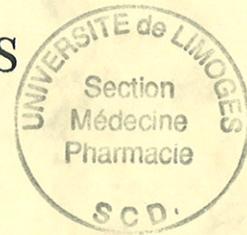


UNIVERSITE DE LIMOGES

Faculté de pharmacie



ANNEE 2004

SCD UNIV.LIMOGES



D 035 147254 7

THESE N° 31711

**DOSAGE DES METABOLITES  
CATECHOLAMINERGIQUES PLASMATIQUES,  
METANEPHRINE ET NORMETANEPHRINE,  
DANS LE CADRE DU PHEOCHROMOCYTOME**

**THESE**

pour le

**DIPLOME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

*présentée et soutenue publiquement le 21 Juin 2004*

par

**David BERAUD**

né le 2 Juillet 1977 à Périgueux (Dordogne)

**EXAMINATEURS DE LA THESE**

Monsieur le Professeur MÆSCH Christian	PRESIDENT
Madame le Professeur VIDAL Elisabeth, <i>Chef de Service, Médecine interne</i>	JUGE
Monsieur VIGNOLES Philippe, <i>Maître de conférences</i>	JUGE
Monsieur le Docteur GAULIER Jean-Michel, <i>Praticien hospitalier</i>	JUGE

UNIVERSITE DE LIMOGES

Faculté de pharmacie

---



ANNEE 2004

THESE N° 317

**DOSAGE DES METABOLITES  
CATECHOLAMINERGIQUES PLASMATIQUES,  
METANEPHRINE ET NORMETANEPHRINE,  
DANS LE CADRE DU PHEOCHROMOCYTOME**

**THESE**

pour le

DIPLOME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

*présentée et soutenue publiquement le 21 Juin 2004*

par

**David BERAUD**

né le 2 Juillet 1977 à Périgueux (Dordogne)

EXAMINATEURS DE LA THESE

---

Monsieur le Professeur MÆSCH Christian	PRESIDENT
Madame le Professeur VIDAL Elisabeth, <i>Chef de Service, Médecine interne</i>	JUGE
Monsieur VIGNOLES Philippe, <i>Maître de conférences</i>	JUGE
Monsieur le Docteur GAULIER Jean-Michel, <i>Praticien hospitalier</i>	JUGE



**UNIVERSITE DE LIMOGES**

**FACULTE DE PHARMACIE**

---

**DOYEN DE LA FACULTE**

Monsieur le Professeur **HABRIOUX** Gérard

**ASSESEURS**

Madame le Professeur **CHULIA** Dominique

Monsieur **COMBY** Francis, Maître de Conférences

**PROFESSEURS**

**BEYNEYTOUT** Jean-Louis

BIOCHIMIE – BIOLOGIE MOLECULAIRE

**BOSGIRAUD** Claudine

BACTERIOLOGIE – VIROLOGIE – PARASITOLOGIE

**BOTINEAU** Michel

BOTANIQUE – CRYPTOLOGIE

**BROSSARD** Claude

PHARMACIE GALENIQUE

**BUXERAUD** Jacques

CHIMIE ORGANIQUE – CHIMIE THERAPEUTIQUE

**CARDOT** Philippe

CHIMIE ANALYTIQUE

**CHULIA** Albert

PHARMACOGNOSIE

**CHULIA** Dominique

PHARMACIE GALENIQUE

**DELAGE** Christiane

CHIMIE GENERALE – CHIMIE MINERALE

**DREYFUSS** Gilles

PARASITOLOGIE

**DUROUX** Jean-Luc

PHYSIQUE – BIOPHYSIQUE

**GHESTEM** Axel

BOTANIQUE – CRYPTOLOGIE

**HABRIOUX** Gérard

BIOCHIMIE FONDAMENTALE

**LACHATRE** Gérard

TOXICOLOGIE

**MÆSCH** Christian

HYGIENE – HYDROLOGIE – ENVIRONNEMENT

**ODART** Nicole

PHARMACODYNAMIE

**SECRETAIRE GENERAL DE LA FACULTE – CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS**

Madame **ROCHE** Doriane



## MAITRES DE CONFERENCES

<b>ALLAIS</b> Daovy	PHARMACOGNOSIE
<b>BASLY</b> Jean-Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE
<b>BATTU</b> Serge	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
<b>CALLISTE</b> Claude	BIOPHYSIQUE
<b>CARDI</b> Patrice	PHYSIOLOGIE
<b>CLEDAT</b> Dominique	CHIMIE ANALYTIQUE
<b>COMBY</b> Francis	CHIMIE THERAPEUTIQUE
<b>DELEBASSEE</b> Sylvie	BACTERIOLOGIE – VIROLOGIE
<b>DREYFUSS</b> Marie-Françoise	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
<b>EA KIM</b> Leng (CLM)	PHARMACODYNAMIE
<b>FAGNERE</b> Catherine	CHIMIE ORGANIQUE
<b>FROISSARD</b> Didier	BOTANIQUE ET CRYPTOGRAMIE
<b>FOURNIER</b> Françoise	BIOCHIMIE
<b>JAMBUT</b> Anne Catherine	CHIMIE THERAPEUTIQUE
<b>LAGORCE</b> Jean-François	CHIMIE ORGANIQUE
<b>LARTIGUE</b> Martine	PHARMACODYNAMIE
<b>LIAGRE</b> Bertrand	SCIENCES BIOLOGIQUES
<b>LOTFI</b> Hayat	TOXICOLOGIE
<b>MARION-THORE</b> Sandrine	CHIMIE THERAPEUTIQUE
<b>MOREAU</b> Jeanne	IMMUNOLOGIE
<b>PARTOUCHE</b> Christian	PHYSIOLOGIE
<b>ROUSSEAU</b> Annick	BIOMATHEMATIQUES
<b>SIMON</b> Alain	CHIMI PHYSIQUE ET CHIMIE MINERALE
<b>TROUILLAS</b> Patrick	BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE
<b>VIANA</b> Marylène	PHARMACIE GALENIQUE
<b>VIGNOLES</b> Philippe	INFORMATIQUE

## PROFESSEUR CERTIFIE

**MARBOUTY** Jean-Michel ANGLAIS

## ATER

**BELLETT** Virginie  
**DUCHIRON** Cécile



A NOTRE DIRECTEUR ET PRESIDENT DE THESE

*A Monsieur le professeur Christian MÆSCH  
Professeur d'Hygiène - Hydrologie - Environnement à la  
faculté de Limoges*

*Nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites  
en acceptant de présider le jury de notre thèse et nous vous  
assurons de notre profond respect.*

*Nous vous sommes très reconnaissant de nous avoir très  
judicieusement guidé dans notre travail et nous vous  
remercions de votre disponibilité malgré vos nombreuses  
responsabilités et sollicitations.*

*Veillez trouver ici le témoignage de notre sincère  
reconnaissance pour la richesse de votre enseignement  
prodigué lors de nos études de pharmacie.*



## A NOTRE JURY DE THESE

*A Madame le Professeur Elisabeth VIDAL, Chef de Service de Médecine Interne au CHRU de Limoges.*

*Nous vous remercions de votre présence dans le jury de cette thèse.*

*Soyez assurée de notre gratitude pour votre gentillesse et vos conseils.*

*Nous vous assurons de toute notre reconnaissance et de notre profond respect.*

*A Monsieur VIGNOLES Philippe, Maître de Conférence à la faculté de Limoges.*

*Nous vous remercions d'avoir accepté spontanément de faire partie de notre jury de thèse.*

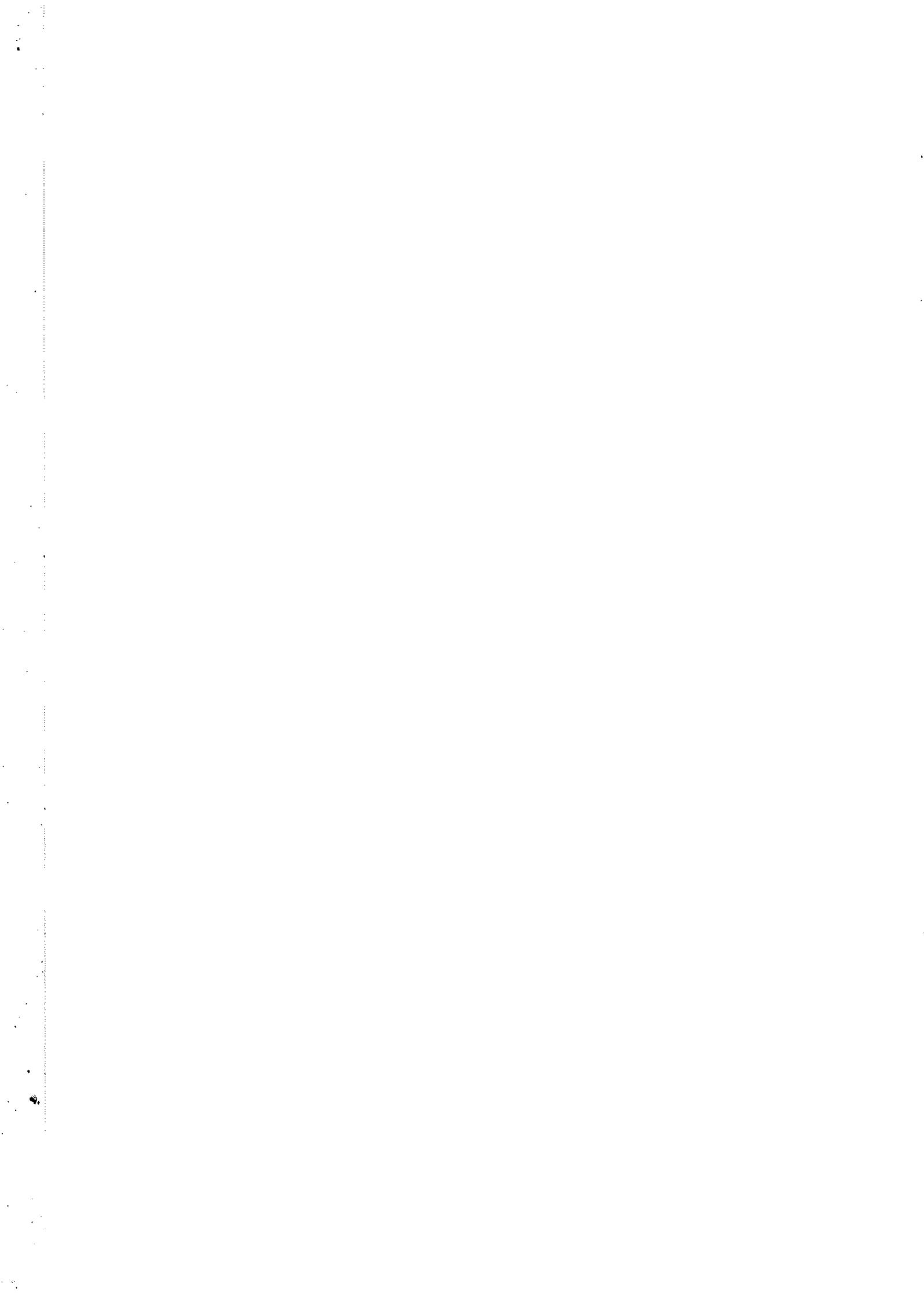
*Nous vous exprimons notre sincère gratitude pour votre aide précieuse que vous nous avez apporté tout au long de la réalisation de ce travail.*

*Nous vous assurons de toute notre reconnaissance et de notre profond respect*

*A Monsieur le Docteur Jean Michel GAULIER, praticien Hospitalier au service Toxicologie – Pharmacologie du CHRU de Limoges.*

*Nous sommes très honorés que vous ayez gentiment accepté de faire partie de nos examinateurs de thèse.*

*Nous vous assurons de toute notre reconnaissance et de notre profond respect*



*A mes parents auxquels je dédie ce travail de recherche. Je vous suis infiniment reconnaissant de votre soutien sous quelques formes que ce soit lors de mes études.*

*Vous avez su m'apporter éducation et instruction qui m'ont permis d'avoir le courage de continuer et d'aboutir à ce que je suis maintenant.*

*A Sandrine, je te remercie de ton aide précieuse, de ta patience et de ton soutien constant.*

*Rien n'aurait pu être ce qu'il est aujourd'hui sans toi. Merci.*

*A ma sœur Sandrine et son ami Denis pour les nombreuses heures de collaboration à la rédaction de ce mémoire de thèse. Merci de votre soutien et de votre présence.*

*A Madame et Monsieur Lafitedupont, docteurs en pharmacie, qui m'ont permis de me consacrer à l'élaboration de cette thèse tout en pouvant exercer mon activité professionnelle.*

*Soyez ici remerciés de votre gentillesse et de vos précieux conseils prodigués tout au long de mon cursus universitaire. Merci de votre confiance.*

*A Dominique, Laurence, Michèle, Michèle, Nathalie et Sylvie qui m'ont accueilli spontanément dans leur équipe. Que notre collaboration reste ce qu'elle est.*

*A mes amis de promotion avec qui j'ai passé des moments aussi courts que merveilleux, particulièrement Arnaud et Olivier sans qui ces études n'auraient été ce qu'elles furent. Encore merci en espérant que cette amitié soit longue.*



# SOMMAIRE

## INTRODUCTION

### 1<sup>ière</sup> Partie : LES GLANDES SURRENALES.

#### I. GENERALITES

#### II. HISTORIQUE

#### III. STRUCTURE DES GLANDES SURRENALES

##### 3.1. Embryologie

##### 3.2. Histologie et anatomie des surrénales

##### 3.2.1. La capsule fibreuse

##### 3.2.2. La corticosurrénale

##### 3.2.3. La médulosurrénale

#### IV. BIOCHIMIE, ACTION ET PHYSIOPATHOLOGIE DES HORMONES CORTICO-SURRENALIENNES

##### 4.1. Biosynthèse des hormones stéroïdes

##### 4.1.1. Les voies communes

##### 4.1.2. Synthèse des glucocorticoïdes

##### 4.1.3. Synthèse des minéralocorticoïdes

##### 4.1.4. Synthèse des androgènes

##### 4.2. Stockage, libération et transport des hormones corticostéroïdes

##### 4.2.1. Stockage et libération

##### 4.2.2. Transport plasmatique



#### 4.3. Régulation de la synthèse des hormones stéroïdiennes

4.3.1. Le cortisol

4.3.2. L'aldostérone

4.3.3. Les androgènes

#### 4.4. Mécanismes d'action et propriétés physiologiques des hormones corticostéroïdes

4.4.1. Mécanismes d'action

4.4.2. Propriétés physiologiques

a. Effets du cortisol

b. Effets de l'aldostérone

c. Effets des androgènes

#### 4.5. Métabolisme des corticostéroïdes

4.5.1. Catabolisme des glucocorticoïdes

4.5.2. Catabolisme des minéralocorticoïdes

4.5.3. Catabolisme des androgènes

#### 4.6. Physiopathologie du cortex surrénalien

4.6.1. Conséquence d'un hypofonctionnement

4.6.2. Conséquence d'un hyperfonctionnement

### V. BIOCHIMIE, ACTION ET PHYSIOPATHOLOGIE DES HORMONES MEDULLOSURRENALIENNES

5.1. Biosynthèse des catécholamines

5.2. Stockage, libération et transport des hormones de la médullaire surrénale



### 5.3. Régulation des catécholamines

### 5.4. Mécanismes d'action et propriétés physiologiques des hormones médullosurréaliennes

#### 5.4.1. Les récepteurs adrénérgiques : mécanismes d'action

#### 5.4.2. Effets physiologiques des hormones adrénérgiques

a. Les effets viscéraux

b. Les effets métaboliques

### 5.5. Métabolisme des catécholamines

#### 5.5.1. Inactivation et catabolisme

#### 5.5.2. Excrétion urinaire

### 5.6. Physiopathologie de la médullosurrénale

## 2<sup>ème</sup> Partie : LE PHEOCHROMOCYTOME : UNE TUMEUR CHROMAFFINE.

### I. GENERALITES

### II. HISTORIQUE

### III. SYMPTOMATOLOGIE ET ASPECTS CLINIQUES DU PHEOCHROMOCYTOME

#### 3.1. Les formes hypertensives

##### 3.1.1. L'hypertension artérielle paroxystique

##### 3.1.2. L'hypertension artérielle permanente

#### 3.2. Les formes atypiques



3.3. Les formes familiales et génétiques : association à d'autres pathologies

3.3.1. Association avec les phacomatoses

3.3.2. Les formes familiales et les néoplasies endocriniennes multiples (N.E.M.)

3.4. Les formes anatomocliniques du phéochromocytome et la malignité des tumeurs

#### IV. DIAGNOSTIC DU PHEOCHROMOCYTOME : DE LA BIOLOGIE A L'IMAGERIE

4.1. Le diagnostic clinique : évocation d'un phéochromocytome

4.2. Le diagnostic biologique : confirmation biochimique

4.2.1. Généralités

4.2.2. Les tests pharmacodynamiques

4.2.3. Les dosages urinaires

a. Dosage de l'acide vanyl-mandélique

b. Dosage des catécholamines urinaires

c. Dosage des métanéphrines urinaires

4.2.4. Les dosages plasmatiques

4.3. Le diagnostic topographique : localisation de la tumeur

4.3.1. Le scanner abdomino-pelvien

4.3.2. Scintigraphie à la MIBG

4.3.3. Autres explorations utiles

#### V. TRAITEMENTS DU PHEOCHROMOCYTOME

5.1. Préparation préopératoire du phéochromocytome

5.2. Le traitement chirurgical proprement dit



5.3. Traitements complémentaires

5.4. Résultats et surveillance postopératoires

### **3<sup>ème</sup> Partie : ASPECTS TECHNIQUES DU DOSAGE DES METANEPHRINES PLASMATIQUES PAR CHROMATOGRAPHIE.**

#### **I. GENERALITES**

1.1. Définitions et principes

1.2. Classification des principaux types de chromatographies

#### **II. HISTORIQUE**

#### **III. PRESENTATION DE LA CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE**

3.1. Définitions et généralités

3.2. Conception générale d'un appareil de CHLP

3.2.1. Le système de pompage

3.2.2. L'injection des échantillons

3.2.3. La colonne : séparation des analytes en solution

3.2.4. Détection et quantification des espèces en présence

a. Les détecteurs spectrophotométriques

b. Les détecteurs spectrofluorimétriques

c. Les détecteurs réfractométriques

d. La détection électrochimique

3.3. La chromatographie de partage

3.3.1. Les supports greffés : technique de greffage

3.3.2. Phase stationnaire et phase mobile



## IV. DOSAGE DES METANEPHRINES PLASMATIQUES TOTALES

- 4.1. Conditions générales du dosage des méthoxyamines dans le sang
- 4.2. Préparation des échantillons à doser
  - 4.2.1. Déprotéinisation du plasma
  - 4.2.2. Hydrolyse et extraction
    - a. L'hydrolyse
    - b. L'extraction
  - 4.2.3. Le dosage proprement dit

## 4<sup>ième</sup> Partie : ETUDE CLINIQUE : RESULTATS ET INTERPRETATION DU DOSAGE PAR CHROMATOGRAPHIE DES METANEPHRINES PLASMATIQUES.

### I. MISE EN PLACE DE L'ETUDE CLINIQUE

### II. INTERPRETATION DES RESULTATS

- 2.1. Etude de chaque paramètre clinique
  - 2.1.1. Cas de la prise de  $\beta$ - ou  $\alpha$ -bloquants
  - 2.1.2. Cas de la prise d'antidépresseurs tricycliques (ADT) ou d'inhibiteurs de la monoamine oxydase (IMAO)
  - 2.1.3. Cas de l'insuffisant rénal chronique (IRC)
  - 2.1.4. Cas de l'hypertension artérielle (HTA)
- 2.2. Exploration approfondie pour l'HTA
- 2.3. Cas des phéochromocytomes avérés



## **CONCLUSION**

## **ANNEXES**

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

## **BIBLIOGRAPHIE**



# INTRODUCTION



Le phéochromocytome est une tumeur qui dérive du tissu chromaffine sécrétant des catécholamines (dopamine, adrénaline et noradrénaline). Dans 90% des cas, il se développe au sein même de la partie médullaire de la glande surrénale alors que pour la minorité restante, il se différencie à partir des reliquats de cellules chromatiques extra-surréaliennes.

Quelle que soit sa localisation, les manifestations cliniques de cette affection tumorale consistent essentiellement en une hypertension artérielle due à la libération excessive de catécholamines vasopressives. Plus qu'un événement permanent, cette hypertension artérielle se traduit par un accès tensionnel provoqué, le plus souvent, par un stimulus externe et accompagné fréquemment de trois symptômes caractéristiques du phénomène : sueurs, céphalées et tremblements.

L'évolution du phéochromocytome, par défaut de diagnostic précis, expose à des accidents cardiovasculaires graves et quelques fois fatals. Au vu de ces complications, bien que le caractère d'emblée malin (environ 10% des cas de phéochromocytomes) soit faible et que ce type de tumeur chromaffine soit relativement rare (elle n'affecte que 1 à 5 personnes sur 100 000 (11)), le diagnostic devrait être plus systématique devant un tableau clinique d'hypertension, *a fortiori* si celle-ci résiste aux traitements classiques convenus pour cette pathologie.

Cette démarche diagnostique repose sur trois étapes complémentaires :

- Le dépistage qui se propose de repérer à partir de données cliniques simples les patients ayant une forte prévalence d'avoir une tumeur chromaffine (hypertension artérielle, hérédité, terrain circonstancier...),
- Le diagnostic biochimique comprenant un ensemble de tests sensibles et spécifiques chez ces patients,
- La confirmation topographique (scanner, IRM, scintigraphie...) entreprise après la démonstration clinique et biochimique d'une sécrétion pathologique de catécholamines.



Historiquement, le diagnostic biologique repose très largement sur le dosage urinaire des métabolites de l'adrénaline et la noradrénaline en l'occurrence l'acide vanylmandélique (VMA). Il demeure encore le dosage le plus usité lorsque l'on suspecte une tumeur chromaffine. Au fait de l'évolution technologique de ces dernières décennies, il est permis dès à présent de doser à la fois les catécholamines plasmatiques et surtout leurs dérivés méthoxylés, la métanéphrine et la normétanéphrine, jouant ainsi un rôle primordial dans l'évaluation biochimique du phéochromocytome.

La détermination de la valeur diagnostique se fera alors par, Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC). En effet, dans les laboratoires hospitaliers et les groupes d'étude travaillant sur cette pathologie, les dosages urinaires tendent à être remplacés par l'exploration plasmatique des métabolites malgré le peu de recul que l'on a par rapport à la méthode employée. Cependant, les dosages sanguins sont soumis aux interférences exogènes alimentaires ou médicamenteuses qui auront une importance quant aux variations des valeurs diagnostiques. Par conséquent, en écartant délibérément les éventuelles prises alimentaires litigieuses difficilement évaluables, nous observerons si la présence ou non d'une hypertension artérielle (HTA), d'une insuffisance rénale chronique (IRC), d'une prise d'antidépresseurs tricycliques (ADT) ou d'inhibiteurs de la monoamine oxydase (IMAO), d'une prise de  $\beta$ - ou  $\alpha$ - bloquants voire d'une grossesse pour la femme en âge de procréer, peuvent entraîner une divergence de la valeur diagnostique.

Ainsi, nous nous attacherons, par le biais d'une étude portant sur 148 patients, d'établir une corrélation entre chacune des entités cliniques et les différentes valeurs de dosage des 2 métanéphrines plasmatiques déterminés au CHRU de Limoges, le terme ultime de cette étude étant bien évidemment d'en tirer une fourchette de valeurs normales permettant d'exclure biochimiquement un phéochromocytome.



**PREMIERE PARTIE :**  
**LES GLANDES SURRENALES.**



## I. GENERALITES

Les glandes surrénales sont deux glandes, une gauche et une droite, de forme approximativement pyramidale, qui siègent au niveau du pôle supérieur de chaque rein. Elles correspondent en fait à la combinaison étroite de deux entités distinctes, embryologique et fonctionnelle, au sein même de la glande :

- La corticosurrénale ou cortex surrénalien, d'origine mésoblastique, qui synthétise et excrète les hormones stéroïdiennes à partir du cholestérol des vacuoles lipidiques.
- La médullosurrénale ou médullaire surrénalienne, d'origine neurectoblastique, qui est la source des amines vasopressives, l'adrénaline, la noradrénaline et la dopamine.

## II. HISTORIQUE (2)

La présence des glandes surrénales a été remarquée pour la première fois en 1563 par BARTOLOMES EUSTACHIS. La fonction de ces glandes endocrines est restée très longtemps méconnue jusqu'à la description, par THOMAS ADDISON, d'une insuffisance surrénalienne, pathologie grave associée à une curieuse hyperpigmentation de la peau et une asthénie intense. En 1894, OLIVER et SCHAFFER ont pu extraire de la partie médullaire une substance endocrine qui avait la faculté d'augmenter, en expérimentation animale, la pression sanguine systolique. Cet agent presseur, isolé et chimiquement défini dans les années 1900, est l'adrénaline (appelée encore épinéphrine).

La démonstration des propriétés de l'adrénaline a mis l'accent sur la fonction essentielle de la partie médullaire par rapport au cortex surrénalien, d'où on a pu isoler les stéroïdes, gluco- et minéralocorticoïdes surrénaliens par les expérimentations de KENDALL et REICHSTEIN.



### III. STRUCTURE DES GLANDES SURRENALES

#### 3.1. Embryologie (2,13,17,19)

La dualité morphologique, histologique et fonctionnelle de cette glande endocrine s'explique par l'origine des ébauches glandulaires :

- Au cours de la vie intra utérine, le cortex surrénal apparaît dès la huitième semaine. On constate qu'il est initialement beaucoup plus volumineux que le rein. Les cellules qui le composent proviennent de l'épithélium mésoblastique. A ce stade de la prolifération cellulaire, le cortex surrénal contient deux zones :
  - un néocortex périphérique comptant pour 15% de la masse totale, indifférencié et inactif
  - et un cortex « foetal » déjà responsable de la synthèse des stéroïdes. A la naissance, cette zone disparaît progressivement alors que la zone externe se différencie en cortex adulte avec les trois couches bien distinctes qui le composent.
- La partie médullaire dérive, elle, du feuillet embryonnaire ectoblastique, et plus précisément de la crête neurale. Elle constitue en fait une évolution particulière, par l'acquisition de propriétés sécrétrices, de neurones post-ganglionnaires. Dès la quatrième semaine, les cellules primitives se différencient en sympathoblastes, à l'origine des ganglions sympathiques, et en chromatoblastes qui vont eux former la glande médullaire. Au cours de l'évolution fœtale, ces cellules vont acquérir leur pleine maturité pour devenir les cellules chromaffines – appelées ainsi car elles fixent le bichromate de potassium – pour qu'à la naissance la médullosurrénale soit totalement fonctionnelle.



### 3.2. Histologie et anatomie des surrénales (3,6,9,17,19,33,38)

Les glandes surrénales possèdent donc deux systèmes sécrétoires au sein du même organe : le cortex, partie la plus externe, et la médullaire. Le tout est entouré et enveloppé par une capsule fibroconjonctive de soutien.

#### 3.2.1. La capsule fibreuse

Elle entoure chaque surrénale. Elle est épaisse, constituée de fibroblastes, d'histiocytes, de fibres musculaires lisses et de faisceaux de fibres de collagène. Ce tissu de soutien conjonctivo-vasculaire émet de nombreux prolongements qui s'insinuent au plus profond de la glande permettant ainsi la délimitation d'îlots cellulaires et le lit de la vascularisation de la surrénale.

#### 3.2.2. La corticosurrénale (figure 1)

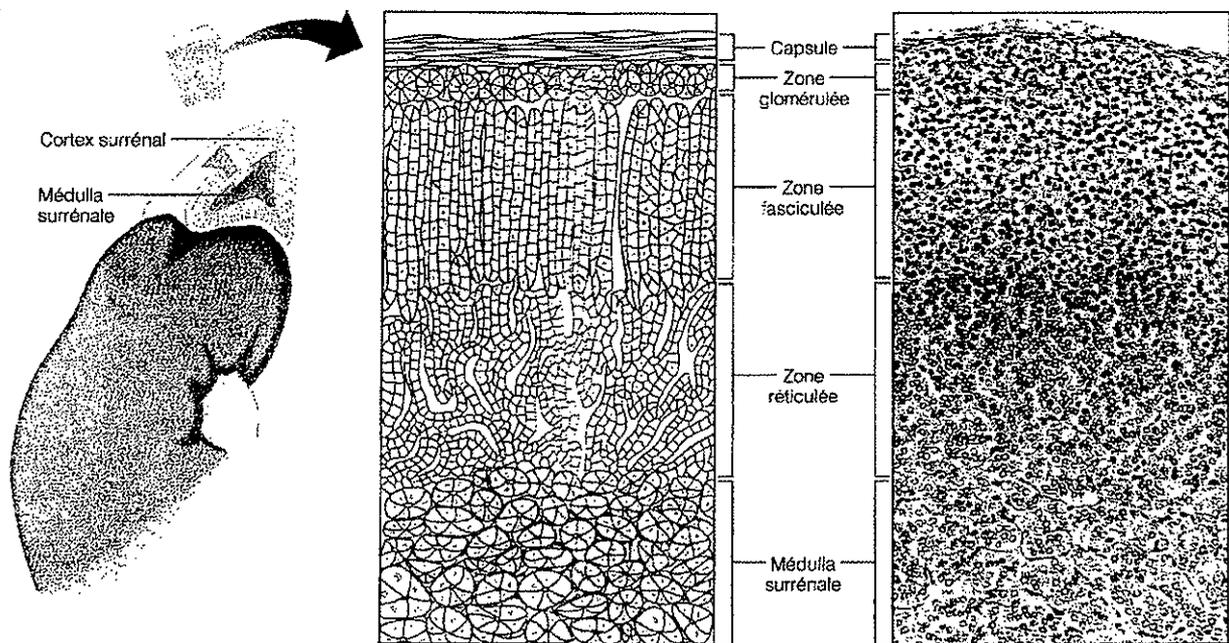
Le cortex surrénalien constitue la partie externe de la glande et se différencie en trois zones distinctes :

- La zone glomérulaire, la plus externe. Elle constitue la mince zone sous capsulaire du cortex surrénalien et se confond avec la zone intermédiaire fasciculée. La partie glomerulée représente 10 à 15% de l'épaisseur totale de la corticosurrénale. Les cellules y sont disposées en arcade ou en amas arrondis séparés par de fines travées de tissu conjonctif capsulaire. Elles contiennent quelques gouttelettes lipidiques, un réticulum endoplasmique lisse bien développé et un réticulum endoplasmique rugueux peu abondant.
- La zone fasciculée : cette partie sous-jacente à la frange glomérulaire représente la plus grande partie du cortex surrénalien (75% environ). Les cellules sont de taille plus importante que pour la précédente et sont disposées en rayons parallèles, séparés par des capillaires sinusoides.



Les cellules polyédriques et volumineuses sont riches en gouttelettes lipidiques « spongieuses » – on parle quelques fois de spongiocytes – conférant à la fasciculée une couleur naturelle jaune vif.

- La zone réticulée, la plus interne, c'est à dire entre la médullosurrénale et la zone fasciculée représente une faible proportion de la corticosurrénale, environ 5 à 10%. Elle est constituée de cordons cellulaires étroits anastomosés entre-eux sans orientation particulière. Ces amas cellulaires s'enchevêtrent avec de gros capillaires sanguins pour former un réseau. Les cellules qui les composent sont de taille plus modeste que la précédente partie de la glande et ne contiennent que de très rares gouttelettes lipidiques.



*Figure 1 – Structure microscopique de la glande surrénale. (25)*



### 3.2.3. La médulosurrénale

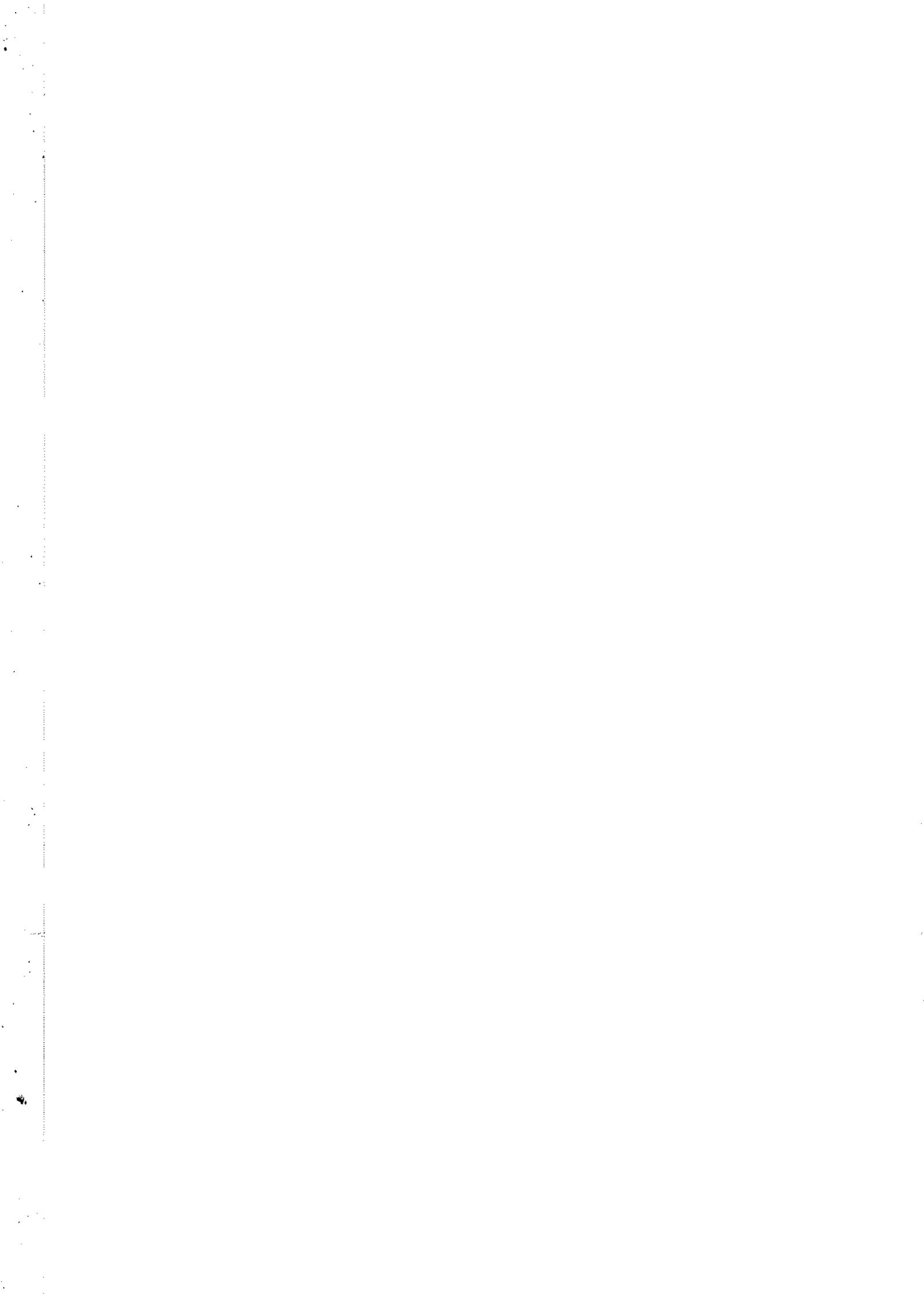
Même si on n'observe pas de séparation physique entre le cortex et la médullaire, il est facile de constater qu'il y a une nette différence entre ces deux entités. Cette partie centrale est constituée de grosses cellules polyédriques disposées en courtes travées entre lesquelles sillonnent des capillaires. La caractéristique de ces cellules est que lorsqu'elles sont fixées et exposées à un bain de bichromate de potassium, elles prennent une coloration brune. On les nomme alors les cellules chromaffines. Cette capacité de pigmentation a permis en fait de mettre en évidence de très nombreux granules de sécrétion structurellement proches des vésicules de stockage des terminaisons nerveuses périphériques. Histochimiquement, les cellules chromaffines se scindent en deux catégories : les cellules à adrénaline et les cellules à noradrénaline qui contiennent essentiellement l'une ou l'autre catécholamine.

## IV. BIOCHIMIE, ACTION ET PHYSIOPATHOLOGIE DES HORMONES CORTICO-SURRENALIENNES

### 4.1. Biosynthèse des hormones stéroïdes (2,5,13,15,19,27)

On a constaté qu'histologiquement et structurellement le cortex surrénalien possède trois zones bien différenciées. En plus de cette individualisation cellulaire, on peut noter une identité biochimique propre à chacune des parties de la glande. En effet, la transformation du précurseur unique, c'est à dire le cholestérol, offrira différents produits selon la zone envisagée :

- la zone glomérulaire synthétise et secrète les minéralocorticoïdes, à savoir l'aldostérone et accessoirement la corticostérone.



- La zone fasciculée prend en charge l'anabolisme des glucocorticoïdes, essentiellement représentés par le cortisol.
- La zone réticulée synthétise et secrète les androgènes, la déhydroépiandrostérone (DHEA) et son dérivé sulfaté (S-DHEA).

#### 4.1.1. Les voies communes

Le précurseur de l'ensemble des hormones stéroïdes est le cholestérol. Il est en grande partie d'origine exogène, provenant ainsi de la circulation sanguine après absorption intestinale ou synthèse hépatique. Il peut être aussi synthétisé localement par le biais de l'Acétyl-CoA mais cet apport endogène de cholestérol demeure en quantité faible.

La synthèse des hormones stéroïdes passe par deux étapes communes :

- Le cholestérol est hydrolysé par la 20-22 desmolase en  $\Delta^5$ -pregnénolone.
- La pregnénolone se transforme à son tour en progestérone sous l'action de deux enzymes : la  $3\beta$ -hydroxydeshydrogénase et la 4-5 isomérase.

L'obtention des corticoïdes (minéralo- ou glucocorticoïdes) requiert alors l'intervention de trois hydroxylases qui agissent de façon séquentielle en C<sub>17</sub>, C<sub>21</sub> et C<sub>11</sub>, sachant que si la position C<sub>21</sub> est hydroxylée en premier, l'action de la C<sub>17</sub>-hydroxylase est stéréochimiquement empêchée et la voie des minéralocorticoïdes est alors engagée. Ceci explique l'individualisme de la biosynthèse des glucocorticoïdes par la zone fasciculée et des minéralocorticoïdes par la glomérulaire car cette dernière ne possède pas de  $17\alpha$ -hydroxylase au niveau de son réticulum endoplasmique lisse.

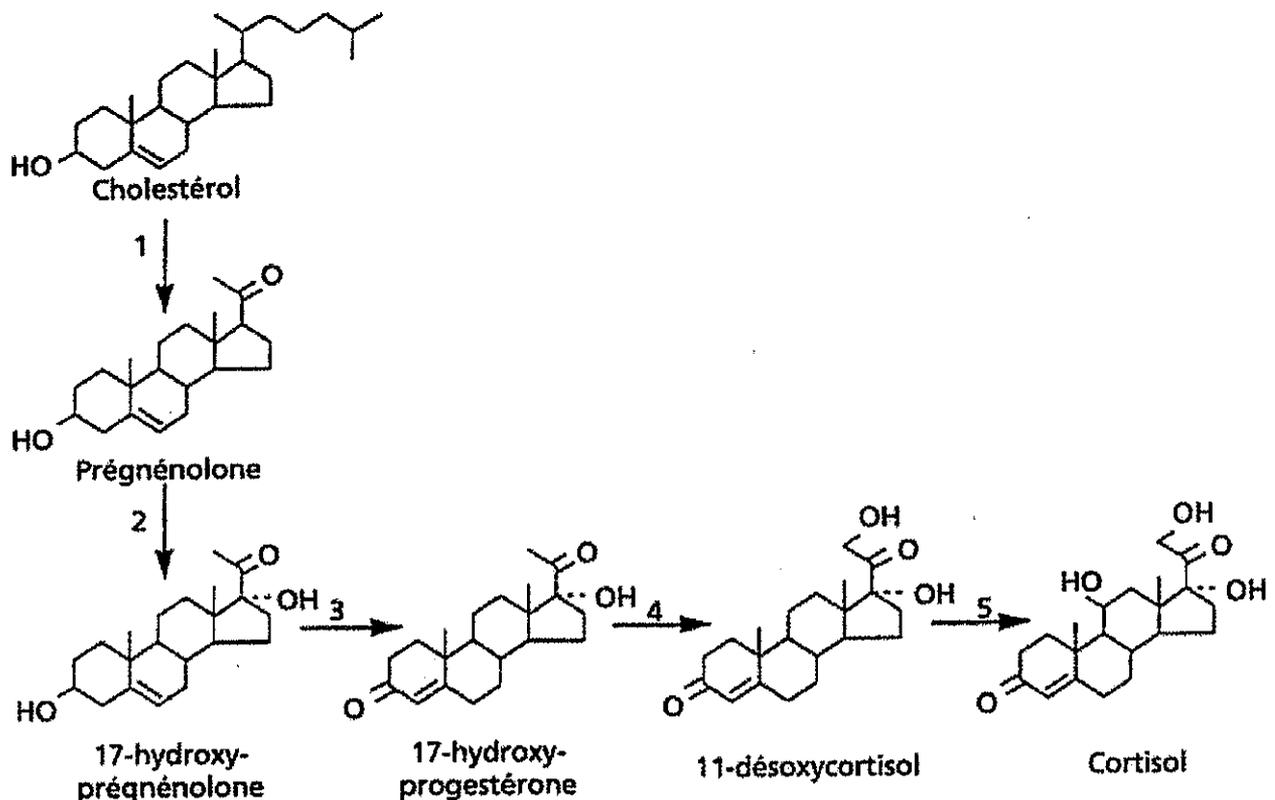


#### 4.1.2. Synthèse des glucocorticoïdes

La zone fasciculée du cortex surrénalien est la source principale du cortisol, le glucocorticoïde le plus important chez l'homme.

Le point de départ reste la progestérone. Il y a alors action de la  $17\alpha$ -hydroxylase qui forme la 17-hydroxyprogestérone servant à son tour de substrat à la 21-hydroxylase puis à la  $11\beta$ -hydroxylase, aboutissant finalement à l'obtention du cortisol.

La progestérone peut ne pas être le seul élément précurseur de la synthèse du cortisol ; en effet, la  $17\alpha$ -hydroxylase peut agir directement sur la pregnénolone pour former la  $17\alpha$ -hydroxypregnenolone qui sera transformée en 17-hydroxyprogestérone (par le biais de la  $3\beta$ -hydroxydeshydrogénase et la 4-5 isomérase).



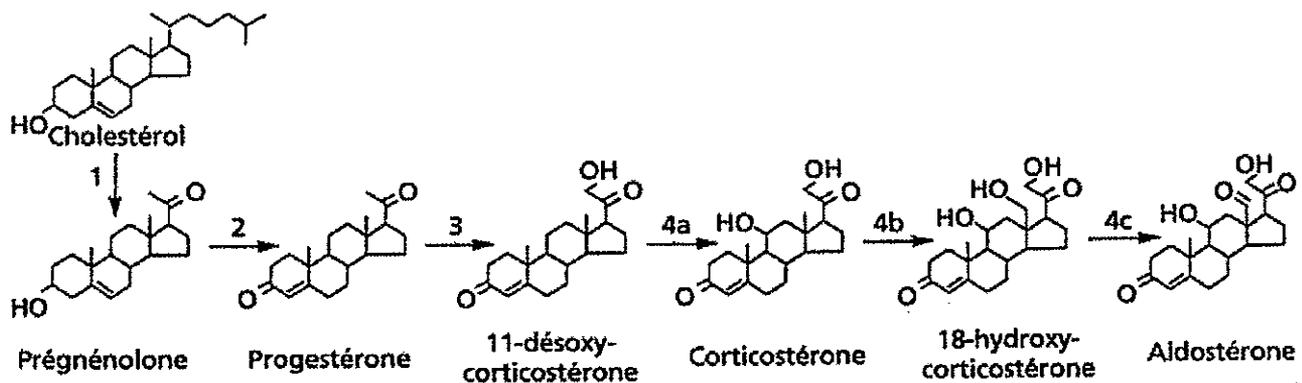
*Figure 2 – Principale voie métabolique permettant la biosynthèse du cortisol dans la zone fasciculée du cortex surrénalien. (5) 1 : activité 20-22 desmolase ; 2 :  $17\alpha$ -hydroxylase ; 3 :  $3\beta$ -hydroxydeshydrogénase et 4-5 isomérase ; 4 : 21-hydroxylase ; 5 :  $11\beta$ -hydroxylase.*



### 4.1.3. Synthèse des minéralocorticoïdes

Le minéralocorticoïde le plus puissant produit par les glandes surrénales est l'aldostérone. Sa synthèse se fait exclusivement dans la zone glomérulée et suit étroitement la voie des glucocorticoïdes.

Cette voie de synthèse ne subit pas l'action de la  $17\alpha$ -hydroxylase. En fait, la progestérone est transformée en 11-désoxycorticostérone par la 21-hydroxylase. L'hydroxylation suivante se fait en  $C_{11}$  et produit la corticostérone. Enfin, la corticostérone subit une 18-hydroxylation et une 18-oxydation qui les transforme en aldostérone.



*Figure 3 – Biosynthèse de l'aldostérone à partir du cholestérol dans la couche glomérulée du cortex surrénalien. (5) 1 : activité 20-22 desmolase ; 2 :  $3\beta$ -hydroxydeshydrogénase et 4-5 isomérase ; 3 : 21-hydroxylase ; 4a : 11-hydroxylase ; 4b : 18-hydroxylase ; 4c : 18-oxydase, ces trois enzymes formant l'aldostérone-synthétase.*

### 4.1.4. Synthèse des androgènes

La déhydroépiandrostérone (DHEA) est le principal androgène fabriqué par le cortex surrénalien, précisément dans la couche réticulée.

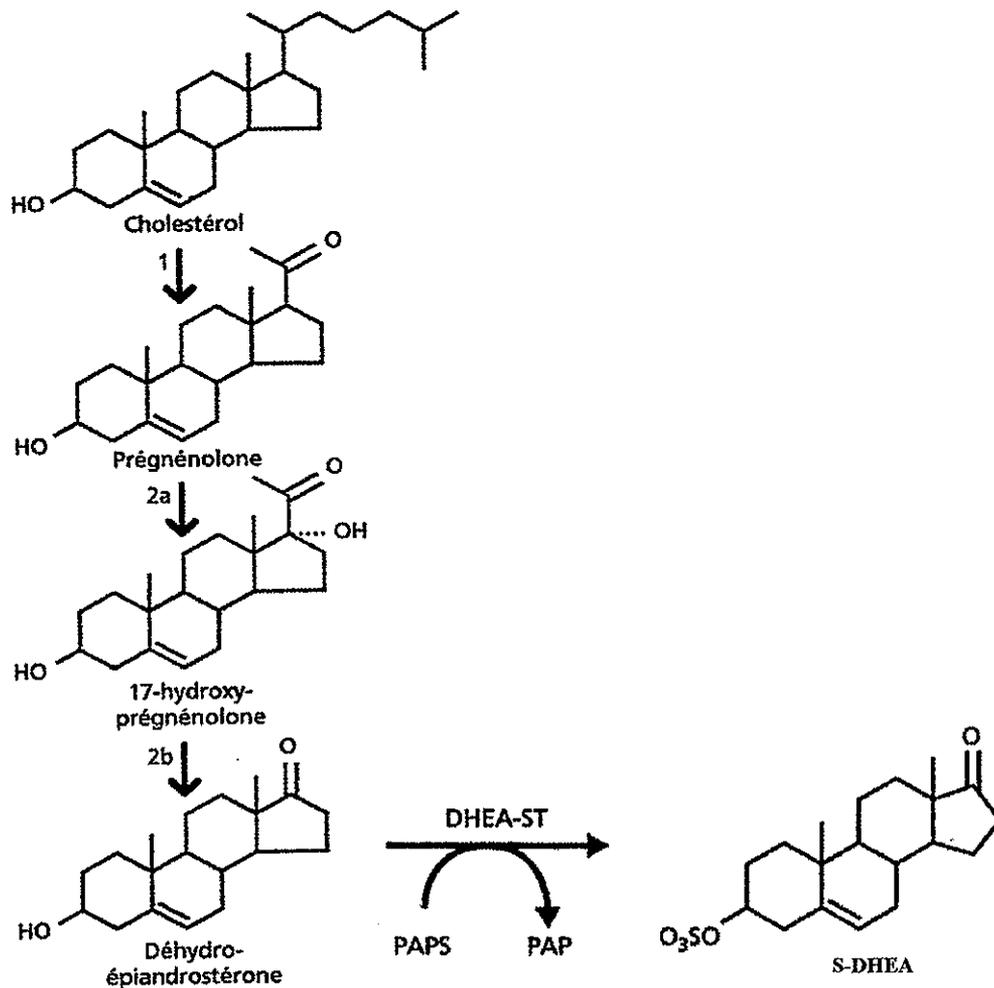
La plus grande partie de la 17-hydroxyprégnénolone suit la voie des glucocorticoïdes mais une petite fraction va subir un clivage enzymatique de la chaîne latérale carbonée. Cette action, catalysée par la  $C_{17-20}$  desmolase (dite encore  $C_{17-20}$  lyase), aboutit à la formation de la déhydroépiandrostérone.



En fait, la DHEA, dans sa grande majorité, est rapidement modifiée en sulfate de DHEA, circulant et inactif.

Le métabolisme prédominant du cholestérol en DHEA s'explique par la faible expression de la 3 $\beta$ -hydroxydeshydrogénase (3 $\beta$ -OHDS) et la 4-5 isomérase dans la zone réticulée de la corticosurrénale.

On peut considérer cet androgène comme une prohormone car la DHEA réactivée va subir l'action combinée de la 3 $\beta$  OHDS et de la  $\Delta$ 4-5 isomérase pour la transformer en androstènedione précurseur de la testostérone, le plus important des androgènes surrénaliens.



*Figure 4 – Synthèse de la DHEA à partir du cholestérol et sa transformation en sulfate (S-DHEA) par la DHEA sulfotransférase (DHEA-ST). (5)  
1 : activité 20-22 desmolase ; 2a : 17-hydroxylase ; 2b : activité 17-20 lyase.*



Pour pouvoir appréhender plus facilement les différentes voies de la biosynthèse des hormones surrénaliennes, on peut établir un schéma récapitulatif sans tenir compte des zones « géographiques » de la corticosurrénale mais seulement de l'aspect enzymatique des différentes synthèses.

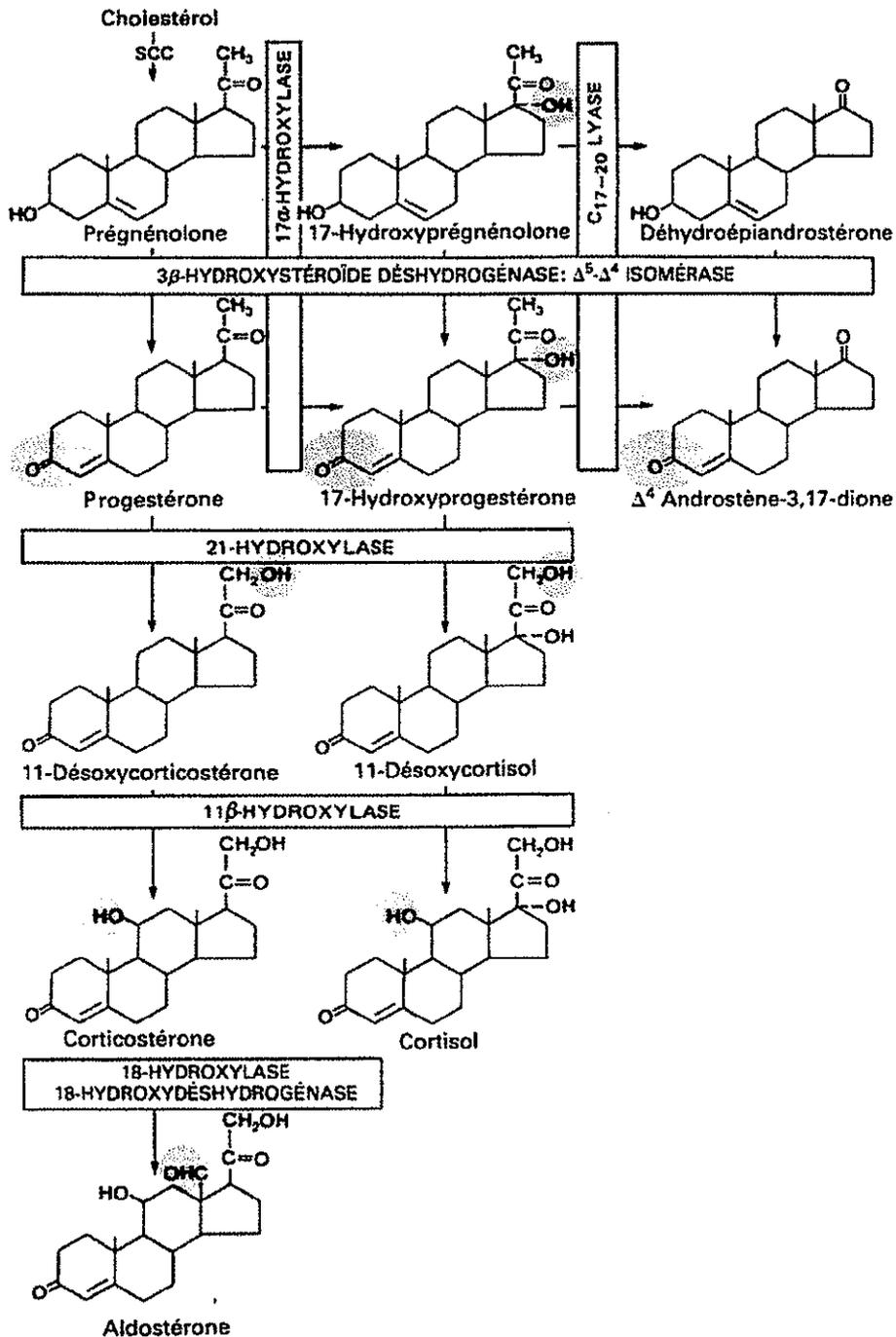


Figure 5 – Voies intervenant dans la synthèse des trois principales classes de stéroïdes surrénaliens. (27)



## 4.2. Stockage, libération et transport des hormones corticostéroïdes (2,15,19,27)

### 4.2.1. Stockage et libération

Les cellules surrénaliennes n'ont pas ou très peu de capacité de stockage par rapport aux hormones stéroïdiennes. De ce fait, ces hormones sont directement libérées dans la circulation sanguine dès qu'elles sont formées.

### 4.2.2. Transport plasmatique

Comme bon nombre d'hormones, les corticoïdes et androgènes surrénaliens circulent dans le sang en partie sous forme libre et le restant sous forme liée à des protéines plasmatiques spécifiques, sachant que la fraction active et disponible dans les cellules de l'organisme demeure la quantité libre.

Les glucocorticoïdes, et plus précisément le cortisol, circulent, pour une grande majorité, liés à une protéine plasmatique spécifique. Environ 90% du cortisol est lié à une  $\alpha_2$ -globuline : la transcortine ou CBG (Cortisol Binding Globulin). La fraction biologiquement active représente donc moins de 10% du cortisol plasmatique.

L'aldostérone, minéralocorticoïde le plus important de la circulation sanguine, n'utilise pas de protéines transporteuses spécifiques mais forme une association avec l'albumine. Il circule donc sous forme majoritairement libre (environ 40%).

Les androgènes surrénaliens, DHEA et l'androstènedione, se trouvent dans la circulation en partie liée à l'albumine, et pour une très faible fraction à la TeBG (Testostérone Binding Globulin), protéine spécifique des stéroïdes gonadiques. Il est donc à noter que moins de 10% des androgènes circulent sous forme libre.



### 4.3. Régulation de la synthèse des hormones stéroïdiennes (2,5,13,15,19,27)

La sécrétion des glucocorticoïdes, comme celle des androgènes, est soumise à une régulation hypothalamo-hypophysaire, contrairement à la zone glomérulaire qui échappe à cette régulation.

#### 4.3.1. Le cortisol

La sécrétion du cortisol est sous le contrôle exclusif de l'axe hypothalamo-hypophysaire et donc de la CRH et de l'ACTH (figure 6).

La CRH (Corticotropin Releasing Hormon) est sécrétée par l'hypothalamus dans la circulation veineuse porte hypothalamo-hypophysaire pour rejoindre l'hypophyse. Elle se fixe alors sur les cellules corticotropes du lobe antérieur (antéhypophyse) et va stimuler la production et la libération d'ACTH.

C'est l'ACTH qui, au niveau du cortex surrénalien, stimule la biosynthèse et la libération du cortisol, sachant que la concentration plasmatique du cortisol répond à un rythme nyctéméral.

*A contrario*, si l'axe hypothalamo-hypophysaire augmente la sécrétion de cortisol par le biais de l'ACTH, le cortisol exerce, comme dans tout système endocrinien, un rétrocontrôle négatif sur l'ACTH et la CRH. Le système cortisol-ACTH-CRH reste donc en équilibre constant en dehors de toute situation pathologique.

#### 4.3.2. L'aldostérone

Il est à rappeler que l'axe hypothalamo-hypophysaire n'agit pas, ou très peu, sur la zone glomérulaire responsable de la sécrétion de l'aldostérone. En effet, si l'ACTH peut accroître la production d'aldostérone, d'autres facteurs plus spécifiques pourraient stimuler sa biosynthèse (figure 6).



En effet, le système rénine-angiotensine paraît être le facteur prédominant de cette régulation. L'appareil juxtaglomérulaire rénal va sécréter la rénine qui, par le biais d'une cascade enzymatique va transformer l'angiotensinogène en angiotensine II. C'est ce facteur qui physiologiquement active la biosynthèse et la sécrétion d'aldostérone par les cellules glomérulaires du cortex surrénal. Outre cet effet, l'angiotensine II provoque une augmentation de la tension artérielle et une vasoconstriction.

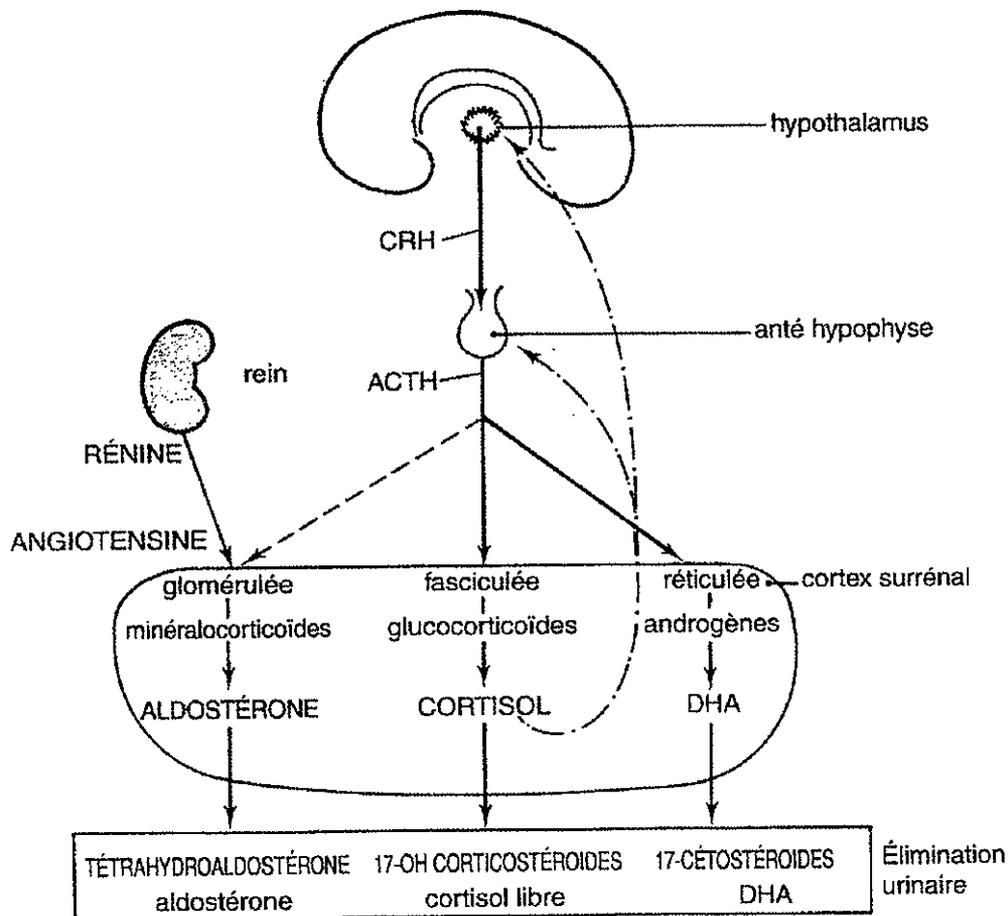
On note également un effet du potassium. La kaliémie, associée à la natrémie et à la volémie, modifie les concentrations sanguines de l'aldostérone. Par un mécanisme électrolytique, l'augmentation du taux de potassium dans l'espace extracellulaire (donc une diminution du sodium et de la volémie) provoque une élévation de la sécrétion d'aldostérone.

#### 4.3.3. Les androgènes

La régulation de ces hormones surrénaliennes obéit aux mêmes phénomènes que pour le cortisol (figure 6). En effet, les cellules de la zone réticulée possèdent des récepteurs membranaires pour l'ACTH. Cette régulation est donc contrôlée par le cycle circadien de l'ACTH.

Cependant la sécrétion de DHEA et de son sulfate répond quand même à un paramètre propre : l'âge. La concentration de DHEA atteint son maximum après la puberté pour décroître au cours du vieillissement ; cette activité biosynthétique est donc en relation avec la maturation cellulaire de la zone réticulée.





*Figure 6 – Régulation de la sécrétion corticosurrénaliennne. (15)*

#### 4.4. Mécanismes d'action et propriétés physiologiques des hormones corticostéroïdes

##### 4.4.1. Mécanismes d'action (5,13,15,19)

Comme tous les stéroïdes, les hormones corticosurrénaliennes agissent au sein même de la cellule après y avoir pénétré par un mécanisme de diffusion passive.

Les hormones corticoïdes, aldostérone et cortisol, ont le même mécanisme d'action car elles possèdent le même récepteur spécifique : ce récepteur réside au sein du cytoplasme des cellules cibles sous une forme inactive, c'est à dire lié à une protéine. Dès que le stéroïde pénètre dans cette cellule, il déplace la protéine



protectrice et l'association récepteur-hormone peut rejoindre le noyau pour se lier à des sites précis sur l'ADN et entraîner ces effets. Le taux circulant d'aldostérone est environ mille fois inférieur à celui du cortisol ; on peut expliquer l'effet minéralocorticoïde sur les cellules cibles car celles-ci possèdent un mécanisme complexe capable d'inactiver les glucocorticoïdes dès leur passage transmembranaire.

Pour les androgènes, DHEA et S-DHEA, l'action hormonale se fait par des récepteurs spécifiques mais étant donné leur faible pouvoir, une conversion en testostérone au sein même de la cellule paraît obligatoire. Leurs mécanismes d'action se confondent donc avec celui de la testostérone.

#### 4.4.2. Propriétés physiologiques

##### a. Effets du cortisol (2,12,15,19)

###### ➤ Action sur le métabolisme protidique

Le cortisol inhibe les synthèses protéiques et stimule la protéolyse et la libération des acides aminés. Cette action explique en partie les signes osseux, musculaires et cutanés des glucocorticoïdes.

###### ➤ Action sur le métabolisme lipidique

Sur les cellules adipeuses, il accroît la lipolyse en favorisant la libération des acides gras. En excès, il explique l'obésité tronculaire par la modification de la répartition des graisses.

###### ➤ Action sur le métabolisme glucidique

Le cortisol exerce un effet hyperglycémiant par deux processus : il favorise la néoglucogenèse notamment à partir des acides aminés qu'il libère et antagonise le rôle et l'effet de l'insuline par rapport à la consommation périphérique du glucose.



➤ Action sur le tissu osseux

Les glucocorticoïdes vont négativer le métabolisme calcique par une diminution de l'absorption intestinale du calcium qui se fixe à la vitamine D et par une augmentation de la calciurie due à la résorption osseuse qu'ils accroissent.

➤ Action sur le bilan hydrique

A forte dose, le cortisol exerce des effets similaires aux minéralocorticoïdes : rétention de sodium et d'eau, excrétion urinaire du potassium et réabsorption des bicarbonates qui entraînent une élévation de la tension artérielle.

➤ Action sur le système immunitaire

Les glucocorticoïdes ont, en plus de leurs effets sur le métabolisme, des propriétés immunosuppressives qui sont largement mises à profit en thérapeutique. Le cortisol va s'opposer à la migration des leucocytes vers le site d'infection et diminue aussi leur pouvoir phagocytaire.

Il agit également sur les mécanismes de l'inflammation par inhibition des prostaglandines, des leucotriènes et des thromboxanes. Cette propriété anti-inflammatoire est due probablement à la répression spécifique effectuée sur la cyclo-oxygénase COX-2 inductible.

b. Effets de l'aldostérone (2,5,13,15,19,27)

Les hormones minéralocorticoïdes influencent l'équilibre électrolytique et le transport des ions. L'aldostérone assure l'homéostasie électrolytique en agissant essentiellement au niveau du tube contourné distal et du tube collecteur : elle augmente la rétention sodée et l'excrétion urinaire des ions potassium et hydrogène par stimulation de la biosynthèse des pompes  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase. Par conséquent, en excès, l'aldostérone provoque une rétention sodée avec une hypertension artérielle, une hypokaliémie et une alcalose extracellulaire.



### c. Effets des androgènes (2,15,19)

Les androgènes surrénaliens ont les mêmes effets que les androgènes gonadiques mais leur importance physiologique semble modérée par rapport à leurs homologues sexuels compte tenu de leur taux de sécrétion. Ils ont un effet virilisant par le développement de la pilosité ambosexuelle bien que leur rôle ne soit pas encore parfaitement clarifié.

#### 4.5. Métabolisme des corticostéroïdes (13,15,19,27)

##### 4.5.1. Catabolisme des glucocorticoïdes

Les glucocorticoïdes, le cortisol, son analogue 11-céto et la cortisone, vont subir au niveau du foie des modifications qui vont transformer ces composés lipophiles en molécules hydrosolubles et excrétables. Ainsi les métabolites, sous forme de glucuronides, seront excrétés dans les urines (80%) et dans les selles.

##### 4.5.2. Catabolisme des minéralocorticoïdes

L'aldostérone est très rapidement dégradé par le foie, sûrement parce qu'elle n'utilise pas de protéines transporteuses. Le foie forme alors un composé glucuronique qui sera excrété dans les urines.

##### 4.5.3. Catabolisme des androgènes

La DHEA et son sulfate sont convertis en androstènedione qui sera transformée en composés gluco- et sulfo-conjugués excrétés dans les urines.

#### 4.6. Physiopathologie du cortex surrénalien (2,5,15,19,27)

##### 4.6.1. Conséquences d'un hypofonctionnement

Le syndrome d'hypofonctionnement de la glande corticosurrénale se traduit par un déficit global de toutes les hormones corticosurréaliennes : on parle de maladie d'ADDISON dont le tableau clinique est le suivant :



- une mélanodermie, pigmentation brune diffuse de la peau,
- une asthénie profonde,
- un amaigrissement associé à des troubles digestifs importants.

Les causes peuvent être multiples. Anciennement, la tuberculose surrénale était la première étiologie de la maladie d'ADDISON mais l'affection auto-immune des surrénales est désormais la cause la plus fréquente des insuffisances primaires. Cependant, une corticothérapie au long cours ou une atteinte hypothalamo-hypophysaire peuvent être la cause d'une insuffisance surrénalienne secondaire, sachant que la cause iatrogène, permettant la mise au repos de l'axe hypothalamo-hypophysaire, semble relativement fréquente (il est donc conseillé d'arrêter la corticothérapie de façon progressive pour que les processus physiologiques naturels reprennent leur fonctionnement normal).

#### 4.6.2. Conséquences d'un hyperfonctionnement

L'hyperfonctionnement de la glande est *a contrario* rarement global. Il se traduit en général par un excès de sécrétion correspondant à chaque zone du cortex surrénalien :

- L'hypercortisolisme est communément appelé syndrome de CUSHING. Il est souvent iatrogène dû à une utilisation prolongée et importante de stéroïdes médicamenteux, mais il peut être la résultante d'une tumeur surrénalienne – on parle alors d'un syndrome primaire – ou d'une tumeur hypophysaire voire d'une défaillance d'un rétrocontrôle efficace par le cortisol lui même. La symptomatologie se traduit par une exagération démesurée des effets du cortisol ; on observe donc une hyperglycémie sévère, un catabolisme protidique accru engendrant un amaigrissement musculaire avec asthénie, une ostéoporose, des problèmes cutanés



(vergetures...), une obésité tronculaire spécifique et une hypertension artérielle résultant de l'effet minéralocorticoïde du cortisol à haute dose (hypernatrémie avec rétention hydrique, hypokaliémie et alcalose extracellulaire).

- L'hyperaldostéronisme, ou syndrome de CONN, est le résultat d'une sécrétion exagérée de minéralocorticoïdes. Il peut être d'origine purement surrénalienne par l'action néfaste de petits adénomes dans la zone glomérulaire, on parle alors d'aldostéronisme primaire ou d'hyperaldostéronisme à rénine basse. Les manifestations classiques sont l'hypokaliémie, l'hypernatrémie, l'alcalose extracellulaire, l'hypertension artérielle par rétention hydrique accrue et des taux de rénine et d'angiotensine II normaux. Cependant, on peut trouver une autre étiologie au syndrome de CONN. En effet, la sténose de l'artère rénale et la diminution de la perfusion qui l'accompagne peuvent conduire à un hyperfonctionnement des cellules rénales juxtaglomérulaires et causer une élévation de la sécrétion de rénine et d'angiotensine II, provoquant ainsi un hyperaldostéronisme à rénine haute ou aldostéronisme secondaire et donnant un tableau clinique identique (sauf pour la rénine) à celui de l'affection primaire.
- L'hyperandrogénisme surrénalien va entraîner une virilisation de l'individu, en particulier de la femme, dès l'enfance. Cliniquement, on notera un développement accru du diamètre des épaules, de la musculature et surtout un hirsutisme du visage et des jambes. Elle résulte d'une atteinte tumorale des surrénales mais l'étiologie la plus fréquente de la surproduction d'androgènes reste un déficit enzymatique au sein même de la cascade biosynthétique de la glande (c'est la cause majeure des endocrinopathies chez l'enfant). En fait, même si le blocage enzymatique peut porter sur plusieurs types d'enzymes, à savoir la 21-hydroxylase, la 11-β hydroxylase



et la 3- $\beta$  déshydrogénase, l'hyperandrogénisme proviendra systématiquement d'un excès de sécrétion d'ACTH favorisant ainsi la production exagérée des produits en aval du bloc enzymatique.

## V. BIOCHIMIE, ACTION ET PHYSIOPATHOLOGIE DES HORMONES MEDULLOSURRENALIENNES

La médullosurrénale est une glande endocrine qui a la même origine embryologique que les ganglions du système nerveux périphérique sympathique. Cette partie de la glande est donc composée de cellules chromaffines capables de synthétiser, stocker et libérer trois substances aminées cholinergiques : l'adrénaline, la noradrénaline et, en moins grande quantité, la dopamine. Ces substances aminergiques agiront sur l'ensemble des organes en activant les récepteurs dits adrénergiques classés en deux groupes : les récepteurs  $\alpha$  et les récepteurs  $\beta$ .

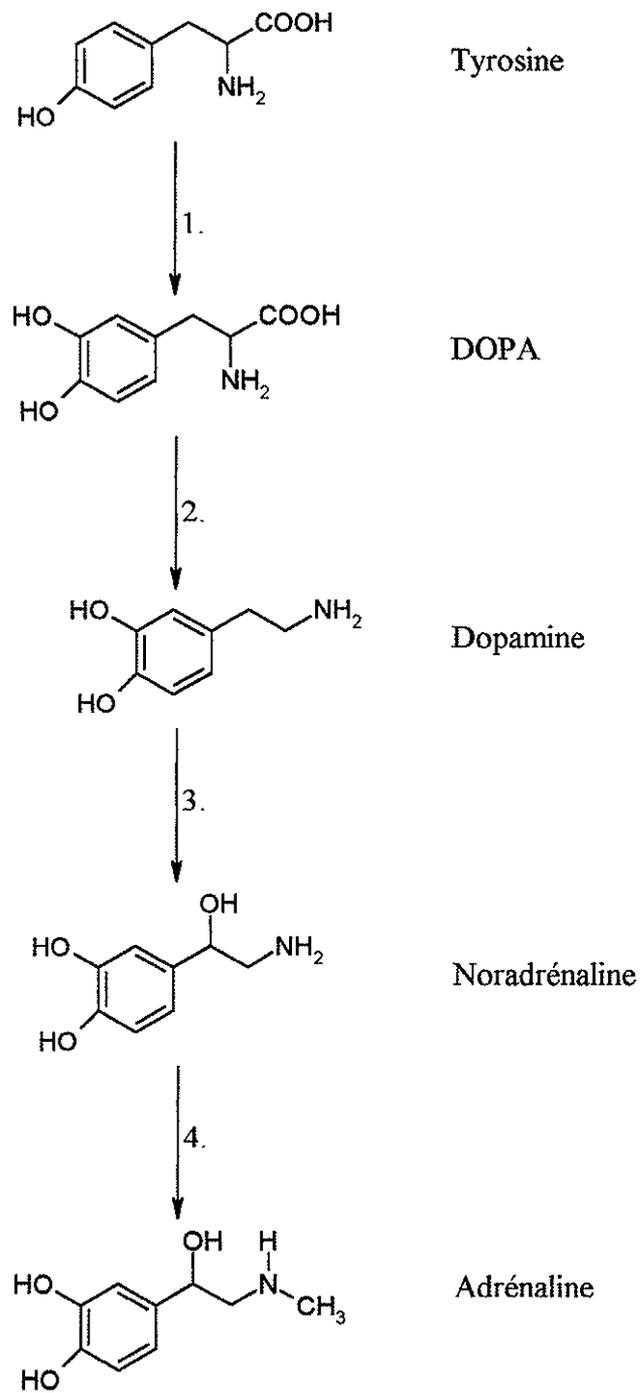
### 5.1. Biosynthèse des catécholamines (13,15,19,21,27,39)

Ce sont BLASCHKOE et AXELROD qui, en 1938, ont les premiers défini les voies de synthèse et de dégradation des hormones catécholaminergiques. Les catécholamines, toutes dérivées de la 3,4-dihydroxyphénylalanine, ont pour point de départ la tyrosine (figure 7). A partir de cet acide aminé, la biosynthèse des catécholamines implique seulement quatre étapes :

- Hydroxylation du noyau par la tyrosine hydroxylase, action constituant l'étape limitante de la biosynthèse des catécholamines, transformant ainsi la tyrosine en dihydroxyphénylalanine (DOPA).







*Figure 7 – Synthèse des catécholamines. (13)*  
1. Tyrosine hydroxylase ; 2. DOPA décarboxylase ;  
3. Dopamine β-hydroxylase ; 4. Phényléthanolamine N-méthyltransférèse (PNMT).



- La DOPA est décarboxylée en dopamine par la DOPA-décarboxylase.
- Hydroxylation de la dopamine par la dopamine  $\beta$ -hydroxylase aboutissant à la synthèse de la noradrénaline.
- La méthylation de la fonction amine (N-méthylation) transformera la noradrénaline en adrénaline. Cette étape se fait grâce à la catalyse de la noradrénaline par la phényléthanolamine N-méthyltransférase (PNMT).

Histologiquement, les cellules chromaffines se scindent en deux catégories : les cellules à adrénaline et les cellules à noradrénaline.

En effet, enzymatiquement, le produit final de la synthèse est l'adrénaline. Elle représente environ 80% de la totalité des catécholamines surrenaliennes. Cependant, certaines cellules, dites à noradrénaline, ne possèdent pas la PNMT responsable de la transformation de la noradrénaline en adrénaline, même si la quantité de noradrénaline présente dans le corps humain provient à 20% de la médullosurrénale.

## 5.2. Stockage, libération et transport des hormones de la médullaire surrenale (2,13,15,19,21,27)

Une fois synthétisées, les catécholamines sont stockées en majorité dans les granules denses sécrétoires au sein même des cellules chromaffines. On peut en fait distinguer deux compartiments intracellulaires de stockage à l'intérieur de la médullosurrénale : un compartiment de réserve composé des granules où les catécholamines sont à l'abri des enzymes de dégradation, et un compartiment libre intracytoplasmique (environ 20% des catécholamines) où les amines sont prêtes à être excrétées.



La libération des catécholamines dans le sang se fait par un mécanisme d'exocytose : chaque cellule chromaffine est innervée par un neurone sympathique préganglionnaire cholinergique ; l'acétylcholine sécrétée stimule le relargage des catécholamines des cellules chromaffines en les dépolarisant. Un influx d'ions  $Ca^{++}$  permet alors de conduire les granules vers la membrane plasmique qui, après fusion membranaire, déversent leur contenu dans l'espace extracellulaire, passant donc dans le sang.

Le transport plasmatique des catécholamines est quasiment inexistant. La quantité liée aux protéines (surtout l'albumine) étant faible, la dégradation des amines intervient rapidement, leur durée de vie devenant ainsi très courte.

### 5.3. Régulation des catécholamines (2,19,21,27)

Comme tout système endocrinien, la médullosurrénale est soumise à plusieurs systèmes de régulation concernant la synthèse et la sécrétion des hormones qu'elle produit.

Les catécholamines circulantes (adrénaline et noradrénaline) libérées au niveau de la médullosurrénale vont subir une régulation par un système de recapture pour être stockées au niveau des granules denses – captation de type I – ou pour y être dégradées – captation de type II. La réincorporation de type I concerne surtout la noradrénaline qui est alors internalisée par les terminaisons nerveuses sympathiques sous l'effet de la stimulation des récepteurs  $\alpha_2$ -présynaptiques. La captation de type II, dite cellulaire, se fait par un mécanisme de diffusion passive et entraîne la dégradation enzymatique des catécholamines surtout l'adrénaline. Cependant, la médullosurrénale, au contraire des nerfs sympathiques, ne répond que très peu à ces systèmes de recapture.

La médullosurrénale est la seule glande endocrine dont la commande est essentiellement nerveuse par l'action des fibres préganglionnaires cholinergiques



splanchniques. Leurs stimulations entraînent donc une augmentation de la synthèse et de la sécrétion de la noradrénaline et de l'adrénaline.

En plus de la régulation nerveuse et de la recapture, de nombreux facteurs « externes » pourront intervenir en déclenchant une augmentation de la sécrétion des catécholamines, par action nerveuse secondaire : baisse de la pression artérielle, hypoxie, hypercapnie, hypoglycémie, sensation de froid, douleur et stress émotionnel.

On peut noter aussi un système de rétrocontrôle négatif direct par les catécholamines qui inhibent les mécanismes enzymatiques de synthèse, notamment la tyrosine-hydroxylase.

Enfin, une régulation hormonale peut agir sur la sécrétion aminergique. Ainsi, le glucagon, l'ACTH et le cortisol l'activent alors que la vasopressine ou l'ocytocine la diminuent.

#### 5.4. Mécanismes d'action et propriétés physiologiques des hormones médullosurrénales

##### 5.4.1. Les récepteurs adrénergiques : mécanismes d'action (5,13,15,19,21)

Les catécholamines exercent leurs effets physiologiques en se fixant sur des récepteurs situés sur les membranes des cellules effectrices. Ces récepteurs transmembranaires appartiennent tous à la « superfamille » des récepteurs couplés à une protéine G, faisant intervenir alors un second messager (AMPc ou IP<sub>3</sub>, inositol-triphosphate) responsable de la cascade enzymatique suivant leur stimulation.



Les récepteurs adrénergiques répondent à une pharmacologie simple agoniste/antagoniste. C'est ALQUIST, en 1948, qui a le premier établi ce concept et cette classification.

Ainsi, on sait qu'il y a deux grands types de récepteurs pour l'adrénaline et la noradrénaline : les  $\alpha$ - et les  $\beta$ -récepteurs, qui se subdivisent eux-mêmes en différents sous-types.

Les récepteurs  $\beta$ , lorsqu'ils sont stimulés, mettent en action une protéine Gs stimulant l'adénylcyclase augmentant ainsi la concentration intracellulaire d'AMPc. On distingue actuellement 3 sous-types de récepteurs  $\beta$  adrénergiques :

- Les  $\beta$ 1 au niveau cardiaque,
- Les  $\beta$ 2 situés principalement sur les vaisseaux et l'arbre broncho-pulmonaire,
- Les  $\beta$ 3 exprimés dans le tissu adipeux.

Les récepteurs  $\alpha$  sont répartis en deux sous-unités qui ont un fonctionnement opposé, bien qu'ils soient en association avec une protéine G. Par ailleurs, leur différence physiologique se fait par l'étude de ces protéines effectrices :

- Les  $\alpha$ 1 sont associés à une protéine G intracellulaire n'ayant aucune « interconnexion » avec l'adénylcyclase et son second messager, l'AMPc. En fait, ces récepteurs adrénergiques sont couplés à une protéine G mettant en jeu une phospholipase C, enzyme qui catalyse la synthèse de diacylglycérol (DAG) et d'inositol-triphosphate ( $IP_3$ ) et qui provoque une augmentation de la concentration intracellulaire de  $Ca^{++}$ .



- Les  $\alpha_2$ , eux, sont couplés avec une protéine G en relation avec l'adénylcyclase responsable non plus d'une augmentation, comme pour les  $\beta$ -récepteurs, mais d'une diminution de la concentration en AMPc.

Classés selon un mode agoniste/antagoniste, les récepteurs adrénergiques réagissent différemment par rapport aux substances se fixant sur ces récepteurs. En nous limitant aux deux principales catécholamines de la médullosurrénale, on remarque une différence d'affinité pour les récepteurs  $\alpha$  et  $\beta$ . D'une manière générale, l'adrénaline, sécrétée presque exclusivement par la glande surrénale, active à la fois les récepteurs  $\alpha$  et  $\beta$  alors que la noradrénaline a un effet prépondérant sur les  $\beta$ -récepteurs.

Il est à noter également que l'on accorde une importance particulière à la localisation tissulaire de ces récepteurs par rapport à la synapse ; ainsi, on trouve des récepteurs présynaptiques et postsynaptiques, sachant que seuls les récepteurs  $\alpha_1$  sont exclusivement postsynaptiques.

#### 5.4.2. Effets physiologiques des hormones adrénergiques (13,15,19,21,39)

Les actions physiologiques des substances adrénergiques dépendent de nombreux facteurs, notamment de la quantité et du type de catécholamines (adrénaline ou noradrénaline), du type et du nombre de récepteurs stimulés, de l'organe cible, de la répartition des récepteurs sur cet organe et de leur sensibilité. Cependant, on peut scinder ces effets en deux catégories :

- Les effets viscéraux, qui résultent de l'action au niveau des muscles lisses (« organes creux » tels que le tube digestif, les vaisseaux, les bronches ou la rate), ou au niveau des muscles striés, notamment myocarde et muscles squelettiques.



– Les effets métaboliques, qui sont la conséquence de l'action des catécholamines sur le foie, le tissu adipeux et les glandes endocrines.

a. Les effets viscéraux

▪ Au plan cardiovasculaire (15,19,21)

Les effets cardiaques de l'adrénaline et de la noradrénaline, en moins grande proportion, sont dus à la stimulation des récepteurs  $\beta_1$  myocardiques, le muscle cardiaque ne possédant pas de récepteurs  $\alpha$ . Ainsi, on note au niveau du cœur :

- une augmentation de la contractilité du cœur (effet inotrope positif).
- une augmentation de la fréquence cardiaque (effet chronotrope positif), entraînant donc une tachycardie et un meilleur débit.
- Une amélioration de la conduction des cellules nodales (effet dromotrope positif).
- Une augmentation de l'excitabilité myocardique (effet bathmotrope positif).

Les effets vasculaires des amines surrenaliennes s'expliquent par la corrélation synergique de la stimulation des récepteurs  $\alpha_1$  et  $\beta_2$ . De manière isolée, les catécholamines entraînent une vasodilatation par un effet  $\beta_2$  et une vasoconstriction par les récepteurs  $\alpha_1$ . Ainsi la noradrénaline, par affinité préférentielle pour les récepteurs  $\alpha_1$ , élève la pression artérielle par vasoconstriction alors que l'adrénaline provoquera une vasodilatation par stimulation des  $\beta_2$ -récepteurs. Cependant, lorsque la concentration de



l'adrénaline est forte, les effets  $\alpha_1$  prédominent sur les effets  $\beta_2$ , provoquant alors une vasoconstriction et donc une hypertension artérielle.

En résumé, lorsque la stimulation est accrue, on peut dire que ces deux hormones sont hypertensives.

- Au niveau des muscles lisses (13,15,19,21,39)

Par l'intermédiaire des récepteurs  $\beta_2$ , l'adrénaline entraîne une relaxation des muscles lisses bronchiques (= bronchodilatation), de la vessie, de l'utérus, du tube digestif (= ralentissement du transit intestinal) et de la vésicule biliaire.

b. Les effets métaboliques

- Au plan organique (13,15,21,39)

L'adrénaline va accroître la glycémie en stimulant les récepteurs  $\beta_2$  hépatiques responsables d'un effet positif sur la néoglucogenèse et la glycogénolyse.

La lipolyse est également influencée par les catécholamines. Ainsi, par le biais des  $\beta$ -récepteurs du tissu adipeux, elles stimulent l'action de la triglycéride-lipase et augmentent donc la concentration des acides gras libres dans le sang.

- Au plan hormonal (13,15,21,27)

L'adrénaline stimule la sécrétion du glucagon, par un effet  $\beta_2$ , et inhibe celle de l'insuline par un effet  $\alpha_2$ . Ainsi, l'action combinée d'un effet  $\beta$ -adrénergique direct et  $\alpha_2$  indirect est la réponse physiologique mise en œuvre face à une hypoglycémie.

Les catécholamines pourront agir, dans une plus faible proportion, sur la sécrétion de rénine (effet  $\beta_2$ ) ou sur la parathormone (PTH).



## 5.5. Métabolisme des catécholamines

### 5.5.1. Inactivation et catabolisme (5,15,21,27,39)

La dégradation des amines surrenaliennes est très rapide en raison d'une demi-vie extrêmement courte – une injection d'adrénaline radiomarquée demeure moins de 15 secondes dans le flot sanguin. En fait, une fois libérées, les catécholamines subissent deux types d'inactivation :

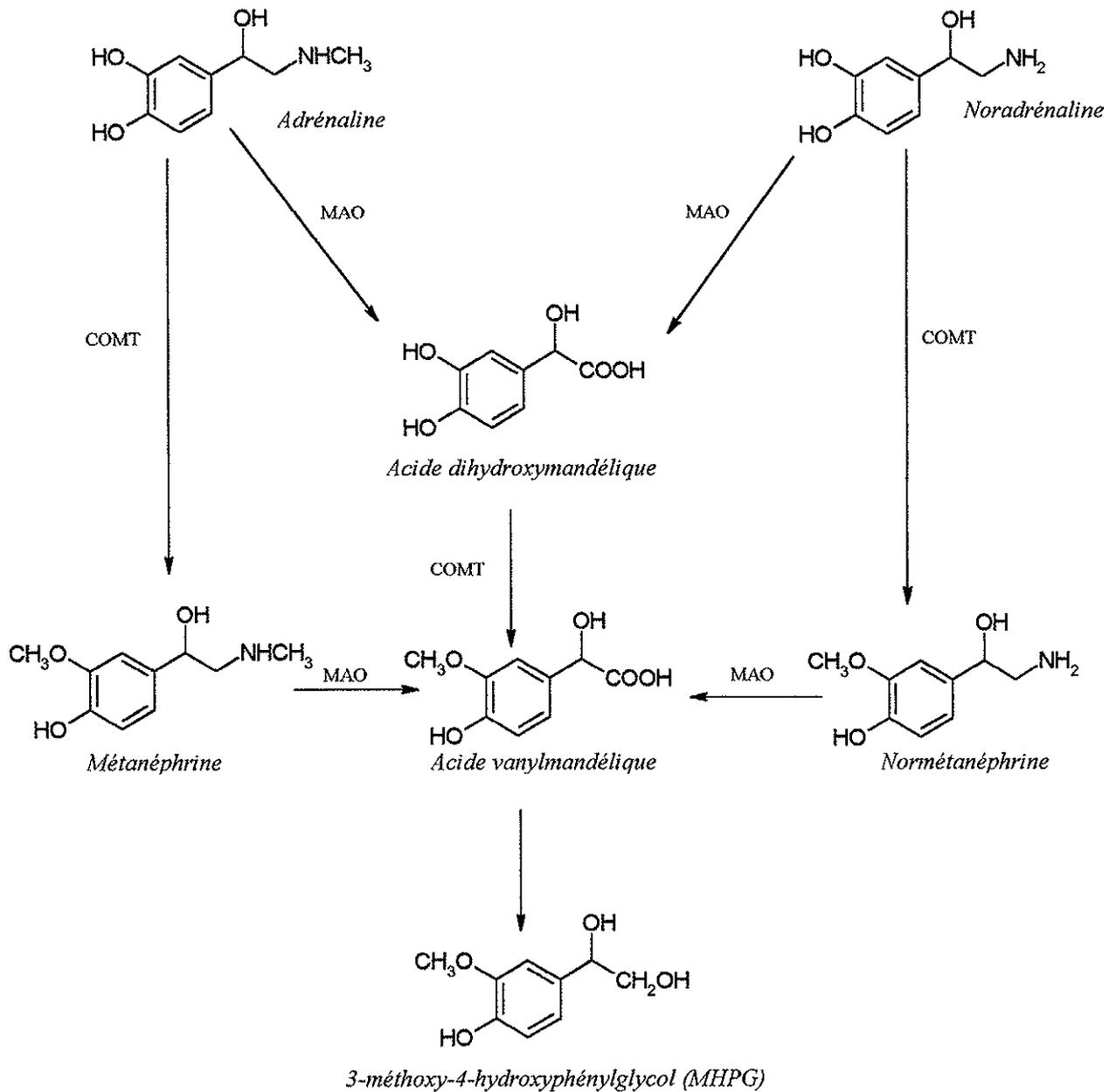
Il existe un recaptage, actif ou passif, par les cellules de la médullosurrénale mais surtout par les terminaisons nerveuses sympathiques, qui, par des phénomènes de stockage ou de métabolisme, permettent un abaissement des quantités disponibles au niveau des récepteurs postsynaptiques effecteurs.

Intervient aussi une dégradation chimique catalysée essentiellement par deux enzymes, la COMT (Catéchol-O-Méthyl Transférase) et la MAO (MonoAmine-Oxydase) ; ces enzymes n'agissent pas dans un ordre prédéfini mais l'une ou l'autre peut attaquer en premier les catécholamines :

- Si on a une action première de la COMT, voie prépondérante pour les amines de la médullosurrénale, les catécholamines sont transformées en dérivés méthoxylés, à savoir la métanéphrine et la normétanéphrine pour, respectivement, l'adrénaline et la noradrénaline. On parle génériquement de métanéphrines pour nommer les dérivés méthoxylés des catécholamines.
- Si l'étape primaire du catabolisme est assurée par la MAO, l'adrénaline et la noradrénaline subissent une désamination oxydative et seront uniformément transformées en acide dihydroxymandélique.



➤ Quelque soit la cinétique réactionnelle, le terme de cette métabolisation sera systématiquement l'acide vanylmandélique (VMA) qui s'oxyde par la suite en 3-méthoxy-4-hydroxyphényl glycol (MHPG).



*Figure 8 – Métabolisme des catécholamines. (13)*  
MAO : MonoAmine Oxydase ; COMT : Catéchol-O-Méthyl Transférase.



### 5.5.2. Excrétion urinaire (5,13,15,21,39)

Les catécholamines et leurs métabolites sont éliminés par les voies urinaires sous forme de composés hydrosolubles sulfo- et glucurono-conjugués. Tous les métabolites de la chaîne catabolique sont représentés dans le flot urinaire mais les dérivés désaminés sont les composés majoritaires. Ainsi, le VMA compte pour 60 à 80% des catabolites urinaires (soit 5 mg/24H), les métanéphrines, dérivés méthoxylés, 20 à 30% (1 mg/24H), alors que les catécholamines non modifiées, c'est à dire les formes conjuguées de l'adrénaline et de la noradrénaline, sont minoritaires (50 à 100 µg/24H) (15).

### 5.6. Physiopathologie de la médullosurrénale (2,15,27)

Comme tout système endocrinien, la médullosurrénale peut être le siège d'un hyperfonctionnement ou, *a contrario*, d'un hypofonctionnement.

- L'hyperfonctionnement se traduit par une hypertension artérielle (HTA) paroxystique caractérisée par des crises d'HTA ponctuelles avec, dans un premier temps, aucun trouble tensionnel entre les crises mais qui va évoluer chroniquement vers une HTA permanente et, à terme, vers une insuffisance cardiaque et rénale sévère. Ce syndrome est provoqué, non pas par un dysfonctionnement direct de la glande, mais par l'intervention d'une tumeur sécrétrice de catécholamines, également d'origine neurectodermique, nommée phéochromocytome. Le diagnostic se fait par l'association de la symptomatologie clinique (hypertension) et des différents dosages urinaires des catécholamines et de leurs métabolites dont les concentrations se trouvent augmentées.



- L'hypofonctionnement de la médullosurrénale est une pathologie d'incidence faible. La déficience de la glande ne survient que très rarement. Par ailleurs, elle n'entraîne que très peu de troubles. On notera simplement une possibilité d'hypotension ou d'hypoglycémie mais les hormones du cortex surrénalien pourront, par leur puissance d'action, contrecarrer ces effets délétères. Cependant, dans le cas d'une déficience sévère, voire totale, les possibilités d'adaptation à une variation brutale au niveau de l'organisme (sensation intense de froid, stress émotionnel, hypoglycémie, hypotension, hémorragie) seront assez limitées. Malgré tout, une thérapeutique hormonale substitutive n'est pas requise sauf si il y a destruction des deux glandes surrénales.



DEUXIEME PARTIE :  
LE PHEOCHROMOCYTOME :  
UNE TUMEUR CHROMAFFINE.



## I. GENERALITES (1,5,11,15,22,26,34,42)

Les phéochromocytomes sont des tumeurs, bénignes ou malignes, qui dérivent du tissu chromaffine sécrétant des catécholamines (dopamine, adrénaline et noradrénaline). Dans 90% des cas, ils se développent au sein de la glande surrénale alors que pour les 10% restants, ils se différencient à partir des reliquats de cellules chromaffines extra-surréaliennes. C'est une affection relativement rare puisqu'elle ne touche que 1 à 5 personnes sur 100 000 (11).

Les manifestations cliniques du phéochromocytome consistent essentiellement en une hypertension artérielle due à la libération excessive de catécholamines. Cette hypertension se manifeste sous deux formes :

- ✓ L'hypertension artérielle peut être paroxystique. Elle est alors souvent associée à trois symptômes – sueurs, céphalées et palpitations – que l'on appelle triade paroxystique, et est déclenchée, d'une manière générale, par un stimulus externe.
- ✓ Elle peut également être permanente avec des poussées paroxystiques par crises, associée donc à la triade caractéristique.

L'évolution du phéochromocytome, par défaut de diagnostic précis, expose à des accidents cardiovasculaires graves et quelquefois fatals. Au vu de ces complications, bien que le caractère malin d'emblée soit faible (pour 10% des cas de tumeurs chromaffines), le diagnostic devrait être plus systématique devant un tableau clinique d'hypertension, même si cette pathologie surrénalienne ne représente que 0,5% de tous les cas d'hypertension.

Un approfondissement du diagnostic se fera sur un dosage des métabolites méthoxylés des catécholamines, à savoir la métanéphrine, la normétanéphrine et l'acide vanylmandélique (VMA) associé à un diagnostic radiologique (scanner...) et d'imagerie (IRM). Une fois ce diagnostic positif et définitif, le traitement n'a pas d'autres alternatives que l'exérèse chirurgicale mais cette intervention lourde redonnera son état complet de santé au patient opéré.



## II. HISTORIQUE (26,28,36)

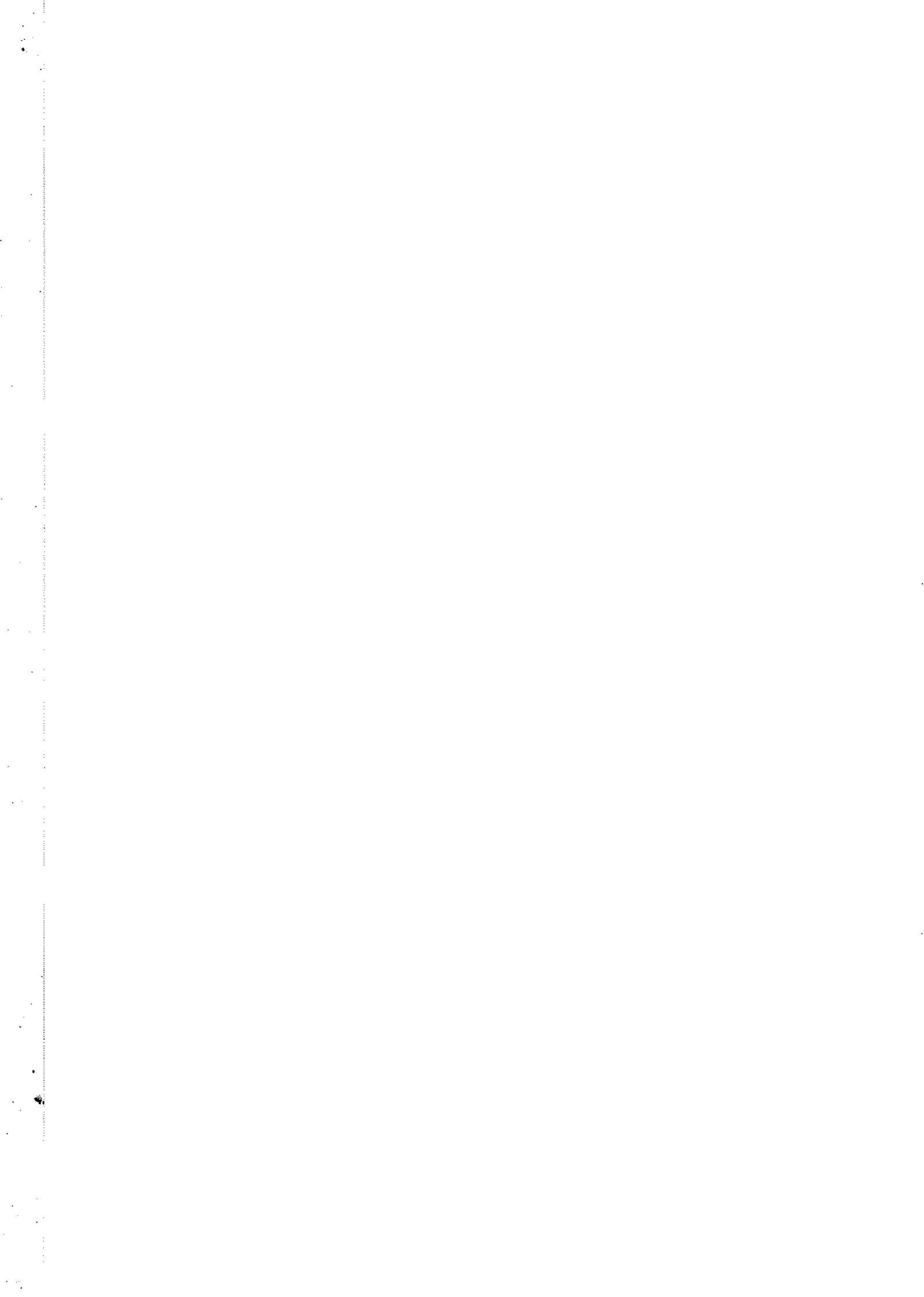
Le phéochromocytome est une tumeur développée aux dépens de la médullosurrénale.

D'un point de vue historique, l'existence de tumeurs de la médullaire surrénalienne a été signalée en 1886 par FRAENKEL mais la première description clinique ne date que du début du siècle dernier : c'est en 1922 que LABBE, TINEL et DOUMER décrivent un syndrome d'hypertension paroxystique lié à la présence d'une tumeur chromaffine découverte à l'autopsie du patient. Cependant, ce n'est qu'en 1927 que MAYO a réalisé la première exérèse chirurgicale d'une tumeur surrénalienne avec succès.

Le terme de phéochromocytome a été créé en 1912 par PICK pour rappeler l'affinité de certaines tumeurs, à la fois médullo-surréaliennes et extra-surréaliennes, pour les sels de chrome, affinité que l'on peut comparer à la réaction chromaffine des cellules constitutives normales de la médullaire surrénale. Par ailleurs, c'est BALL qui en précise l'embryologie : la crête neurale se différencie en cellules ganglionnaires et en cellules chromaffines. Ce sont ces cellules qui forment à la fois la partie médullaire de la glande surrénale et aussi tout le territoire sympathique périphérique, BALL expliquant ainsi les localisations rénale et supra-rénale des phéochromocytomes.

## III. SYMPTOMATOLOGIE ET ASPECTS CLINIQUES DU PHEOCHROMOCYTOME

L'expression clinique du phéochromocytome se traduit le plus souvent par de l'hypertension artérielle, conséquence évidente et directe des décharges excessives et accrues de catécholamines par la tumeur chromaffine. Les formes hypertensives, avec une hypertension artérielle permanente ou paroxystique, ne sont pas une constante, bien qu'elles représentent une grande majorité des cas. En effet, la pathologie peut prendre d'autres formes moins évocatrices d'un phéochromocytome - on les nommera « formes atypiques ».



### 3.1. Les formes hypertensives

L'hypertension artérielle, bien qu'elle ne constitue pas un élément spécifique et précis de la présence d'un phéochromocytome, est présente dans environ 85% des cas. Cette expression clinique de la tumeur se manifestera sous forme d'hypertension artérielle paroxystique ou sous forme d'hypertension permanente.

#### 3.1.1. L'hypertension artérielle paroxystique (15,22,26,32)

Très spectaculaires, les manifestations paroxystiques du phéochromocytome sont les plus évocatrices de la maladie depuis leurs descriptions primitives de LABBE, TINEL ET DOUMER en 1922. Malheureusement, elles s'avèrent les plus rares puisqu'elles représentent moins d'un cas sur quatre des tumeurs avérées (d'après R. MORNEX en 1987 (26)).

Ces poussées hypertensives, dues à une brusque libération hormono-aminergique, surviennent en général de manière inopinée, mais peuvent être aussi souvent déclenchées par certains facteurs influençant de très près la décharge catécholaminergique, à savoir :

- Des mouvements et stimuli divers tels que toux, défécation, coït, effort physique, traumatisme, changement brusque de position (antéflexion du tronc), intervention chirurgicale même minime (stomatologie...), intense émotion, etc.... ,
- Une prise médicamenteuse ayant une action directe ou indirecte vis à vis des catécholamines ( $\beta$ -bloquants, antidépresseurs tricycliques, opiacés, DOPA et dérivés,...),
- L'ingestion d'aliments contenant des substances aminées.

L'accès débute brutalement par des douleurs importantes ascendantes, des membres inférieurs au cerveau, se limitant *in fine* à des céphalées pulsatiles intenses. Cette crise douloureuse s'accompagne d'une pâleur extrême du visage



et des extrémités, de sueurs profuses et d'une accélération brutale à la fois de la force et de la fréquence cardiaque (tachycardie et palpitations), caractérisant la triade paroxystique évocatrice d'une tumeur chromaffine.

Durant cette poussée de tension, la pression artérielle subit une augmentation brutale atteignant des chiffres, tant diastolique que systolique, extrêmement élevés (au delà de 25/13 mm de mercure(Hg)). Les crises, dont les disparitions interviennent aussi brutalement que les apparitions, sont en général de courte durée, en moyenne quelques dizaines de minutes mais peuvent aussi durer quelques heures. La répétition des crises est très variable. Cependant, leur fréquence sera croissante en même temps que leur sévérité. Ainsi, cette poussée hypertensive peut provoquer des accidents parfois dramatiques : infarctus du myocarde, œdème aigu du poumon, hémorragie méningée ou cérébro-méningée, cécité transitoire signant ainsi la malignité d'une telle tumeur.

### 3.1.2. L'hypertension artérielle permanente (5,15,22,26,32,34)

L'hypertension artérielle permanente s'observe dans 60% des cas. En présence d'un phéochromocytome, le chiffre artériel systolique, observé avec ou sans traitement antihypertenseur, peut atteindre, voire aisément dépasser, 20 mm de Hg. Le chiffre, instable d'un jour à l'autre, se situe toujours au-delà de la limite supérieure systolique définissant une hypertension artérielle, à savoir 16 mm de Hg.

Cette hypertension réfractaire peut s'accompagner des mêmes symptômes que ceux de la forme paroxystique, c'est à dire la triade « palpitations, céphalées et sueurs », ainsi qu'une hypotension orthostatique. Par ailleurs, la fiabilité diagnostique du phéochromocytome atteint 100% si l'hypertension artérielle permanente est associée aux clochers paroxystiques, à une hypotension orthostatique intermittente et à une résistance aux traitements adaptés.

Cette forme hypertensive peut être parfaitement banale mais peut aussi revêtir un caractère malin. Dans ce dernier cas, le retentissement de



l'hypertension artérielle permanente de la tumeur chromaffine étant sélectif, la gravité porte plus sur la sphère céphalo-oculaire que sur le cœur ou le rein.

En effet, lorsqu'on effectue un fond d'œil sur un sujet atteint, les signes de rétinopathie peuvent s'installer dans un bref délai, atteignant rapidement les stades ultimes III et IV.

### 3.2. Les formes atypiques (5,15,22,26,32,34)

Les formes cliniques habituelles s'expliquent symptomatologiquement de manière atypique pour des raisons diverses et variées. Elles sont moins fréquentes que les formes classiques hypertensives mais n'en sont pas moins importantes puisque la connaissance parfaite de ces symptômes permet de définir la présence d'une tumeur. Dans le cas inverse, ces manifestations atypiques pourront retarder ou fausser le diagnostic :

- Un seul symptôme peut être rencontré : migraine, trouble du rythme, hypertension orthostatique...d'autres cas à l'extrême se développeront pendant plusieurs années sans aucune expression clinique, la découverte de la tumeur chromaffine étant effective à l'occasion d'une échographie réalisée dans un autre but : on parle alors d'incidentalome.
- L'état de grossesse chez une femme dépourvue de symptômes d'hypertension peut être une circonstance révélatrice de phéochromocytome (un cas sur quatre chez la femme). Dans ce cas, il est à la fois d'une extrême gravité pour la mère (risque d'hémorragie ou de choc adrénergique complet lors de la délivrance) ou pour l'enfant (avortement ou mort *in utero*).
- Les formes dites métaboliques ou endocriniennes sont révélatrices indirectement d'un phéochromocytome par la variation d'un facteur biologique sans explication pathologique rationnelle. Ainsi un trouble de la glycorégulation, par un effet alpha-aminergique positif, une hypercalcémie, un tableau pseudohyperthyroïdien ou un



syndrome digestif associant vomissements, douleurs abdominales et diarrhées, dû au vasoactive intestinal peptide (VIP) secrété par la tumeur, seront les signes dominateurs et révélateurs du phéochromocytome.

- La forme atypique la plus grave, en tenant compte de l'atteinte rapide et sévère du patient sera le choc adrénergique. Il s'agit d'une complication des plus redoutables qui peut être provoquée par un traumatisme, une exploration radiologique ou une intervention chirurgicale des plus simples entraînant un remaniement de la tumeur et une libération accrue, excessive et démesurée de catécholamines.

La crise apparaît brutalement par des signes avant-coureur d'une forme paroxystique avec une très forte douleur lombaire unilatérale en rapport avec le coté de la localisation de la tumeur, une hypertension artérielle extrême, des sueurs profuses et une pâleur des membres. Puis s'en suit une chute instantanée des chiffres tensionnels, une tachycardie importante et un pouls filant traduisant un collapsus cardiovasculaire majeur qui se soldera, en l'absence d'un traitement réanimateur rapide, par un décès cardiaque brutal.

### 3.3. Les formes familiales et génétiques : association à d'autres pathologies

On estime, après différentes études cliniques (15,32), qu'environ 10% des phéochromocytomes sont familiaux. Dans les lignées touchées, la transmission de la pathologie se fait selon un mode autosomique dominant lié à une forte pénétrance. D'une manière générale, ce type de tumeur génétiquement transmise est plus fréquemment bilatérale voire multiple mais ce multicentrisme ne joue en rien sur le caractère malin de la tumeur chromaffine. En effet, ni la localisation, ni le nombre ou le poids de la tumeur, ni même l'analyse histologique ne sont des signes spécifiques et discriminatifs des phéochromocytomes malins. Le seul critère de malignité est la présence de tissu tumoral secrétant et/ou de métastases



dans des zones anatomo-organiques qui sont normalement dépourvues de cellules chromaffines (os, poumons, foie, ganglions périphériques...).

Les formes familiales peuvent être des formes tumorales isolées, que l'on peut alors qualifier de « classiques » mais plus généralement, les phéochromocytomes transmis génétiquement s'associent volontiers à certaines pathologies non endocriniennes telles que les phacomatoses ou encore à une ou plusieurs autres atteintes endocriniennes.

### 3.3.1. Association avec les phacomatoses (12,15,22,32,36)

Par définition, les phacomatoses (10,24) constituent un groupe de maladies héréditaires non endocriniennes caractérisées par des tumeurs bénignes multiples et variées qui ont pour caractère commun l'existence de petits angiomes-plans de la peau et des muqueuses.

Ce terme générique englobe donc la sclérose tubéreuse (phacomatose de BOURNEVILLE), la maladie de von HIPPEL-LINDAU, le syndrome de STRUGE-WEBER-KRABBE et la neurofibromatose de von RECKLINGHAUSEN.

Il est fréquent de retrouver la présence d'une tumeur catécholaminergique lorsqu'est évoquée l'une de ces pathologies. D'ailleurs la coexistence d'un phéochromocytome et d'une neurofibromatose de von RECKLINGHAUSEN a été signalée à maintes reprises, l'association avec les autres phacomatoses étant plus relative. Ainsi, il est systématiquement suspecté et recherché la présence d'un phéochromocytome lorsqu'un sujet présente l'un ou l'autre de ces syndromes.



### 3.3.2. Les formes familiales et les néoplasies endocriniennes multiples (NEM) (12,15,22,28,30,32,36)

Le phéochromocytome peut être associé à différentes tumeurs endocrines héréditaires dans le groupe des néoplasies endocrines multiples (NEM ou MEN), particulièrement fréquentes dans les formes familiales de tumeur aminergique.

Il s'agit de cancers multifocaux des cellules endocrines issues des crêtes neurales. C'est une maladie familiale dont la transmission est autosomique dominante. On distingue alors trois types de NEM associées au phéochromocytome :

- Le syndrome de WERMER, nommé encore neuroendocrinopathie multiple de type I associant le phéochromocytome à une hyperparathyroïde et une tumeur pancréatique ainsi qu'un adénome hypophysaire sécrétant.
- La NEM de type IIa, ou syndrome de SIPPLe, associe au phéochromocytome, bénin ou malin, souvent bilatéral, un cancer médullaire de la thyroïde (CMT) développé aux dépens des cellules C à calcitonine et une hyperparathyroïdie réactionnelle à l'hypocalcémie engendrée par les cellules C du carcinome thyroïdien.

Par ailleurs, les cellules C de la thyroïde et les cellules chromaffines auraient la même origine neuroectodermique. Ainsi, un patient porteur d'un cancer médullaire de la thyroïde voit son risque de développer un phéochromocytome passer au dessus de 50%.



- Le groupe des NEM IIb, ou syndrome de GORLIN, portera, en plus des symptômes de la NEM IIa, un syndrome marfanoïde et une prolifération neuromuqueuse buccolinguale et digestive.

Dans le cas d'association phéochromocytome-CMT, le diagnostic du cancer thyroïdien repose sur la recherche de l'antigène carcinoembryonnaire de la tumeur et le dosage sanguin de la thyrocalcitonine en regard d'une injection de pentagastrine. Ainsi, dans les familles atteintes de NEM de type II, les sujets pourront être dépistés grâce au progrès de la biotechnologie et de la génétique. De ce fait, il est établi qu'ils sont tous porteurs d'une mutation de l'oncogène RET situé sur le chromosome 10 (15,30).

D'autres endocrinopathies associées à un phéochromocytome ont été décrites : acromégalie, syndrome de CUSHING ou autres signes d'hypercorticisme surrénalien tels que l'obésité tronculaire, l'hirsutisme, l'élévation de l'élimination urinaire des métabolites des hormones corticosurréaliennes... Ces faits sont en majorité imputés en grande partie à l'excitation du cortex surrénalien sous l'influence des fortes décharges adrénergiques.

### 3.4. Les formes anatomocliniques du phéochromocytome et la malignité des tumeurs (5,15,22,28,30,32)

- Les formes cliniques habituelles se traduisent par des manifestations hypertensives, que ce soit de l'hypertension paroxystique ou permanente. Elles représentent la grande majorité des phéochromocytomes c'est à dire environ 80% des cas.
- Les formes atypiques, précédemment évoquées, ou les formes familiales comptent pour chacune environ 10% des tumeurs recensées.



- D'un point de vue général, l'ensemble des études menées sur le phéochromocytome indique que 80% d'entre eux, quel que soit leur « typage », sont surrenaliens et le plus souvent unilatéraux, les tumeurs extra-surrenaliennes restant toujours localisées au niveau de l'abdomen (région para-aortique avec particulièrement l'organe de ZUCKERKANDL, hile rénal).
- Par contre, la malignité des tumeurs peut être évoquée quel qu'en soit l'étiquetage. En conséquence, on a pu démontrer par des études approfondies que les phéochromocytomes malins représentent environ 10% de l'ensemble des tumeurs. Bien que le caractère malin soit heureusement rare, il est très difficile à prouver. En effet, aucun signe particulier, biologique, cellulaire, localisation..., ne peut témoigner de la gravité d'un phéochromocytome. C'est pourquoi, l'examen anatomopathologique de l'exérèse n'est d'aucun secours car ni la présence de mitoses anarchiques, ni l'existence de cellules tumorales dans la capsule ou les vaisseaux irriguant le phéochromocytome, ni le polymorphisme cellulaire et nucléaire ne peuvent être considérés comme critères de malignité. En fait, seule la constatation de cellules chromaffines dans un tissu organique normalement dépourvu de ces éléments cellulaires, c'est à dire une métastase dans le foie, les os, les poumons et/ou les ganglions ou la récurrence d'une tumeur opérée peuvent signer le caractère malin d'un phéochromocytome. Cependant, les tumeurs multiples et/ou extra-surrenaliennes et/ou associées à d'autres pathologies (NEM, phacomatoses...) ne peuvent en aucun cas, être considérées comme malignes.



#### IV. DIAGNOSTIC DU PHEOCHROMOCYTOME : DE LA BIOLOGIE AL'IMAGERIE

Il est vraisemblable que bon nombre de phéochromocytomes sont totalement méconnus pour le plus grand préjudice des malades. Cela s'explique par la complexité et la rareté propre à la pathologie et, par conséquent, à la difficulté accrue du diagnostic. Pour ce faire, la démarche diagnostique comporte trois étapes :

- Le dépistage qui se propose de repérer à partir de données cliniques simples les patients ayant une forte prévalence d'avoir une tumeur chromaffine,
- Le diagnostic biochimique comprenant un ensemble de tests sensibles et spécifiques chez ces patients,
- La topographie entreprise après la démonstration clinique et biochimique d'une sécrétion pathologique de catécholamines.

##### 4.1. Le diagnostic clinique : évocation d'un phéochromocytome (7,12,16,23,28,30)

D'un point de vue clinique, l'hypertension artérielle constitue un élément prédominant de la présence d'une tumeur chromaffine. Les circonstances d'un diagnostic de suspicion des phéochromocytomes sont bien établies :

- Il s'agit classiquement de l'hypertension artérielle permanente avec la triade paroxystique – associant céphalées, sueurs profuses et troubles du rythme cardiaque à type de palpitations. Cette triade symptomatologique est un motif fréquent de dépistage et offre une sensibilité de 90% et une valeur d'exclusion proche de 100%.

Si l'hypertension artérielle permanente représente 50% des cas de tumeurs, l'hypertension artérielle paroxystique reste aussi une hypothèse évocatrice d'un phéochromocytome.



Cependant, dans ces deux cas, l'hypertension artérielle est sévère et résistante aux traitements les plus lourds pour éradiquer la symptomatologie hypertensive (bi voire trithérapie), avec une fréquence de plus en plus élevée de l'apparition des crises paroxystiques.

Ainsi, l'évocation de ces différentes formes d'hypertension doit faire suspecter la présence d'un phéochromocytome. Chez le sujet hypertendu, ces symptômes, isolés ou regroupés, sont volontiers associés à trois autres signes orientant vers la confirmation diagnostique du phéochromocytome, à savoir l'hypotension orthostatique, un amaigrissement et une intolérance importante au glucose.

- Si la recherche d'une tumeur chromaffine est indiquée dans les hypertensions artérielles sévères et résistantes, elle s'impose dans les cas de tumeurs surrenaliennes de découverte fortuite (incidentalome) et dans les maladies familiales et génétiques étroitement associées au phéochromocytome. En effet, bien qu'elles soient rares, les phacomatoses ou les NEM (de type I, IIa ou IIb) comportent dans leurs tableau clinique une tumeur chromaffine dans une grande proportion. Dans ces différentes pathologies à transmission autosomique dominante, on recherchera les signes prémonitoires chez le patient lui même et chez tous membres de sa famille les plus directs.

#### 4.2. Le diagnostic biologique : confirmation biochimique

##### 4.2.1. Généralités (5,7,12,15)

Le diagnostic positif de phéochromocytome repose sur le dosage des catécholamines et de leurs métabolites, métanéphrine, normétanéphrine et acide vanylmandélique (VMA), qui se retrouvent à la fois dans les urines et dans le



plasma. Ainsi, on peut obtenir la confirmation de la présence d'une tumeur aminergique sécrétante en faisant des tests hormonaux sur les urines ou le plasma ou des tests pharmacodynamiques provoqués, sachant que les dosages urinaires restent l'élément décisionnel le plus fiable et donc, le plus pratiqué. Cependant, affirmer la présence d'un phéochromocytome constitue l'étape la plus complexe du diagnostic. Par ailleurs, compte tenu de la rareté du ou des tumeurs chromaffines, ces dosages hormonaux doivent être réservés aux patients qui présentent les signes cliniques suspects évoqués. De ce fait, quelques règles doivent être respectées :

- L'analyse des résultats biochimiques doit tenir compte du débit irrégulier et intermittent de la sécrétion des catécholamines et de la demi-vie brève de ces produits.
- Nombre de précautions pour les prélèvements et l'échantillonnage doivent être prises. Pour les dosages urinaires, il est nécessaire de collecter la totalité des urines sur 24 heures en ayant soin d'écartier tous les processus susceptibles d'interférer sur la libération des catécholamines.
- Tout médicament, tout aliment ou toute situation qui auront une influence sur le métabolisme des substances aminergiques, et *a fortiori* sur les dosages (tableau 1), devront être interrompus dans un temps minimum avant la collecte, à savoir 24 heures pour les médications et trois jours pour les aliments.

Stimulation des catécholamines endogènes	Catécholamines exogènes	Interférences médicamenteuses (affectant le métabolisme ou le dosage, parfois même en HPLC)
Emotion ou agression physique (insuffisance coronaire, accident vasculaire cérébral, hypoglycémie...) Intervention chirurgicale, sevrage (alcool, clonidine) Médicaments (théophylline, dérivés nitrés)	Vasoconstricteurs systémiques ou locaux (gouttes nasales) Bronchodilatateurs	$\alpha$ -méthylidopa Inhibiteurs de monoamine oxydase Alpha et bêtabloquants, labétalol Phénothiazines et antidépresseurs tricycliques Produits de contraste iodés.

Tableau 1 - Substances et situations susceptibles d'interférer avec la concentration de catécholamines et de leurs métabolites. (7)



#### 4.2.2. Les tests pharmacodynamiques (7,15,26,32)

Pendant longtemps, les méthodes de stimulation ou d'inhibition des effets des catécholamines ont été utilisées pour diagnostiquer un phéochromocytome. Depuis la mise au point des dosages hormonaux urinaires ou sanguins, les tests pharmacodynamiques ont une place restreinte dans la confirmation de la présence d'une tumeur et seront réservés aux cas où les dosages courants sont douteux.

- Deux tests de stimulation peuvent être encore utilisés à condition qu'ils soient réalisés dans un cadre hospitalier spécialisé avec une surveillance médicale stricte.
  - Il existe le « test au glucagon » qui est déclaré positif si le taux de base des catécholamines circulantes est triplé après une injection intraveineuse d'1 mg de glucagon.
  - Le « test au sulpiride » est aussi pratiqué. L'injection de 100 mg en intra-musculaire doit faire augmenter les chiffres tensionnels de quelques mm de Hg.
- Un test d'inhibition, peut être aussi effectué. On parle alors de « test à la clonidine ». En effet, la clonidine, agoniste des récepteurs adrénergiques  $\alpha_2$ , réduit l'activité sympathique et la libération périphérique de noradrénaline par activation des récepteurs  $\alpha_2$  centraux présynaptiques. Sachant que le phéochromocytome ne peut qu'échapper au contrôle synaptique, celui-ci n'étant pas innervé par le système nerveux périphérique, la clonidine n'a aucun effet sur l'hypersécrétion tumorale des catécholamines : de ce fait, en faisant un dosage de catécholamines initial et trois heures après une administration de 0,3 mg de clonidine, on constate que les concentrations en adrénaline et noradrénaline diminuent fortement chez les patients n'ayant pas développés de phéochromocytome. Ainsi BRAVO *et al.* (32) ont mis au point ce test pour augmenter la sensibilité des dosages plasmatiques ; par ailleurs, le test permet, avec



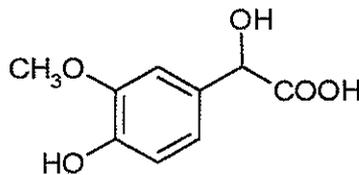
cette inhibition, d'écarter les faux positifs résultant de l'augmentation de la tension artérielle due au stress.

#### 4.2.3. Les dosages urinaires (12,15,26,32)

Le diagnostic biologique du phéochromocytome repose très largement sur les dosages urinaires. En effet, les nouvelles méthodes apparues ces deux dernières décennies ont permis d'atteindre un degré satisfaisant de sensibilité, de spécificité et de fiabilité. Ainsi, grâce aux techniques de chromatographie, notamment de Chromatographie Liquide de Haute Performance (HPLC), on peut doser les catécholamines surrénaliennes et leurs métabolites, c'est à dire les méthoxyamines et l'acide vanyl-mandélique (VMA).

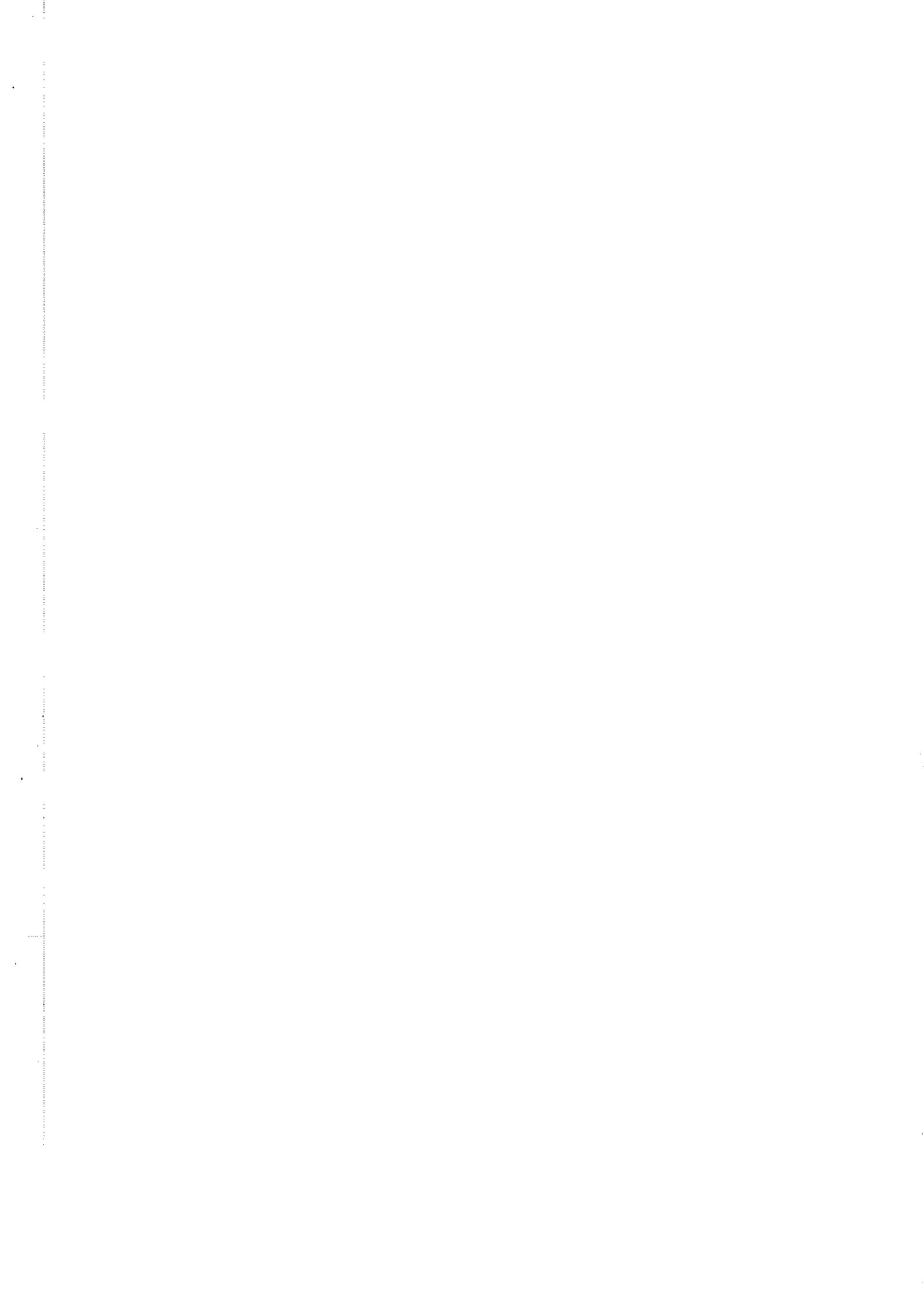
Quelque soit l'élément envisagé, les dosages urinaires sont obligés de répondre à certaines règles. Ils doivent se faire sur des urines recueillies sur acide chlorhydrique, ou dans les heures qui suivent un épisode paroxystique, après un régime de 72 heures excluant les aliments interférant avec les catécholamines (chocolat, caféine ... ) et l'arrêt complet des médicaments pouvant fausser les dosages ( $\alpha$ - et  $\beta$ -bloquants, DOPA et dérivés, antidépresseurs tricycliques... ).

##### a. Dosage de l'acide vanyl-mandélique (5,15,26,30,32)



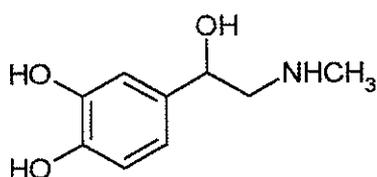
*Acide vanylmandélique (VMA)*

L'acide vanyl-mandélique (VMA) a été le premier des métabolites des catécholamines dont le dosage ait été possible. C'est en 1957 que le VMA fût isolé par chromatographie sur papier puis récemment par HPLC grâce à FELICE et KISSINGER (1977).

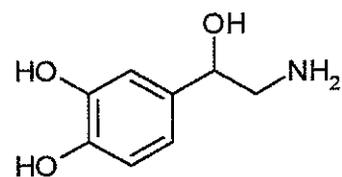


Ce dosage est un peu obsolète face à celui des métabolites méthoxylés des catécholamines mais reste encore très largement répandu. En effet, de nombreuses interférences, tels que des facteurs alimentaires ou médicamenteux, vont réduire sa valeur sémiologique et diagnostique. De ce fait, le dosage du VMA dans les urines manque de sensibilité. On dénombre alors sur certaines études près de 20% de faux négatifs (15).

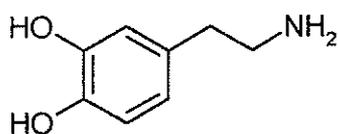
b. Dosage des catécholamines urinaires (4,5,11,30,32)



*Adrénaline*



*Noradrénaline*



*Dopamine*

On peut également doser directement dans les urines les catécholamines non dégradées sans se préoccuper de leurs métabolites. En effet, les catécholamines sont, dans une faible proportion, excrétées dans le flot urinaire à l'état libre ou sous forme conjuguée sulfo- ou glucuroconjuguées.

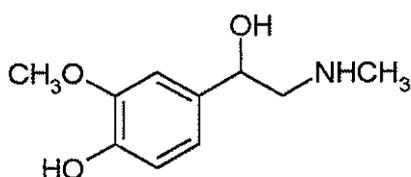
C'est au début des années 50 que l'on a pu envisager le dosage des catécholamines non métabolisées dans les urines. Les premiers dosages furent réalisés par fluorescence. Cependant, face à la quantité d'erreurs dans l'évaluation des concentrations de ces deux catécholamines – les amines



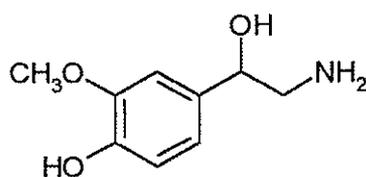
vasopressives d'origine exogène, alimentaire ou médicamenteuse, étant éliminées aussi par conjugaison – KISSINGER *et al.* mirent au point, en 1975, un dosage par HPLC en phase inverse. Cette méthode permettait alors de doser uniquement les catécholamines libres endogènes. Le recueil des urines se fait sur une solution d'EDTA disodique à 10% et les urines peuvent être conservées par congélation à  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Ce dosage n'a que très peu d'intérêt face aux dosages des métabolites méthoxylés, étant tributaire comme pour le VMA de nombreuses interférences. Cependant, il possède une valeur diagnostique de confirmation dans le cas d'un patient souffrant d'hypertension artérielle paroxystique avec des chiffres tensionnels normaux entre les crises. Dans cette situation, on effectuera un dosage plasmatique des catécholamines lors de l'accès paroxystique et le dosage des formes urinaires libres. Ainsi, sur une période de 3 heures, avec un prélèvement à  $T_0$  et au bout de ces 3 heures, les amines vasopressives sont massivement élevées lorsqu'un phéochromocytome est présent alors qu'un débit normal et constant de catécholamines signera formellement l'absence d'une tumeur sécrétante.

c. Dosage des métanéphrines urinaires (5,12,15,23,26,30,32)



*Métanéphrine*



*Normétanéphrine*

Le diagnostic biologique du phéochromocytome repose très largement sur le dosage des métabolites méthoxylés des catécholamines, la métanéphrine et la normétanéphrine. En fait, ce devrait être le seul dosage à demander lorsque l'on suspecte une tumeur chromaffine car il constitue le test le plus spécifique et le plus sensible.



En raison de l'aptitude de la quasi-totalité des phéochromocytomes à méthyler les catécholamines, l'élimination urinaire des dérivés méthoxylés représente à la fois un marqueur tumoral et un témoin de la métabolisation périphérique des amines vasopressives produites en excès. Le dosage urinaire du bloc métanéphrine-normétanéphrine se fait en chromatographie HPLC sur un échantillon d'urines recueillies pendant 24 heures, sachant que cette méthode, dans le cas de ces deux dérivés, n'est pas soumise aux interférences exogènes alimentaires ou médicamenteuses que l'on peut rencontrer avec le VMA ou les formes libres non métabolisées présentes dans les urines.

Dans le cas des méthoxyamines, les valeurs normales et les valeurs pathologiques sont bien définies : il est convenu qu'en dessous de 1 mg d'élimination des métabolites méthoxylés totaux par 24 heures, le diagnostic de tumeur peut être éliminé. Au dessus de 2 mg par 24 heures, il sera affirmé (5, 15, 26). Le doute persiste rarement pour ces mesures limites. Cependant, dans le cas des valeurs comprises entre 1 et 2 mg, il est utile de ramener ce dosage à la valeur de la créatininurie exprimée en mmol/24 H. Si ce rapport est supérieur à 0,354, il signera la présence d'un phéochromocytome (5, 12, 30). Ce diagnostic sera alors complété par un dosage des catécholamines libres après la survenue d'un épisode paroxystique.

#### 4.2.4. Les dosages plasmatiques (7,15,23,26,32,34)

L'évolution technologique a joué un rôle primordial dans le développement des techniques de dosage des catécholamines plasmatiques. Ainsi, depuis ces trois dernières décennies, on a la possibilité de doser à la fois les catécholamines plasmatiques et leurs dérivés méthoxylés.



La détermination de la valeur diagnostique se fera alors par HPLC après avoir effectué un prélèvement sanguin sur un tube hépariné ou contenant de l'EDTA disodique.

- Bien que leur dosage soit biochimiquement spécifique, l'estimation des concentrations en catécholamines circulantes est très controversée. La spécificité et la sensibilité diagnostiques sont plus que médiocres. En effet, la libération intermittente des catécholamines par certains phéochromocytomes, jointe à la demi-vie brève de l'adrénaline et la noradrénaline, expliquent en grande partie que la mesure plasmatique puisse donner un faux négatif, *a fortiori* si le prélèvement est réalisé en dehors des poussées hypertensives.

Inversement, le stress élève le taux de catécholamines circulantes et orientera le test pratiqué vers bon nombre de faux positifs. De plus, il reste tributaire de tous les éléments exogènes influençant les décharges adrénergiques et noradrénergiques.

Cependant, un test plasmatique reste encore d'actualité : il s'agit du « test à la clonidine », test dynamique d'inhibition aminergique suite à l'administration de cette substance agoniste des récepteurs  $\alpha_2$ . La réalisation de ce test atteste d'une tumeur sécrétante lorsque le taux sanguin de catécholamines reste inchangé avant et après la prise de clonidine par le patient. Ceci permet alors d'écarter les faux positifs.



- On peut aussi effectuer le dosage des méthoxyamines plasmatiques. Dans les laboratoires et les groupes d'études sur la tumeur, le dosage des catécholamines dans le plasma tend à être remplacé par celui des métanéphrines qui possède une meilleure valeur diagnostique malgré le peu de recul que l'on a par rapport à la technicité de la méthode employée. En fait, le dosage de ces métabolites a permis la confirmation des valeurs obtenues par les dosages urinaires.

A l'issue du bilan biologique, il est souvent possible de différencier trois formes de phéochromocytome selon l'amine majoritairement sécrétée (15) ; on classe alors :

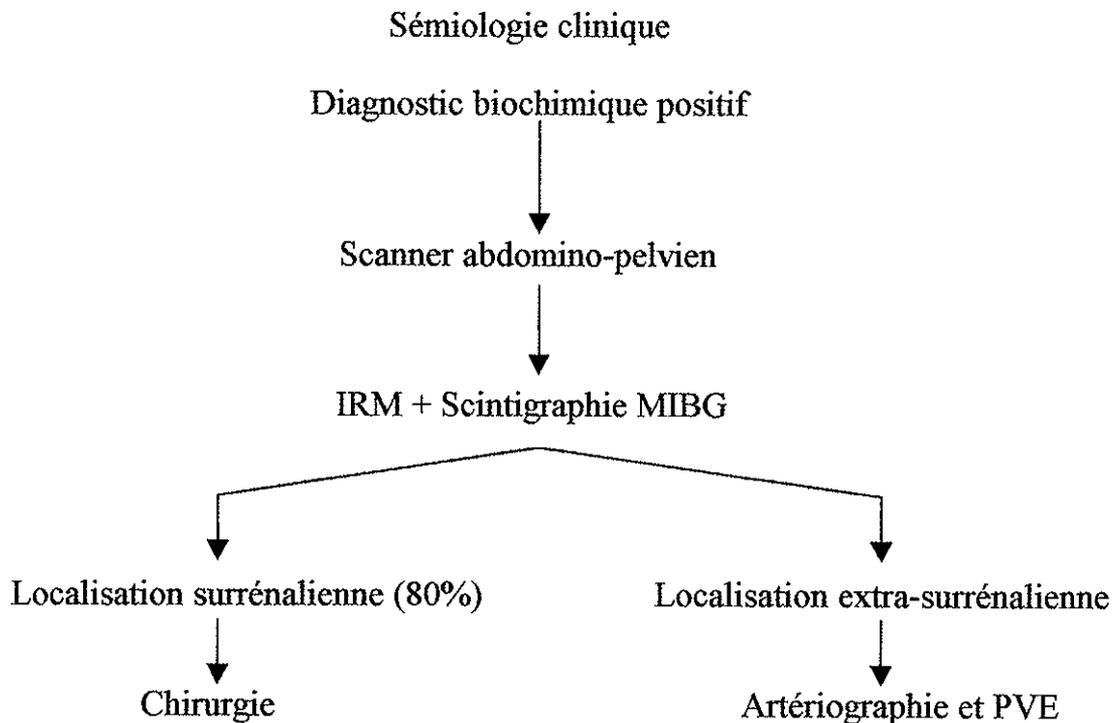
- ✓ les phéochromocytomes à noradrénaline avec hypertension artérielle, permanente ou paroxystique, sans retentissement métabolique ou cardiaque,
- ✓ les phéochromocytomes à adrénaline, qui donnent plutôt des poussées hypertensives fortes avec risque de collapsus ou des manifestations d'hypotension orthostatique,
- ✓ les phéochromocytomes à dopamine, très rares, sans signes d'hypertension et qui seraient, dans une proportion assez importante, malins.

Dans tous les cas, ces étiquetages ne reposent que sur des éléments de suspicion et s'inscrivent dans un objectif purement d'orientation diagnostique. Cette « classification » ne peut en aucun cas être prise pour élément décisionnel définitif.

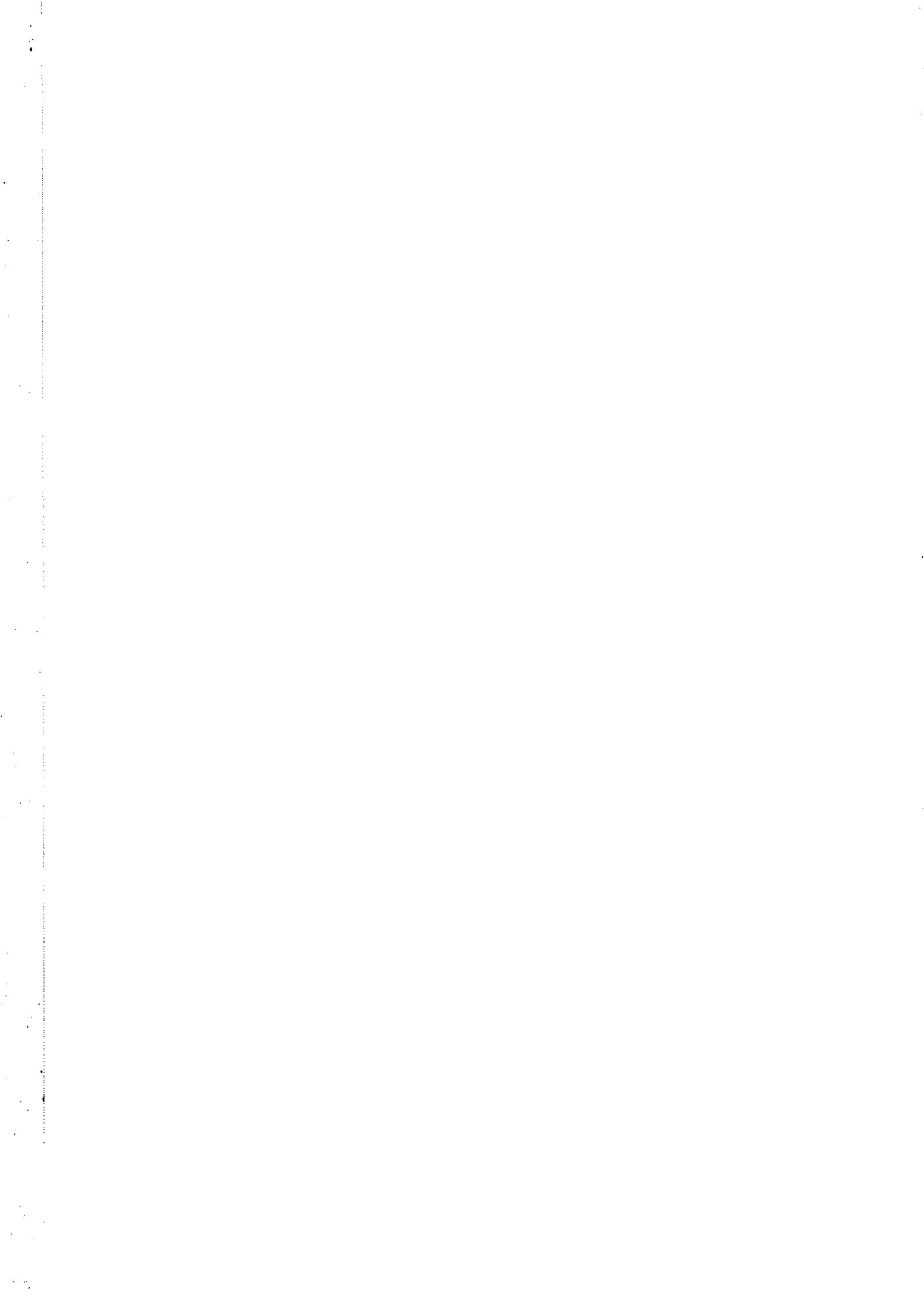


#### 4.3. Le diagnostic topographique : localisation de la tumeur

Une fois le diagnostic de phéochromocytome biochimiquement affirmé, il convient de préciser le nombre et le siège de la ou les tumeurs responsables du désordre hormonal ainsi que les éventuelles métastases qu'elles ont pu engendrer. Un grand nombre de méthodes vise à localiser précisément les tumeurs (scanner, IRM, scintigraphie,...) mais les explorations doivent être menées avec un souci d'économies, en tenant compte de la fréquence des diverses localisations. Il est entendu que 80% des phéochromocytomes décelés et traités sont situés au niveau des glandes surrénales. On prend alors comme postulat de départ cette localisation. En ce sens, l'élément topographique de référence réalisé en première intention sera le scanner abdomino-pelvien. Il sera complété par un IRM ou par une scintigraphie à l'aide d'un composé marqué à l'iode 131 radioactif, la Mé-Iodo-Benzyl-Guanidine (MIBG). Ainsi, on pourra déterminer une stratégie pour confirmer le diagnostic d'un phéochromocytome (figure 9) sachant que si la tumeur est extra-surrénalienne, l'imagerie sera complétée par une artériographie et des prélèvements veineux étagés (PVE).



*Figure 9 - Conduite à tenir pour le diagnostic d'un phéochromocytome.*



#### 4.3.1. Le scanner abdomino-pelvien (3,5,7,15,26,30)

L'examen de référence est le scanner abdominal. Il permet de visualiser des tumeurs de moins de 2 cm de diamètre. La tomодensitométrie (TDM) donne des résultats de qualité et offre une sensibilité voisine de 90%.

Cette méthode donne une information parfaite sur la ou les tumeurs dans la région rénale et son environnement. Cependant, le radiologue doit chercher l'existence de localisations extra-surréaliennes ainsi que l'éventuelle présence de métastases ganglionnaires, osseuses et hépatiques, *a fortiori* si l'examen abdominal est négatif.

Dans la majeure partie des cas, la tumeur est surrénalienne et offre un aspect caractéristique qui consiste en une masse hétérogène après l'injection d'un produit de contraste (figure 10).

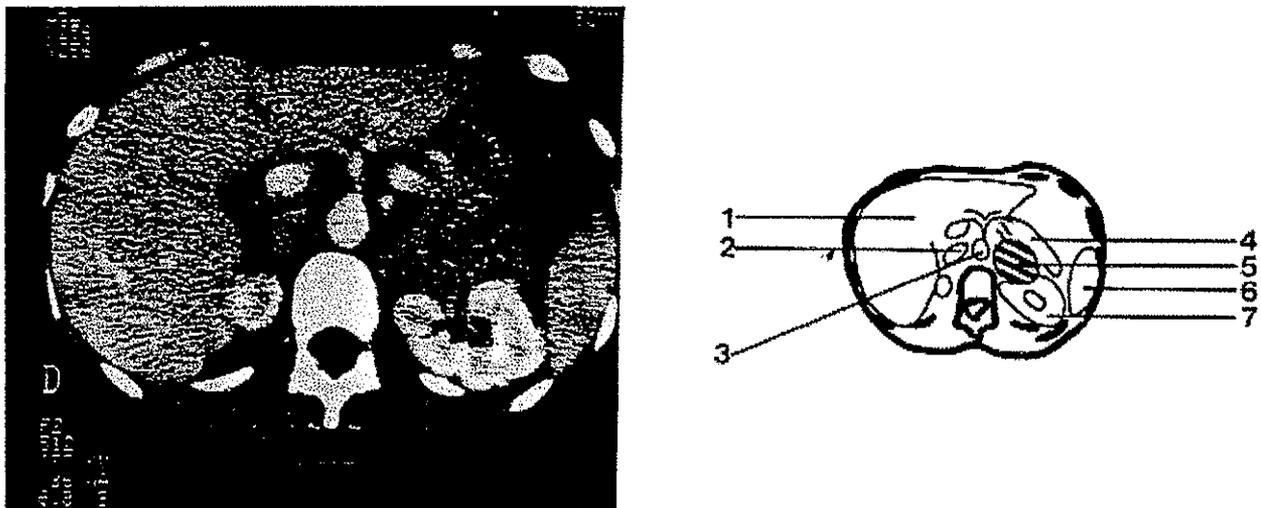


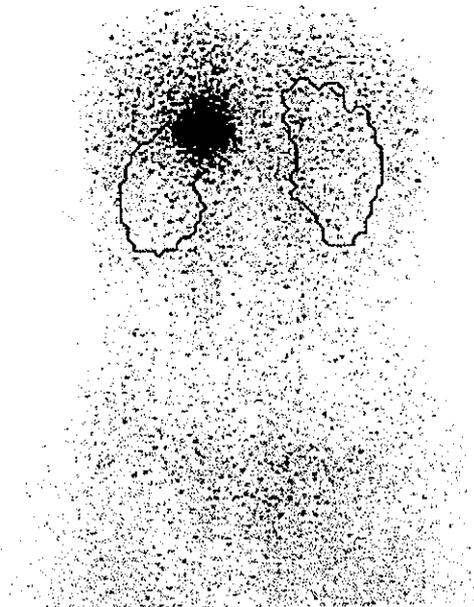
Figure 10 - Phéochromocytome surrénalien gauche en TDM après injection de contraste. (3)  
1 : Foie ; 2 : Veine cave inférieure ; 3 : Aorte ; 4 : Pancréas ; 5 : Tumeur de la surrénale gauche ;  
6 : Rate ; 7 : Rein gauche.



#### 4.3.2. Scintigraphie à la MIBG (5,6,12,15,26,30)

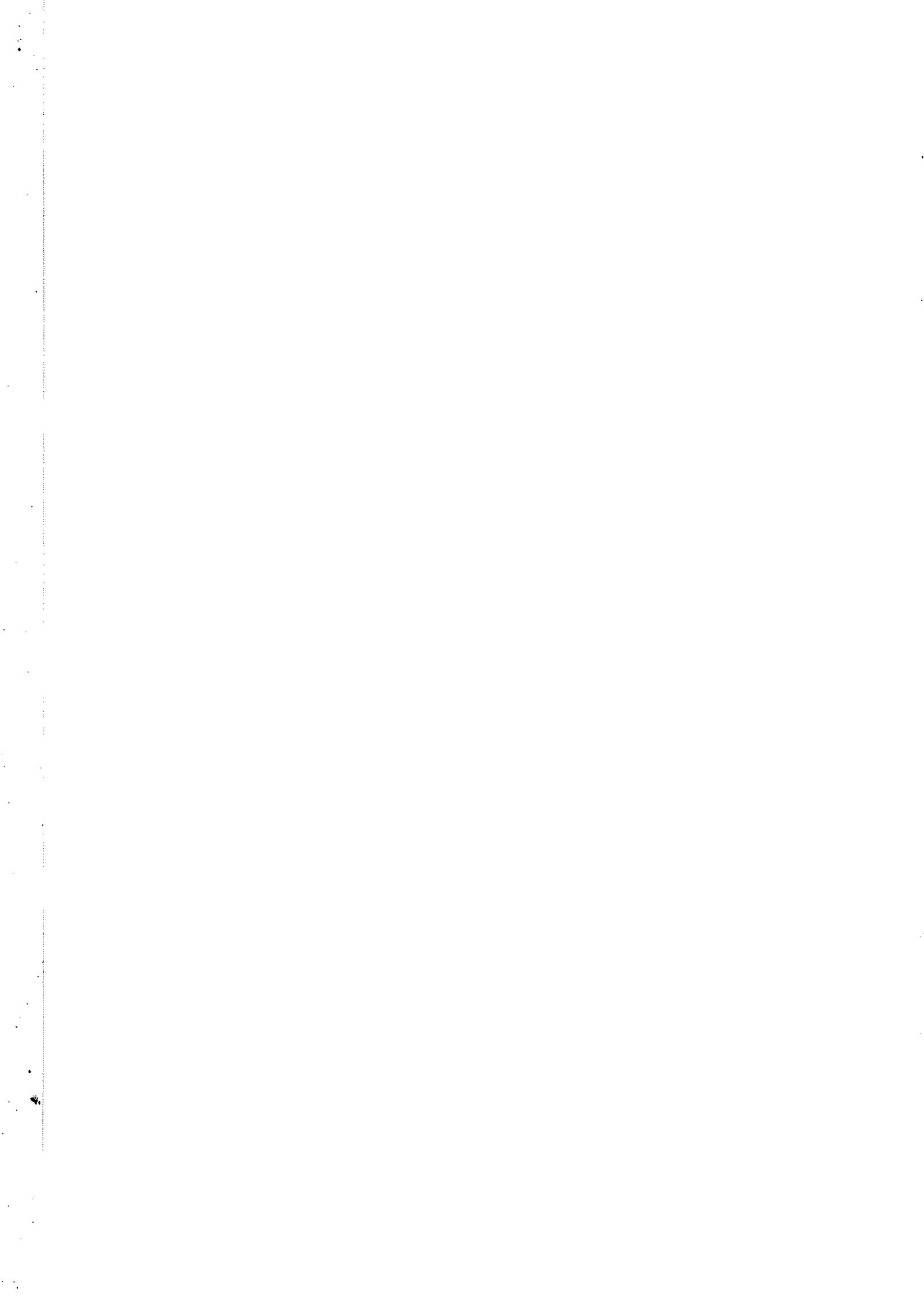
La scintigraphie à la Méta-Iodo-Benzyl-Guanidine (MIBG), marquée à l'iode radioactif, a été introduite dans le diagnostic des tumeurs surrenaliennes car les phéochromocytomes captent cet isotope. Cette méthode consiste à injecter la MIBG après saturation préalable de la thyroïde, puissante fixatrice d'iode, par le lugol. Ceci permettra, 24 heures après l'administration, de visualiser toutes les localisations corporelles des tumeurs (figure 11).

Elle complète l'exploration faite avec le scanner. Elle apparaît même indispensable pour détecter certaines formes tumorales qui ne peuvent être décelées par la tomодensitométrie. En effet, c'est l'affirmation diagnostique de référence pour décrypter les localisations extra-surrenaliennes (phéochromocytomes médiastinaux, aortiques...), les métastases et les formes multicentriques.



*Figure 11 - Phéochromocytome surrenalien droit. La scintigraphie MIBG montre un foyer de fixation surrenalien droit. (5)*

*Il est à noter que les esquisses sont rajoutées pour schématiser les deux glandes surrenales.*



#### 4.3.3. Autres explorations utiles (6,12,15,26)

D'autres examens d'imagerie médicale sont parfois encore utiles :

- La radiographie thoracique permet quelques fois de visualiser une tumeur médiastinale.
- La résonance magnétique (IRM) peut aussi avoir un intérêt. D'introduction plus récente, elle permet d'obtenir des résultats voisins de ceux du scanner avec une excellente sensibilité. Elle permet de conforter le diagnostic : le tissu phéochrome sera caractérisé par un rehaussement du signal lors du deuxième signal d'acquisition en T<sub>2</sub>.
- L'échographie abdominale peut parfois être intéressante pour localiser une tumeur volumineuse.
- Les examens invasifs (artériographie, cathétérisme pour dosages étagés) ne devraient plus être effectués en raison des risques qu'ils font courir aux patients. En effet, un aussi puissant stimulus externe peut déclencher, en association avec le stress que cette exploration sanguine engendre, une crise hypertensive grave et quelques fois fatale. Cependant, une exploration des artères et des prélèvements sanguins pour effectuer des dosages de catécholamines plasmatiques permettent de localiser des tumeurs extra-surréaliennes abdomino-thoraciques et orienteront alors un diagnostic topographique (TDM ou IRM) pour les localisations ectopiques dans la zone suspectée par les dosages étagés.



Les différentes méthodes employées, comme on a pu le voir précédemment, n'ont pas la même orientation première mais ont pour finalité le diagnostic de la tumeur chromaffine.

Ainsi, on peut effectuer un tableau récapitulatif (tableau 2) de la sensibilité des méthodes employées.

Méthodes	Nombre de tumeurs explorées	Sensibilité*
Ecographie	n = 174	84,5 %
Scanner	n = 263	89,3 %
IRM	n = 47	97,8 %
Scintigraphie à la MIBG	n = 160	81,2 %

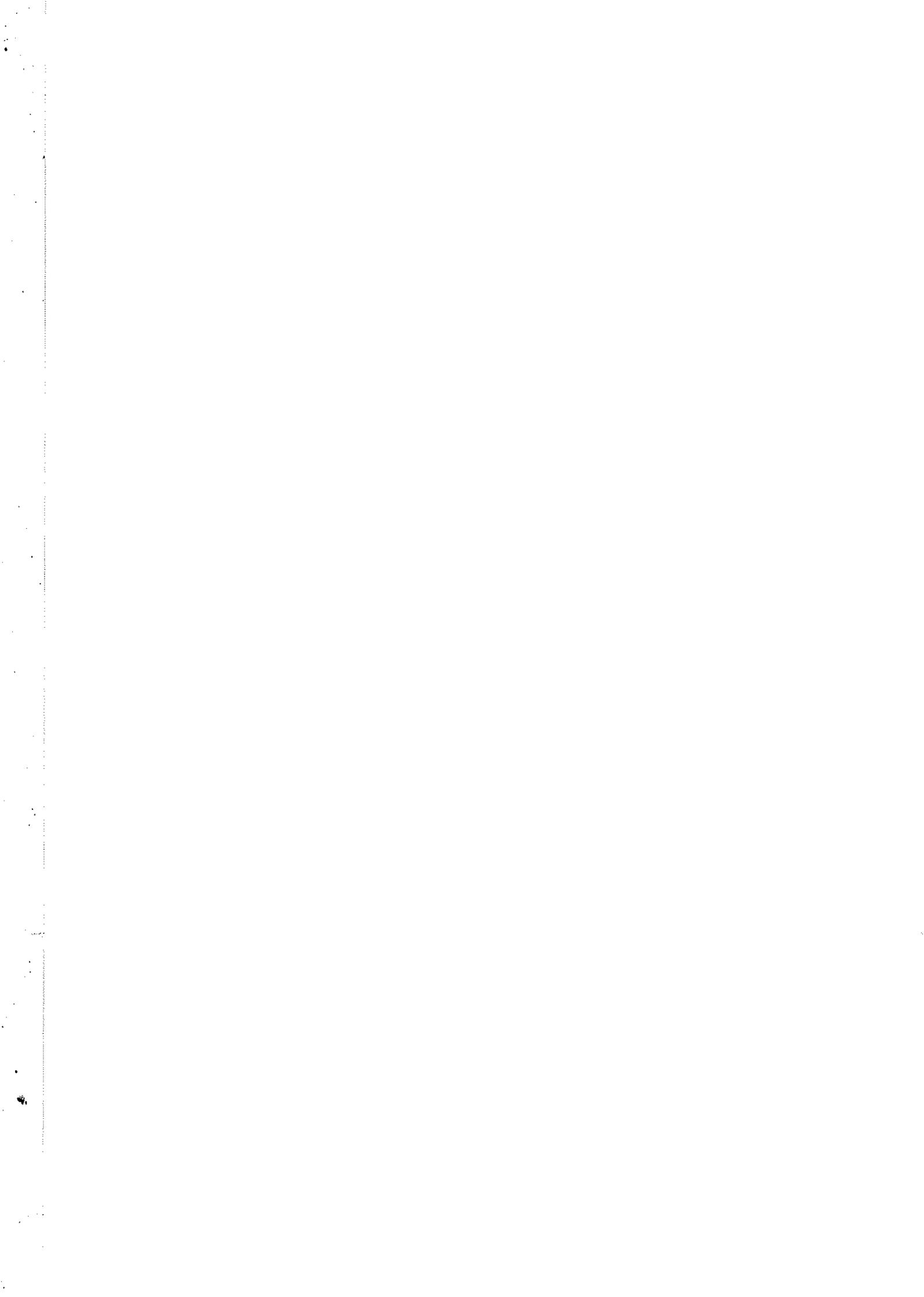
*Tableau 2 - Etude récapitulative des méthodes d'imagerie, rechute comprise. (6)*

*\*le calcul de la sensibilité englobe les vrais positifs et les faux négatifs.*

## V. TRAITEMENTS DU PHEOCHROMOCYTOME

Le traitement du phéochromocytome est obligatoirement chirurgical. L'exérèse chirurgicale permet au patient d'obtenir un résultat spectaculaire avec une rémission quasiment complète de la symptomatologie que pouvait engendrer la tumeur. Cependant, elle reste un acte délicat : en effet, cette intervention doit faire objet d'une préparation minutieuse et préalablement établie. C'est cette adaptation préopératoire du sujet qui conditionnera le bon déroulement et le résultat de l'ablation du phéochromocytome.

Malgré l'exérèse de la tumeur, un patient ne doit pas être considéré comme guéri définitivement. Bien qu'il retrouve une existence à peu près normale avec un fort retentissement sur ses chiffres tensionnels, un malade opéré devra faire l'objet d'une surveillance régulière et permanente.



### 5.1. Préparation préopératoire de phéochromocytome (5,7,15,34,36, 39,41)

Cette préparation médicale a pour but de corriger les désordres engendrés par la tumeur. Ainsi, la médication préopératoire vise à améliorer l'hypertension par un traitement  $\alpha$ -bloquant complété par une thérapeutique  $\beta$ -bloquante ou un inhibiteur de l'enzyme de conversion, l'hypovolémie, une éventuelle hypokaliémie et des désagréments dus à l'hypermétabolisme s'il y a lieu (diabète...) :

- Normaliser la pression artérielle des patients ayant une hypertension artérielle est le premier objectif à atteindre. Pour ce faire, un traitement  $\alpha$ -bloquant est mis en place par voie orale. Cette médication est justifiée par la prépondérance des phéochromocytomes sécrétant la noradrénaline,  $\alpha$ -agoniste. La prazosine (Minipress®) ou la phénoxybénzamine (Dibenzyline®), molécules  $\alpha$ -bloquantes, sont les deux principes actifs les plus couramment administrés. Contrairement à la prazosine, la phénoxybénzamine, non commercialisée en France, entraîne un blocage irréversible des récepteurs  $\alpha$ - et  $\beta$ -adrénergiques, occasionnant ainsi un fort risque potentiel de collapsus cardiorespiratoire sévère (36,39,41). De ce fait, la prazosine est plus facilement usitée. Cependant, on complétera souvent par un  $\beta$ -bloquant pour pallier les effets secondaires des thérapeutiques  $\alpha$ -bloquantes à type de tachycardie ou arythmie. En ce sens, on emploie alors le propranolol (Avlocardyl® et génériques) ou le labétalol (Trandate®) qui possède à la fois des propriétés  $\alpha$ - et  $\beta$ -bloquantes.

Par contre, dans l'éventualité où cette association  $\alpha$ - et  $\beta$ -antagonistes n'est pas assez efficace, elle peut être complétée par les inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC) ou les



antagonistes calciques à visée cardiaque prédominante tels que le diltiazem.

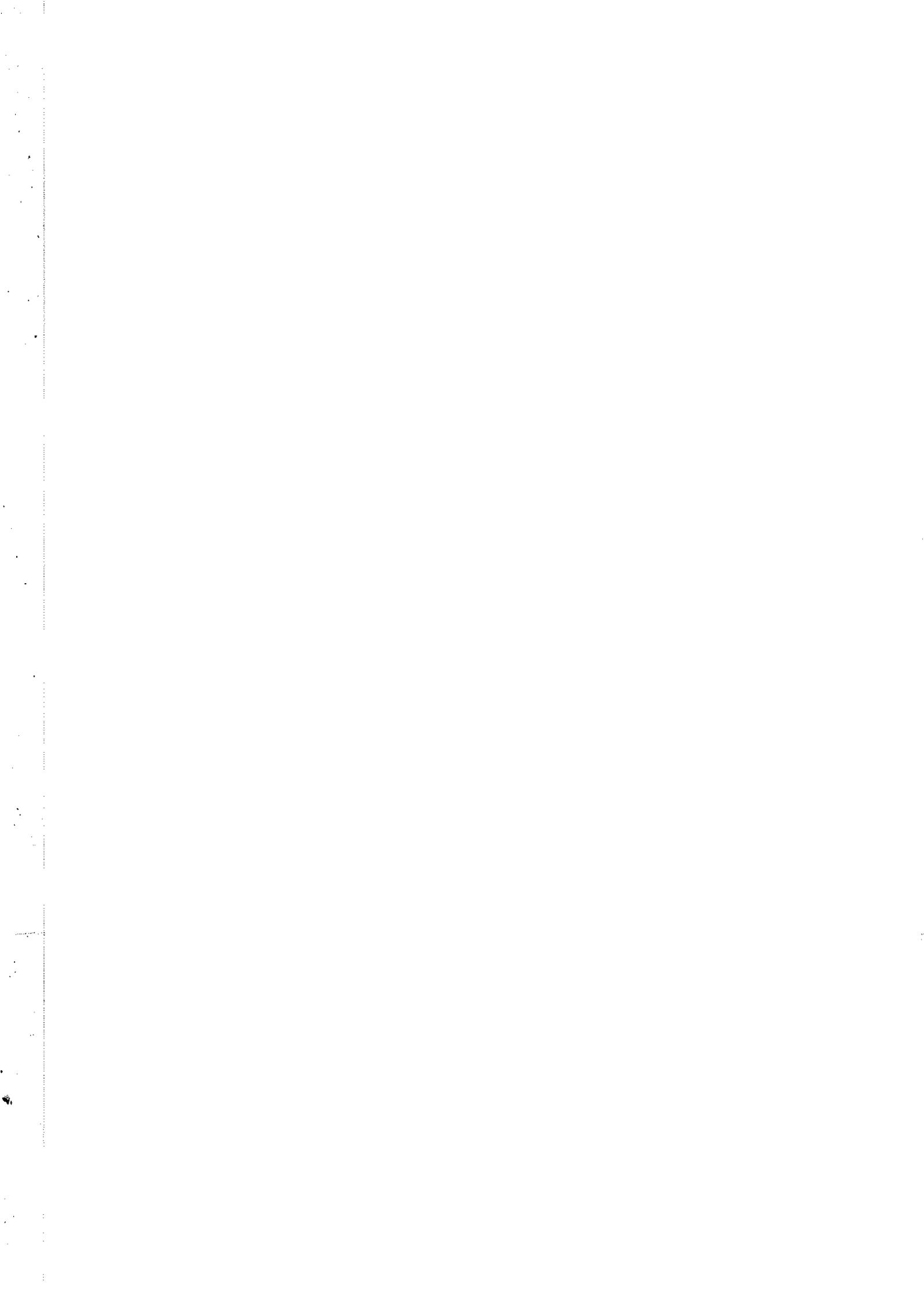
L'introduction de telles médications doit être faite avec prudence et progression. En effet, la prescription initiale de doses très faibles est importante à respecter en raison de la très grande sensibilité de la réponse tensionnelle des phéochromocytomes. En ce sens, il faut d'abord administrer les  $\alpha$ -bloquants pour éviter une vasoconstriction et un collapsus de survenue rapide après les premières prises, surtout en cas de doses d'emblée trop élevées.

- Il faut aussi corriger l'hypovolémie liée aux sécrétions accrues de catécholamines. Ainsi, il est pratiqué une réhydratation généralement par voie orale (régime normosodé et boissons) ou par perfusion de liquides osmotiques (sérum physiologique ou albumine) si la déshydratation ne peut être enrayée par la voie courante.
- Il est également impératif de corriger les désordres engendrés directement par le phéochromocytome. Ainsi, on réglera les problèmes d'hypermétabolisation tels que le diabète ou l'hypokaliémie.

## 5.2. Le traitement chirurgical proprement dit (5,7,15,26)

Au vu de la complexité des tumeurs et des complications qu'elle peut engendrer, l'intervention est confiée à des équipes de chirurgiens et d'anesthésistes ayant tous l'habitude d'intervenir sur des phéochromocytomes.

Une bonne préparation opératoire est un élément essentiel pour le déroulement correct de l'ablation de la tumeur chromaffine. L'anesthésie doit être effectuée après une prémédication à visée sédatrice et anxiolytique. Le plus souvent, on tend à privilégier la neuroleptanalgie c'est à dire une association



entre le dropéridol (Droleptan®), appartenant à la classe des neuroleptiques, et un morphinomimétique.

L'exérèse chirurgicale doit éviter les agressions mécaniques sur la tumeur et toute mobilisation intempestive après ligatures veineuses précoces. En cas de poussées hypertensives périopératoires, on aura recours à des antihypertenseurs d'action brève en bolus (phentolamine ou nitroprussiate de sodium) et les troubles du rythme sont palliés grâce aux  $\beta$ -bloquants (propranolol) ou la lidocaïne en injections.

### 5.3. Traitements complémentaires (5,7,15,26)

Plusieurs cas de tumeurs peuvent échapper à la chirurgie. Il existe alors des solutions alternatives :

- ✓ Le phéochromocytome malin est particulier car il impose obligatoirement des exérèses multiples. Cependant, des solutions peuvent être proposées pour traiter ce type de tumeurs :
  - La chimiothérapie ne donne que des résultats partiels vu la faible sensibilité qu'enregistre cette intervention sur les tumeurs. Par contre, les quelques phéochromocytomes réagissant à cette thérapeutique peuvent être enrayerés.
  - La radiothérapie externe ou l'embolisation vasculaire de la tumeur peut être une alternative ou un complément de la chirurgie avec de bons résultats.
  - Le traitement complémentaire le plus efficace repose sur l'administration répétée de MIBG marquée à l'iode 131, guidée par l'affinité du tissu pour cette molécule lors du balayage scintigraphique postopératoire.
- Dans le cas du phéochromocytome de la grossesse, l'intervention doit être réalisée avant le cinquième mois. Si ce n'est pas le cas, l'accouchement sera réalisé par césarienne à terme et l'ablation de



la tumeur sera effectuée simultanément à condition qu'elle se situe sur la région surrénalienne.

#### 5.4. Résultats et surveillance post-opératoires (5,7,12,15,16)

Les résultats sont en général spectaculaires. En postopératoire, la régression de l'hypertension artérielle et la disparition des symptômes paroxystiques sont en faveur d'une rémission complète de l'affection. Cependant, après l'exérèse du phéochromocytome, il peut y avoir dans quelques rares cas la persistance d'une hypertension modérée.

Malgré tout, un patient considéré comme guéri sera suivi régulièrement et indéfiniment. Ainsi, il sera fait un dosage du bloc urinaire métanéphrine-normétanéphrine un mois après l'opération et répété en moyenne tous les 6 mois à 1 an. Ce dosage signera alors une rémission de la tumeur mais toute augmentation des valeurs normales fera envisager une récurrence. En effet, les patients devront être informés que les récurrences bénignes ou malignes sont fréquentes avec les phéochromocytomes ; elles peuvent être décelées dix ou vingt ans après la chirurgie initiale. Le diagnostic de suspicion établi, la confirmation par l'imagerie médicale se déroulera dans les mêmes modalités que lors du premier dépistage. L'imagerie ne sera envisagée qu'en cas de problèmes biologiques ; elle ne pourra jamais être un élément de suivi postopératoire.



TROISIEME PARTIE :  
ASPECTS TECHNIQUES DU  
DOSAGE DES METANEPHRINES  
PLASMATIQUES PAR  
CHROMATOGRAPHIE.



Le phéochromocytome est une tumeur aisément reconnaissable par les différents procédés d'imagerie médicale, que ce soient la tomographie par ordinateur (scanner) ou l'imagerie par résonance magnétique (IRM). Cependant, la confirmation par le diagnostic biologique repose sur l'exploration de l'augmentation de la sécrétion d'une ou plusieurs catécholamines ou de leurs métabolites.

En ce sens, les métanéphrines ont longtemps été explorées par des techniques de dosages urinaires, ceux-ci étant considérés comme les plus sensibles et les plus spécifiques pour le diagnostic biologique de phéochromocytome. Les résultats doivent alors être rendus pour la période des 24 heures et pondérés par la valeur de la créatininurie. Cependant, comme toute considération d'un dosage urinaire, les chiffres ne pourront être interprétables et appréciés à leur juste valeur dans le cas d'un patient souffrant d'insuffisance rénale.

Par conséquent, les progrès techniques permettant le dosage des dérivés méthoxylés dans le plasma apparaissent comme une alternative intéressante pour dépister la présence d'un phéochromocytome. De ce fait, la méthode la plus appropriée en vue de ce diagnostic reste la Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC) couplée à une détection électrochimique (4,14).



## I. GENERALITES

### 1.1. Définitions et principes (35)

La chromatographie est un procédé physico-chimique qui fait partie des méthodes de fractionnement et de séparation au même titre que la distillation, la cristallisation ou l'extraction fractionnées. Dans le panel des techniques d'analyse des milieux biologiques complexes, les méthodes chromatographiques sont devenues un outil performant rendant possible les trois étapes fondamentales d'une analyse séparative, à savoir :

- La séparation,
- La détection et la quantification,
- Ainsi que l'identification et la récupération éventuelle de très nombreuses molécules. On parle alors de purification ou de chromatographie préparative avec de grands volumes.

La chromatographie est basée sur la triple interaction entre une phase mobile, une phase stationnaire et le composé à analyser. Elle permet alors de séparer des molécules, notamment celles dont les polarités sont proches en jouant sur les différences entre leurs constantes d'équilibre lors de leur partage entre la phase mobile dans laquelle ils sont solubles, et une phase stationnaire. L'opération de partage est réalisée un très grand nombre de fois : sous l'effet d'entraînement exercé par la phase mobile et de rétention exercé par la phase stationnaire, les constituants du mélange se déplacent à des vitesses différentes et sont alors séparés.

### 1.2. Classification des principaux types de chromatographies (35,37)

Il existe plusieurs techniques chromatographiques classées selon la nature physique des deux phases et le type de support utilisé :



- La CCM, Chromatographie sur Couche Mince : la phase stationnaire (silice, cellulose) est présente à la surface d'un support plat ; la phase mobile est un solvant liquide.
- La CPG, Chromatographie en Phase Gazeuse : la phase stationnaire est un liquide immobilisé sur un support solide par imprégnation ou par greffage ; la phase mobile est un gaz.
- La CPS, Chromatographie en Phase Supercritique : la phase stationnaire est un liquide ou un solide ; la phase mobile est un fluide à l'état supercritique, du CO<sub>2</sub> par exemple.
- L'HPLC, Chromatographie Liquide Haute Performance : la phase stationnaire très élaborée est constituée de grains sphériques de diamètre microscopique (2 à 5 µm) ; la phase mobile est un liquide.

Selon la nature des phénomènes mis en jeu lors de la séparation, on peut classer les méthodes de chromatographie liquide sur colonne. On parle alors de :

- Chromatographie de partage ou liquide/liquide
- Chromatographie d'absorption ou liquide/solide
- Chromatographie par échange d'ions
- Chromatographie d'exclusion

Les différents domaines d'application de l'HPLC dépendent de plusieurs paramètres. On tient compte plus particulièrement de la masse molaire de l'analyte mais surtout de la nature polaire des phases en présence ainsi que celle de la molécule. En effet, pour les composés de masse molaire supérieure à 10000\*, on utilise généralement la méthode d'exclusion. Dans le cas d'espèces ioniques de faible masse molaire, on choisit préférentiellement la chromatographie par échange d'ions. Quant aux petites espèces, polaires mais non-ioniques, on les traite par les méthodes de partage, en phase inverse ou normale.

---

\* l'unité de masse molaire universelle est le g.mol<sup>-1</sup>



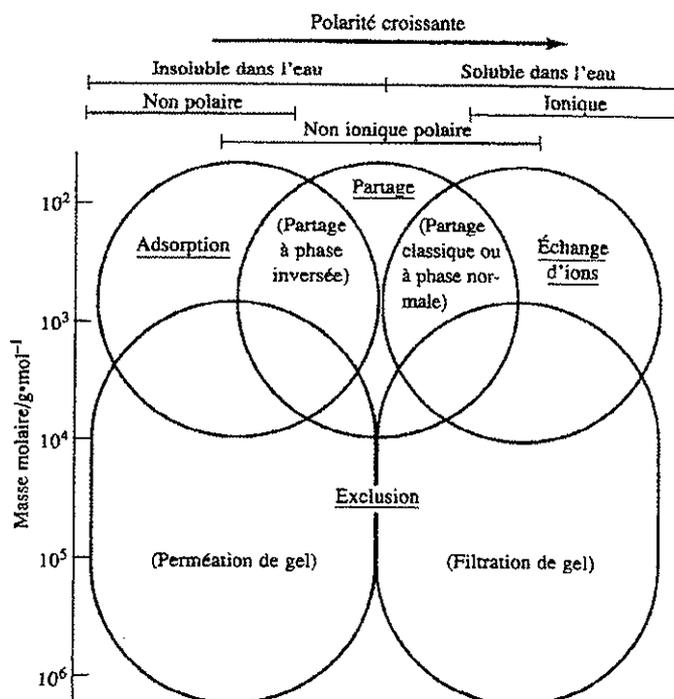


Figure 12 - Les domaines d'application de la chromatographie liquide haute performance. (37)

Dans le cas de l'HPLC appliquée au dosage des méthanéphrines plasmatiques totales, on ne s'intéresse qu'à la chromatographie de partage. La phase stationnaire est une phase liquide immobilisée dans la colonne sur un support inerte par des liaisons covalentes : c'est la technique du greffage qui fixe de manière indélébile les greffons. Néanmoins, la phase stationnaire se comporte toujours comme un liquide ; la séparation repose alors sur le coefficient de partage de soluté à l'interface des deux phases liquides.

## II. HISTORIQUE (37)

La chromatographie en phase liquide sur colonne est la plus ancienne des méthodes chromatographiques puisqu'elle a été inventée et utilisée pour la première fois au début des années 1900. Ce sont les travaux du botaniste TSWETT sur l'isolation des pigments contenus dans les végétaux qui ont permis l'élaboration de la chromatographie liquide. Face à la lenteur de la séparation et



en l'absence de détecteurs biochimiques sensibles et fiables, cette technique a été délaissée. C'est dans les années 1940 que les travaux de MARTIN et SYNGE permettent le développement de la chromatographie de partage liquide/liquide. Cependant, il faut attendre les années 1960 pour voir le réel essor de l'HPLC. En effet, la modernisation technologique a permis une évolution importante de la chromatographie liquide. La phase stationnaire est alors finement micronisée et placée dans des colonnes de très faible diamètre. Ainsi pour permettre l'évolution de la phase mobile avec un débit satisfaisant, il faut l'injecter sous de très fortes pressions, de l'ordre de plusieurs centaines de bars. C'est HORVATH qui décrit le premier chromatographe sous haute pression tel qu'on l'utilise maintenant. Historiquement, c'est à cette époque qu'il remplace les termes de « haute pression » par « haute performance ».

### III. PRESENTATION DE LA CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE

#### 3.1. Définitions et généralités (35,37)

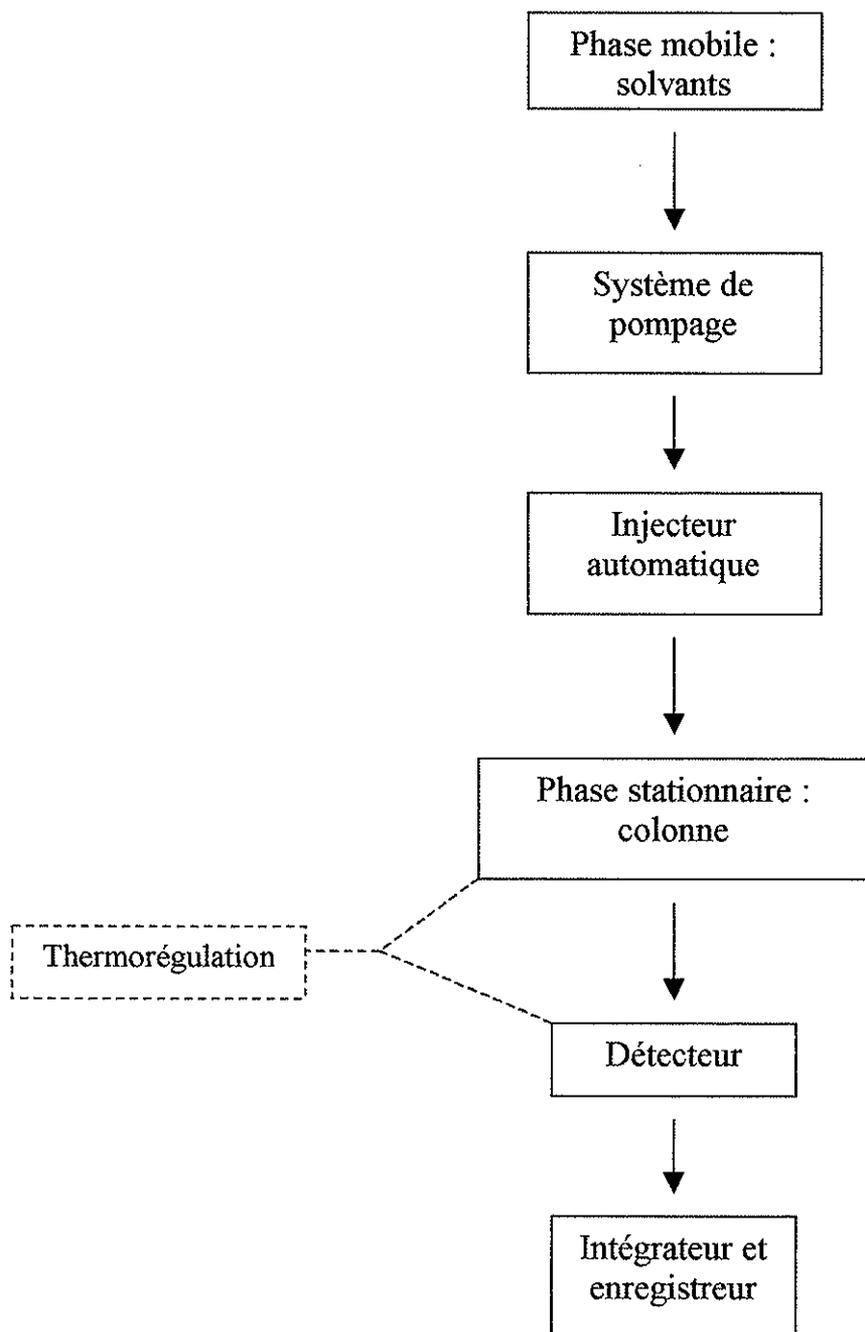
La Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC ou CHLP) est une méthode physico-chimique de séparation. Elle constitue une technique analytique très générale d'emploi et s'applique parfaitement à la détection et au dosage des métabolites catécholaminergiques plasmatiques.

La séparation résulte en fait d'un équilibre de partage des solutés entre deux phases : une phase fixe, solide, dite phase stationnaire remplissant une colonne, et une phase mobile traversant cette colonne. Les constituants à séparer sont alors en solution dans cette phase mobile. Ils sont donc appelés solutés.

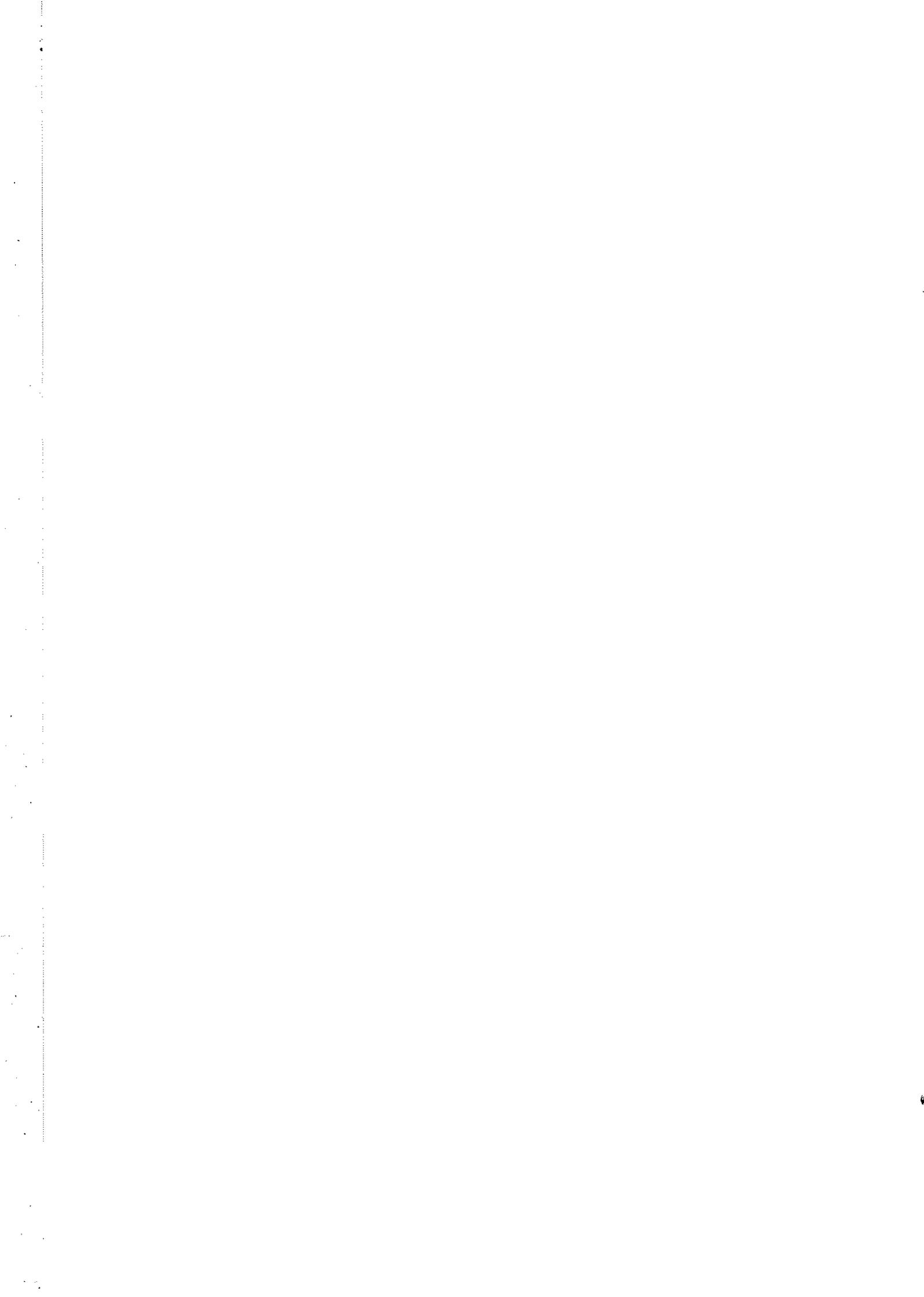


### 3.2. Conception générale d'un appareil de CHLP (35)

Une installation de chromatographie liquide haute performance est constituée de différents modules reliés entre eux par des canalisations courtes et de très faible diamètre interne (environ 0,1 mm) en acier inoxydable. On peut par ailleurs facilement en constituer une schématisation concise mais précise de l'ensemble des éléments :



*Figure 13 - Schéma de principe d'un chromatographe en phase liquide.*



### 3.2.1. Le système de pompage

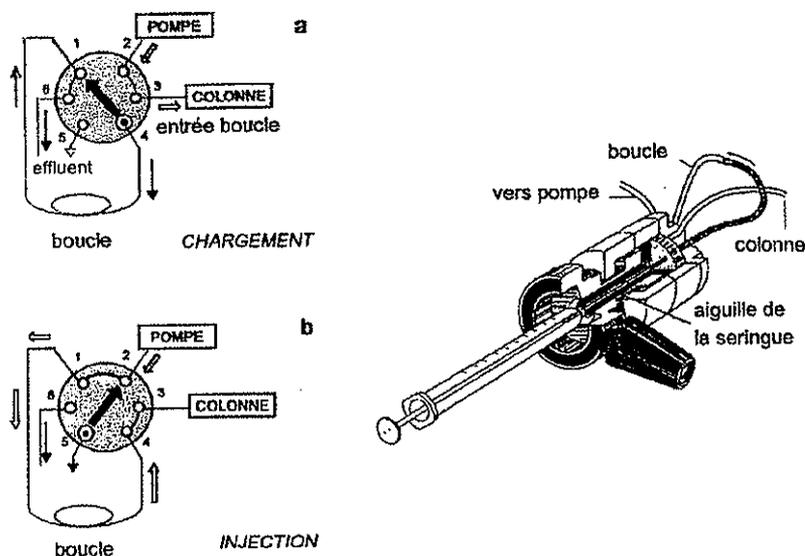
La phase mobile, en provenance d'un réservoir de solvants, est pompée en permanence à travers la colonne. Le but des pompes est de forcer le passage de cette phase mobile à travers le phase stationnaire compactée dans la colonne. Elles garantissent un débit précis et constant tout en exerçant une pression importante : on les qualifie alors de pompes débitométriques.

On utilise un montage dit haute pression ; dans ce cas, il y aura autant de pompes que de solvants différents utilisés. On trouve ainsi deux manières de travailler quant au nombre de solutions usitées comme phase mobile : en effet, lorsque la composition de l'éluant est fixe, on dit que le dosage est effectué en mode isocratique. Si le nombre et la composition des solutions formant cette phase mobile évoluent au cours du dosage, on pratique l'expérimentation en mode gradient.

### 3.2.2. L'injection des échantillons

L'analyse débute par l'introduction de l'échantillon en solution dans le système chromatographique. Cette injection doit se faire rapidement de façon à ne pas perturber le régime dynamique et constant du débit de l'appareil. Pour ce faire, on utilise une vanne d'injection haute pression à plusieurs voies (figure 14). L'échantillon est alors chargé dans le système à l'aide d'une seringue dans un petit volume tubulaire appelé boucle. L'analyte, gardé dans la boucle à pression atmosphérique, est inséré dans le flux de la phase mobile en actionnant le levier.





*Figure 14 - Vanne haute pression d'injection. Les deux phases de l'injection : a/ chargement de la boucle b/ insertion dans le flot de la phase mobile. (35)*

### 3.2.3. La colonne : séparation des analytes en solution

La solution est alors poussée dans la colonne par la phase mobile. Usuellement en acier inoxydable, leur longueur varie de 5 à 30 cm et leur diamètre interne de 0,5 à 10 mm. Le matériau de remplissage de ces colonnes le plus usité est un gel de silice neutre ((SiO<sub>2</sub>)<sub>n</sub>) simple qui dans la plupart des cas est greffé avec des groupements alkyles à longue chaîne.

La colonne n'a pour but que de séparer les différentes espèces chimiques contenues dans une solution par la compétition des forces attractives et répulsives mises en jeu entre la phase mobile et la phase stationnaire.



### 3.2.4. Détection et quantification des espèces en présence (36)

L'analyse chromatographique étant de connaître avec précision la concentration d'un ou plusieurs composés en présence, il est indispensable d'utiliser un détecteur approprié. Les composés initialement séparés sont repérés sous forme de pics en sortie de colonne par le système de détection. L'ensemble des pics réalise le chromatogramme dont l'abscisse indique le temps (chaque soluté est caractérisé par son temps de rétention ( $T_R$ ) c'est à dire le temps écoulé entre le moment de l'injection et celui de l'apparition du maximum de pic) et l'ordonnée représente l'intensité du signal. Ainsi, afin d'obtenir un chromatogramme lisible et interprétable, plusieurs détecteurs se présentent à nous. De ce fait, les modes de détection les plus exploités en vue d'obtenir ce chromatogramme reposent sur les propriétés optiques des composés : absorption, fluorescence et indice de réfraction.

#### a. Les détecteurs spectrophotométriques

L'analyse spectrophotométrique fait appel à la capacité d'absorption dans le domaine de l'U.V. des composés à déterminer. Le système utilisé pour la détection du signal est un spectrophotomètre U.V. qui permet de mesurer l'absorbance de la phase mobile à la sortie de la colonne à n'importe quelle longueur d'onde (de 200 à 400 nm), sans interrompre le flux de cette phase mobile. Pour pouvoir repérer les composés présents, la phase mobile ne doit pas, ou très peu, absorber elle-même. Quelque soit le modèle utilisé, la source lumineuse qui traverse l'échantillon à analyser est une lampe au deutérium ou à vapeur de mercure. De ce fait, deux éventualités s'offrent à cette analyse : la détection monochromatique et la détection polychromatique.

- Dans le cas de la détection monochromatique, on utilise un prisme permettant d'isoler une bande passante étroite mais le plus souvent une raie spécifique du spectre – par exemple la raie de longueur



d'onde 254 nm de mercure. Le trajet lumineux frappe alors le détecteur proprement dit, une photodiode ; cette diode est reliée à un condensateur initialement chargé à un niveau spécifique. Quand les photons arrivent sur la diode, des porteurs de charge électrique sont générés et déchargent le condensateur. Ce dernier est rechargé à intervalle de temps régulier pendant l'analyse de l'échantillon. La charge nécessaire au rechargement des condensateurs représente alors la détection propre de la diode. Ainsi en mesurant la variation d'intensité de la lumière traversant l'échantillon, on obtient le spectre d'absorption de l'analyte.

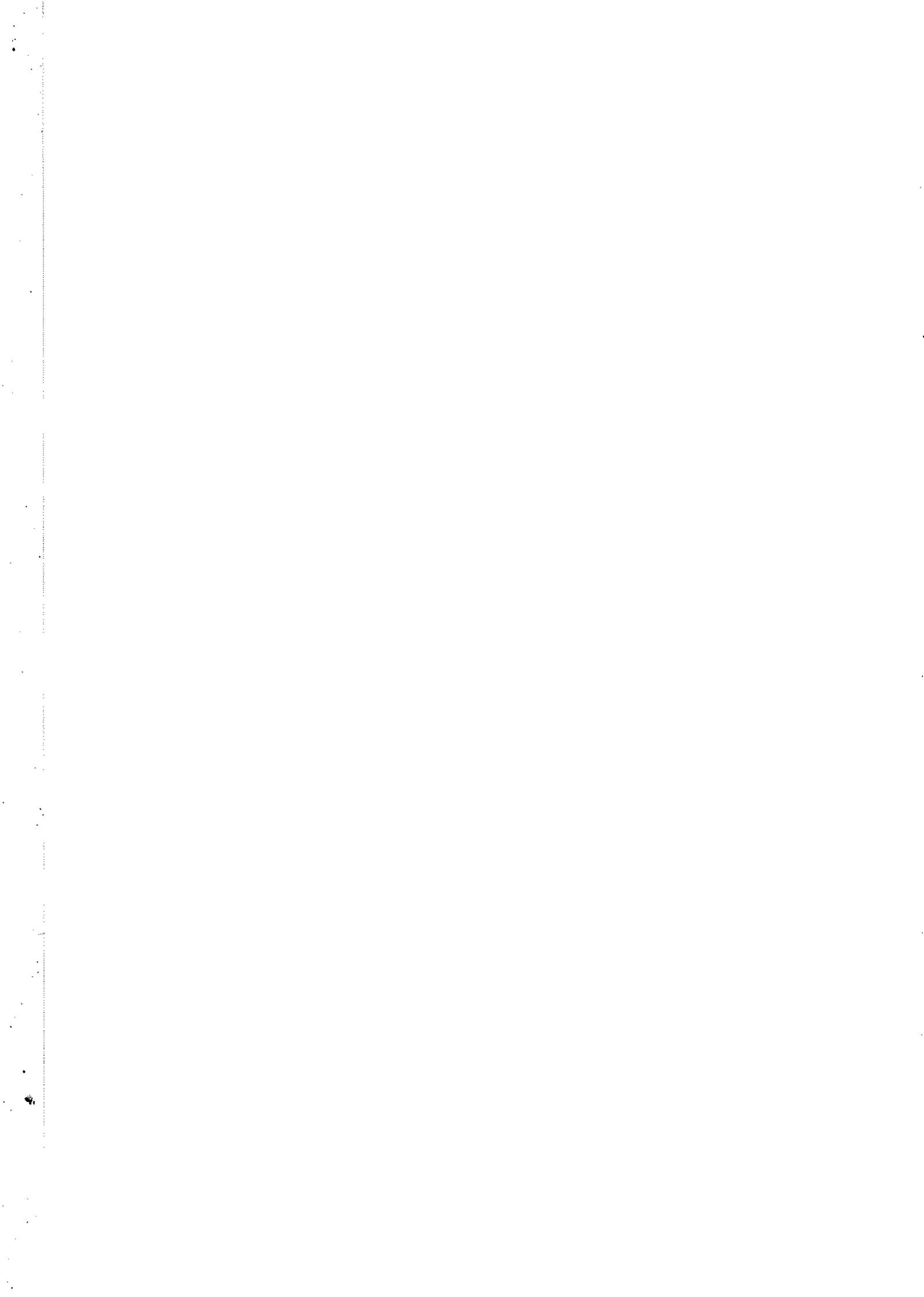
- La détection polychromatique repose sur le même principe. Cependant, le prisme dispersant n'isole pas une longueur d'onde spécifique mais décompose la lumière émise en grand nombre de faisceaux lumineux. Le détecteur lui est alors composé de plusieurs diodes capables d'indiquer l'absorbance sur un intervalle très étroit de longueur d'onde (jusqu'à 1 nm).

Les détecteurs permettent non seulement d'obtenir un chromatogramme mais ils fournissent des enregistrements spectraux pouvant servir à l'identification des composés ou la comparaison de spectres semblables.

#### b. Les détecteurs spectrofluorimétriques

Cette technique de quantification repose sur la capacité de certains composés à être fluorescents. En effet, ils ont la possibilité de réémettre, sous forme de lumière, tout ou partie des rayonnements de la source excitatrice auxquels ils sont soumis.

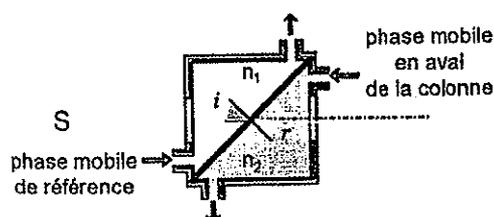
Ainsi, l'intensité de la fluorescence est proportionnelle à la concentration de la substance à condition que celle-ci reste faible. Dans quelques cas, il est également possible de combiner une réaction sur les analytes afin de les rendre



fluorescents. Cependant, au vu de la difficulté de cette technique de détection, on réserve son utilisation à des composés dont on est sûr du résultat, tel que un mélange d'hydrocarbures polynucléaires aromatiques, par exemple.

### c. Les détecteurs réfractométriques

Le principe repose sur les lois optiques de réfractométrie et de transmission de la lumière de Fresnel dans les milieux transparents. On s'appuie sur la différence d'indice de réfraction ( $n$ ) entre deux liquides frappés par une source lumineuse unique pour obtenir, le cas échéant, le chromatogramme de l'analyte.



*Figure 15 - Exemple de cellule d'un modèle standard de détecteur réfractométrique différentiel*

*(ici  $n_1 > n_2$ ). (35)*

Schématiquement, un faisceau lumineux (mono ou polychromatique) passe à travers une cellule bicompartimentale où un compartiment est rempli avec de l'éluant seul, on parle de phase mobile de référence, et l'autre avec la phase mobile sortant de la colonne. Ainsi, la différence d'indice entre les deux liquides, apparaissant lorsqu'un composé est mélangé à l'éluant, se traduit par un déplacement de l'angle du rayon réfracté. Dans la pratique, le signal correspond à la mesure en continu de la compensation optique qu'il faut fournir à un élément optique pour compenser le déplacement du faisceau réfléchi.



#### d. La détection électrochimique

Bien qu'on utilise le plus fréquemment possible les techniques de détection s'appuyant sur les propriétés physiques des composés (absorbance, fluorescence ou réfractométrie), on peut aussi mettre à profit les propriétés chimiques des analytes. En effet, on peut se servir des propriétés oxydo-réductrices de ces solutés.

Par définition, oxydation et réduction sont provoquées par l'échange d'électrons entre deux électrodes et la solution dans laquelle elles baignent. Dans le cadre de la détection électrochimique, en plus des deux électrodes de travail, on trouve une électrode de référence. Grâce à celle-ci, gardant un potentiel constant par rapport aux électrodes de travail, on peut repérer séparément l'oxydation à l'anode et la réduction à la cathode, traduisant ainsi l'électrolyse du milieu sur l'une des deux électrodes. Ainsi, en fixant le potentiel de l'électrode référente à une valeur supérieure engendré par le soluté, on obtient la concentration de ce soluté dans l'effluent car celle-ci sera proportionnelle au potentiel lu par l'électrode de travail. Ainsi on peut appliquer cette technique à l'HPLC en faisant passer le flux permanent de la colonne dans une cellule de lecture miniaturisée afin de connaître la concentration des espèces à détecter.

Cependant, peu de molécules analytiquement importantes se prêtent à ce mode de détection ; on ne compte parmi elles que les phénols, les amines aromatiques et les thiols.

#### 3.3. La chromatographie de partage (35,37)

De toutes les méthodes chromatographiques permises en phase liquide, la plus usitée est la chromatographie de partage. On peut la subdiviser en deux parties : la chromatographie liquide/liquide et liquide/phase greffée. La

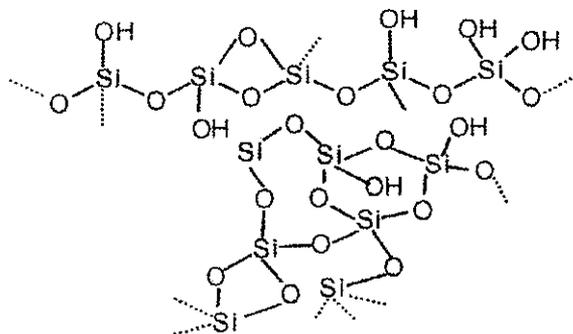


différence réside dans la manière dont on fixe la phase stationnaire sur les particules de support.

Pour le partage liquide/liquide, il s'agit d'une absorption physique alors que la phase greffée implique des liaisons covalentes. A l'origine, les colonnes de chromatographie de partage étaient exclusivement de type liquide/liquide alors que ce sont maintenant les supports greffés qui prédominent en raison de leur grande stabilité. Les séparations liquide/liquide ne sont plus alors réservées qu'à certaines applications.

### 3.3.1. Les supports greffés : technique de greffage (35,37)

Le support sur lequel se fixe la phase stationnaire est du gel de silice préparé à partir de tétraéthoxylane. Les billes obtenues ont un diamètre compris entre 3 et 7  $\mu\text{m}$ . Le gel de silice amorphe correspond alors à un maillage tridimensionnel duquel émergent à la surface des groupements silanols Si-OH.

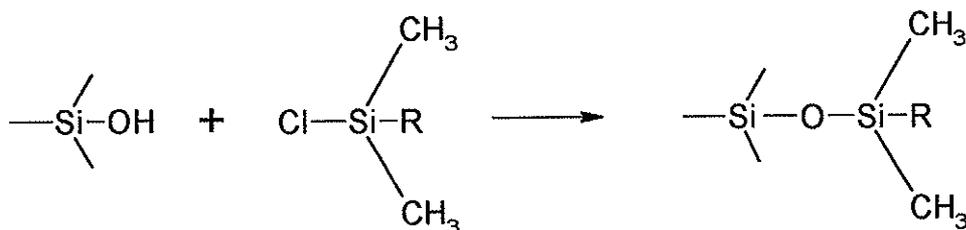


*Figure 16 - Structure tridimensionnelle schématique d'un gel de silice. (35)*



Le gel de silice ainsi obtenu est un matériau excessivement polaire que l'on peut utiliser tel quel en chromatographie. L'analyte entre alors en compétition avec la phase mobile pour occuper les sites de surface et la rétention repose de ce fait sur l'importance relative des forces d'absorption : on parle dans ce cas précis de chromatographie d'adsorption ou de chromatographie liquide/solide.

La plupart du temps, on se sert des groupements silanols pour fixer des molécules organiques par des liaisons covalentes. En fait, il s'agit d'une réaction d'hydrolyse dans un bain d'acide chlorhydrique entre un organochlorosilane et les entités silanols du gel de silice. On peut écrire alors cette réaction où R est usuellement un groupement n-octadécyle ou n-octyle. On parle alors de phase stationnaire en C18 ou en C8.



*Figure 17 – Réaction de greffage à la surface du gel de silice. (35)*

La phase stationnaire greffée se comporte alors comme un liquide et on parle de chromatographie liquide/liquide.

### 3.3.2. Phase stationnaire et phase mobile (35,37)

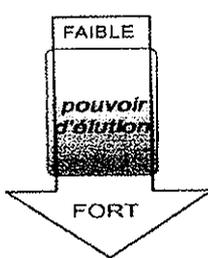
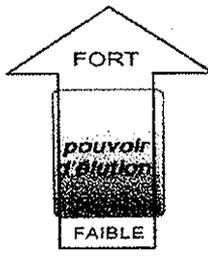
On peut distinguer deux types de chromatographie de partage selon la polarité relative des phases mobiles et stationnaires. En fonction du greffage, on parle de chromatographie de partage classique lorsqu'elle s'effectue en phase normale et de chromatographie de partage à polarité de phase inversée :



- en mode normal, la phase stationnaire est polaire et la phase mobile plutôt non polaire : le résultat de la compétition entre les deux phases est tel que l'analyte le moins polaire est élué en premier ;
- en mode inverse, la phase stationnaire est apolaire et la phase mobile plutôt polaire. Le composé le plus polaire est alors le premier à être élué.

Le choix de la phase mobile se fait donc en fonction de la phase stationnaire utilisée :

- en phase normale, si on emploie une phase mobile très polaire, l'élution sera rapide ;
- en phase inverse le raisonnement est contraire. Ainsi, le fait d'ajouter un solvant peu polaire à un solvant polaire diminue la polarité du mélange et permet une évolution plus rapide en phase inversée tout en conservant les forces de rétention avec la colonne.

phase polaire normale	solvants classés par polarité croissante	phase à polarité Inversée
	hexane toluène, trichlorométhane dichlorométhane éther acétate d'éthyle acétonitrile méthanol eau	

*Figure 18 - Force des solvants utilisés comme phase mobile. On peut ajuster le pouvoir d'élution de cette phase en associant plusieurs solvants. (35)*



## IV. DOSAGE DES METANEPHRINES PLASMATIQUES TOTALES

### 4.1. Conditions générales du dosage des méthoxyamines dans le sang

Dans les milieux biologiques, en particulier dans le plasma, le ou les éléments à analyser sont accompagnés de « contaminants » non spécifiques, variables d'un échantillon à un autre, pouvant rendre l'exploration difficile. De plus, la concentration de cet analyte s'y trouve aléatoire par nature et le plus souvent faible.

De ce fait, l'évaluation directe d'un composé biochimique (médicaments, toxiques ou éléments naturels biologiques) s'en trouve, à quelques exceptions près, impossible. Elle doit être alors précédée par un traitement adapté pour que le dosage soit le plus précis et le plus vraisemblable à interpréter.

La méthode de dosage par Chromatographie Liquide Haute Performance des métanéphrines plasmatiques totales (normétanéphrine et métanéphrine) n'échappe pas à cette règle.

Pour permettre une extraction aussi complète que possible des métabolites catécholaminergiques et éliminer la majorité des impuretés, on va passer par différentes étapes successives :

- une déprotéinisation du plasma.
- une hydrolyse des formes conjuguées.
- une extraction sur résine échangeuse d'ions.
- un dosage par HPLC en phase inversée couplée à la détection électrochimique.



L'intransigeance de la partie technique du dosage revêt une importance quant aux bons résultats du dosage. Cependant, la rigueur et la qualité du prélèvement sanguin n'en sont pas moins importantes pour obtenir des valeurs de méthoxyamines interprétables.

Pour cela, quelques règles doivent être impérativement suivies :

- Il faut prélever le sang (10 mL sont nécessaires) dans un tube hépariné (à l'aide de l'héparinate de lithium) contenant 100 µL de métabisulfite de sodium.
- Le malade doit aussi répondre à certaines exigences. Il doit être à jeun et au repos complet en position allongée depuis au moins 20 minutes.
- Le prélèvement doit être effectué avec une seringue placée dans la glace et être confié au technicien le plus rapidement possible. Ainsi, il est centrifugé (10 minutes à 3000 tours/min à une température de 4°C). On congèle alors le plasma : à -20°C, pour une durée de conservation maximale de 15 jours, ou -80°C pour une durée supérieure à 15 jours.

#### 4.2. Préparation des échantillons à doser

Il est nécessaire que les échantillons soient confrontés à une gamme d'étalonnage afin que l'on puisse quantifier sans doute possible la normétanéphrine et la métanéphrine qu'ils peuvent éventuellement contenir. Pour que le dosage soit donc interprétable, il faut que cette gamme d'étalonnage soit traitée de la même manière que les échantillons tout au long de l'expérimentation.



#### 4.2.1. Déprotéinisation du plasma

La déprotéinisation se fait à la température ambiante à l'aide de l'acide perchlorique (HClO<sub>4</sub>) pur.

Cependant, avant cette ultime étape, plusieurs préparations doivent être effectuées :

- Il faut préalablement établir une série de solutions témoins. Cette gamme d'étalonnage est préparée à l'aide de deux solutions mères de métanéphrine (R<sub>1</sub>) et normétanéphrine (R<sub>2</sub>) à 1g/L dans de l'acide chlorhydrique 0,05 M (HCl). Ces deux solutions-mères sont alors diluées au 1/1000<sup>ème</sup> et sont associées en solution fille (R<sub>3</sub>), déclinée elle même au 1/10<sup>ème</sup> (R<sub>4</sub>) et au 1/100<sup>ème</sup> (R<sub>5</sub>) pour les besoins du dosage.
- Pour être en adéquation avec le plasma, il est nécessaire de rajouter à la série des tubes témoins de l'albumine diluée dans du chlorure de sodium 0,9 % (R<sub>7</sub>).
- Il est aussi important de rajouter une quantité fixe dans chaque tube, étalons et échantillons, d'étalon interne. Cet élément commun, la MHBA, 3-méthoxy-4-hydroxybenzylamine, est présent pour s'affranchir des erreurs liées au dosage (R<sub>6</sub>).



La déprotéinisation se fait alors d'après le tableau suivant. Dans des tubes de 15 mL, on introduit :

	Gamme d'étalonnage (pg/L)						Echantillons à doser
	0	250	500	1000	2500	5000	
Solution fille R <sub>5</sub> (µL)	0	50	100	200			
Solution fille R <sub>4</sub> (µL)					50	100	
R <sub>7</sub> (µL)	1800	1800	1800	1800	1800	1800	
HCl 0,05M (µL)	200	150	100		150	100	
Plasma à doser (µL)							2000
R <sub>6</sub> (µL)	200	200	200	200	200	200	200
HClO <sub>4</sub> (µL)	125	125	125	125	125	125	125

Une fois la gamme complète, chaque tube est soumis à une agitation (10 secondes au Vortex® et 10 minutes à l'agitateur oscillant) et à une centrifugation (10 minutes à 4000 t/min).

#### 4.2.2. Hydrolyse et extraction

##### a. L'hydrolyse

L'hydrolyse est une étape nécessaire pour terminer la déprotéinisation et décrocher les formes conjuguées. En effet, les métabolites peuvent encore se trouver sous forme glucuro- et sulfonjuguées. Pour ce faire, après avoir repris les surnageants de centrifugation de chaque échantillon avec de l'HClO<sub>4</sub> 0,1N, on passe les tubes au bain-marie 12 minutes à 95°C. Cette étape se termine par un refroidissement brutal dans de la glace et un rinçage rigoureux par 5mL d'eau désionisée et 6mL d'une solution d'acétate d'ammonium.



## b. L'extraction

Les méthoxyamines plasmatiques doivent alors être extraites du milieu complexe dans lequel elles baignent avant d'être injectées dans un chromatographe.

Différents supports, naturels ou synthétiques, peuvent être utilisés pour fixer, par absorption ou échange d'ions, les composés présents dans la phase aqueuse. Dans le cadre de ce dosage, on utilise une résine échangeuse de cations préalablement conditionnée en micro-colonnes.

L'extraction se déroule suivant un schéma bien précis :

- On verse le contenu de chaque solution sur les micro-colonnes. Par le jeu des échanges ioniques, les métabolites catécholaminergiques se fixent sur la résine alors que le reste de la phase aqueuse se trouve éluée.
- Chaque colonne d'extraction est lavée par 30 mL d'eau désionisée et 0,4 mL d'un mélange éluant, à savoir une combinaison entre de l'ammoniaque dilué au 1/10<sup>ème</sup> dans de l'eau désionisée et du méthanol (ce mélange est réalisé dans un rapport volumétrique 4/1 respectivement pour chaque composant).
- Les métanéphrines sont alors récupérées par 2,8 mL de ce mélange éluant et évaporé à 65°C à l'aide du Turbovap®.

### 4.2.3. Le dosage proprement dit

Le résidu sec obtenu après l'évaporation de chaque tube ne contient, le cas échéant, que des méthoxyamines. On récupère alors les fractions pures des métabolites catécholaminergiques par 150 µL d'acide chlorhydrique 0,05 M (HCl). Une fois agitée au Vortex®, on injecte 80 µL de la solution reconstituée dans l'appareil de HPLC à l'aide d'une « seringue ».

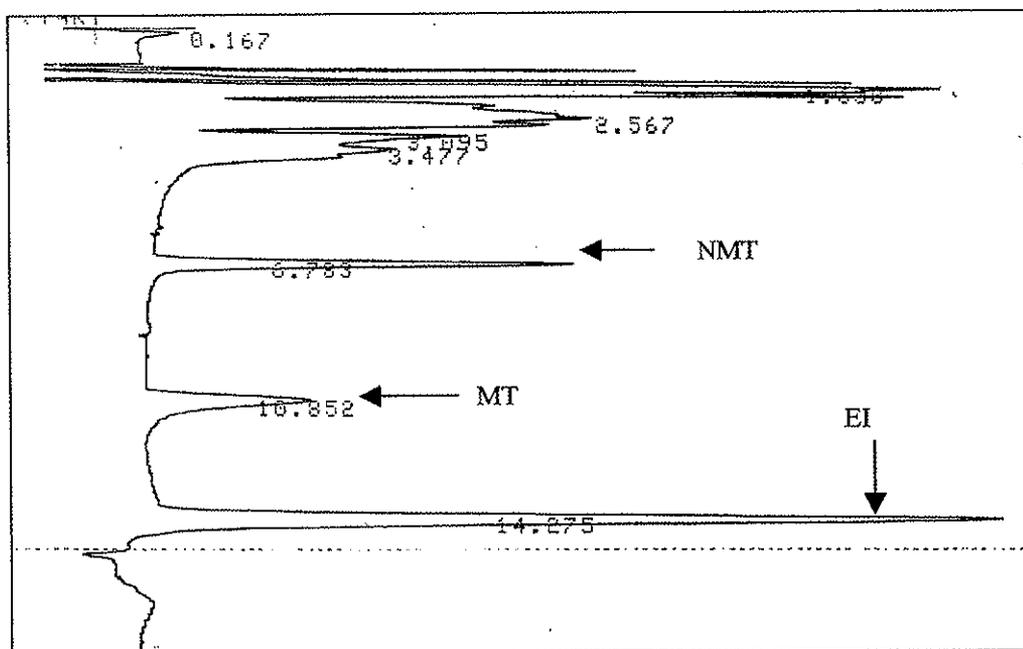


Chaque échantillon est alors « poussé » dans le système chromatographique par la phase mobile. Elle résulte d'un mélange fin d'une solution aqueuse complexe de dihydrogénophosphate de sodium ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), d'heptane sulfonate de sodium et d'EDTA sodique, et d'acétonitrile dans un rapport volumétrique 94,2/5,8.

Par le jeu des forces attractives et répulsives des phases stationnaires et mobiles, on obtient le chromatogramme de chaque échantillon. Sachant que le temps de rétention ( $T_R$ ) de chaque composé est connu grâce au chromatogramme de la solution pure, à savoir environ :

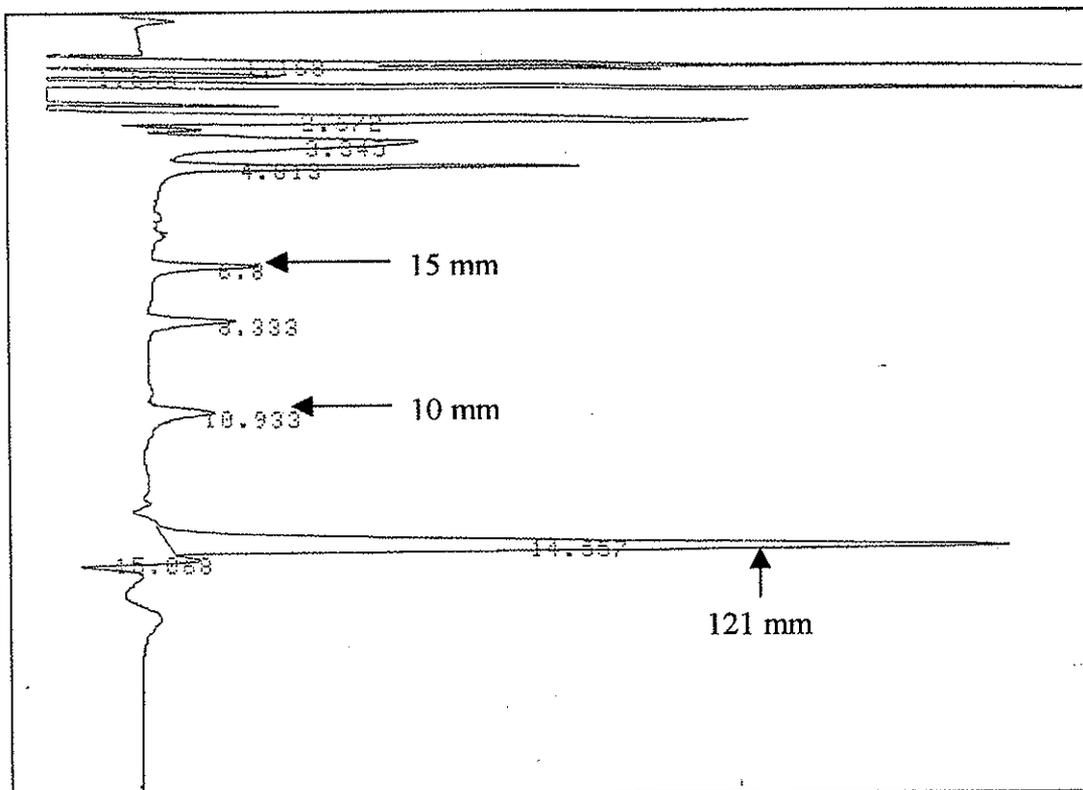
- $T_R$  normétanéphrine : 6,5 min,
- $T_R$  métanéphrine : 11 min,
- $T_R$  étalon interne : 14,5 min,

on peut identifier chaque métabolite contenu dans les différents prélèvements sanguins et en déterminer les concentrations (Annexe 1).



*Figure 19 - Tracé de l'analyse HPLC, couplée à la détection électrochimique, de la solution pure.*





*Figure 20 - Tracé de l'analyse HPLC, couplée à la détection électrochimique, d'un prélèvement sanguin inconnu.*



QUATRIEME PARTIE :  
ETUDE CLINIQUE :  
RESULTATS ET INTERPRETATION  
DU DOSAGE PAR  
CHROMATOGRAPHIE DES  
METANEPHRINES  
PLASMATIQUES.



## I. MISE EN PLACE DE L'ETUDE CLINIQUE

La détermination de la valeur diagnostique des métabolites méthoxylés de l'adrénaline et de la noradrénaline revêt une importance capitale dans l'ensemble de la démarche d'exclusion d'un phéochromocytome.

Ce dosage par HPLC avec détection électrochimique se faisant depuis cinq ans au CHRU de Limoges, il est apparu intéressant d'approfondir et d'interpréter ces différents résultats. Cette étude clinique va donc porter sur 148 patients ayant bénéficié d'un dosage plasmatique des métanéphrines au cours d'une consultation ou d'une hospitalisation. Ainsi, nous essayerons d'établir une corrélation entre le tableau clinique et les différentes valeurs du bloc métanéphrine(MT)-normétanéphrine(NMT), tout en sachant que certains facteurs influenceront de très près la décharge catécholaminergique.

De ce fait, on étudiera les cas avérés de phéochromocytome et, le cas échéant, si :

- La prise de certaines thérapeutiques ( $\beta$  et  $\alpha$  bloquants, ADT ou IMAO),
- L'insuffisance rénale chronique,
- L'hypertension artérielle,
- La grossesse chez la femme en age de procréer,

peuvent entraîner une réelle modification du dosage et par voie de conséquence l'approche diagnostique.

	NOM	PRENOM	DATE DE NAISSANCE	AGE	SEXE	NMT (pg/ml)	NMT (nmol/l)	MT (pg/ml)	MT (nmol/l)
1	A	M	03/01/1981	22ans	Femme	1800	9,7	937	4,7
2	B	M	09/09/1952	50ans	Femme	4232	22,9	595	3,0
3	B	M	25/08/1943	56ans	Femme	2277	12,3	1145	5,7
4	B	L	24/02/1959	41ans	Homme	3288	17,8	1498	7,5
5	B	C	25/01/1967	33ans	Homme	1482	8,0	1228	6,1
6	B	R	05/07/1927	75ans	Femme	6454	34,9	1913	9,6
7	B	L	15/09/1933	66ans	Femme	3113	16,8	587	2,9
8	B	A-M	20/08/1934	68ans	Femme	1500	8,1	1250	6,3
9 **	D S	H	18/10/1973	26ans	Homme	2782	15,0	1696	8,5
10	D C	J	06/06/1955	45ans	Homme	4946	26,7	2222	11,1
11	B	D	31/12/1940	60ans	Homme	22112	119,4	10606	53,0
12	D	A	08/11/1946	54ans	Femme	1945	10,5	386	1,9
13	G	M-D	21/03/1932	70ans	Femme	2124	11,5	807	4,0
14	M	A	09/08/1984	18ans	Homme	855	4,6	570	2,9
15	H	L	30/05/1938	61ans	Femme	1535	8,3	826	4,1
16	J	A	10/10/1981	19ans	Homme	1131	6,1	780	3,9
17	J	N	27/12/1972	28ans	Homme	1300	7,0	1275	6,4
18	L	M	09/06/1934	65ans	Homme	11988	64,7	737	3,7
19	L	L	23/12/1919	82ans	Femme	9625	52,0	8821	44,1
20	L	A	25/10/1932	69ans	Femme	2428	13,1	1350	6,8
21	L	H	26/03/1955	48ans	Homme	2173	11,7	812	4,1

	PHEOCROMOCYTOME OUI/NON	INSUFFISANCE RENALE OUI/NON	HYPERTENDU OUI/NON	TTT PAR UN ADT OU IMAO OUI/NON	TTT PAR UN ALPHA OU BETA- BLOQUANTS OUI/NON	FEMME ENCEINTE OUI/NON
1	NON	NON	NON	NON	NON	NON
2	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
3	NON	NON	NON	NON	NON	NON
4	NON	NON	NON	NON	NON	NON
5	NON	NON	NON	NON	NON	NON
6	NON	NON	NON	NON	NON	NON
7	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
8	NON	NON	NON	NON	NON	NON
9	OUI	NON	OUI	OUI	NON	NON
10	NON	NON	NON	NON	NON	NON
11	NON	OUI	OUI	NON	NON	NON
12	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
13	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
14	NON	NON	NON	NON	NON	NON
15	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
16	NON	NON	NON	NON	NON	NON
17	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
18	NON	NON	NON	NON	NON	NON
19	NON	OUI ci:58ml/min	OUI	NON	OUI	NON
20	NON	NON	NON	NON	NON	NON
21	NON	NON	OUI	NON	NON	NON

	NOM	PRENOM	DATE DE NAISSANCE	AGE	SEXE	NMT (pg/ml)	NMT (nmol/l)	MT (pg/ml)	MT (nmol/l)
22	L	B	21/11/1953	48ans	Homme	1000	5,4	250	1,3
23	M	P	18/07/1959	41ans	Homme	1352	7,3	964	4,8
24	M	F	18/02/1955	45ans	Homme	1473	8,0	972	4,9
25	P	A	02/06/1945	57ans	Femme	1587	8,6	933	4,7
26	P	C	22/04/1951	50ans	Homme	2582	13,9	1105	5,5
27	P	C	01/07/1941	61ans	Femme	3703	20,0	343	1,7
28	P	J-P	18/03/1937	63ans	Homme	1590	8,6	1818	9,1
29 **	R	J-J	22/01/1928	72ans	Homme	151709	819,2	12218	61,1
30	R	L	18/12/1967	33ans	Femme	1305	7,0	668	3,3
31	R	R	11/03/1940	60ans	Femme	2500	13,5	1111	5,6
32	R	D	18/11/1942	57ans	Homme	1739	9,4	937	4,7
33	S	W	20/07/1966	35ans	Femme	5269	28,5	1205	6,0
34	S	R	01/10/1939	62ans	Femme	1638	8,8	784	3,9
35 **	T	C	04/03/1974	25ans	Homme	24668	133,2	91176	455,9
36	T	C	09/04/1946	53ans	Femme	3033	16,4	586	2,9
37	T	M	25/02/1933	69ans	Homme	3105	16,8	1793	9,0
38	V	A	21/08/1942	59ans	Homme	1470	7,9	452	2,3
39	V	M	04/09/1916	82ans	Femme	3710	20,0	2134	10,7
40	V	M	05/12/1951	51ans	Femme	4241	22,9	781	3,9
41	A	C	17/07/1964	38ans	Femme	2306	12,5	961	4,8
42	A	H	11/06/1920	79ans	Homme	2408	13,0	1518	7,6

	PHEOCROMOCYTOME OUI/NON	INSUFFISANCE RENALE OUI/NON	HYPERTENDU OUI/NON	TTT PAR UN ADT OU IMAO OUI/NON	TTT PAR UN ALPHA OU BETA- BLOQUANTS OUI/NON	FEMME ENCEINTE OUI/NON
22	NON	NON	NON	NON	NON	NON
23	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
24	NON	NON	NON	NON	NON	NON
25	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
26	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
27	NON	NON	NON	NON	NON	NON
28	NON	NON	NON	NON	NON	NON
29	OUI	NON	OUI	NON	OUI	NON
30	NON	NON	NON	OUI	NON	NON
31	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
32	NON	NON	NON	NON	OUI	NON
33	NON	NON	NON	NON	NON	NON
34	NON	OUI	OUI	NON	NON	NON
35	OUI	NON	OUI	NON	NON	NON
36	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
37	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
38	NON	NON	NON	NON	NON	NON
39	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
40	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
41	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
42	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON

	NOM	PRENOM	DATE DE NAISSANCE	AGE	SEXE	NMT (pg/ml)	NMT (nmol/l)	MT (pg/ml)	MT (nmol/l)
43	A	J	17/10/1920	80ans	Homme	1852	10,0	751	3,8
44	B	A	08/07/1935	67ans	Homme	3436	18,6	1434	7,2
45	B	R	10/07/1936	64ans	Homme	2091	11,3	470	2,4
46	B	N	03/10/1960	41ans	Homme	3710	20,0	1045	5,2
47	B	C	25/09/1965	34ans	Femme	2917	15,8	1176	5,9
48	B	R	24/09/1947	53ans	Homme	1738	9,4	485	2,4
49	B	A	26/07/1935	66ans	Femme	3551	19,2	899	4,5
50	B	S	23/06/1971	31ans	Femme	1013	5,5	285	1,4
51	B	T	17/04/1931	72ans	Femme	5375	29,0	1704	8,5
52	B	L	11/03/1934	68ans	Femme	2750	14,9	1217	6,1
53	C	A	05/04/1956	43ans	Femme	2955	16,0	961	4,8
54	C	M	03/08/1970	29ans	Femme	962	5,2	690	3,5
55	C	A	12/04/1911	90ans	Femme	18455	99,7	2631	13,2
56	C	G	30/12/1915	87ans	Femme	4620	24,9	1562	7,8
57	C	S	07/05/1924	78ans	Femme	4500	24,3	1468	7,3
58	C	C	24/08/1953	49ans	Femme	1372	7,4	653	3,3
59	D	A	30/04/1947	55ans	Femme	2258	12,2	667	3,3
60	D	M	23/02/1944	57ans	Femme	2375	12,8	1000	5,0
61	D	D	24/03/1947	52ans	Homme	2856	15,4	1016	5,1
62	D	M	02/01/1948	53ans	Femme	26682	144,1	7330	36,7
63	D	D	13/02/1968	33ans	Homme	2113	11,4	852	4,3

	PHEOCROMOCYTOME OUI/NON	INSUFFISANCE RENALE OUI/NON	HYPERTENDU OUI/NON	TTT PAR UN ADT OU IMAO OUI/NON	TTT PAR UN ALPHA OU BETA- BLOQUANTS OUI/NON	FEMME ENCEINTE OUI/NON
43	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
44	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
45	NON	NON	OUI	OUI	OUI	NON
46	NON	OUI	OUI	NON	OUI	NON
47	NON	NON	NON	NON	NON	NON
48	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
49	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
50	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
51	NON	OUI	OUI	NON	NON	NON
52	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
53	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
54	NON	NON	NON	NON	NON	NON
55	NON	OUI	OUI	NON	OUI	NON
56	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
57	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
58	NON	NON	NON	NON	NON	NON
59	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
60	NON	NON	NON	OUI	NON	NON
61	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
62	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
63	NON	NON	NON	NON	NON	NON

	NOM	PRENOM	DATE DE NAISSANCE	AGE	SEXE	NMT (pg/ml)	NMT (nmol/l)	MT (pg/ml)	MT (nmol/l)
64	D	A-M	23/06/1936	65ans	Femme	49029	264,8	2497	12,5
65	D	S	20/03/1941	60ans	Femme	1625	8,8	416	2,1
66	D	D	19/05/1932	69ans	Femme	23809	128,6	6993	35,0
67	D	Y	19/07/1934	65ans	Femme	2776	15,0	971	4,9
68	D	N	24/02/1946	54ans	Femme	2032	11,0	735	3,7
69	D	C	06/05/1921	78ans	Femme	2386	12,9	694	3,5
70	D	H	23/10/1936	66ans	Homme	3691	19,9	1019	5,1
71	D	E	06/11/1932	67ans	Femme	6589	35,6	877	4,4
72	DD	M	05/04/1954	45ans	Femme	1885	10,2	1220	6,1
73	F	I	17/08/1973	27ans	Femme	1182	6,4	543	2,7
74	F	G	24/04/1928	73ans	Homme	3219	17,4	700	3,5
75	F	S	27/10/1922	76ans	Femme	4935	26,6	2083	10,4
76	G	D	17/08/1961	41ans	Homme	1576	8,5	600	3,0
77	G	G	17/04/1974	27ans	Femme	2084	11,3	712	3,6
78	G	D	06/07/1942	58ans	Homme	1563	8,4	703	3,5
79	G	L	10/04/1926	77ans	Homme	5000	27,0	1214	6,1
80	G	B	01/03/1946	55ans	Femme	2386	12,9	500	2,5
81	J	A	17/01/1925	74ans	Femme	2065	11,2	821	4,1
82	L	M	27/05/1944	55ans	Femme	2195	11,9	641	3,2
83	L	G	14/11/1946	55ans	Homme	1527	8,2	776	3,9
84	L	B	13/03/1952	48ans	Femme	3369	18,2	833	4,2

	PHEOCROMOCYTOME OUI/NON	INSUFFISANCE RENALE OUI/NON	HYPERTENDU OUI/NON	TTT PAR UN ADT OU IMAO OUI/NON	TTT PAR UN ALPHA OU BETA- BLOQUANTS OUI/NON	FEMME ENCEINTE OUI/NON
64	NON	OUI	OUI	NON	OUI	NON
65	NON	NON	NON	NON	NON	NON
66	NON	OUI	OUI	NON	OUI	NON
67	NON	NON	NON	NON	NON	NON
68	NON	NON	NON	NON	NON	NON
69	NON	NON	OUI	OUI	NON	NON
70	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
71	NON	NON	NON	NON	NON	NON
72	NON	NON	NON	NON	OUI	NON
73	NON	NON	NON	NON	NON	NON
74	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
75	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
76	NON	NON	NON	NON	NON	NON
77	NON	NON	NON	NON	NON	NON
78	NON	NON	NON	NON	NON	NON
79	NON	NON	NON	NON	NON	NON
80	NON	NON	NON	NON	NON	NON
81	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
82	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
83	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
84	NON	NON	NON	NON	NON	NON

	NOM	PRENOM	DATE DE NAISSANCE	AGE	SEXE	NMT (pg/ml)	NMT (nmol/l)	MT (pg/ml)	MT (nmol/l)
85	L	Y	10/08/1933	69ans	Femme	1830	9,9	486	2,4
86	L	J	25/04/1943	58ans	Femme	5444	29,4	1409	7,0
87	L	M	14/08/1949	50ans	Femme	3909	21,1	833	4,2
88	L	R	29/10/1943	56ans	Homme	1768	9,5	879	4,4
89	L	E	17/12/1964	38ans	Homme	1574	8,5	937	4,7
90	LB	A-M	21/11/1970	29ans	Femme	2336	12,6	267	1,3
91	L	Y	15/08/1967	32ans	Homme	2046	11,0	1068	5,3
92	L	H	09/02/1928	72ans	Femme	2219	12,0	656	3,3
93	M	J	11/12/1935	67ans	Femme	4200	22,7	1562	7,8
94	M	S	25/02/1946	56ans	Homme	1764	9,5	902	4,5
95	M	C	21/03/1952	48ans	Femme	3552	19,2	1475	7,4
96	M	G	25/09/1934	66ans	Homme	2171	11,7	718	3,6
97	N	G	01/02/1919	81ans	Homme	5094	27,5	2219	11,1
98	O	M	25/03/1936	66ans	Homme	40952	221,1	6410	32,1
99 **	P	P	10/09/1936	65ans	Femme	3329	18,0	866	4,3
100	P	D	05/02/1944	58ans	Homme	2650	14,3	449	2,2
101	P	A	20/06/1947	52ans	Homme	2780	15,0	483	2,4
102	R	F	20/02/1977	23ans	Femme	941	5,1	692	3,5
103	R	M	20/06/1947	52ans	Femme	2670	14,4	550	2,8
104	R	E	01/07/1953	48ans	Femme	1308	7,1	720	3,6
105	R	S	21/06/1967	33ans	Femme	2738	14,8	1666	8,3

	PHEOCROMOCYTOME OUI/NON	INSUFFISANCE RENALE OUI/NON	HYPERTENDU OUI/NON	TTT PAR UN ADT OU IMAO OUI/NON	TTT PAR UN ALPHA OU BETA- BLOQUANTS OUI/NON	FEMME ENCEINTE OUI/NON
85	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
86	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
87	NON	OUI	OUI	NON	NON	NON
88	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
89	NON	NON	NON	NON	NON	NON
90	NON	NON	NON	NON	NON	NON
91	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
92	NON	NON	NON	NON	NON	NON
93	NON	NON	OUI	OUI	NON	NON
94	NON	NON	NON	NON	NON	NON
95	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
96	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
97	NON	OUI	OUI	NON	OUI	NON
98	NON	OUI	OUI	NON	OUI	NON
99	OUI	NON	OUI	NON	NON	NON
100	NON	NON	NON	NON	NON	NON
101	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
102	NON	NON	NON	NON	NON	NON
103	NON	NON	NON	NON	NON	NON
104	NON	NON	NON	NON	NON	NON
105	NON	NON	NON	NON	NON	NON

	NOM	PRENOM	DATE DE NAISSANCE	AGE	SEXE	NMT (pg/ml)	NMT (nmol/l)	MT (pg/ml)	MT (nmol/l)
106	R	G	07/05/1932	68ans	Homme	3065	16,6	1453	7,3
107	S	A	01/01/1924	78ans	Homme	2888	15,6	3298	16,5
108	S	J	19/06/1937	67ans	Homme	2532	13,7	777	3,9
109	S	V	22/10/1962	37ans	Femme	1731	9,3	1023	5,1
110	S	J-P	02/04/1948	53ans	Homme	3792	20,5	856	4,3
111	S	J-P	13/11/1947	52ans	Homme	1666	9,0	778	3,9
112	S	J	12/09/1945	57ans	Homme	2500	13,5	1500	7,5
113	V	G	04/09/1921	78ans	Femme	2884	15,6	360	1,8
114	V	E	07/12/1925	74ans	Femme	5151	27,8	944	4,7
115	V	S	12/06/1962	37ans	Femme	1552	8,4	595	3,0
116	V	M	30/03/1930	71ans	Femme	2729	14,7	1095	5,5
117	V	I	06/07/1920	78 ans	Femme	3946	21,3	1430	7,2
118	B	B	30/06/1947	55ans	Femme	1779	9,6	594	3,0
119	B	A	14/04/1955	45ans	Homme	3287	17,7	1350	6,8
120	B	E	30/06/1979	20ans	Femme	4235	22,9	1625	8,1
121	B	O	30/03/1931	70ans	Femme	5000	27,0	896	4,5
122	B	M	10/03/1932	70ans	Homme	3064	16,5	909	4,5
123	B	S	21/04/1928	75ans	Femme	5098	27,5	745	3,7
124**	C	A	26/07/1940	61ans	Femme	26764	144,5	762	3,8
125	D	F	15/07/1944	56ans	Femme	3552	19,2	1875	9,4
126	D	M	05/03/1944	55ans	Homme	1954	10,6	443	2,2

	PHEOCROMOCYTOME OUI/NON	INSUFFISANCE RENALE OUI/NON	HYPERTENDU OUI/NON	TTT PAR UN ADT OU IMAO OUI/NON	TTT PAR UN ALPHA OU BETA- BLOQUANTS OUI/NON	FEMME ENCEINTE OUI/NON
106	NON	NON	NON	NON	NON	NON
107	NON	OUI	OUI	NON	OUI	NON
108	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
109	NON	NON	NON	NON	NON	NON
110	NON	NON	NON	NON	NON	NON
111	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
112	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
113	NON	NON	NON	NON	NON	NON
114	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
115	NON	NON	OUI	OUI	NON	NON
116	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
117	NON	NON	NON	NON	NON	NON
118	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
119	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
120	NON	NON	NON	NON	NON	NON
121	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
122	NON	OUI	NON	NON	NON	NON
123	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
124	OUI	NON	OUI	NON	NON	NON
125	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
126	NON	NON	NON	NON	NON	NON

	NOM	PRENOM	DATE DE NAISSANCE	AGE	SEXE	NMT (pg/ml)	NMT (nmol/l)	MT (pg/ml)	MT (nmol/l)
127	D	R	15/03/1921	80ans	Homme	16078	86,8	2500	12,5
128	F	D	07/11/1926	75ans	Femme	5070	27,4	1303	6,5
129	F	P	09/01/1952	50ans	Femme	2200	11,9	1892	9,5
130	F	J-P	08/04/1949	53ans	Homme	2812	15,2	2462	12,3
131	G	M-J	23/02/1942	60ans	Femme	2419	13,1	273	1,4
132	G	M	16/03/1932	71ans	Femme	2247	12,1	403	2,0
133	L	G	31/07/1980	22ans	Femme	2173	11,7	483	2,4
134	L	M	18/01/1934	65ans	Femme	2738	14,8	936	4,7
135	A	I	12/12/1974	25ans	Femme	1300	7,0	352	1,8
136	B	M-A	13/08/1916	84ans	Femme	4935	26,6	1207	6,0
137	B	P	16/11/1922	76ans	Femme	1875	10,1	1000	5,0
138	B	M	20/03/1973	27ans	Femme	760	4,1	243	1,2
139	B	J	05/11/1934	66ans	Femme	2800	15,1	1157	5,8
140	B	N	16/12/1938	61ans	Femme	1970	10,6	833	4,2
141	B	C	11/01/1950	50ans	Femme	1842	9,9	783	3,9
142	B	M	18/03/1915	84ans	Femme	6875	37,1	1923	9,6
143	B	P	14/09/1938	64ans	Femme	3578	19,3	1564	7,8
144	B	H	14/03/1923	77ans	Homme	6387	34,5	1670	8,4
147	C	M	05/06/1931	68ans	Femme	16931	91,4	2470	12,4
148	D	J-D	21/12/1949	50ans	Femme	2136	11,5	396	2,0

	PHEOCROMOCYTOME OUI/NON	INSUFFISANCE RENALE OUI/NON	HYPERTENDU OUI/NON	TTT PAR UN ADT OU IMAO OUI/NON	TTT PAR UN ALPHA OU BETA- BLOQUANTS OUI/NON	FEMME ENCEINTE OUI/NON
127	NON	NON	NON	NON	NON	NON
128	NON	NON	NON	NON	NON	NON
129	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
130	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
131	NON	NON	NON	NON	NON	NON
132	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
133	NON	NON	NON	NON	NON	NON
134	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
135	NON	NON	NON	NON	NON	NON
136	NON	NON	NON	NON	NON	NON
137	NON	OUI	NON	NON	NON	NON
138	NON	OUI	NON	NON	NON	NON
139	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
140	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
141	NON	NON	OUI	OUI	NON	NON
142	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
143	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
144	NON	OUI	OUI	NON	NON	NON
147	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
148	NON	NON	OUI	NON	NON	NON

*Tableau 3 - Tableau récapitulatif des 148 patients étudiés*



## II. INTERPRETATION DES RESULTATS

Pour comparer les concentrations plasmatiques moyennes de normétanéphrine et métanéphrine, nous sommes obligés de nous appuyer sur l'outil statistique.

Afin de limiter les erreurs d'interprétation et vu le manque d'homogénéité des populations, il est apparu important d'effectuer deux tests statistiques : un test paramétrique, le test t de Student régit par une loi gaussienne, et le test de Mann et Withney qualifié de non paramétrique (18). Dans les 2 cas, pour chaque entité étudiée et lorsque le nombre de patients concernés nous le permet, nous comparerons le bloc métanéphrine – normétanéphrine en regard d'une population témoin totalement exempte de ces différents cas cliniques (on parlera alors d'un tableau clinique négatif (Annexe 6)).

La décision de signification est alors prise en fonction de l'indice t et du degré de liberté (ddl) calculés pour le test de Student (Annexe 11) et de l'estimation du petit p pour le test de Mann et Withney. Ainsi, on se fixe un « seuil » de décision à  $p < 0,05$  et  $t > t_{(ddl)}$  pour conclure à une différence significative.

*A contrario*, dans l'étude de l'insuffisance rénale chronique et la prise de  $\beta$ - et  $\alpha$ -bloquants ou d'antidépresseurs tricycliques, nous nous appuyerons sur une analyse d'exclusion de valeurs. On compare alors le chiffre plasmatique de chaque métabolite à un intervalle de décision. Si cette valeur appartient à l'intervalle moyenne  $\pm 2$  écarts-types, on peut alors dire que cette valeur n'entraîne pas une signification pour le paramètre étudié. Par conséquent, pour les comparer aux 55 patients dont la clinique est négative (Annexe 6), on s'appuie sur le calcul de l'intervalle d'exclusion, sachant que pour cette population témoin, on obtient :

- pour la normétanéphrine :  
moyenne = 16,12 nmol/L  
écart-type = 14  
intervalle = ] 0 ; 44,12 [ nmol/L



- pour la métanéphrine  
moyenne = 4,7 nmol/L  
écart-type = 2,5  
intervalle = ] 0 ; 9,7 [ nmol/L

## 2.1. Etude de chaque paramètre clinique

### 2.1.1. Cas de la prise de $\beta$ - ou $\alpha$ -bloquants

Sur la totalité de la population, seuls 2 patients prennent ce genre de médication (Annexe 2).

Or, on s'aperçoit que les 2 patients concernés ont des valeurs plasmatiques incluses dans l'intervalle, respectivement 9,4 et 10,2 nmol/L pour la normétanéphrine, et 4,7 et 6,1 nmol/L pour la métanéphrine. On peut donc affirmer qu'il n'y a pas de différence significative entre les concentrations plasmatiques de la population témoin et celles des 2 patients prenant des  $\beta$ - ou  $\alpha$ -bloquants.

### 2.1.2. Cas de la prise d'antidépresseurs (ADT) ou d'inhibiteurs de la monoamine oxydase (IMAO)

On recense 2 patients dans le cas de la prise de cette thérapeutique (Annexe 3). Ces 2 patients possèdent des concentrations plasmatiques appartenant à l'intervalle d'exclusion, 7 et 12,8 nmol/L pour la normétanéphrine et 3,3 et 5 nmol/L pour la métanéphrine. Par comparaison identique à la précédente, on peut dire qu'il n'y a pas de différence entre ces 2 populations.

### 2.1.3. Cas de l'insuffisant rénal chronique (IRC)

Dans les mêmes conditions, on constate que les 3 seuls patients touchés par une IRC (Annexe 4) n'accusent pas de différence significative quant à la comparaison de leurs concentrations plasmatiques. En effet, on s'aperçoit que ni les valeurs du métabolite de la normétanéphrine (16,5 , 4,1 et 10,1 nmol/L), ni celles de la métanéphrine (4,5 , 1,2 et 5 nmol/L) figurent hors des limites des intervalles d'exclusion.



### 2.1.4. Cas de l'hypertension artérielle

La population affectée par l'hypertension artérielle est beaucoup plus importante que celle concernée par les précédents paramètres cliniques.

En effet, on dénombre 31 patients atteints par l'HTA (Annexe 5). On s'appuie alors sur les tests de Student et de Mann et Whitney. Cependant, lorsqu'on confronte les chiffres de normétanéphrine et métanéphrine, on s'aperçoit qu'il n'existe aucune différence significative au seuil de détermination fixé à  $p = 0,05$ .

<b>U de Mann-Whitney pour mnt</b>			
Variables groupe : hta			
U		695,500	
U Prime		1009,500	
Valeur de z		-1,412	
Valeur de p		,1579	
z corrigé pour ex-aequo		-1,412	
p corrigé pour ex-aequo		,1579	
# ex-aequo		10	
<b>Infos Mann-Whitney pour mnt</b>			
Variables groupe : hta			
	Nombre	Somme des rangs	Moy. des rangs
non	55	2235,500	40,645
oui	31	1505,500	48,565

Valeurs	X <sub>a</sub>	X <sub>b</sub>
n	31	55
Somme	535,59	886,9
Moyenne	17,28	16,13
Somme des carrés	15764,78	24951,25
Somme des carrés des écarts à la moyenne	6510,99	10649,58
Variance	217,03	197,21
Ecart-type	14,73	14,04

Moyenne <sub>A</sub> - Moyenne <sub>B</sub>	t
1,152	0,3589

(ddl :84)

#### *Résultats des 2 tests pour la normétanéphrine.*

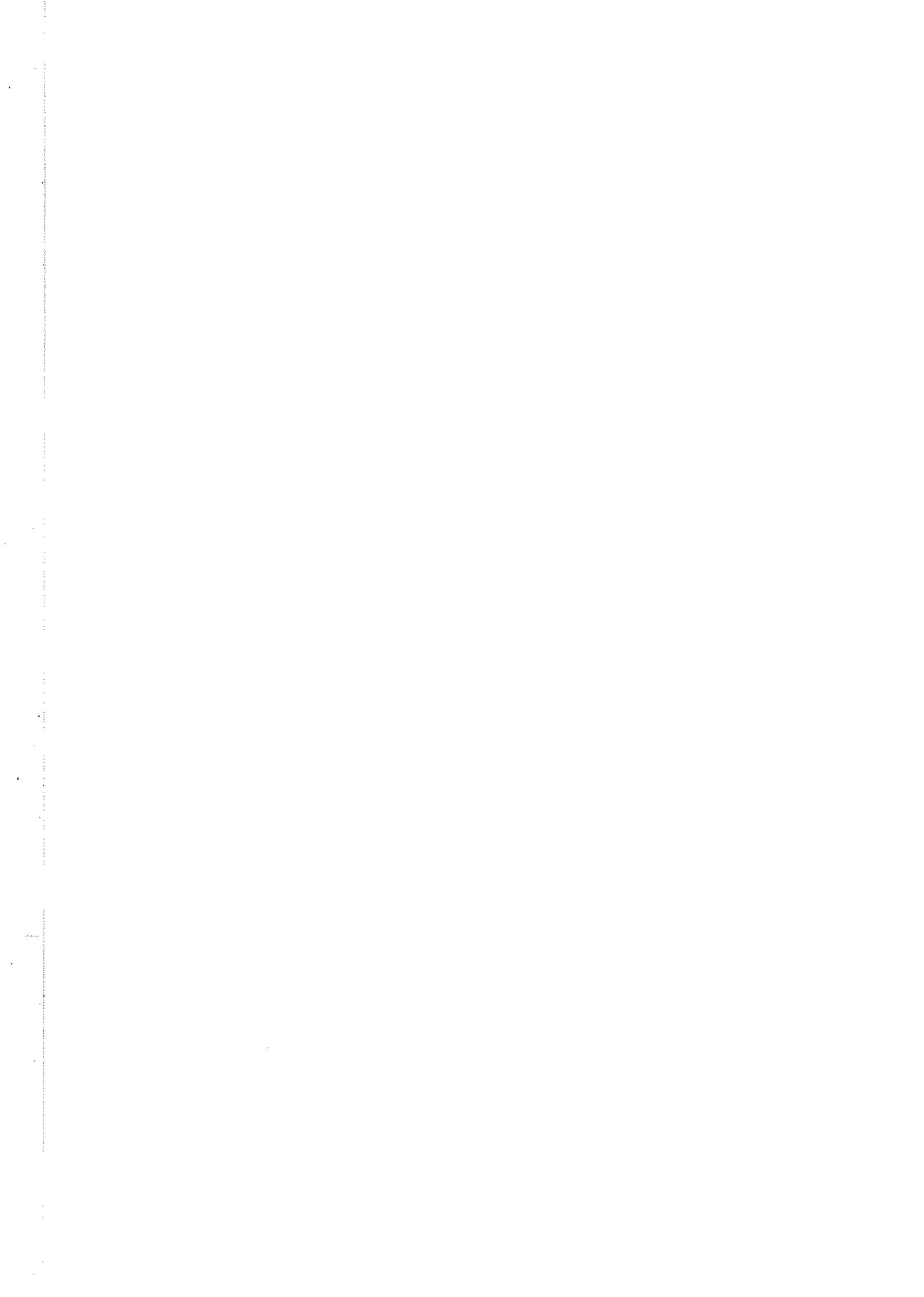
<b>U de Mann-Whitney pour mt</b>			
Variables groupe : hta			
U		829,000	
U Prime		876,000	
Valeur de z		-,211	
Valeur de p		,8326	
z corrigé pour ex-aequo		-,211	
p corrigé pour ex-aequo		,8326	
# ex-aequo		24	
<b>Infos Mann-Whitney pour mt</b>			
Variables groupe : hta			
	Nombre	Somme des rangs	Moy. des rangs
non	55	2369,000	43,073
oui	31	1372,000	44,258

Valeurs	X <sub>a</sub>	X <sub>b</sub>
n	31	55
Somme	148,5	260,9
Moyenne	4,79	4,74
Somme des carrés	883,49	1587,77
Somme des carrés des écarts à la moyenne	172,13	350,16
Variance	5,74	6,48
Ecart-type	2,39	2,55

Moyenne <sub>A</sub> - Moyenne <sub>B</sub>	t
0,0467	0,0834

#### *Résultats des 2 tests pour la métanéphrine.*

(ddl :84)



Le cas de la grossesse chez la femme en âge de procréer n'a pas lieu d'être considérée dans l'étude puisqu'on ne recense aucun cas positif pour ce paramètre clinique. On peut également s'intéresser aux différences qui pourraient éventuellement exister entre les hommes et les femmes pour chacun des paramètres. Deux études statistiques ont été menées en confrontant les valeurs diagnostiques de chaque métabolite pour l'insuffisance rénale et l'hypertension, les prises médicamenteuses ne pouvant être évaluées pour cette comparaison. Il s'avère que l'on ne retrouve aucune différence entre les hommes et les femmes (Annexe 7) quant aux résultats des dosages.

## 2.2. Exploration approfondie pour l'HTA

L'hypertension artérielle est un symptôme dans les cas avérés de phéochromocytome. L'évaluation exacte de ce paramètre constitue donc une étape obligatoire dans le diagnostic d'une tumeur chromaffine.

D'ailleurs plusieurs études cliniques très poussées montrent que cet accès hypertensif peut faire augmenter les chiffres de la métanéphrine et de la normétanéphrine (4,32).

Ainsi, on va pouvoir comparer les résultats de la métanéphrine et de la normétanéphrine sans se préoccuper des autres items cliniques. En effet, en considérant que les différents postulats de départ se sont avérés non significatifs, on émet l'hypothèse qu'ils n'influent en rien les concentrations plasmatiques des deux métabolites catécholaminergiques.

Par conséquent, on retrouve deux sous populations avec pour seul élément distinctif la présence ou non d'hypertension artérielle. De ce fait, on a 81 patients touchés par l'hypertension (Annexe 8) contre 62 patients qui en sont indemnes (Annexe 9).

En s'appuyant alors sur les 2 tests statistiques mis en œuvre au début de l'étude clinique, on peut affirmer sans contestation qu'il y a une différence significative entre ces deux groupes de patients ( $p < 0,05$ ).



**U de Mann-Whitney pour nm t**  
Variables groupe : hta

U	1717,000
U Prime	3305,000
Valeur de z	-3,234
Valeur de p	,0012
z corrigé pour ex-aequo	-3,235
p corrigé pour ex-aequo	,0012
# ex-aequo	28

**Infos Mann-Whitney pour nm t**  
Variables groupe : hta

	Nombre	Somme des rangs	Moy. des rangs
non	62	3670,000	59,194
oui	81	6626,000	81,802

Valeurs	X <sub>a</sub>	X <sub>b</sub>
n	81	62
Somme	2302,7	956,81
Moyenne	28,42	15,43
Somme des carrés	214159,2	25743,57
Somme des carrés des écarts à la moyenne	148697,12	10977,51
Variance	1858,71	179,96
Ecart-type	43,11	13,41

Moyenne <sub>A</sub> - Moyenne <sub>B</sub>	t
12,9959	2,2886

(ddl :141)

*Résultats des 2 tests pour la normétanéphrine.*

**U de Mann-Whitney pour Colonne 1**  
Variables groupe : hta

U	1905,500
U Prime	3116,500
Valeur de z	-2,467
Valeur de p	,0136
z corrigé pour ex-aequo	-2,467
p corrigé pour ex-aequo	,0136
# ex-aequo	35

**Infos Mann-Whitney pour Colonne 1**  
Variables groupe : hta

	Nombre	Somme des rangs	Moy. des rangs
non	62	3858,500	62,234
oui	81	6437,500	79,475

Valeurs	X <sub>a</sub>	X <sub>b</sub>
n	81	62
Somme	635,21	290,09
Moyenne	7,84	4,679
Somme des carrés	11536,4	1724,12
Somme des carrés des écarts à la moyenne	6555,02	366,78
Variance	81,94	6,01
Ecart-type	9,05	2,45

Moyenne <sub>A</sub> - Moyenne <sub>B</sub>	t
3,1631	2,6754

(ddl :141)

*Résultats des 2 tests pour la métanéphrine.*



### 2.3. Cas de phéochromocytomes avérés

Cette étude de 148 patients a permis aussi l'exploration des valeurs de la métanéphrine et de la normétanéphrine. En effet 5 patients sont déclarés comme ayant une tumeur chromaffine (Annexe 10). Comme attendu, nous décelons une valeur plus que significative pour les concentrations plasmatiques de chacun des métabolites.

Valeurs	X <sub>a</sub>	X <sub>b</sub>
n	5	55
Somme	1129,9	886,9
Moyenne	225,98	16,12
Somme des carrés	710260,13	24951,25
Somme des carrés des écarts à la moyenne	454925,33	10649,58
Variance	113731,33	197,21
Ecart-type	337,24	14,04

Moyenne <sub>A</sub> - Moyenne <sub>B</sub>	t
209,8545	5,0145

(ddl :58)

*Résultats du test t pour la normétanéphrine.*

Valeurs	X <sub>a</sub>	X <sub>b</sub>
n	5	55
Somme	533,6	260,9
Moyenne	106,72	4,7436
Somme des carrés	211683,2	1587,77
Somme des carrés des écarts à la moyenne	154737,41	350,15
Variance	38684,35	6,48
Ecart-type	196,68	2,54

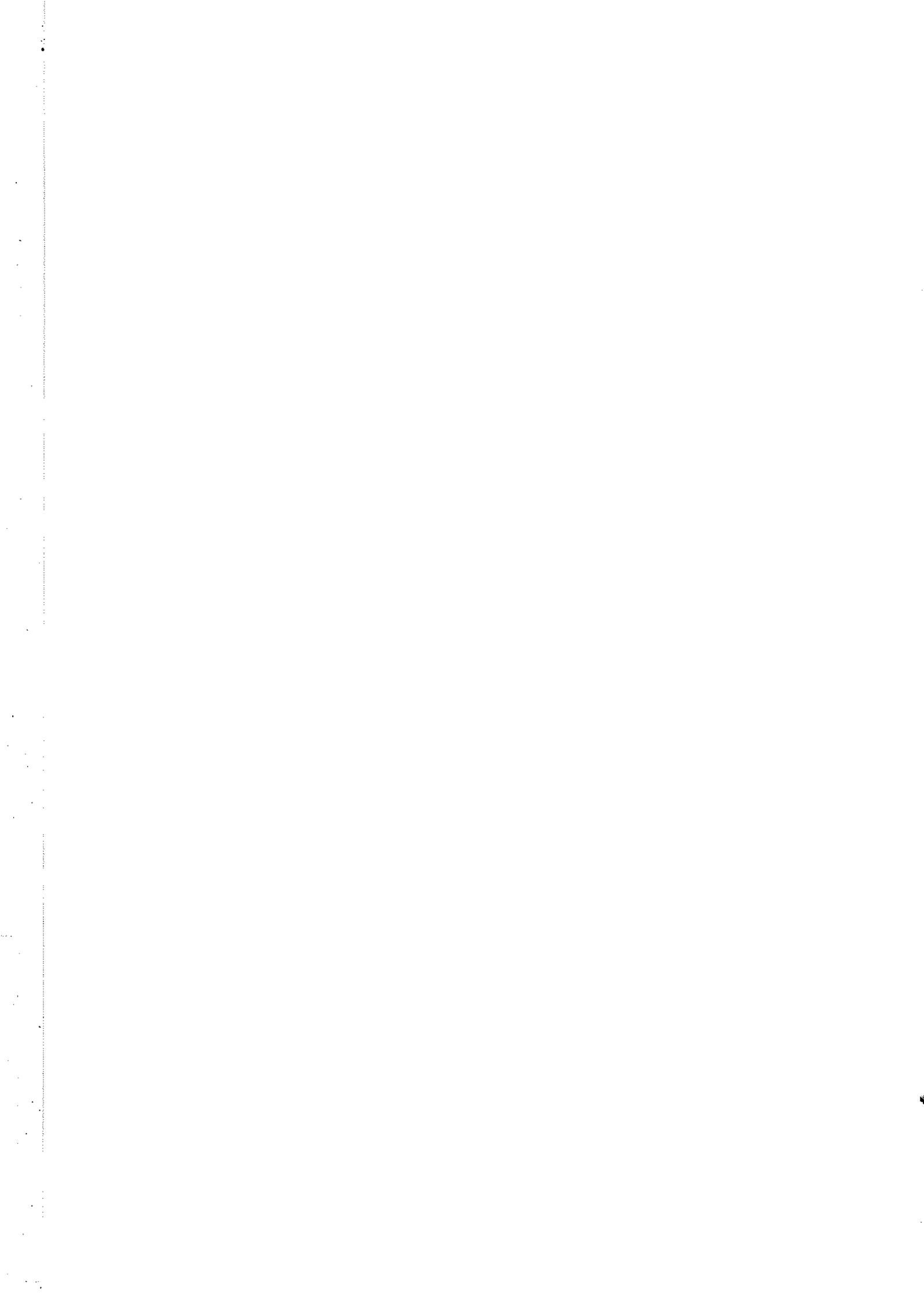
Moyenne <sub>A</sub> - Moyenne <sub>B</sub>	t
101,9764	4,222

(ddl :58)

*Résultats du test t pour la métanéphrine.*



## CONCLUSION



D'après cette étude statistique portant sur 148 patients du CHRU de Limoges, on confirme qu'il y a bien une différence entre les valeurs des patients atteints par une tumeur chromaffine *versus* la population témoin. Pourtant, au vu de la disparité des valeurs plasmatiques des deux dérivés méthoxylés de l'adrénaline et de la noradrénaline, on ne peut tirer de valeurs extrêmes quant à la tumeur chromaffine.

Cependant, dans le cadre du diagnostic biochimique du phéochromocytome, il est important d'explorer les différents paramètres capables d'entraîner de nombreuses interférences sur le dosage des valeurs sanguines des deux métabolites catécholaminergiques. De ce fait, dans le cadre de notre étude portant sur 148 patients, on peut conclure que ni l'insuffisance rénale chronique ni les prises médicamenteuses de  $\beta$  ou  $\alpha$  bloquants, d'ADT ou d'IMAO n'influencent les évaluations des concentrations plasmatiques.

*A contrario*, si l'on s'attache à exploiter en profondeur les résultats pour l'hypertension artérielle, paramètre clinique le plus important dans le dépistage du phéochromocytome, on constate des valeurs significativement différentes.

On peut alors calculer les valeurs de référence ( $[m + 2\sigma/\sqrt{n} ; m - 2\sigma/\sqrt{n}]$ ) :

- Pour une population de patients normotendus (n = 62) :
  - normétanéphrine (NMT) : 12 à 18,8 nmol/L
  - métanéphrine (MT) : 4 à 5,2 nmol/L
- Pour une population de patients hypertendus (n = 81) :
  - normétanéphrine (NMT) : 18,8 à 38 nmol/L
  - métanéphrine (MT) : 5,8 à 9,8 nmol/L

Par conséquent, il ne faut pas oublier que l'hypertension artérielle peut avoir une incidence dans le dépistage du phéochromocytome. Il serait donc intéressant d'envisager une étude clinique de plus grande envergure et sur un plus grand nombre de patients.



Cependant, il convient d'admettre que certains groupes d'études sur le phéochromocytome délaissent l'HPLC couplée à la détection électrochimique. En effet, il apparaîtrait que l'avenir du dosage plasmatique du bloc métanéphrine – normétanéphrine serait plutôt lié à la spectrométrie de masse couplée à l'HPLC ou à la chromatographie gazeuse (8, 20) voire à des méthodes enzymatiques (40), méthodes aisément plus précises que la détection électrochimique.



# ANNEXES



**ANNEXE 1 :** Calcul des concentrations de normétanéphrine et métanéphrine pour un échantillon inconnu.

**ANNEXE 2 :** Tableau des patients prenant des  $\beta$ - et  $\alpha$ -bloquants

**ANNEXE 3 :** Tableau des patients prenant des antidépresseurs tricycliques (ADT) ou des inhibiteurs de la monoamine oxydase (IMAO)

**ANNEXE 4 :** Tableau des patients atteints d'une insuffisance rénale chronique

**ANNEXE 5 :** Tableau des patients souffrant d'hypertension artérielle

**ANNEXE 6 :** Tableau des patients dont la clinique est négative

**ANNEXE 7 :** Comparaison statistique entre les hommes et les femmes (pour HTA et IRC)

**ANNEXE 8 :** Tableau des patients souffrant d'HTA après exploration des autres items

**ANNEXE 9 :** Tableau des patients dont la clinique est négative après exploration initiale

**ANNEXE 10 :** Tableau des patients atteints d'un phéochromocytome

**ANNEXE 11 :** Table de décision pour le test t de Student



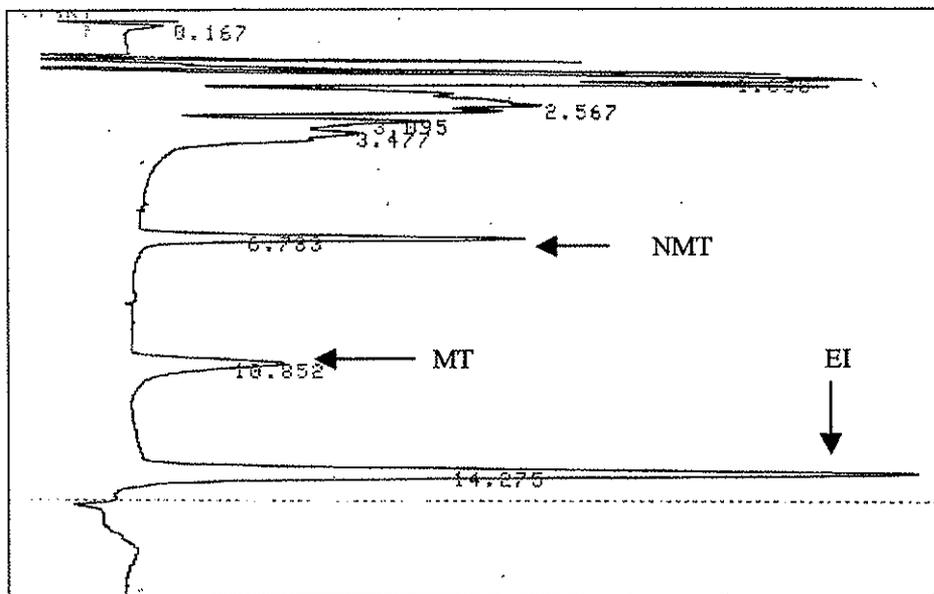
## ANNEXE 1

### **Calcul des concentrations de normétanéphrine et métanéphrine pour un échantillon inconnu.**

Le tracé chromatographique permet à la fois d'identifier les différentes espèces en présence dans la solution injectée mais aussi d'en connaître précisément les concentrations. Pour cela on effectue 3 étapes pour chaque série d'échantillons à analyser.

- Dans un premier temps, il est nécessaire d'effectuer un blanc. C'est une solution injectée dans l'appareil chromatographique ne contenant rien d'autre que l'étalon interne. Cette étape sert à vérifier que tous les paramètres du dosage sont réunis (débit, seuil de détection, ligne de base...).
- On procède ensuite à l'injection de la solution pure qui contient une quantité fixe et connue de chaque métabolite catécholaminergique supposé être présent dans les prélèvements sanguins.

Cette solution pure permet de définir l'ordre de passage et les temps de rétention ( $T_R$ ) de la normétanéphrine (NMT), la métanéphrine (MT) et l'étalon interne (EI).



*Figure 19 - Tracé de l'analyse HPLC, couplée à la détection électrochimique, de la solution pure.*

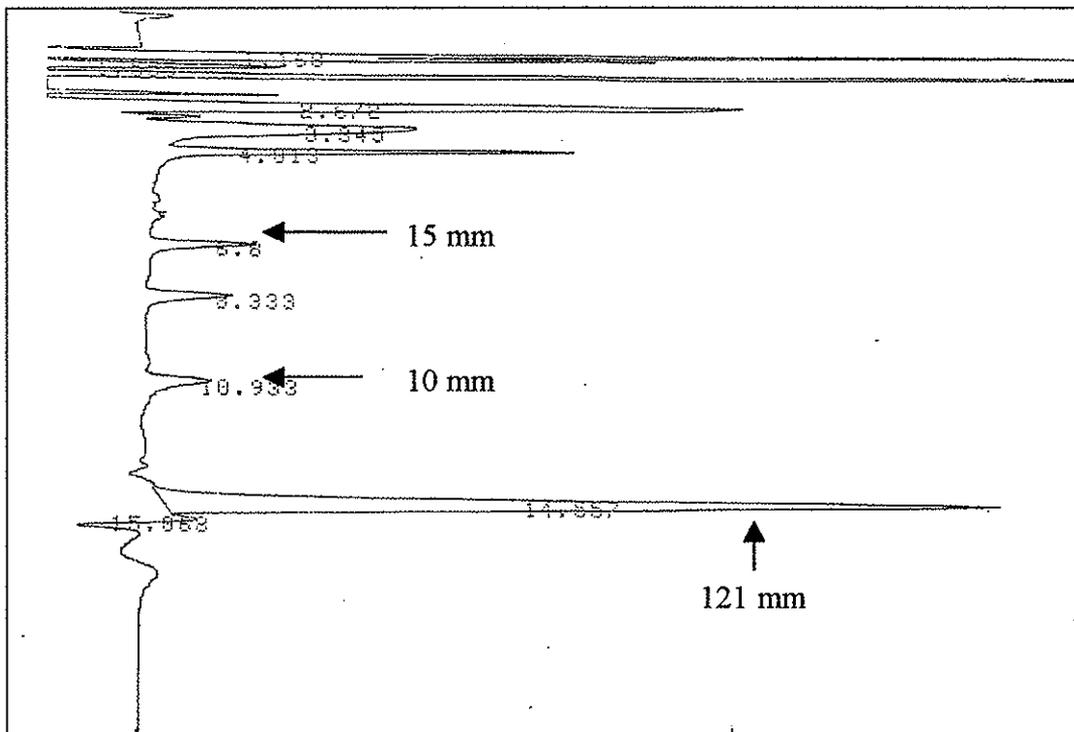


Ainsi, on obtient :

- $T_R$  normétanéphrine : 6,5 min,
- $T_R$  métanéphrine : 11 min,
- $T_R$  étalon interne : 14,5 min.

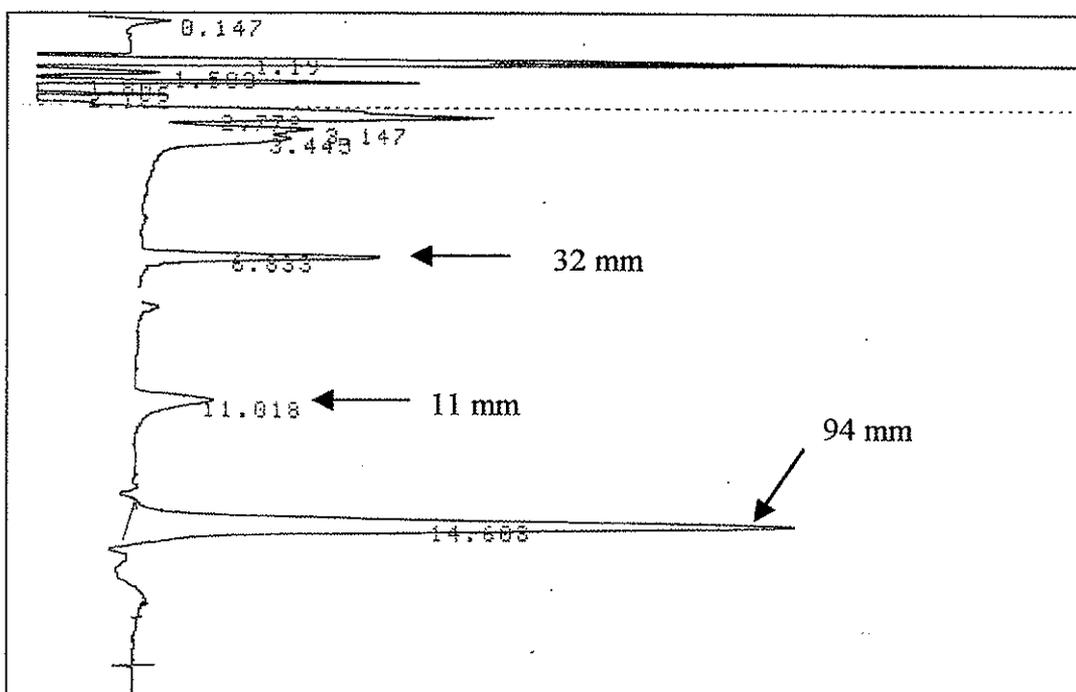
➤ En s'appuyant sur ces temps de passage au niveau de la colonne, on peut identifier chaque métabolite contenu dans les différents échantillons et en déterminer les concentrations.

On injecte donc les fractions de la gamme d'étalonnage et chacun des échantillons à analyser. En prenant alors le tracé d'un échantillon inconnu (figure 19) et en le comparant à un point précis de la gamme d'étalonnage, par exemple le tracé à 5000 ng/L (figure 21), on peut déterminer les concentrations de la normétanéphrine et métanéphrine présentes dans le prélèvement sanguin à évaluer.



*Figure 20 - Tracé de l'analyse HPLC, couplée à la détection électrochimique, d'un prélèvement sanguin inconnu.*





*Figure 21 - Tracé de l'analyse HPLC, couplée à la détection électrochimique, de la solution de métanéphrines à la concentration de 5000ng/L, de la gamme d'étalonnage.*

On trouve alors :

	Etalon à 5000 ng/L			Prélèvement inconnu		
	T <sub>R</sub>	Hauteur du pic (Hp)	Hp Métabolite / Hp EI	T <sub>R</sub>	Hauteur du pic (Hp)	Hp Métabolite / Hp EI
MMT	6,8 min	32 mm	0,34	6,8 min	15mm	0,123
MT	11 min	11 mm	0,12	10,9 min	10 mm	0,08
EI	14,6 min	94 mm	////	14,6 min	121 mm	///

On s'appuie sur l'étalon interne pour s'affranchir d'éventuelles erreurs liées aux propriétés intrinsèques du dosage. On effectue alors les calculs de concentrations du prélèvement analysé avec les rapports pondérés par les valeurs propres à l'étalon interne.



On calcule donc pour la normétanéphrine

$$\begin{array}{l} 0,34 \longrightarrow 5000 \text{ ng/L} \\ 0,123 \longrightarrow X \end{array}$$

soit 1808 ng/L pour l'échantillon à doser correspondant à 1,8 µg/L.

De ce fait grâce au facteur de conversion (5,4) on transforme cette valeur en unité internationale soit 9,76 nmol/L.

On fait de même pour la métanéphrine. On trouve alors 16,7 nmol/L, le facteur de conversion étant pour ce métabolite de 5.



## ANNEXE 2

**Tableau des patients prenant des  $\beta$ - et  $\alpha$ -bloquants**

	NOM	PRENOM	DATE DE NAISSANCE	AGE	SEXE	NMT (pg/ml)	NMT (nmol/l)	MT (pg/ml)	MT (nmol/l)
32	R	D	18/11/1942	57ans	Homme	1739	9,4	937	4,7
72	D D	M	05/04/1954	45ans	Femme	1885	10,2	1220	6,1

	PHEOCROMOCYTOME OUI/NON	INSUFFISANCE RENALE OUI/NON	HYPERTENDU OUI/NON	TTT PAR UN ADT OU IMAO OUI/NON	TTT PAR UN ALPHA OU BETA- BLOQUANTS OUI/NON	FEMME ENCEINTE OUI/NON
32	NON	NON	NON	NON	OUI	NON
72	NON	NON	NON	NON	OUI	NON



### ANNEXE 3

**Tableau des patients prenant des antidépresseurs tricycliques (ADT) ou des inhibiteurs de la monoamine oxydase (IMAO)**

	NOM	PRENOM	DATE DE NAISSANCE	AGE	SEXE	NMT (pg/ml)	NMT (nmol/l)	MT	MT
30	R	L	18/12/1967	33ans	Femme	1305	7,0	668	3,3
60	D	M	23/02/1944	57ans	Femme	2375	12,8	1000	5,0

	PHEOCROMOCYTOME OUI/NON	INSUFFISANCE RENALE OUI/NON	HYPERTENDU OUI/NON	TTT PAR UN ADT OU IMAO OUI/NON	TTT PAR UN ALPHA OU BETA- BLOQUANTS OUI/NON	FEMME ENCEINTE OUI/NON
30	NON	NON	NON	OUI	NON	NON
60	NON	NON	NON	OUI	NON	NON



## ANNEXE 4

### Tableau des patients atteints d'une insuffisance rénale chronique

	NOM	PRENOM	DATE DE NAISSANCE	AGE	SEXE	NMT (pg/ml)	NMT (nmol/l)	MT (pg/ml)	MT (nmol/l)
122	B	M	10/03/1932	70ans	Homme	3064	16,5	909	4,5
138	B	M	20/03/1973	27ans	Femme	760	4,1	243	1,2
137	B	P	16/11/1922	76ans	Femme	1875	10,1	1000	5,0

	PHEOCROMOCYTOME OUI/NON	INSUFFISANCE RENALE OUI/NON	HYPERTENDU OUI/NON	TTT PAR UN ADT OU IMAO OUI/NON	TTT PAR UN ALPHA OU BETA- BLOQUANTS OUI/NON	FEMME ENCEINTE OUI/NON
122	NON	OUI	NON	NON	NON	NON
138	NON	OUI	NON	NON	NON	NON
137	NON	OUI	NON	NON	NON	NON

## ANNEXE 5

**Tableau des patients souffrant d'hypertension artérielle**

	NOM	PRENOM	DATE DE NAISSANCE	AGE	SEXE	NMT (pg/ml)	NMT (nmol/l)	MT (pg/ml)	MT (nmol/l)
2	B	M	09/09/1952	50ans	Femme	4232	22,9	595	3,0
7	B	L	15/09/1933	66ans	Femme	3113	16,8	587	2,9
13	G	M-D	21/03/1932	70ans	Femme	2124	11,5	807	4,0
21	L	H	26/03/1955	48ans	Homme	2173	11,7	812	4,1
26	P	C	22/04/1951	50ans	Homme	2582	13,9	1105	5,5
31	R	R	11/03/1940	60ans	Femme	2500	13,5	1111	5,6
36	T	C	09/04/1946	53ans	Femme	3033	16,4	586	2,9
37	T	M	25/02/1933	69ans	Homme	3105	16,8	1793	9,0
40	V	M	05/12/1951	51ans	Femme	4241	22,9	781	3,9
43	A	J	17/10/1920	80ans	Homme	1852	10,0	751	3,8
44	B	A	08/07/1935	67ans	Homme	3436	18,6	1434	7,2
50	B	S	23/06/1971	31ans	Femme	1013	5,5	285	1,4
59	D	A	30/04/1947	55ans	Femme	2258	12,2	667	3,3
81	J	A	17/01/1925	74ans	Femme	2065	11,2	821	4,1
85	L	Y	10/08/1933	69ans	Femme	1830	9,9	486	2,4
88	L	R	29/10/1943	58ans	Homme	1768	9,5	879	4,4

	PHEOCROMOCYTOME OUI/NON	INSUFFISANCE RENALE OUI/NON	HYPERTENDU OUI/NON	TTT PAR UN ADT OU IMAO OUI/NON	TTT PAR UN ALPHA OU BETA- BLOQUANTS OUI/NON	FEMME ENCEINTE OUI/NON
2	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
7	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
13	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
21	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
26	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
31	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
36	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
37	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
40	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
43	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
44	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
50	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
59	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
81	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
85	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
88	NON	NON	OUI	NON	NON	NON

	NOM	PRENOM	DATE DE NAISSANCE	AGE	SEXE	NMT (pg/ml)	NMT (nmol/l)	MT (pg/ml)	MT (nmol/l)
91	L	Y	15/08/1967	32ans	Homme	2046	11,0	1068	5,3
96	M	G	25/09/1934	66ans	Homme	2171	11,7	718	3,6
108	S	J	19/06/1937	67ans	Homme	2532	13,7	777	3,9
111	S	J-P	13/11/1947	52ans	Homme	1666	9,0	778	3,9
114	V	E	07/12/1925	74ans	Femme	5151	27,8	944	4,7
116	V	M	30/03/1930	71ans	Femme	2729	14,7	1095	5,5
119	B	A	14/04/1955	45ans	Homme	3287	17,7	1350	6,8
123	B	S	21/04/1928	75ans	Femme	5098	27,5	745	3,7
125	D	F	15/07/1944	56ans	Femme	3552	19,2	1875	9,4
132	G	M	16/03/1932	71ans	Femme	2247	12,1	403	2,0
139	B	J	05/11/1934	66ans	Femme	2800	15,1	1157	5,8
140	B	N	16/12/1938	61ans	Femme	1970	10,6	833	4,2
143	B	P	14/09/1938	64ans	Femme	3578	19,3	1564	7,8
147	C	M	05/06/1931	68ans	Femme	16931	91,4	2470	12,4
148	D	J-D	21/12/1949	50ans	Femme	2136	11,5	396	2,0

	PHEOCROMOCYTOME OUI/NON	INSUFFISANCE RENALE OUI/NON	HYPERTENDU OUI/NON	TTT PAR UN ADT OU IMAO OUI/NON	TTT PAR UN ALPHA OU BETA- BLOQUANTS OUI/NON	FEMME ENCEINTE OUI/NON
91	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
96	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
108	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
111	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
114	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
116	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
119	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
123	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
125	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
132	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
139	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
140	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
143	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
147	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
148	NON	NON	OUI	NON	NON	NON

## ANNEXE 6

**Tableau des patients dont la clinique est négative**

	NOM	PRENOM	DATE DE NAISSANCE	AGE	SEXE	NMT (pg/ml)	NMT (nmol/l)	MT (pg/ml)	MT (nmol/l)
1	A	M	03/01/1981	22ans	Femme	1800	9,7	937	4,7
3	B	M	25/08/1943	56ans	Femme	2277	12,3	1145	5,7
4	B	L	24/02/1959	41ans	Homme	3288	17,8	1498	7,5
5	B	C	25/01/1967	33ans	Homme	1482	8,0	1228	6,1
6	B	R	05/07/1927	75ans	Femme	6454	34,9	1913	9,6
8	B	A-M	20/08/1934	68ans	Femme	1500	8,1	1250	6,3
10	DC	J	06/06/1955	45ans	Homme	4946	26,7	2222	11,1
14	M	A	09/08/1984	18ans	Homme	855	4,6	570	2,9
16	J	A	10/10/1981	19ans	Homme	1131	6,1	780	3,9
18	L	M	09/06/1934	65ans	Homme	11988	64,7	737	3,7
20	L	A	25/10/1932	69ans	Femme	2428	13,1	1350	6,8
22	L	B	21/11/1953	48ans	Homme	1000	5,4	250	1,3
24	M	F	18/02/1955	45ans	Homme	1473	8,0	972	4,9
27	P	C	01/07/1941	61ans	Femme	3703	20,0	343	1,7
28	P	J-P	18/03/1937	63ans	Homme	1590	8,6	1818	9,1
33	S	W	20/07/1966	35ans	Femme	5269	28,5	1205	6,0
38	V	A	21/08/1942	59ans	Homme	1470	7,9	452	2,3
47	B	C	25/09/1965	34ans	Femme	2917	15,8	1176	5,9

	PHEOCROMOCYTOME OUI/NON	INSUFFISANCE RENALE OUI/NON	HYPERTENDU OUI/NON	TTT PAR UN ADT OU IMAO OUI/NON	TTT PAR UN ALPHA OU BETA- BLOQUANTS OUI/NON	FEMME ENCEINTE OUI/NON
1	NON	NON	NON	NON	NON	NON
3	NON	NON	NON	NON	NON	NON
4	NON	NON	NON	NON	NON	NON
5	NON	NON	NON	NON	NON	NON
6	NON	NON	NON	NON	NON	NON
8	NON	NON	NON	NON	NON	NON
10	NON	NON	NON	NON	NON	NON
14	NON	NON	NON	NON	NON	NON
16	NON	NON	NON	NON	NON	NON
18	NON	NON	NON	NON	NON	NON
20	NON	NON	NON	NON	NON	NON
22	NON	NON	NON	NON	NON	NON
24	NON	NON	NON	NON	NON	NON
27	NON	NON	NON	NON	NON	NON
28	NON	NON	NON	NON	NON	NON
33	NON	NON	NON	NON	NON	NON
38	NON	NON	NON	NON	NON	NON
47	NON	NON	NON	NON	NON	NON

	NOM	PRENOM	DATE DE NAISSANCE	AGE	SEXE	NMT (pg/ml)	NMT (nmol/l)	MT (pg/ml)	MT (nmol/l)
54	C	M	03/08/1970	29ans	Femme	962	5,2	690	3,5
58	C	C	24/08/1953	49ans	Femme	1372	7,4	653	3,3
63	D	D	13/02/1968	33ans	Homme	2113	11,4	852	4,3
65	D	S	20/03/1941	60ans	Femme	1625	8,8	416	2,1
67	D	Y	19/07/1934	65ans	Femme	2776	15,0	971	4,9
68	D	N	24/02/1946	54ans	Femme	2032	11,0	735	3,7
71	D	E	06/11/1932	67ans	Femme	6589	35,6	877	4,4
73	F	I	17/08/1973	27ans	Femme	1182	6,4	543	2,7
76	G	D	17/08/1961	41ans	Homme	1576	8,5	600	3,0
77	G	G	17/04/1974	27ans	Femme	2084	11,3	712	3,6
78	G	D	06/07/1942	58ans	Homme	1563	8,4	703	3,5
79	G	L	10/04/1926	77ans	Homme	5000	27,0	1214	6,1
80	G	B	01/03/1946	55ans	Femme	2386	12,9	500	2,5
84	L	B	13/03/1952	48ans	Femme	3369	18,2	833	4,2
89	L	E	17/12/1964	38ans	Homme	1574	8,5	937	4,7
90	L B	A-M	21/11/1970	29ans	Femme	2336	12,6	267	1,3
92	L	H	09/02/1928	72ans	Femme	2219	12,0	656	3,3
94	M	S	25/02/1946	56ans	Homme	1764	9,5	902	4,5

	PHEOCROMOCYTOME OUI/NON	INSUFFISANCE RENALE OUI/NON	HYPERTENDU OUI/NON	TTT PAR UN ADT OU IMAO OUI/NON	TTT PAR UN ALPHA OU BETA- BLOQUANTS OUI/NON	FEMME ENCEINTE OUI/NON
54	NON	NON	NON	NON	NON	NON
58	NON	NON	NON	NON	NON	NON
63	NON	NON	NON	NON	NON	NON
65	NON	NON	NON	NON	NON	NON
67	NON	NON	NON	NON	NON	NON
68	NON	NON	NON	NON	NON	NON
71	NON	NON	NON	NON	NON	NON
73	NON	NON	NON	NON	NON	NON
76	NON	NON	NON	NON	NON	NON
77	NON	NON	NON	NON	NON	NON
78	NON	NON	NON	NON	NON	NON
79	NON	NON	NON	NON	NON	NON
80	NON	NON	NON	NON	NON	NON
84	NON	NON	NON	NON	NON	NON
89	NON	NON	NON	NON	NON	NON
90	NON	NON	NON	NON	NON	NON
92	NON	NON	NON	NON	NON	NON
94	NON	NON	NON	NON	NON	NON

	NOM	PRENOM	DATE DE NAISSANCE	AGE	SEXE	NMT (pg/ml)	NMT (nmol/l)	MT (pg/ml)	MT (nmol/l)
100	P	D	05/02/1944	58ans	Homme	2650	14,3	449	2,2
102	R	F	20/02/1977	23ans	Femme	941	5,1	692	3,5
103	R	M	20/06/1947	52ans	Femme	2670	14,4	550	2,8
104	R	E	01/07/1953	48ans	Femme	1308	7,1	720	3,6
105	R	S	21/06/1967	33ans	Femme	2738	14,8	1666	8,3
106	R	G	07/05/1932	68ans	Homme	3065	16,6	1453	7,3
109	S	V	22/10/1962	37ans	Femme	1731	9,3	1023	5,1
110	S	J-P	02/04/1948	53ans	Homme	3792	20,5	856	4,3
113	V	G	04/09/1921	78ans	Femme	2884	15,6	360	1,8
117	V	I	06/07/1920	78 ans	Femme	3946	21,3	1430	7,2
120	B	E	30/06/1979	20ans	Femme	4235	22,9	1625	8,1
126	D	M	05/03/1944	55ans	Homme	1954	10,6	443	2,2
127	D	R	15/03/1921	80ans	Homme	16078	86,8	2500	12,5
128	F	D	07/11/1926	75ans	Femme	5070	27,4	1303	6,5
131	G	M-J	23/02/1942	60ans	Femme	2419	13,1	273	1,4
133	L	G	31/07/1980	22ans	Femme	2173	11,7	483	2,4
135	A	I	12/12/1974	25ans	Femme	1300	7,0	352	1,8
136	B	M-A	13/08/1916	84ans	Femme	4935	26,6	1207	6,0
145	B	M	12/01/1922	78ans	Femme	2203	11,9	1750	8,8

	PHEOCROMOCYTOME OUI/NON	INSUFFISANCE RENALE OUI/NON	HYPERTENDU OUI/NON	TTT PAR UN ADT OU IMAO OUI/NON	TTT PAR UN ALPHA OU BETA- BLOQUANTS OUI/NON	FEMME ENCEINTE OUI/NON
100	NON	NON	NON	NON	NON	NON
102	NON	NON	NON	NON	NON	NON
103	NON	NON	NON	NON	NON	NON
104	NON	NON	NON	NON	NON	NON
105	NON	NON	NON	NON	NON	NON
106	NON	NON	NON	NON	NON	NON
109	NON	NON	NON	NON	NON	NON
110	NON	NON	NON	NON	NON	NON
113	NON	NON	NON	NON	NON	NON
117	NON	NON	NON	NON	NON	NON
120	NON	NON	NON	NON	NON	NON
126	NON	NON	NON	NON	NON	NON
127	NON	NON	NON	NON	NON	NON
128	NON	NON	NON	NON	NON	NON
131	NON	NON	NON	NON	NON	NON
133	NON	NON	NON	NON	NON	NON
135	NON	NON	NON	NON	NON	NON
136	NON	NON	NON	NON	NON	NON
145	NON	NON	NON	NON	NON	NON



## ANNEXE 7

### Comparaison statistique entre les hommes et les femmes (pour HTA et IRC)

**U de Mann-Whitney pour nmt**  
**Variables groupe : homme**

U	0,000
U Prime	2,000
Valeur de z	-1,225
Valeur de p	,2207
z corrigé pour ex-aequo	-1,225
p corrigé pour ex-aequo	,2207
# ex-aequo	0

**U de Mann-Whitney pour mt**  
**Variables groupe : homme**

U	1,000
U Prime	1,000
Valeur de z	0,000
Valeur de p	>,9999
z corrigé pour ex-aequo	0,000
p corrigé pour ex-aequo	>,9999
# ex-aequo	0

**Infos Mann-Whitney pour nmt**  
**Variables groupe : homme**

	Nombre	Somme des rangs	Moy. des rangs
non	2	3,000	1,500
oui	1	3,000	3,000

**infos Mann-Whitney pour mt**  
**Variables groupe : homme**

	Nombre	Somme des rangs	Moy. des rangs
non	2	4,000	2,000
oui	1	2,000	2,000

#### Résultats pour l'IRC

**U de Mann-Whitney pour nmt**  
**Variables groupe : homme**

U	75,500
U Prime	144,500
Valeur de z	-1,424
Valeur de p	,1543
z corrigé pour ex-aequo	-1,425
p corrigé pour ex-aequo	,1542
# ex-aequo	4

**U de Mann-Whitney pour mt**  
**Variables groupe : homme**

U	79,000
U Prime	141,000
Valeur de z	-1,280
Valeur de p	,2006
z corrigé pour ex-aequo	-1,281
p corrigé pour ex-aequo	,2002
# ex-aequo	5

**Infos Mann-Whitney pour nmt**  
**Variables groupe : homme**

	Nombre	Somme des rangs	Moy. des rangs
non	20	354,500	17,725
oui	11	141,500	12,864

**Infos Mann-Whitney pour mt**  
**Variables groupe : homme**

	Nombre	Somme des rangs	Moy. des rangs
non	20	289,000	14,450
oui	11	207,000	18,818

#### Résultats pour l'HTA

## ANNEXE 8

### Tableau des patients souffrant d'HTA après exploration des autres items

	NOM	PRENOM	DATE DE NAISSANCE	AGE	SEXE	NMT (pg/ml)	NMT (nmol/l)	MT (pg/ml)	MT (nmol/l)
2	B	M	09/09/1952	50ans	Femme	4232	22,9	595	3,0
7	B	L	15/09/1933	66ans	Femme	3113	16,8	587	2,9
11	B	D	31/12/1940	60ans	Homme	22112	119,4	10606	53,0
12	D	A	08/11/1946	54ans	Femme	1945	10,5	386	1,9
13	G	M-D	21/03/1932	70ans	Femme	2124	11,5	807	4,0
15	H	L	30/05/1938	61ans	Femme	1535	8,3	826	4,1
17	J	N	27/12/1972	28ans	Homme	1300	7,0	1275	6,4
19	L	L	23/12/1919	82ans	Femme	9625	52,0	8821	44,1
21	L	H	26/03/1955	48ans	Homme	2173	11,7	812	4,1
23	M	P	18/07/1959	41ans	Homme	1352	7,3	964	4,8
25	P	A	02/06/1945	57ans	Femme	1587	8,6	933	4,7
26	P	C	22/04/1951	50ans	Homme	2582	13,9	1105	5,5
31	R	R	11/03/1940	60ans	Femme	2500	13,5	1111	5,6
34	S	R	01/10/1939	62ans	Femme	1638	8,8	784	3,9
36	T	C	09/04/1946	53ans	Femme	3033	16,4	586	2,9
37	T	M	25/02/1933	69ans	Homme	3105	16,8	1793	9,0
39	V	M	04/09/1916	82ans	Femme	3710	20,0	2134	10,7
40	V	M	05/12/1951	51ans	Femme	4241	22,9	781	3,9
41	A	C	17/07/1964	38ans	Femme	2306	12,5	961	4,8
42	A	H	11/06/1920	79ans	Homme	2408	13,0	1518	7,6
43	A	J	17/10/1920	80ans	Homme	1852	10,0	751	3,8
44	B	A	08/07/1935	67ans	Homme	3436	18,6	1434	7,2
45	B	R	10/07/1936	64ans	Homme	2091	11,3	470	2,4
46	B	N	03/10/1960	41ans	Homme	3710	20,0	1045	5,2
48	B	R	24/09/1947	53ans	Homme	1738	9,4	485	2,4
49	B	A	26/07/1935	66ans	Femme	3551	19,2	899	4,5
50	B	S	23/06/1971	31ans	Femme	1013	5,5	285	1,4

	PHEOCROMOCYTOME OUI/NON	INSUFFISANCE RENALE OUI/NON	HYPERTENDU OUI/NON	TTT PAR UN ADT OU IMAO OUI/NON	TTT PAR UN ALPHA OU BETA- BLOQUANTS OUI/NON	FEMME ENCEINTE OUI/NON
2	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
7	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
11	NON	OUI	OUI	NON	NON	NON
12	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
13	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
15	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
17	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
19	NON	OUI ci:58ml/min	OUI	NON	OUI	NON
21	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
23	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
25	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
26	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
31	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
34	NON	OUI	OUI	NON	NON	NON
36	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
37	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
39	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
40	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
41	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
42	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
43	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
44	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
45	NON	NON	OUI	OUI	OUI	NON
46	NON	OUI	OUI	NON	OUI	NON
48	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
49	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
50	NON	NON	OUI	NON	NON	NON

	NOM	PRENOM	DATE DE NAISSANCE	AGE	SEXE	NMT (pg/ml)	NMT (nmol/l)	MT (pg/ml)	MT (nmol/l)
52	B	L	11/03/1934	68ans	Femme	2750	14,9	1217	6,1
53	C	A	05/04/1956	43ans	Femme	2955	16,0	961	4,8
55	C	A	12/04/1911	90ans	Femme	18455	99,7	2631	13,2
56	C	G	30/12/1915	87ans	Femme	4620	24,9	1562	7,8
57	C	S	07/05/1924	78ans	Femme	4500	24,3	1468	7,3
59	D	A	30/04/1947	55ans	Femme	2258	12,2	667	3,3
61	D	D	24/03/1947	52ans	Homme	2856	15,4	1016	5,1
62	D	M	02/01/1948	53ans	Femme	26682	144,1	7330	36,7
64	D	A-M	23/06/1936	65ans	Femme	49029	264,8	2497	12,5
66	D	D	19/05/1932	69ans	Femme	23809	128,6	6993	35,0
69	D	C	06/05/1921	78ans	Femme	2386	12,9	694	3,5
70	D	H	23/10/1936	66ans	Homme	3691	19,9	1019	5,1
74	F	G	24/04/1928	73ans	Homme	3219	17,4	700	3,5
75	F	S	27/10/1922	76ans	Femme	4935	26,6	2083	10,4
81	J	A	17/01/1925	74ans	Femme	2065	11,2	821	4,1
82	L	M	27/05/1944	55ans	Femme	2195	11,9	641	3,2
83	L	G	14/11/1946	55ans	Homme	1527	8,2	776	3,9
85	L	Y	10/08/1933	69ans	Femme	1830	9,9	486	2,4
86	L	J	25/04/1943	58ans	Femme	5444	29,4	1409	7,0
87	L	M	14/08/1949	50ans	Femme	3909	21,1	833	4,2
88	L	R	29/10/1943	58ans	Homme	1768	9,5	879	4,4
91	L	Y	15/08/1967	32ans	Homme	2046	11,0	1068	5,3
93	M	J	11/12/1935	67ans	Femme	4200	22,7	1562	7,8
95	M	C	21/03/1952	48ans	Femme	3552	19,2	1475	7,4
96	M	G	25/09/1934	66ans	Homme	2171	11,7	718	3,6
97	N	G	01/02/1919	81ans	Homme	5094	27,5	2219	11,1

	PHEOCROMOCYTOME OUI/NON	INSUFFISANCE RENALE OUI/NON	HYPERTENDU OUI/NON	TTT PAR UN ADT OU IMAO OUI/NON	TTT PAR UN ALPHA OU BETA- BLOQUANTS OUI/NON	FEMME ENCEINTE OUI/NON
52	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
53	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
55	NON	OUI	OUI	NON	OUI	NON
56	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
57	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
59	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
61	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
62	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
64	NON	OUI	OUI	NON	OUI	NON
66	NON	OUI	OUI	NON	OUI	NON
69	NON	NON	OUI	OUI	NON	NON
70	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
74	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
75	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
81	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
82	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
83	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
85	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
86	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
87	NON	OUI	OUI	NON	NON	NON
88	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
91	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
93	NON	NON	OUI	OUI	NON	NON
95	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
96	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
97	NON	OUI	OUI	NON	OUI	NON

	NOM	PRENOM	DATE DE NAISSANCE	AGE	SEXE	NMT (pg/ml)	NMT (nmol/l)	MT (pg/ml)	MT (nmol/l)
107	S	A	01/01/1924	78ans	Homme	2888	15,6	3298	16,5
108	S	J	19/06/1937	67ans	Homme	2532	13,7	777	3,9
111	S	J-P	13/11/1947	52ans	Homme	1666	9,0	778	3,9
112	S	J	12/09/1945	57ans	Homme	2500	13,5	1500	7,5
114	V	E	07/12/1925	74ans	Femme	5151	27,8	944	4,7
115	V	S	12/06/1962	37ans	Femme	1552	8,4	595	3,0
116	V	M	30/03/1930	71ans	Femme	2729	14,7	1095	5,5
118	B	B	30/06/1947	55ans	Femme	1779	9,6	594	3,0
119	B	A	14/04/1955	45ans	Homme	3287	17,7	1350	6,8
121	B	O	30/03/1931	70ans	Femme	5000	27,0	896	4,5
123	B	S	21/04/1928	75ans	Femme	5098	27,5	745	3,7
125	D	F	15/07/1944	56ans	Femme	3552	19,2	1875	9,4
129	F	P	09/01/1952	50ans	Femme	2200	11,9	1892	9,5
130	F	J-P	08/04/1949	53ans	Homme	2812	15,2	2462	12,3
132	G	M	16/03/1932	71ans	Femme	2247	12,1	403	2,0
134	L	M	18/01/1934	65ans	Femme	2738	14,8	936	4,7
139	B	J	05/11/1934	66ans	Femme	2800	15,1	1157	5,8
140	B	N	16/12/1938	61ans	Femme	1970	10,6	833	4,2
141	B	C	11/01/1950	50ans	Femme	1842	9,9	783	3,9
142	B	M	18/03/1915	84ans	Femme	6875	37,1	1923	9,6
143	B	P	14/09/1938	64ans	Femme	3578	19,3	1564	7,8
144	B	H	14/03/1923	77ans	Homme	6387	34,5	1670	8,4
146	C	S	17/12/1913	87ans	Femme	5111	27,6	1030	5,2
147	C	M	05/06/1931	68ans	Femme	16931	91,4	2470	12,4
148	D	J-D	21/12/1949	50ans	Femme	2136	11,5	396	2,0

	PHEOCROMOCYTOME OUI/NON	INSUFFISANCE RENALE OUI/NON	HYPERTENDU OUI/NON	TTT PAR UN ADT OU IMAO OUI/NON	TTT PAR UN ALPHA OU BETA- BLOQUANTS OUI/NON	FEMME ENCEINTE OUI/NON
107	NON	OUI	OUI	NON	OUI	NON
108	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
111	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
112	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
114	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
115	NON	NON	OUI	OUI	NON	NON
116	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
118	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
119	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
121	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
123	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
125	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
129	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
130	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
132	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
134	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
139	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
140	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
141	NON	NON	OUI	OUI	NON	NON
142	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON
143	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
144	NON	OUI	OUI	NON	NON	NON
146	NON	OUI	OUI	NON	NON	NON
147	NON	NON	OUI	NON	NON	NON
148	NON	NON	OUI	NON	NON	NON

## ANNEXE 9

**Tableau des patients dont la clinique est négative après exploration initiale**

	NOM	PRENOM	DATE DE NAISSANCE	AGE	SEXE	NMT (pg/ml)	NMT (nmol/l)	MT (pg/ml)	MT (nmol/l)
1	A	M	03/01/1981	22ans	Femme	1800	9,7	937	4,7
3	B	M	25/08/1943	56ans	Femme	2277	12,3	1145	5,7
4	B	L	24/02/1959	41ans	Homme	3288	17,8	1498	7,5
5	B	C	25/01/1967	33ans	Homme	1482	8,0	1228	6,1
6	B	R	05/07/1927	75ans	Femme	6454	34,9	1913	9,6
8	B	A-M	20/08/1934	68ans	Femme	1500	8,1	1250	6,3
10	D C	J	06/06/1955	45ans	Homme	4946	26,7	2222	11,1
14	M	A	09/08/1984	18ans	Homme	855	4,6	570	2,9
16	J	A	10/10/1981	19ans	Homme	1131	6,1	780	3,9
18	L	M	09/06/1934	65ans	Homme	11988	64,7	737	3,7
20	L	A	25/10/1932	69ans	Femme	2428	13,1	1350	6,8
22	L	B	21/11/1953	48ans	Homme	1000	5,4	250	1,3
24	M	F	18/02/1955	45ans	Homme	1473	8,0	972	4,9
27	P	C	01/07/1941	61ans	Femme	3703	20,0	343	1,7
28	P	J-P	18/03/1937	63ans	Homme	1590	8,6	1818	9,1
30	R	L	18/12/1967	33ans	Femme	1305	7,0	668	3,3
32	R	D	18/11/1942	57ans	Homme	1739	9,4	937	4,7
33	S	W	20/07/1966	35ans	Femme	5269	28,5	1205	6,0
38	V	A	21/08/1942	59ans	Homme	1470	7,9	452	2,3
47	B	C	25/09/1965	34ans	Femme	2917	15,8	1176	5,9
54	C	M	03/08/1970	29ans	Femme	962	5,2	690	3,5

	PHEOCROMOCYTOME OUI/NON	INSUFFISANCE RENALE OUI/NON	HYPERTENDU OUI/NON	TTT PAR UN ADT OU IMAO OUI/NON	TTT PAR UN ALPHA OU BETA- BLOQUANTS OUI/NON	FEMME ENCEINTE OUI/NON
1	NON	NON	NON	NON	NON	NON
3	NON	NON	NON	NON	NON	NON
4	NON	NON	NON	NON	NON	NON
5	NON	NON	NON	NON	NON	NON
6	NON	NON	NON	NON	NON	NON
8	NON	NON	NON	NON	NON	NON
10	NON	NON	NON	NON	NON	NON
14	NON	NON	NON	NON	NON	NON
16	NON	NON	NON	NON	NON	NON
18	NON	NON	NON	NON	NON	NON
20	NON	NON	NON	NON	NON	NON
22	NON	NON	NON	NON	NON	NON
24	NON	NON	NON	NON	NON	NON
27	NON	NON	NON	NON	NON	NON
28	NON	NON	NON	NON	NON	NON
30	NON	NON	NON	OUI	NON	NON
32	NON	NON	NON	NON	OUI	NON
33	NON	NON	NON	NON	NON	NON
38	NON	NON	NON	NON	NON	NON
47	NON	NON	NON	NON	NON	NON
54	NON	NON	NON	NON	NON	NON

	NOM	PRENOM	DATE DE NAISSANCE	AGE	SEXE	NMT (pg/ml)	NMT (nmol/l)	MT (pg/ml)	MT (nmol/l)
58	C	C	24/08/1953	49ans	Femme	1372	7,4	653	3,3
60	D	M	23/02/1944	57ans	Femme	2375	12,8	1000	5,0
63	D	D	13/02/1968	33ans	Homme	2113	11,4	852	4,3
65	D	S	20/03/1941	60ans	Femme	1625	8,8	416	2,1
67	D	Y	19/07/1934	65ans	Femme	2776	15,0	971	4,9
68	D	N	24/02/1946	54ans	Femme	2032	11,0	735	3,7
71	D	E	06/11/1932	67ans	Femme	6589	35,6	877	4,4
72	DD	M	05/04/1954	45ans	Femme	1885	10,2	1220	6,1
73	F	I	17/08/1973	27ans	Femme	1182	6,4	543	2,7
76	G	D	17/08/1961	41ans	Homme	1576	8,5	600	3,0
77	G	G	17/04/1974	27ans	Femme	2084	11,3	712	3,6
78	G	D	06/07/1942	58ans	Homme	1563	8,4	703	3,5
79	G	L	10/04/1926	77ans	Homme	5000	27,0	1214	6,1
80	G	B	01/03/1946	55ans	Femme	2386	12,9	500	2,5
84	L	B	13/03/1952	48ans	Femme	3369	18,2	833	4,2
89	L	E	17/12/1964	38ans	Homme	1574	8,5	937	4,7
90	LB	A-M	21/11/1970	29ans	Femme	2336	12,6	267	1,3
92	L	H	09/02/1928	72ans	Femme	2219	12,0	656	3,3
94	M	S	25/02/1946	56ans	Homme	1764	9,5	902	4,5

	PHEOCROMOCYTOME OUI/NON	INSUFFISANCE RENALE OUI/NON	HYPERTENDU OUI/NON	TTT PAR UN ADT OU IMAO OUI/NON	TTT PAR UN ALPHA OU BETA- BLOQUANTS OUI/NON	FEMME ENCEINTE OUI/NON
58	NON	NON	NON	NON	NON	NON
60	NON	NON	NON	OUI	NON	NON
63	NON	NON	NON	NON	NON	NON
65	NON	NON	NON	NON	NON	NON
67	NON	NON	NON	NON	NON	NON
68	NON	NON	NON	NON	NON	NON
71	NON	NON	NON	NON	NON	NON
72	NON	NON	NON	NON	OUI	NON
73	NON	NON	NON	NON	NON	NON
76	NON	NON	NON	NON	NON	NON
77	NON	NON	NON	NON	NON	NON
78	NON	NON	NON	NON	NON	NON
79	NON	NON	NON	NON	NON	NON
80	NON	NON	NON	NON	NON	NON
84	NON	NON	NON	NON	NON	NON
89	NON	NON	NON	NON	NON	NON
90	NON	NON	NON	NON	NON	NON
92	NON	NON	NON	NON	NON	NON
94	NON	NON	NON	NON	NON	NON

	NOM	PRENOM	DATE DE NAISSANCE	AGE	SEXE	NMT (pg/ml)	NMT (nmol/l)	MT (pg/ml)	MT (nmol/l)
100	P	D	05/02/1944	58ans	Homme	2650	14,3	449	2,2
102	R	F	20/02/1977	23ans	Femme	941	5,1	692	3,5
103	R	M	20/06/1947	52ans	Femme	2670	14,4	550	2,8
104	R	E	01/07/1953	48ans	Femme	1308	7,1	720	3,6
105	R	S	21/06/1967	33ans	Femme	2738	14,8	1666	8,3
106	R	G	07/05/1932	68ans	Homme	3065	16,6	1453	7,3
109	S	V	22/10/1962	37ans	Femme	1731	9,3	1023	5,1
110	S	J-P	02/04/1948	53ans	Homme	3792	20,5	856	4,3
113	V	G	04/09/1921	78ans	Femme	2884	15,6	360	1,8
117	V	I	06/07/1920	78 ans	Femme	3946	21,3	1430	7,2
120	B	E	30/06/1979	20ans	Femme	4235	22,9	1625	8,1
122	B	M	10/03/1932	70ans	Homme	3064	16,5	909	4,5
126	D	M	05/03/1944	55ans	Homme	1954	10,6	443	2,2
127	D	R	15/03/1921	80ans	Homme	16078	86,8	2500	12,5
128	F	D	07/11/1926	75ans	Femme	5070	27,4	1303	6,5
131	G	M-J	23/02/1942	60ans	Femme	2419	13,1	273	1,4
133	L	G	31/07/1980	22ans	Femme	2173	11,7	483	2,4
135	A	I	12/12/1974	25ans	Femme	1300	7,0	352	1,8
136	B	M-A	13/08/1916	84ans	Femme	4935	26,6	1207	6,0
137	B	P	16/11/1922	76ans	Femme	1875	10,1	1000	5,0
138	B	M	20/03/1973	27ans	Femme	760	4,1	243	1,2
145	B	M	12/01/1922	78ans	Femme	2203	11,9	1750	8,8

	PHEOCROMOCYTOME OUI/NON	INSUFFISANCE RENALE OUI/NON	HYPERTENDU OUI/NON	TTT PAR UN ADT OU IMAO OUI/NON	TTT PAR UN ALPHA OU BETA- BLOQUANTS OUI/NON	FEMME ENCEINTE OUI/NON
100	NON	NON	NON	NON	NON	NON
102	NON	NON	NON	NON	NON	NON
103	NON	NON	NON	NON	NON	NON
104	NON	NON	NON	NON	NON	NON
105	NON	NON	NON	NON	NON	NON
106	NON	NON	NON	NON	NON	NON
109	NON	NON	NON	NON	NON	NON
110	NON	NON	NON	NON	NON	NON
113	NON	NON	NON	NON	NON	NON
117	NON	NON	NON	NON	NON	NON
120	NON	NON	NON	NON	NON	NON
122	NON	OUI	NON	NON	NON	NON
126	NON	NON	NON	NON	NON	NON
127	NON	NON	NON	NON	NON	NON
128	NON	NON	NON	NON	NON	NON
131	NON	NON	NON	NON	NON	NON
133	NON	NON	NON	NON	NON	NON
135	NON	NON	NON	NON	NON	NON
136	NON	NON	NON	NON	NON	NON
137	NON	OUI	NON	NON	NON	NON
138	NON	OUI	NON	NON	NON	NON
145	NON	NON	NON	NON	NON	NON



## ANNEXE 10

### Tableau des patients atteints d'un phéochromocytome

	NOM	PRENOM	Date naissance	age à date prelv	service hospi	NIMT (pg/ml)	NIMT (nmol/l)	MT (pg/ml)	MT (nmol/l)
9 **	DS	H	18/10/1973	26ans	Homme	2782	15,0	1696	8,5
29 **	R	J-J	22/01/1928	72ans	Homme	151709	819,2	12218	61,1
35 **	T	C	04/03/1974	25ans	Homme	24668	133,2	91176	455,9
99 **	P	P	10/09/1936	65ans	Femme	3329	18,0	866	4,3
124 **	C	A	26/07/1940	61ans	Femme	26764	144,5	762	3,8

	PHEOCROMOCYTOME OUI/NON	INSUFFISANCE RENALE OUI/NON	HYPERTENDU OUI/NON	TTT PAR UN ADT OU IMAO OUI/NON	TTT PAR UN ALPHA OU BETA-BLOQUANTS OUI/NON	FEMME ENCEINTE OUI/NON
9	OUI	NON	OUI	OUI	NON	NON
29	OUI	NON	OUI	NON	OUI	NON
35	OUI	NON	OUI	NON	NON	NON
99	OUI	NON	OUI	NON	NON	NON
124	OUI	NON	OUI	NON	NON	NON



## ANNEXE 11

### Table de décision pour le test de Student

$\alpha \backslash v$	0,90	0,50	0,30	0,20	0,10	0,05	0,02	0,01	0,001
1	0,158	1,000	1,963	3,078	6,314	12,706	31,821	63,657	636,619
2	0,142	0,816	1,386	1,886	2,920	4,303	6,965	9,925	31,598
3	0,137	0,765	1,250	1,638	2,353	3,182	4,541	5,841	12,924
4	0,134	0,741	1,190	1,533	2,132	2,776	3,747	4,604	8,610
5	0,132	0,727	1,156	1,476	2,015	2,571	3,365	4,032	6,869
6	0,131	0,718	1,134	1,440	1,943	2,447	3,143	3,707	5,959
7	0,130	0,711	1,119	1,415	1,895	2,365	2,998	3,499	5,408
8	0,130	0,706	1,108	1,397	1,860	2,306	2,896	3,355	5,041
9	0,129	0,703	1,100	1,383	1,833	2,262	2,821	3,250	4,781
10	0,129	0,700	1,093	1,372	1,812	2,228	2,764	3,169	4,587
11	0,129	0,697	1,088	1,363	1,796	2,201	2,718	3,106	4,437
12	0,128	0,695	1,083	1,356	1,782	2,179	2,681	3,055	4,318
13	0,128	0,694	1,079	1,350	1,771	2,160	2,650	3,012	4,221
14	0,128	0,692	1,076	1,345	1,761	2,145	2,624	2,977	4,140
15	0,128	0,691	1,074	1,341	1,753	2,131	2,602	2,947	4,073
16	0,128	0,690	1,071	1,337	1,746	2,120	2,583	2,921	4,015
17	0,128	0,689	1,069	1,333	1,740	2,110	2,567	2,898	3,965
18	0,127	0,688	1,067	1,330	1,734	2,101	2,552	2,878	3,922
19	0,127	0,688	1,066	1,328	1,729	2,093	2,539	2,861	3,883
20	0,127	0,687	1,064	1,325	1,725	2,086	2,528	2,845	3,850
21	0,127	0,686	1,063	1,323	1,721	2,080	2,518	2,831	3,819
22	0,127	0,686	1,061	1,321	1,717	2,074	2,508	2,819	3,792
23	0,127	0,685	1,060	1,319	1,714	2,069	2,500	2,807	3,767
24	0,127	0,685	1,059	1,318	1,711	2,064	2,492	2,797	3,745
25	0,127	0,684	1,058	1,316	1,708	2,060	2,485	2,787	3,725
26	0,127	0,684	1,058	1,315	1,706	2,056	2,479	2,779	3,707
27	0,127	0,684	1,057	1,314	1,703	2,052	2,473	2,771	3,690
28	0,127	0,683	1,056	1,313	1,701	2,048	2,467	2,763	3,674
29	0,127	0,683	1,055	1,311	1,699	2,045	2,462	2,756	3,659
30	0,127	0,683	1,055	1,310	1,697	2,042	2,457	2,750	3,646
40	0,126	0,681	1,050	1,303	1,684	2,021	2,423	2,704	3,551
80	0,126	0,679	1,046	1,296	1,671	2,000	2,390	2,660	3,460
120	0,126	0,677	1,041	1,289	1,658	1,980	2,358	2,617	3,373



# LISTE DES ABREVIATIONS

(Classées par ordre d'apparition dans la thèse)

DHEA : DiHydroEpiAndrostérone  
3 $\beta$ -OHDS : 3 $\beta$ -hydrxydeshydrogénase  
CBG : Cortisol Binding Glogulin  
CRH : Corticotropin Releasing Hormon  
DNA : Acide DésoxyriboNucléique  
COX : CyclOXygénase  
DOPA : DihydrOxyPhénylAlanine  
PNMT : Phényléthanolamine-N-MéthylTransférerase  
Ca<sup>2+</sup> : Calcium (sous sa forme ionique)  
AMPC : Adénosine MonoPhosphate tricyclique  
IP<sub>3</sub> : Inositol TriPhosphate  
DAG : DiAcylGlycérol  
PTH : ParaTHormone  
COMT : Catéchol-O-MéthylTransférerase  
MAO : MonoAmine Oxydase  
VMA : Acide VanylMandélique  
MHPG : Méthoxy-4-HydroxyPhénylGlycol  
HTA : Hypertension Artérielle  
IRM : Imagerie par Résonance Magnétique  
Hg : Mercure (sigle utilisé dans la classification périodique de Mendeleïev)  
NEM : Néoplasie Endocrinienne Multiples  
CMT : Cancer Médullaire de la Thyroïde  
HPLC (ou CHLP) : Chromatographie Liquide Haute Performance  
MIBG : MétaIodoBenzylGuanidine  
PVE : Prélèvement Veineux Etagés  
TDM : TomoDensitoMétrie  
IEC : Inhibiteur de l'Enzyme de Conversion  
CCM : Chromatographie sur Couche Mince  
CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse  
CPS : Chromatographie Super Critique  
T<sub>R</sub> : Temps de Rétenion



U.V. : Ultra-Violet

HClO<sub>4</sub> : Acide perchlorique

HCl : Acide Chlorhydrique

MHBA : 3-Méthoxy-4-HydroxyBenzylAmine

NMT : Normétanéphrine

MT : Métanéphrine

DE : Détection Electrochimique

ADT : AntiDépresseurs Tricycliques

IMAO : Inhibiteurs de la MonoAmine Oxydase

TTT : Traitement



# BIBLIOGRAPHIE

1/ BERNARD S. .

Biochimie clinique : instruments et techniques de laboratoire ; Diagnostics médico-chirurgicaux (2<sup>ème</sup> édition).

Edition Maloine, PARIS, 1989 : 349.

2/ BROOK C. , MARSHALL N. .

Endocrinologie (3<sup>ème</sup> édition).

Edition De Boeck Université, PARIS, 1998 : 59-82.

3/ BUHLAU D. , PIETTE J.C. , KHAYAT D. , NIZRI D. .

TDM et IRM cliniques : indications et sémiologie de la tomодensitométrie et de l'imagerie par résonance magnétique en hépatologie, gastro-entérologie, chirurgie abdominale... et médecine interne.

Edition Frison-Roche, PARIS, 1992 : 209-223.

4/ CANDITO M. , BILLAUD M. , CHAUFFERT M. , COTTET-EMARD J.M. DESMOULIN D. , GARNIER J.P. , GREFFE J. , HIRTH C. , JACOB N. , MILLOT F. , NIGNAN A. , PATRICOT M.C. , PEYRIN L. , PLOUIN P.F. .

Diagnostic biochimique du phéochromocytome et du neuroblastome.

Ann. Biol. Clin. , 2002, 60 (1) : 15-36.

5/ CHANSON P. , YOUNG J. .

Endocrinologie.

Edition Doin, PARIS, 2000 : 15-35, 51-54 et 331-349.

6/ CHAPUIS Y. , PLEIX J.L. .

Chirurgie des glandes surrénales.

Edition Arnette, PARIS, 1994 : 1-9 et 89-113.

7/ CHAVEAU D. .

Hypertension artérielle d'origine endocrinienne.

Encycl. Med. Chir. , Editions Techniques, PARIS, Endocrinologie-Nutrition.

10-001-G-10, 1996, 5p.

8/ CROCKETT D. , FRANK E. , ROBERTS W. .

Rapid analysis of metanephrine and normetanephrine in urine by gas-chromatography-mass spectrometry

Clin. Chem. , 48:2, 2002, 332-337.



- 9/ DADOUNE J.P. .  
Histologie : de la biologie à la clinique (2<sup>ème</sup> édition).  
Edition Flammarion, PARIS, 2000 : 211-212.
- 10/ Dictionnaire Médical MASSON.  
Edition Masson, PARIS, 1997, 1218p.
- 11/ DORE D. .  
Biochimie clinique.  
Edition Maloine, PARIS, 1994 : 655-659.
- 12/ GIREED X. , DIGEOS-HASNIER S. , LE HEUZEY J.Y. .  
Guide pratique de l'hypertension artérielle (2<sup>ème</sup> Edition).  
Edition Masson, PARIS, 2001 : 119-123.
- 13/ GUENARD H. , HANOUNE J. .  
Physiologie humaine (2<sup>ème</sup> édition).  
Edition Pradel, PARIS, 1996 : 419-430.
- 14/ HAY M. , MORMEDE P. .  
Determination of catecholamines and méthoxycatecholamines excretion  
pattern in pig and rat urine by ion-exchange liquid chromatography with  
electrochemical detection.  
J. Chromatogr-Biomed Appl, 703, 1997, 15-23.
- 15/ HAZARD J. , PERLEMUTER L. .  
Endocrinologie (4<sup>ème</sup> édition).  
Edition Masson, PARIS, 2000 : 253-332.
- 16/ HITTINGER L. , BERTHEZENE F. , CASTAIGNE A. , DUBOIS-  
RANDE J.L. , PLOUIN P.F. .  
Hormones, cœur et vaisseaux.  
Edition INSERM, PARIS, 1997 : 148-152.
- 17/ HOANG C. .  
Anatomie, embryologie et histologie de la surrénale.  
Encycl. Med. Chir. , Edition Elsevier, PARIS, Endocrinologie-Nutrition.  
10-014-A-10 , 1996 , 5p.
- 18/ <http://oms2.b3e.jussieu.fr/biostaTGV/> ..
- 19/ IDELMAN S. .  
Endocrinologie : fondements physiologiques.  
Edition Presses Universitaires de GRENOBLE, GRENOBLE, 1990 : 87-  
108.



- 20/ LAGERSTEDT S. , O'KANE D. , SINGH R. .  
Measurement of plasma free metanephrine and normetanephrine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry for diagnosis of pheochromocytoma.  
Clin. Chem., 50 :3, 2004, 603-611.
- 21/ LE THAI-CYNA F. , VALCKE J.C. .  
Physiologie de la médullosurrénale.  
Encycl. Med. Chir. , Edition Elsevier, PARIS, Endocrinologie-Nutrition.  
10-014-C-10 , 1998 , 7p.
- 22/ LINQUETTE M. .  
Précis d'endocrinologie.  
Edition Masson, PARIS, 1973 : 585-603.
- 23/ LUTON J.P. , THOMOPOULOS P. , BASDEVANT A. .  
Endocrinologie, nutrition et maladies métaboliques.  
Edition Médecine-Sciences Flammarion, PARIS, 1999 : 62-63.
- 24/ MANUILA A. , MANUILA L. , NICOLE M. , LAMBERT H. .  
Dictionnaire français de Médecine et de Biologie.  
Edition Masson, PARIS, 1981, 12, 1193p.
- 25/ MARIEB E.N. .  
Anatomie et physiologie humaines (2<sup>ème</sup> édition).  
Edition De Boeck Université, PARIS, 1999 : 610.
- 26/ MORNEX R. , HERBAUT N. .  
Pheochromocytomes à ne pas méconnaître.  
La Pratique Médicale Quotidienne, Avril 1987, 536 : 3-6.
- 27/ MURAY , GRANNER , MAYES , RODWELL .  
HARPER : précis de biochimie (23<sup>ème</sup> édition).  
Edition De Boeck Université, PARIS, 1996 : 598-618.
- 28/ PAGES A. , MARTY-DOUBLE Ch. .  
Histopathologie endocrinienne.  
Edition Masson, PARIS, 1997 : 191-197.
- 29/ PAGLIARI R. , COTTET-EYMARD J.M. , PEYRIN L. .  
Determination of free and conjugated normetanephrine and metanephrine in human plasma by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection.  
J. Chromatogr-Biomed Appl., 563, 1991, 23-36.



- 30/ PANNIER-MOREAU I. , MASSIEN-SIMON C. , PLOUIN P.F. .  
Pheochromocytome.  
Encycl. Med. Chir. , Edition Elsevier, PARIS, Endocrinologie-Nutrition.  
10-015-B-50 , 1999 , 4p.
- 31/ PEYRIN L. , COTTET-EYMARD J.M. , PAGLIARI R. , COTTET-  
EYMARD R.M. , BADET C. , MORNEX R. .  
Le dosage des méthyoxamines plasmatiques : une avancée pratique dans le  
diagnostic du pheochromocytome.  
Path.Biol., 42, 9, 1994, 847-854.
- 32/ PEYRIN L. , MORNEX R. .  
Le diagnostic biologique du pheochromocytome : l'impact de l'évolution  
technologique.  
Ann. Biol. Clin. , 1992, 50: 835-865.
- 33/ POIRIER J. , RIBADEAU-DUMAS J.L. .  
Histologie (4<sup>ème</sup> édition).  
Edition Masson, PARIS, 1993 : 230-235.
- 34/ REINWEIN D. , BENKER G. .  
Endocrinologie et métabolisme ; Cheklits de Médecine.  
Edition Vigot, PARIS, 1996 : 53-56 et 273-276.
- 35/ ROUESSAC F., ROUESSAC A. .  
Analyse chimique : méthodes et techniques instrumentales modernes.  
Edition Masson (3<sup>ème</sup> Edition), PARIS, 1997 : 3-6 ; 43-60 et 325-334.
- 36/ SCHWARTZ J. , SPACH M.O. .  
Hypertension artérielle.  
Edition Masson, PARIS, 1988 : 213-227.
- 37/ SKOOG, WEST, HOOLER.  
Chimie analytique.  
Edition De Boeck Université, 1997, 701-725.
- 38/ STEVENS , LOWE.  
Histologie humaine (2<sup>ème</sup> édition).  
Edition De Boeck Université, PARIS, 1997 : 264-267.
- 39/ VIALLE D. .  
Cardiopathie catécholaminergique : à propos d'un cas, diagnostic et  
traitement des pheochromocytomes , 220 f.  
Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en Médecine.  
LIMOGES, 1990, n°: 191.



40/ WOLTHERS B. , KEMA I. , VOLMER M. , WIESMANN R. ,  
WESTERMANN J. , MANZ B. .

Evaluation of urinary metanephrine and normetanephrine enzyme  
immunoassay (ELISA) kits by comparison with isotope dilution mass  
spectrometry.

Clin. Chem. , 43:1, 1997, 114-120.

41/ [www.biam2.org](http://www.biam2.org).

42/ ZAGURY G. , SERFATY J.M. .

MedExpress d'endocrinologie 2002.

Edition ESTEM, PARIS, 2002 : 76.

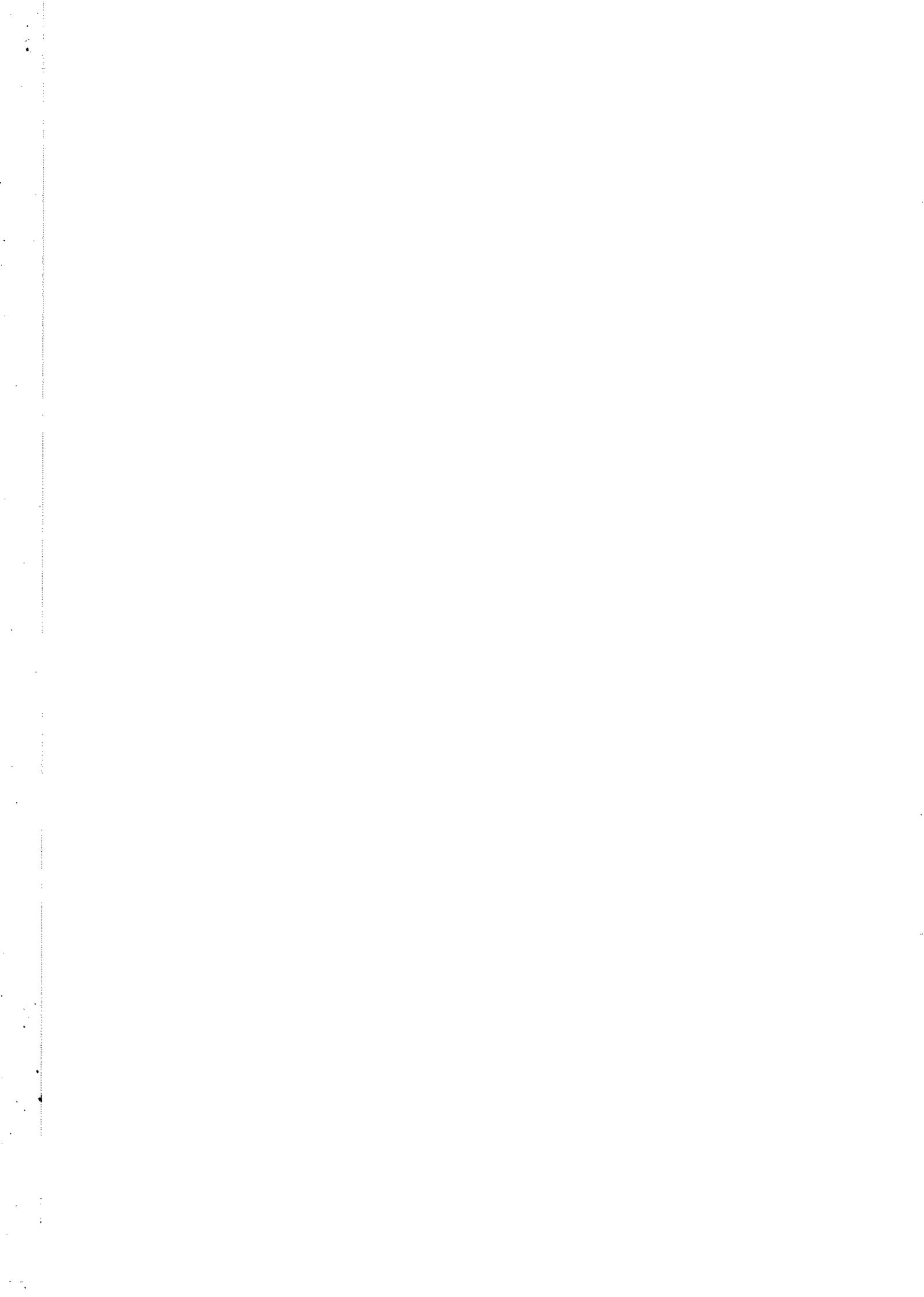


# TABLE DES MATIERES

<u>INTRODUCTION</u>	p8
<u>1<sup>ière</sup> Partie : LES GLANDES SURRENALES.</u>	p11
I. <u>GENERALITES</u>	p12
II. <u>HISTORIQUE</u>	p12
III. <u>STRUCTURE DES GLANDES SURRENALES</u>	p13
3.1. Embryologie	p13
3.2. Histologie et anatomie des surrénales	p14
3.2.1. La capsule fibreuse	p14
3.2.2. La corticosurrénale	p14
3.2.3. La médullosurrénale	p16
IV. <u>BIOCHIMIE, ACTION ET PHYSIOPATHOLOGIE DES HORMONES CORTICO-SURRENALIENNES</u>	p16
4.1. Biosynthèse des hormones stéroïdes	p16
4.1.1. Les voies communes	p17
4.1.2. Synthèse des glucocorticoïdes	p18
4.1.3. Synthèse des minéralocorticoïdes	p19
4.1.4. Synthèse des androgènes	p19
4.2. Stockage, libération et transport des hormones corticostéroïdes	p22
4.2.1. Stockage et libération	p22



4.2.2. Transport plasmatique	p22
4.3. Régulation de la synthèse des hormones stéroïdiennes	p23
4.3.1. Le cortisol	p23
4.3.2. L'aldostérone	p23
4.3.3. Les androgènes	p24
4.4. Mécanismes d'action et propriétés physiologiques des hormones corticostéroïdes	p25
4.4.1. Mécanismes d'action	p25
4.4.2. Propriétés physiologiques	p26
a. Effets du cortisol	p26
b. Effets de l'aldostérone	p27
c. Effets des androgènes	p28
4.5. Métabolisme des corticostéroïdes	p28
4.5.1. Catabolisme des glucocorticoïdes	p28
4.5.2. Catabolisme des minéralocorticoïdes	p28
4.5.3. Catabolisme des androgènes	p28
4.6. Physiopathologie du cortex surrénalien	p28
4.6.1. Conséquence d'un hypofonctionnement	p28
4.6.2. Conséquence d'un hyperfonctionnement	p29
<u>V. BIOCHIMIE, ACTION ET PHYSIOPATHOLOGIE DES HORMONES MEDULLOSURRENALIENNES</u>	p31
5.1. Biosynthèse des catécholamines	p31
5.2. Stockage, libération et transport des hormones de la médullaire surrénale	p33
5.3. Régulation des catécholamines	p34



5.4. Mécanismes d'action et propriétés physiologiques des hormones médullosurréaliennes	p35
5.4.1. Les récepteurs adrénergiques : mécanismes d'action	p35
5.4.2. Effets physiologiques des hormones adrénergiques	p37
a. Les effets viscéraux	p38
b. Les effets métaboliques	p39
5.5. Métabolisme des catécholamines	p40
5.5.1. Inactivation et catabolisme	p40
5.5.2. Excrétion urinaire	p42
5.6. Physiopathologie de la médullosurrénale	p42

## **2<sup>ème</sup> Partie : LE PHEOCHROMOCYTOME : UNE TUMEUR CHROMAFFINE.**

I. <u>GENERALITES</u>	p45
II. <u>HISTORIQUE</u>	p46
III. <u>SYMPTOMATOLOGIE ET ASPECTS CLINIQUES DU PHEOCHROMOCYTOME</u>	p46
3.1. Les formes hypertensives	p47
3.1.1. L'hypertension artérielle paroxystique	p47
3.1.2. L'hypertension artérielle permanente	p48
3.2. Les formes atypiques	p49
3.3. Les formes familiales et génétiques : association à d'autres pathologies	p50
3.3.1. Association avec les phacomatoses	p51



3.3.2. Les formes familiales et les néoplasies endocriniennes multiples (N.E.M.)	p52
3.4. Les formes anatomocliniques du phéochromocytome et la malignité des tumeurs	p53
<b><u>IV. DIAGNOSTIC DU PHEOCHROMOCYTOME : DE LA BIOLOGIE A L'IMAGERIE</u></b>	<b>p55</b>
4.1. Le diagnostic clinique: évocation d'un phéochromocytome	p55
4.2. Le diagnostic biologique : confirmation biochimique	p56
4.2.1. Généralités	p56
4.2.2. Les tests pharmacodynamiques	p58
4.2.3. Les dosages urinaires	p59
a. Dosage de l'acide vanyl-mandélique	p59
b. Dosage des catécholamines urinaires	p60
c. Dosage des métanéphrines urinaires	p61
4.2.4. Les dosages plasmatiques	p62
4.3. Le diagnostic topographique : localisation de la tumeur	p65
4.3.1. Le scanner abdomino-pelvien	p66
4.3.2. Scintigraphie à la MIBG	p67
4.3.3. Autres explorations utiles	p68
<b><u>V. TRAITEMENTS DU PHEOCHROMOCYTOME</u></b>	<b>p69</b>
5.1. Préparation préopératoire du phéochromocytome	p70
5.2. Le traitement chirurgical proprement dit	p71
5.3. Traitements complémentaires	p72
5.4. Résultats et surveillance postopératoires	p73



**3<sup>ème</sup> Partie : ASPECTS TECHNIQUES DU DOSAGE DES METANEPHRINES PLASMATIQUES PAR CHROMATOGRAPHIE.** p74

**I. GENERALITES** p76

1.1. Définitions et principes p76

1.2. Classification des principaux types de chromatographies p76

**II. HISTORIQUE** p78

**III. PRESENTATION DE LA CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE** p79

3.1. Définitions et généralités p79

3.2. Conception générale d'un appareil de CHLP p80

3.2.1. Le système de pompage p81

3.2.2. L'injection des échantillons p81

3.2.3. La colonne : séparation des analytes en solution p82

3.2.4. Détection et quantification des espèces en présence p83

a. Les détecteurs spectrophotométriques p83

b. Les détecteurs spectrofluorimétriques p84

c. Les détecteurs réfractométriques p85

d. La détection électrochimique p86

3.3. La chromatographie de partage p86

3.3.1. Les supports greffés : technique de greffage p87

3.3.2. Phase stationnaire et phase mobile p88



#### IV. DOSAGE DES METANEPHRINES PLASMATIQUES TOTALES

p90

- 4.1. Conditions générales du dosage des méthoxyamines dans le sang p90
- 4.2. Préparation des échantillons à doser p91
  - 4.2.1. Déprotéinisation du plasma p92
  - 4.2.2. Hydrolyse et extraction p93
    - a. L'hydrolyse p93
    - b. L'extraction p94
  - 4.2.3. Le dosage proprement dit p94

#### 4<sup>ème</sup> Partie : ETUDE CLINIQUE : RESULTATS ET INTERPRETATION DU DOSAGE PAR CHROMATOGRAPHIE DES METANEPHRINES PLASMATIQUES.

p97

##### I. MISE EN PLACE DE L'ETUDE CLINIQUE

p98

##### II. INTERPRETATION DES RESULTATS

p113

##### 2.1. Etude de chaque paramètre clinique

p114

##### 2.1.1. Cas de la prise de $\beta$ - ou $\alpha$ -bloquants

p114

##### 2.1.2. Cas de la prise d'antidépresseurs tricycliques (ADT) ou d'inhibiteurs de la monoamine oxydase (IMAO)

p114

##### 2.1.3. Cas de l'insuffisant rénal chronique (IRC)

p114

##### 2.1.4. Cas de l'hypertension artérielle (HTA)

p115

##### 2.2. Exploration approfondie pour l'HTA

p116

##### 2.3. Cas des phéochromocytomes avérés

p118



**CONCLUSION** p119

**ANNEXES** p122

ANNEXE 1 p124

ANNEXE 2 p128

ANNEXE 3 p129

ANNEXE 4 p130

ANNEXE 5 p131

ANNEXE 6 p135

ANNEXE 7 p141

ANNEXE 8 p142

ANNEXE 9 p148

ANNEXE 10 p154

ANNEXE 11 p155

**Liste des abréviations** p156

**Bibliographie** p158



## SERMENT DE GALIEN

*Je jure en présence de mes maîtres de la Faculté et de mes condisciples :*

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;*
- d'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;*
- de ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.*

*En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*

*Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.*

*Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères, si j'y manque.*



BON A IMPRIMER N° 317

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Vu, le Doyen de la Faculté

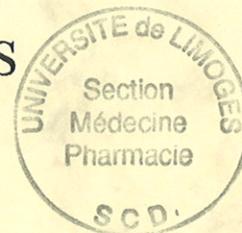
VU et PERMIS D'IMPRIMER

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ



UNIVERSITE DE LIMOGES

Faculté de pharmacie



ANNEE 2004



THESE N° 317/11

**DOSAGE DES METABOLITES  
CATECHOLAMINERGIQUES PLASMATIQUES,  
METANEPHRINE ET NORMETANEPHRINE,  
DANS LE CADRE DU PHEOCHROMOCYTOME**

**THESE**

pour le

**DIPLOME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

*présentée et soutenue publiquement le 21 Juin 2004*

par

**David BERAUD**

né le 2 Juillet 1977 à Périgueux (Dordogne)

**EXAMINATEURS DE LA THESE**

Monsieur le Professeur MÆSCH Christian	<b>PRESIDENT</b>
Madame le Professeur VIDAL Elisabeth, <i>Chef de Service, Médecine interne</i>	<b>JUGE</b>
Monsieur VIGNOLES Philippe, <i>Maître de conférences</i>	<b>JUGE</b>
Monsieur le Docteur GAULIER Jean-Michel, <i>Praticien hospitalier</i>	<b>JUGE</b>