



Dosage de stéroïdes:
17-OH-progestérone, androstènedione et DHEAS,
par spectrométrie de masse
dès le 1^{er} février 2020

1. La spectrométrie de masse (MS)

La LC-MS/MS apporte de la sélectivité grâce au détecteur de masse et la dimension séparative de la chromatographie liquide permet d'améliorer la sélectivité et la sensibilité. Cette méthodologie remplace donc certains tests immunologiques et en particulier le dosage d'hormones ayant de faibles concentrations sanguines, présentant des homologies de structure ou des difficultés de quantification liées à la présence de molécules interférentes.

L'échantillon est débarrassé des protéines contenues dans le milieu par une extraction puis, ses différents composants sont séparés par UHPLC (chromatographie liquide ultra haute performance) et finalement ionisés avant d'être identifiés par leur rapport masse/charge et quantifiés dans le détecteur.

Un standard interne (molécule deutérée) ajouté à chaque échantillon permet de tenir compte des pertes survenues lors de la phase de purification.

Ces différentes étapes confèrent à ce système d'analyse une grande spécificité et permet de distinguer des molécules ayant des structures très similaires comme par exemple cortisol et prednisolone ou testostérone et dihydrotestostérone. D'autre part, cette technologie offre une grande sensibilité permettant des détections de concentrations non-réalisables par immuno-essais. Finalement, il est possible d'analyser plusieurs molécules en une seule injection ce qui permet une économie de volume échantillon.

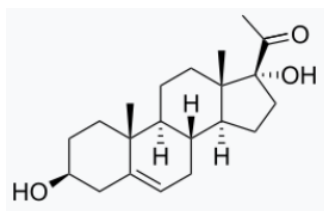
2. Caractéristiques

Les hormones stéroïdiennes sont synthétisées à partir du cholestérol au niveau des: glandes endocrines corticosurrénales, gonades et tissus périphériques. Ce sont des molécules de faible masse moléculaire présentant des structures très proches.

De ce fait, les anticorps utilisés dans les immunodosages peuvent manquer de spécificité et être à l'origine de réactions croisées entre stéroïdes. Il en découle une possible surestimation des résultats. C'est le cas par exemple de la 17-hydroxyprégnénolone et de sa forme sulfatée qui interagissent avec le dosage immunologique de la 17-hydroxyprogéstérone.

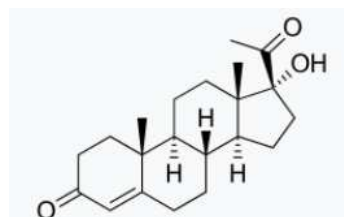
17-hydroxyprégnénolone

$C_{21}H_{30}O_3$ (PM: 330.46 g/mol)



17-hydroxyprégnénolone

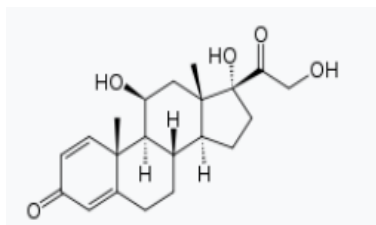
$C_{21}H_{32}O_3$ (PM: 332.48 g/mol)



Des interférences dues à des stéroïdes de synthèse utilisés en thérapeutique peuvent aussi générer des réactions croisées. En effet, la prednisolone utilisée pour ses propriétés anti-inflammatoires peut perturber le dosage du cortisol.

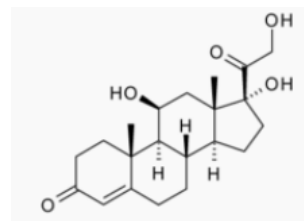
Prednisolone

C₂₁H₂₈O₅ (PM: 360.444 g/mol)



Cortisol

C₂₁H₃₀O₅ (PM: 362.4599 g/mol)



La LC-MS est donc une alternative très intéressante pour ce type de dosages.

3. Hormones stéroïdiennes

3.1 17-OH-progestérone (17-OHP)

- Précurseur du cortisol, la 17-OHP est produite par les surrénales, les testicules et les ovaires. Chez la femme, elle augmente durant la phase lutéale, les taux les plus faibles se retrouvent durant la phase folliculaire. A la ménopause, l'activité ovarienne disparaissant, les taux bas sont le reflet de l'activité surrénalienne.
- Il y a une **augmentation** de la 17-OHP dans le syndrome adrénogénital (hyperplasie congénitale des surrénales) qui résulte d'un déficit héréditaire en enzyme active (11- ou 21-hydroxylase) dans la biosynthèse surrénalienne. Ceci entraîne une diminution du cortisol compensée par une augmentation de l'ACTH avec en conséquence une hyperplasie des surrénales et une hypersécrétion des hormones en amont (17-OHP, androstènedione et testostérone). On distingue une forme classique chez le nouveau-né ou l'enfant et une forme non classique ou tardive apparaissant à la puberté.
- Une **diminution** de la 17-OHP est observée dans la maladie d'Addison et l'insuffisance surrénalienne primaire.
- Chez la femme, le dosage de la 17-OHP est utilisé lors d'investigations liées à l'infertilité ou l'hirsutisme.

3.2 Sulfate de déhydroépiandrostérone (DHEA-S)

- Toutes les hormones corticostéroïdiennes ont le cholestérol comme précurseur commun. La voie métabolique conduisant à la formation des androgènes a pour origine le DHEA-S. Le DHEA-S est transformé au niveau hépatique et périphérique en testostérone biologiquement active. La concentration en DHEA-S varie avec l'âge: il atteint son maximum en période pré-pubertaire puis diminue lentement dans les deux sexes.
- L'**augmentation** de DHEA-S se traduit par des signes de virilisation (chez la femme et l'enfant). Le dosage du DHEA-S est aussi utile lors d'hyperplasie congénitale des surrénales.

3.3 Delta-4 Androstènedione (ADIONE)

- La ADIONE appartient au groupe des stéroïdes androgènes comme la testostérone, la dihydrotestostérone et la DHEA-S. Chez la femme, elle provient des ovaires (45%), des surrénales (45%) et de la conversion périphérique de la DHEA (10%). Après la ménopause, son origine est surtout surrénalienne. Toujours chez la femme, 50 – 60% de la testostérone circulante provient de la conversion périphérique de la ADIONE.
- C'est un indicateur utile de la fonction des glandes surrénales, des ovaires et des testicules. La concentration sérique de ADIONE est **augmentée** lors du syndrome des ovaires polykystiques, du syndrome de Cushing, des hyperplasies congénitales des surrénales, des hyperplasies ovariennes et des hirsutismes. Lors d'un déficit en 17-bêta-hydroxystéroïde déshydrogénase qui se manifeste par une ambiguïté sexuelle chez le garçon, elle sera aussi élevée.
- Un taux **diminué** peut être lié à une insuffisance des surrénales, une insuffisance ovarienne ou testiculaire.
- Les taux de ADIONE varient au cours de la journée et au cours du cycle menstruel.
- En cas de traitement par des glucocorticoïdes lors d'hyperplasie congénitale des surrénales, un taux normal de ADIONE montre l'efficacité du traitement.

4. Analyse

Principe, méthode:	LC-MS
Demande:	Feuille "SANG"
Préanalytique:	Tube hépariné (Bouchon orange)
Fréquence du dosage:	1 fois par semaine (mercredi)
Remarque:	Le dosage se fait sur le site de la Chaux-de-Fonds
Prix:	17-OH progestérone : 68 points (Fr 68.00) (code OFAS 1002.00) Androstènedione : 30 points (Fr 30.00) (code OFAS 1055.00) DHEA-S : 24 points (Fr 24.00) (code OFAS 1262.00)

5. Renseignements

- Dr Véronique Viette, directrice FAMH, (veronique.viette@ne.ch)
- Mme Christine Monnier, FAMH Immunologie (christine.monnier@ne.ch)

6. Bibliographie

1. N.Lahlou, L.Groussin, "Le dosage des stéroïdes par spectrométrie de masse en tandem: une avancée majeure pour le diagnostic des endocrinopathies", Janv 2017; MCED n° 86.
2. J.Taieb, M. Lachgar, "Exploration biologique de la fonction androgénique chez la femme: problèmes liés aux immunodosages des androgènes", Med repro,Gynéco Endocrino 2012;14(3):196-203.
3. M.Pugeat et al., "Recommandations pour l'exploration des hyperandrogénies", Ann Endocrino 2010; 71:e3-8.
4. D.Dufour-Rainfray et al, "Dosages des stéroïdes par spectrométrie de masse", Ann Biol Clin 2015; 73(1):70-8.