetale. Les cellules migrent de la périphérie vers le centre de la glande.

Tiré de: Mesiano et Jaffe, 1997

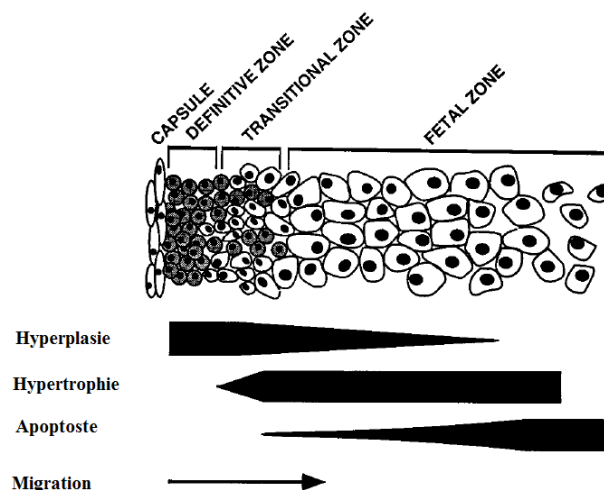
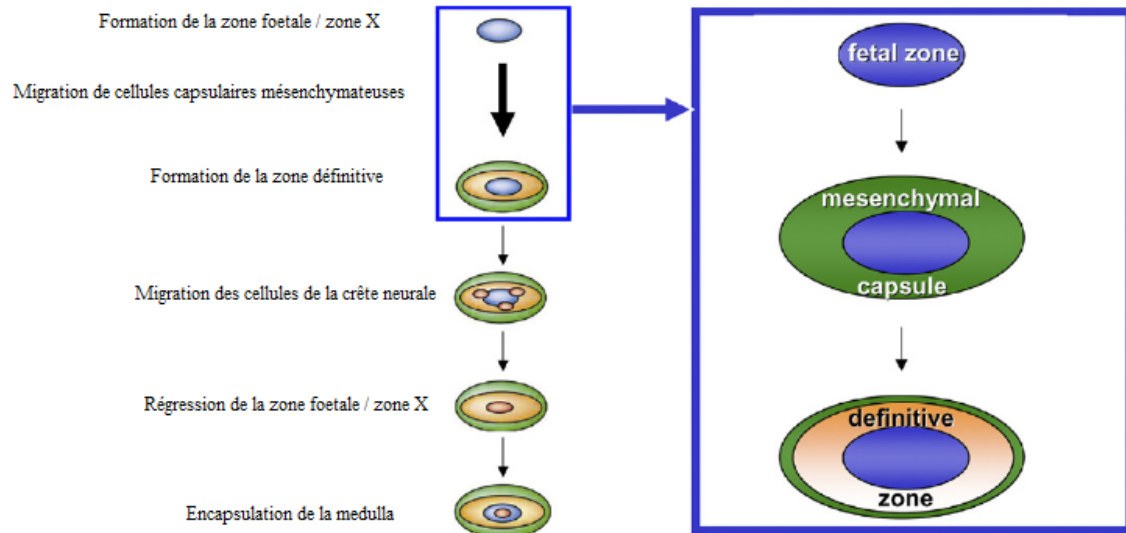


Figure 23 : Modèle d'organogénèse surrénalienne de mammifère

Ce modèle détaille la séquence de formation de la zone fœtale et de la zone définitive.

Tiré de: *Kima et Hammer, 2007*



2.2. Développement surrénalien chez la souris

Le développement surrénalien de la souris suit un processus sensiblement semblable à celui de l'Homme.

Durant la gestation de la souris, le primordium surrénalo-gonadique est issu de l'épithélium cœlomique du pont urogénital et du mésenchyme mésonephrique sous-jacent, initialement marqué par l'expression de *Sf1* (Steroidogenic factor-1) (Kima et Hammer, 2007).

On peut ensuite clairement identifier le primordium surrénalien comme une population de cellules dorsales et médiales au mésonephros et aux gonades. La glande surrénalienne se retrouve encapsulée, puis croît de façon continue grâce au développement d'une zone définitive.

La glande surrénale comprend ensuite une corticale et une médulla distinctement compartimentées. On supposait auparavant le manque d'une vraie zone fœtale, bien que la souris développe deux zones corticales distinctes lors du développement embryonnaire de ses surrénales (Kima et Hammer, 2007). Une récente étude a conduit à l'identification d'un élément permettant la mise en place de la surrénale, localisé sur le quatrième intron du gène *Sf1* (Kima et Hammer, 2007, Zubair et al., 2006). En effet, un traçage de lignée cellulaire a révélé que le cortex fœtal de la souris serait présent dans l'embryon murin en tant que partie caudale du primordium surrénalo-gonadique et serait maintenu après la naissance en tant que zone-X. Le développement de cette zone X/zone fœtale ne devient évident histologiquement que dix à quatorze jours après la naissance, ceci étant dû à un enchevêtrement initial des structures du cortex fœtal et de la médulla. Il a par ailleurs été remarqué que chez les mâles, durant la maturité sexuelle, la zone subit une régression et disparaît 38 jours après la naissance. Chez les femelles, la régression de la zone X/zone fœtale ne prend place que durant la première gestation (Kima et Hammer, 2007).

2.3. *Physio-pathogénie des néoplasies corticosurréaliennes à partir du modèle murin*

Nous allons présenter et comparer les surrénales murines, humaines et de furet et verrons que la souris constitue un modèle d'étude fiable pour expliquer la physiopathogénie des néoplasies cortico-surréaliennes.

Bien que le furet soit un animal valable pour les études expérimentales d'endocrinologie de la reproduction, son génotype n'est pas standardisé. Ce n'est donc pas un animal idéal pour les études de tumorigénèse. De plus, la latence avec laquelle les néoplasies corticosurréaliennes se mettent en place chez les furets stérilisés, avec une moyenne de plus de 3 ans, limite les études prospectives du développement tumoral dans cette espèce (Bielinska *et al.*, 2006).

Le phénomène de néoplasie corticosurréaliennne induit par gonadectomie a aussi été observé chez les souris, les rats, les cochons d'Inde et les hamsters. Parmi ces animaux, la souris est le modèle le plus utilisé de part sa génétique particulièrement bien caractérisée.

De plus, dans certaines lignées de souris consanguines ou génétiquement modifiées, les tumeurs corticosurréaliennes se développent en quelques semaines ou mois après la gonadectomie, avec une pénétrance quasi complète (Bielinska *et al.*, 2006).

Bien que des similitudes entre les furets et les souris consanguines pour les tumeurs corticosurréaliennes aient été mentionnées dans les ouvrages vétérinaires, aucune étude n'a été faite pour appliquer les études effectuées sur les souris aux furets. Bielinska met en évidence dans une de ses études (2006) les remaniements histologiques qui accompagnent les tumeurs corticosurréaliennes induites par gonadectomie chez ces deux espèces, et les corrèle avec des données récentes sur les mécanismes moléculaires de tumorigénèse déduits du modèle murin (Bielinska *et al.*, 2006).

Lors de maladie surréaliennne du furet, des examens histologiques peuvent révéler une hyperplasie nodulaire, un adénome ou un carcinome du cortex surréalien. Une hyperplasie est une augmentation de volume d'un tissu ou d'un organe due à une augmentation du nombre de ses cellules. Un adénome est une tumeur bénigne dont le développement s'opère au niveau d'une glande et qui a pour caractéristique de reproduire la structure de cette glande. Quand ils deviennent malins ils sont appelés adénocarcinomes.

Un carcinome est une tumeur développée à partir des cellules d'un épithélium.

2.4. *Structure, fonction et développement du cortex surréalien :*

Le cortex surréalien est une source majeure d'hormones stéroïdiennes synthétisées à partir de cholestérol à travers l'activité séquentielle d'une série d'enzymes cytochromes P450 (Bielinska *et al.*, 2006). Comme on peut le voir sur la Figure 27, les sécrétions surréaliennes sont différentes chez la souris et chez le furet. Ces deux espèces ont en commun la voie de production de l'aldostérone, un minéralocorticoïde jouant un rôle important dans le système rénine-angiotensine-aldostérone, impliqué notamment dans le maintien de la volémie plasmatique et de la balance Na^+/K^+ . L'aldostérone est produite au niveau de la zone glomérulée du cortex surréalien à partir du cholestérol avec la participation des enzymes P450 c21, P450 c17, P450 aldo et 3β -HSD notamment. Sa production donne lieu à la formation de produits intermédiaires comme la prégnénolone, la progestérone et la corticostérone chez les souris comme chez les furets.

Cependant, les surrénales de furets possèdent, en plus de la souris, l'enzyme P450c17, qui permet la production de 17-OH progestérone et de 17α -OH progestérone à partir de la

prégnénone et de la progestérone. La 17α -OH progestérone est ensuite transformée en cortisol au sein même de la surrénale, au niveau de la zone fasciculée. Le cortisol est le principal glucocorticoïde sécrété par le cortex surrénalien du furet, et de l'Homme, tandis que c'est la corticostérone chez la souris (Rosenthal *et al.*, 1993 b).

Figure 24 : Voies de biosynthèses normales et néoplasiques corticosurréaliennes de la souris et du furet.

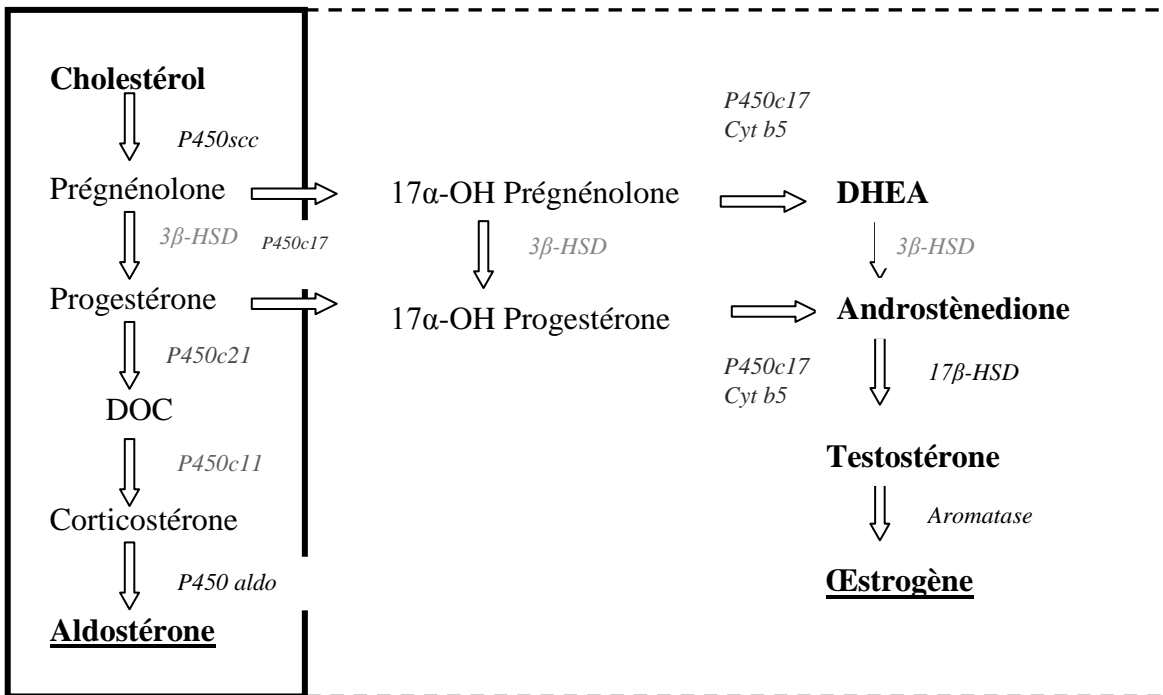
Légende:

- Traits pleins : voies de biosynthèses normales
- Traits pointillés : voies de biosynthèses néoplasiques

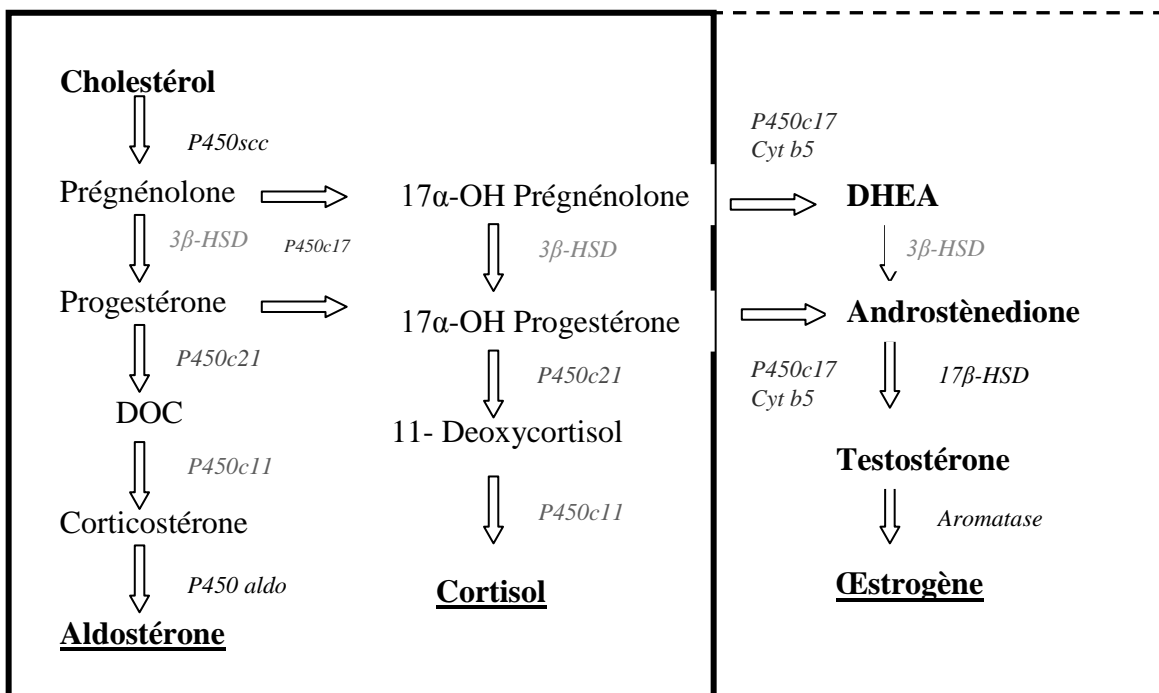
Le répertoire d'enzymes situées après le tronc commun détermine la capacité stéroïdogénique d'une cellule donnée.

Selon: Bielinska et al., 2006

Souris:



Furet:



Chez la souris adulte, les cellules surrénaliennes ne possèdent pas de cytochrome P450 17 α -hydroxylase/C17–C20 lyase (P450c17), une enzyme bi-fonctionnelle nécessaire pour la synthèse de cortisol et de stéroïde sexuel. C'est pour cette raison que la corticostérone est le principal glucocorticoïde sécrété par le cortex surrénalien de la souris et normalement aucun stéroïde androgène n'est produit dans ce tissu (voir Figure 28, Figure 29 et Tableau 5) (Bielinska *et al.*, 2006).

La zone fasciculée et la zone glomérulée ne sont pas impliquées dans la maladie surrénalienne du furet. La zone réticulée produit des œstrogènes à partir de la 17 α -OH prégnénolone et de la 17 α -OH progestérone via des enzymes comme la P450c17, la 3 β -HSD, 17 β -HSD et l'aromatase qui transforme la testostérone en œstrogène. Chez la souris la même production d'œstrogènes a lieu lors de l'équivalent de la maladie surrénalienne du furet, mais cette fois ci à partir de la prégnénolone et de la progestérone.

Tableau 6 : Anatomie comparative et physiologie des cortex surrénaliens de souris, furet et Homme

Anatomie comparative et physiologie du cortex surrénalien			
	Souris	Furet	Homme
Morphologie des zones distinctes	Zone glomérulée Zone fasciculée Zone -X	Zone glomérulée Zone intermédiaire Zone fasciculée Zone réticulée Zone juxta-médullaire	Zone glomérulée Zone fasciculée Zone réticulée Zone fœtale
P450c17 17α-hydroxylase	-	++	++
Production de glucocorticoïdes majoritaire	Corticostérone	Cortisol	Cortisol
P450c17 17,20 lyase	-	+/-	++
Production de stéroïdes androgènes	-	Minimale	++

Selon : Bielinska *et al.*, 2006

Figure 25: Surrénales de souris DBA/2J non stérilisées

Légende :

- ligne pointillée : la capsule.

On remarque que P450c11, une enzyme requise pour la synthèse de corticoïdes est exprimée dans tout le cortex

Coloration à HE à gauche, hybridation in situ de P450c11 à droite

Barre = 5,6 mm

Tiré de: Bielinska et al., 2006

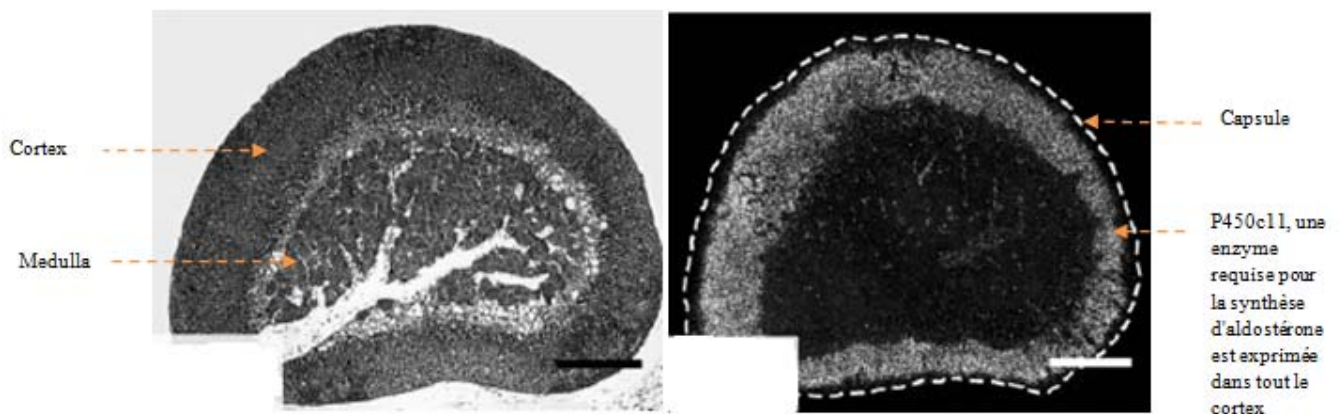


Figure 26 : Adénome surrénalien de souris DBA/2J ovariectomisée

Légende :

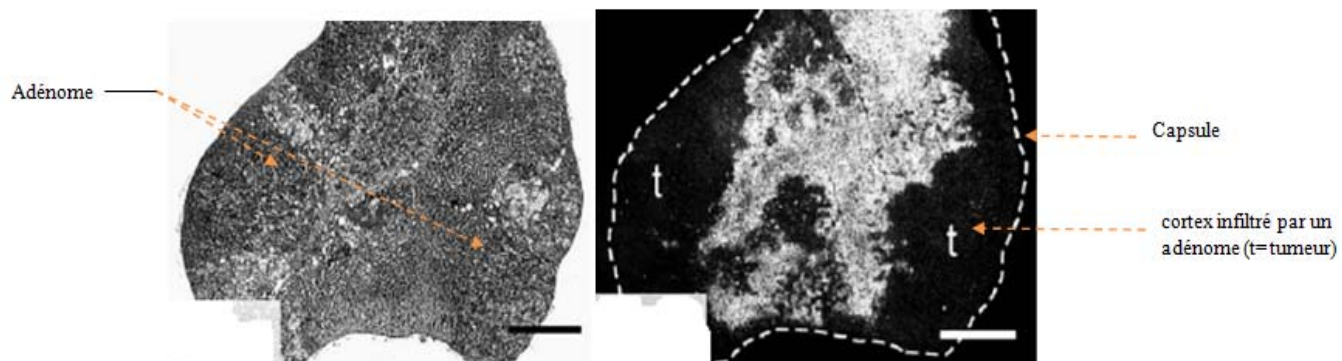
La ligne pointillée marque la capsule, le cortex est infiltré par la tumeur qui diminue ainsi la capacité de la glande à produire des corticoïdes.

À gauche coloration HE, à droite P450c11 avec hybridation in situ

T: tumeur

Tiré de: Bielinska et al., 2006

Durant le développement embryonnaire, les cellules du cortex surrénalien et des



gonades sont issues de cellules souches du pont urogénital. La différenciation du primordium surrénalo-gonadique est sous l'influence de facteurs de croissance sécrétés par le mésonephros sous-jacent. Les cellules souches corticosurréaliennes migrent médialement et rostralement, et peuvent éventuellement s'associer avec des cellules dérivées de la crête neurale qui donneront naissance à la médulla surrénalienne, tandis que les cellules destinées à devenir du stroma gonadique migrent latéralement et s'associent avec les cellules germinatives primaires (voir Figure 31 et Figure 30). Des gènes comme Wilms'tumor1 (Wt-1), Wnt4, et Sf1 interviennent dans ce développement (Bielinska *et al.*, 2006).

Le cortex surrénalien et les gonades sont des sites majeurs de production de stéroïdes. Les cellules stéroïdogéniques du cortex surrénalien et les gonades semblent provenir d'un même ensemble de cellules souches dans la crête urogénitale (Bielinska *et al.*, 2009 ; Keegan et Hammer, 2002). La différenciation, la croissance et la survie des cellules stéroïdogéniques de la surrénale sont contrôlées par diverses hormones comme l'ACTH, l'angiotensine II, l'endothéline 1, la vasopressine et l'insuline growth factor (IGF). Dans certains cas, des facteurs paracrines et endocrines traditionnellement associés avec la fonction des cellules stéroïdogéniques gonadiques peuvent influencer la différenciation, la prolifération et la fonction des cellules précurseur de la corticosurréale, comme LH, l'inhibine, et les activines (Bielinska *et al.*, 2006 ; Bielinska *et al.*, 2009 ; Romero *et al.*, 2007). Nous verrons par la suite que ces facteurs ont un intérêt dans la tumorigénèse induite par gonadectomie.

Figure 27 : Mise en place des gonades et des surrénales

La mise en place des gonades et des surrénales se fait à partir du pont uro-génital. Les gènes régulateurs clés intervenant au moment des différentes étapes de ce développement sont indiqués dans les encadrés.

Selon : Bielinska et al., 2006

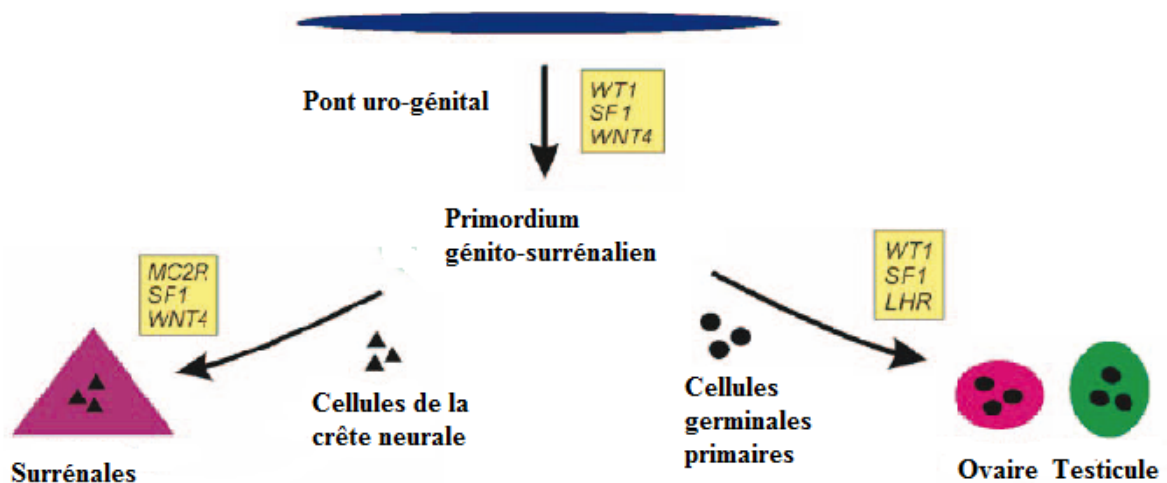


Figure 28 : Coupe histologique d'un embryon de souris DBA/2J au 13ème jour de gestation

Légende :

Les flèches désignent l'épithélium délimitant la zone cœlomique médiale.

ao = aorte dorsale

cv= veine cardinale

g= gonades

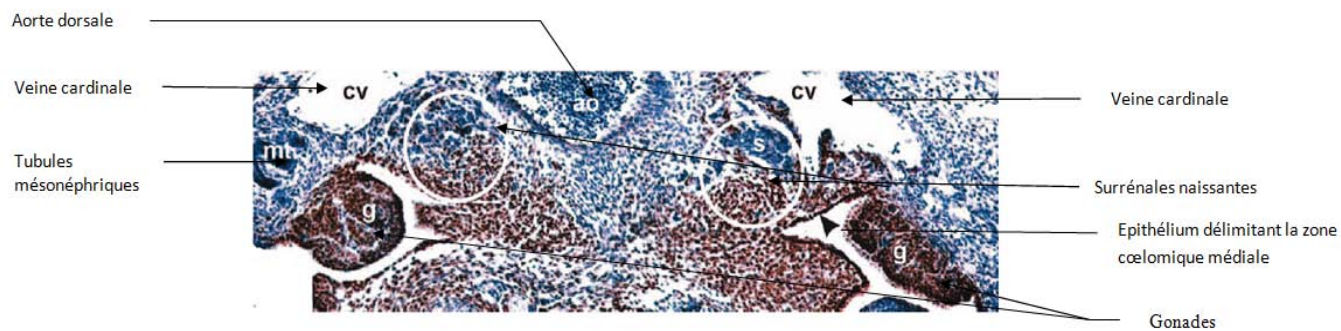
mt= tubules mésonéphriques

s= sympathoblastes

les cercles indiquent les surrénales naissantes

barre = 100 µm, méthode complexe peroxydase avidine-biotin, GATA-4

Tiré de: Bielinska et al., 2006



Durant l'embryogénèse des mammifères, les cellules souches destinées à devenir des cellules corticosurrénales s'associent avec des cellules dérivées de la crête neurale, ce qui engendre la médulla surrénale. Les cellules destinées à devenir du stroma gonadique s'associent avec des cellules germinales primordiales.

Une mutation dans le facteur 1 stéroïdogénique (Sf1) et Wilms tumor-1 (Wt1), deux facteurs de transcription de gènes exprimés dans la crête urogénitale, perturbent le développement des cellules stéroïdogéniques dans les gonades mais aussi dans les surrénales, soulignant la relation étroite entre ces lignées de cellules (Bielinska et al., 2009).

Au début de la gestation chez l'Homme, le cortex de la surrénale consiste en une large couche interne appelée la « zone fœtale », et un fin anneau externe de cellules immatures, connues comme étant la zone définitive. La principale fonction de la zone fœtale est de produire des androgènes surrénaliens, dehydroépiandrostérone (DHEA) et sulfate de DHEA (DHEA-S), qui sont métabolisés par le placenta en œstrogènes permettant de maintenir la gestation. Par conséquent, la zone fœtale exprime des enzymes et des régulateurs allostériques requis pour la production d'androgènes, ceci incluant le cytochrome P450 side chain cleavage (P450 scc), le cytochrome P450 17 α -hydroxylase 17,20-lyase (P450c17), le cytochrome b5 (cyt b5), la sulfotransférase stéroïde SULT2A1, la 3 β -Hydroxysteroid déshydrogénase type 2 (HSD3b2), une enzyme requise pour la synthèse de glucocorticoïdes et de minéralocorticoïdes. Ces enzymes sont transitoirement exprimées dans la zone fœtale pendant

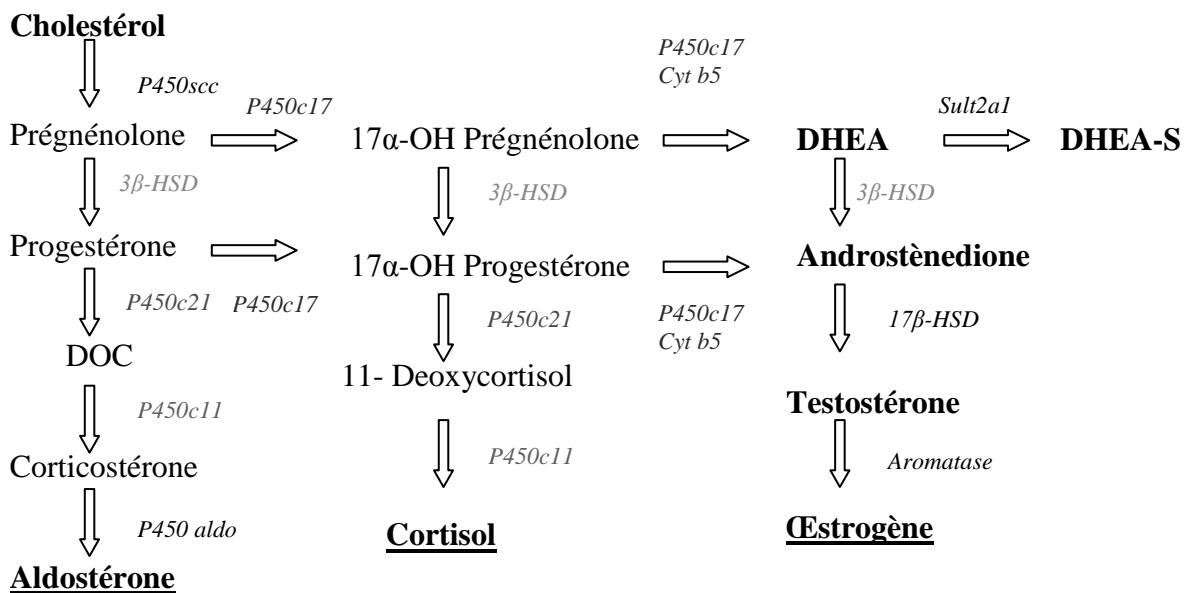
les semaines sept à douze de la gestation et servent de garant contre la virilisation des cellules souches génitales femelles (Bielinska *et al.*, 2009).

On peut voir dans la Figure 32 un schéma des voies de synthèse des stéroïdes chez le furet.

Figure 29 : Voies de synthèse des stéroïdes

Toutes les cellules stéroïdogéniques ont en commun la capacité de mobiliser et cliver le cholestérol. Le répertoire d'enzymes disponibles après le P450_{scc} détermine la capacité stéroïdogénique d'une cellule donnée. Noter que le P450_{c17} possède une activité 17-hydroxylase et 17,20-lyase.

Selon: Bielinska *et al.*, 2009



Après la naissance, la zone fœtale régresse et les productions de DHEA et de DHEA-S cessent. La zone définitive du cortex surrénalien commence à se diviser en compartiments anatomiquement et fonctionnellement distincts: la zone glomérulée (ZG) la zone fasciculée (ZF), et la zone réticulée (ZR). L'enzyme P450_{c17} requise dans la production de stéroïdes sexuels au niveau des gonades n'est normalement pas exprimée dans le cortex surrénalien en dehors de la période fœtale (Bielinska *et al.*, 2005).

Les cellules présentes dans la ZG expriment HSD3β2 mais n'ont pas d'activité P450_{c17} et par conséquent produisent des minéralocorticoïdes.

Les cellules de la ZF expriment HSD3β2 et possèdent une activité P450_{c17}, 17-α hydrolase mais pas d'activité P450_{c17} 17-20 lyase et c'est pourquoi elles produisent du cortisol. Cette absence d'activité P450_{c17} 17-20 lyase dans la ZF a été attribuée en partie à un manque d'expression de ses régulateurs allostériques, cytochrome b5 (Wagner *et al.*, 2008). La production de DHEA et DHEA-S est localisée à la ZR. L'enzyme 21-OHase, est requise dans la production de glucocorticoïdes (Bielinska *et al.*, 2005).