



UNIVERSITE DE LILLE

ECOLE DOCTORALE BIOLOGIE-SANTE

Habilitation à Diriger des Recherches

**Biodisponibilité et biomarqueurs du cortisol : de la pathologie
surrénalienne aux maladies métaboliques**

Dr. Stéphanie Espiard

UMR 1190, Recherche translationnelle sur le diabète, EGID

Présentée et soutenue publiquement le 23 Octobre 2020

Devant un jury composé de :

Professeur Marie-Christine Vantyghem	Garant
Professeur Bernard Sablonnière	Rapporteur interne
Professeur Marc Lombes	Rapporteur externe
Professeur Yves Reznik	Rapporteur externe
Professeur Gaëtan Prevost	Examineur
Professeur François Pattou	Président du jury

SOMMAIRE

ABREVIATIONS	2
AVANT-PROPOS.....	3
PARTIE I : BIODISPONIBILITE ET BIOMARQUEURS DU CORTISOL.....	6
I. RESUME DES TRAVAUX DE POST-DOCTORAT.....	6
1) <i>Contexte scientifique général</i>	6
2) <i>Métabolome stéroïdien et exposition au cortisol chez le patient insuffisant surrénalien.....</i>	8
3) <i>Biomarqueurs d'action du cortisol</i>	9
II. PROJETS DE RECHERCHE	13
1) <i>Mise au point de nouveaux outils pour l'évaluation de la biodisponibilité du cortisol.....</i>	13
2) <i>Etude de la biodisponibilité du cortisol dans l'insuffisance surrénalienne</i>	14
3) <i>Etude des biomarqueurs d'exposition au cortisol dans l'obésité.....</i>	16
4) <i>Etude des biomarqueurs d'exposition au cortisol dans les lipodystrophies</i>	19
III. ORIGINALITE, BENEFICES ATTENDUS ET PERSPECTIVES.....	20
PARTIE 2 : ACIDES BILIAIRES, DES REGULATEURS DU METABOLISME DU CORTISOL ?	22
I. RESUME DES TRAVAUX ANTERIEURS	22
II. PROJETS DE RECHERCHE	24
1) <i>Contexte scientifique</i>	24
2) <i>Etude translationnelle sur le modèle de l'obésité et la chirurgie bariatrique</i>	27
3) <i>Etude préclinique et modèles cellulaires</i>	28
III. ORIGINALITE, BENEFICES ATTENDUS ET PERSPECTIVES.....	29
PARTIE III : TUMEURS SURRENALIENNES ET NEOPLASIES ENDOCRINIENNES GENETIQUES	30
.....	
I. RESUME DES TRAVAUX DE THESE DE SCIENCE.....	30
1) <i>Génétique de l'hyperplasie bilatérale macronodulaire des surrénales.....</i>	30
2) <i>Altération de la voie PKA dans les pathologies surrénaliennes</i>	31
II. PROJETS DE RECHERCHE	32
1) <i>Contexte clinique</i>	32
2) <i>Complexe de Carney.....</i>	33
3) <i>Hyperplasie bilatérale macronodulaire des surrénales</i>	34
4) <i>Incidentalomes surrénaaliens.....</i>	35
III. ORIGINALITE, BENEFICES ATTENDUS ET PERSPECTIVES.....	36
CONCLUSIONS	37
RÉFÉRENCES	38
ANNEXE.....	47

ABBREVIATIONS

AB : Acides biliaires

ABOS : Atlas Biologique de l'Obésité sévère

AKR1D1 : Aldo-Keto Reductase Family 1 Member D1

AMPc : Adénosine Monophosphate Cyclique

CBG : Cortisol-Binding Globulin

CLU : Cortisol libre urinaire

CYP(3A4) : Isoenzyme (3A4) du cytochrome P450

DS : Décompensation surrénalienne

HC : Hydrocortisone

IMC : Indice de masse corporelle

IncS : Incidentalome surrénalien

IS : Insuffisance surrénalienne/insuffisant surrénalien

EGID : Institut Européen de Génomique du Diabète

GC : Glucocorticoïde(s)

GR : Récepteur aux glucocorticoïdes

HBMS : Hyperplasie bilatérale macronodulaire des surrénales

HOMA-IR : Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance

PKA : Protéine kinase A

PPNAD : Primary Pigmented Nodular Adrenocortical Disease

LFP2 : Lipodystrophie familiale partielle de type 2

LI-HC : Hydrocortisone à libération immédiate

LM-HC : Hydrocortisone à libération modifiée

PBMC : Peripheral blood mononuclear cell

PPGL : Phéochromocytomes et paragangliomes

SRD5A1/2 : Steroid 5 Alpha-Reductase 1/2

TCM : Total cortisol métabolites

THE : Tetrahydrocortisone

THF : Tetrahydrocortisol

5 α -THF : Allotetrahydrocortisol

11 β HSD1/2 : 11 β -hydroxydéshydrogénase de type 1/2

AVANT-PROPOS

Ce mémoire a pour but de retracer mon parcours de recherche et décrire mes projets que j'ai synthétisé dans la Figure 1. Mon curriculum vitae est situé en annexe.

Durant ma thèse de science, réalisée après mon internat en endocrinologie, j'ai travaillé principalement sur la génétique des tumeurs corticosurréaliennes bénignes productrices de cortisol dans l'équipe du Pr Bertherat à l'institut Cochin, Paris (INSERM U1016, « Endocrinologie, Métabolisme, Diabète »). J'ai réalisé la 3^{ème} année de ma thèse de science en même temps que ma 1^{ère} année de clinicat en raison des besoins du service d'endocrinologie du CHR-U de Lille (de ce fait, j'ai inclus mes publications à partir de 2015 sans lien avec ma thèse de science comme publications « hors thèse de science »). La génétique des tumeurs surréaliennes et le syndrome de Cushing étant des thématiques déjà étudiées par plusieurs grandes équipes en France, j'ai fait le choix de me démarquer en développant ma propre thématique à Lille.

Souhaitant garder pour principal centre d'expertise la surrénale et les stéroïdes surréaliens (sur lesquels j'avais travaillé pour mon mémoire de DES de spécialité), c'est ainsi que j'ai contacté le Pr Gudmundur Johannsson (Université Sahlgrenska, Göteborg) pour la réalisation d'un post-doctorat dans son équipe afin de travailler sur l'insuffisance surréalienne (IS). J'ai pu travailler dans son équipe sur le métabolisme du cortisol chez le patient insuffisant surréalien (IS) traité (cf. Annexe, article 1) et sur un large projet de caractérisation de biomarqueurs (BM) du cortisol. J'ai co-encadré **Johanna Mc Queen** pour sa thèse de science sur ces projets. Des résultats obtenus pendant ce post-doctorat m'ont amenée à considérer le rôle potentiel des acides biliaires (AB) comme modulateur du métabolisme du cortisol.

De retour à Lille comme MCU-PH, je me suis attelée à développer localement ces deux nouvelles thématiques :

- 1) métabolisme du cortisol et plus largement biodisponibilité (BD) du cortisol et BM du cortisol (présentée dans la partie I),
- 2) lien entre cortisol et AB (présentée dans la partie II).

Au sein d'un CHRU ayant développé une recherche forte sur le diabète et l'obésité, j'ai saisi l'opportunité de travailler sur l'obésité et son évolution après chirurgie bariatrique comme premier modèle d'étude de mes thématiques. C'est ainsi que je me suis tournée vers l'EGID (Institut Européen de Génomique du Diabète) et notamment l'équipe du Pr Pattou à laquelle je me suis rattachée (INSERM UMR 1190, « recherche translationnelle sur le diabète »). Cette équipe dispose de modèles pré-cliniques d'obésité et de chirurgie bariatrique et a développé une recherche translationnelle structurée sur l'obésité à l'interface entre le CHRU et l'EGID. Pour le projet sur les AB, je collabore avec une autre équipe de l'EGID, l'équipe du Pr Staels

(INSERM UMR 1011, « Récepteur Nucléaires, Maladies Cardiovasculaires et Diabète »), en particulier le Pr Tailleux qui m'accompagne pour l'étude du lien entre AB et cortisol. Enfin, je suis en train de mettre aux points de nouveaux outils pour l'étude de la BD du cortisol en collaboration avec l'institut de Biochimie et Biologie Moléculaire du CHR-U de Lille dirigée par le Pr Pigny et en particulier le Dr Oddou, le Dr Coppin et le Dr Ghulam.

J'ai obtenu un premier financement pour la réalisation d'une étude visant à étudier le métabolisme du cortisol et son lien avec les AB chez des patients obèses avant et après chirurgie bariatrique (étude CORTABO). Je vais encadrer **Omolara Khadijat Tijani** pour sa thèse de science et **Hippolyte Dupuis** pour son master 2 à partir d'Octobre 2020 et j'encadre **Léa Bouttement** pour sa thèse de médecine sur ces thématiques (BD/BM du cortisol et lien entre AB et cortisol dans le cadre du modèle de l'obésité).

Le service d'endocrinologie de Lille a la particularité de regrouper au sein d'une même unité l'endocrinologie, la diabétologie, les maladies métaboliques et maintenant la nutrition (service EDMN) offrant beaucoup de thématiques de recherche translationnelle. Ainsi, grâce à sa multidisciplinarité et à son recrutement important, le service EDMN est très impliqué en recherche clinique. Le Pr Vantghem a notamment étudié et établi des cohortes de patients souffrant de lipodystrophies, une pathologie du tissu adipeux blanc qui s'avère être un autre modèle intéressant d'étude du métabolisme du cortisol. J'ai ainsi saisi cette opportunité pour la réalisation d'une autre étude translationnelle pour laquelle j'ai obtenu un financement (étude LIPOCORT).

D'un point de vue clinique, je prends en charge principalement des patients atteints de pathologies surrénaliennes, d'HTA endocrine et de maladies rares comme les néoplasies endocriniennes génétiques. J'ai postulé à d'autres financements pour une étude translationnelle visant à étudier les facteurs de BD du cortisol chez les patients IS (étude DISENDO). A côté de ces deux travaux sur la BD et les BM du cortisol et sur le lien entre cortisol et AB, je suis très investie en recherche clinique en lien avec mes domaines d'expertises cliniques. J'ai plusieurs études et collaborations en cours sur les tumeurs surrénaliennes et les néoplasies endocriniennes génétiques. Elles sont présentées dans la partie III (cf. Annexe, articles 2 et 3). J'ai encadré **Fatimetou Abderrahmane** et j'encadre **Pierre-Loup Hermant** et **Elise Bouillet** (étude sur le phéochromocytome non présenté dans ce mémoire) pour leur thèse de médecine dans le cadre de ces études. Enfin, j'ai d'autres thématiques annexes de recherche que je n'aborde pas dans ce mémoire, notamment sur les pathologies thyroïdiennes compte-tenu de l'héritage du Pr Wémeau qui travaillait surtout en thyroïdologie (cf. Annexe, articles 4-7). J'ai encadré **Arnaud Jannin** pour son mémoire de DIU de thyroïdologie et sa thèse de médecine et j'encadre **Melissa Bourgeau** pour sa thèse de médecine dans le cadre de ces autres thématiques.

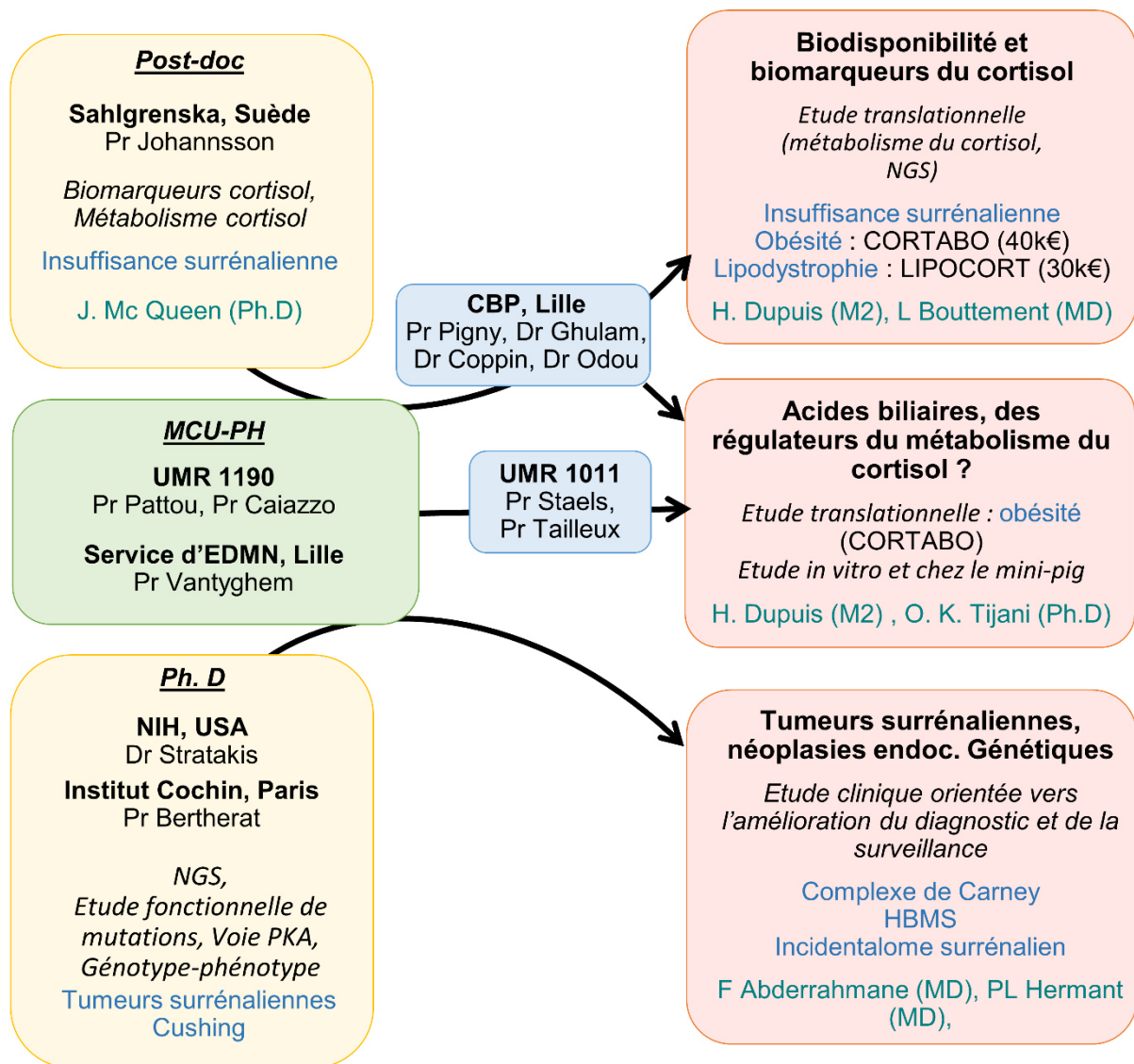


Figure 1 : Présentation synthétique du parcours et des projets de recherche

En bleu sont indiqués les modèles cliniques étudiés et en vert les étudiants encadrés dans le cadre de mes projets de recherches organisés autour de trois grands axes.

PARTIE I : BIODISPONIBILITE ET BIOMARQUEURS DU CORTISOL

I. RESUME DES TRAVAUX DE POST-DOCTORAT

1) Contexte scientifique général

Le cortisol est un glucocorticoïde (GC) naturel produit par le cortex surrénalien à partir du cholestérol. Il présente différentes fonctions pléiotropes agissant sur le métabolisme glucidique, lipidique, protidique, sur l'immuno-modulation, la coagulation, le métabolisme osseux, rénal et a une action centrale. Les GC étant des molécules hydrophobes, elles nécessitent l'utilisation d'un système de transport pour rester solubles et atteindre leur tissu cible. La cortisol-binding globulin (CBG) synthétisée par le foie est la principale protéine porteuse du cortisol et permet aussi de créer un réservoir de cortisol immédiatement disponible dans certains tissus (1). Au niveau du rein, le cortisol est inactivé en cortisone par la 11 β -hydroxydéshydrogénase de type 2 (11 β HSD2) afin de protéger le récepteur minéralocorticoïde de son action. Dans le foie et le tissu adipeux, la 11 β -hydroxydéshydrogénase de type 1 (11 β HSD1) réactive la cortisone en cortisol (2). La réactivation du cortisol au niveau splanchnique pourrait contribuer jusqu'à un tiers de la production quotidienne de cortisol (3,4). Le cortisol est dégradé au niveau du foie (Figure 2) où il est réduit, notamment sous l'action de la 5 α -réductases et de la 5 β -réductase, oxydé, hydroxylé puis conjugué à des sulfates ou de l'acide glucuronique avant d'être éliminé au niveau des urines. Enfin, le cortisol exerce ses actions sur ses nombreux organes cibles via le récepteur aux glucocorticoïdes (GR), un récepteur appartenant la super famille des récepteurs nucléaires. Le GR interagit avec des facteurs de transcription spécifique en fonction des tissus et régule ainsi l'expression de plusieurs milliers de gènes (5). Au final, les concentrations circulantes de cortisol sont loin d'être le reflet de l'action tissulaire du cortisol (5,6).

Il existe des GC de synthèse utilisés en thérapie : l'hydrocortisone (HC), qui a la même structure que le cortisol naturel, est utilisé pour le traitement substitutif des patients présentant une insuffisance de production de cortisol ; les autres GC de synthèse ont une structure modifiée afin de potentialiser leur effet immuno-modulateur et sont utilisés pour le traitement des maladies inflammatoires.

L'IS est une maladie chronique caractérisée par un manque de production de cortisol par le cortex surrénalien. On distingue deux causes d'IS : les causes primaires par atteinte de la surrénale et les causes secondaires par atteinte de l'hypophyse. Non traitée, l'IS conduit rapidement au décès. L'arrivée des traitements substitutifs dans les années 1950 a drastiquement amélioré l'espérance de vie des patients atteints d'IS. Cependant, les patients gardent une morbi-mortalité élevée, liée à 1) une augmentation du risque infectieux et cardio-

vasculaire que favorise une supplémentation imparfaitement physiologique avec les molécules actuellement disponibles ; 2) la persistance de décompensation de l'insuffisance surrénalienne (DS) ou crise addisonienne (7).

Le syndrome de Cushing est caractérisé par un excès endogène de cortisol. Il se complique d'hypertension artérielle, de diabète, de dyslipidémie, d'ostéoporose, d'infection et de maladies cardio-vasculaires et thrombo-emboliques veineuses. Outre le syndrome de Cushing, une exposition anormale au cortisol peut être observé dans une moindre mesure dans les états de stress aigu et chroniques ou dans d'autres situations pathologiques comme l'obésité. Finalement, les patients souffrant de maladies inflammatoires traitées par GC de synthèse vont présenter certaines complications du syndrome de Cushing.

Au total, de nombreux autres facteurs comme le métabolisme du cortisol peuvent moduler la BD du cortisol et donc son action tissulaire. Il apparaît alors nécessaire de disposer de BM d'exposition au cortisol pour le diagnostic et la surveillance de plusieurs situations pathologiques.

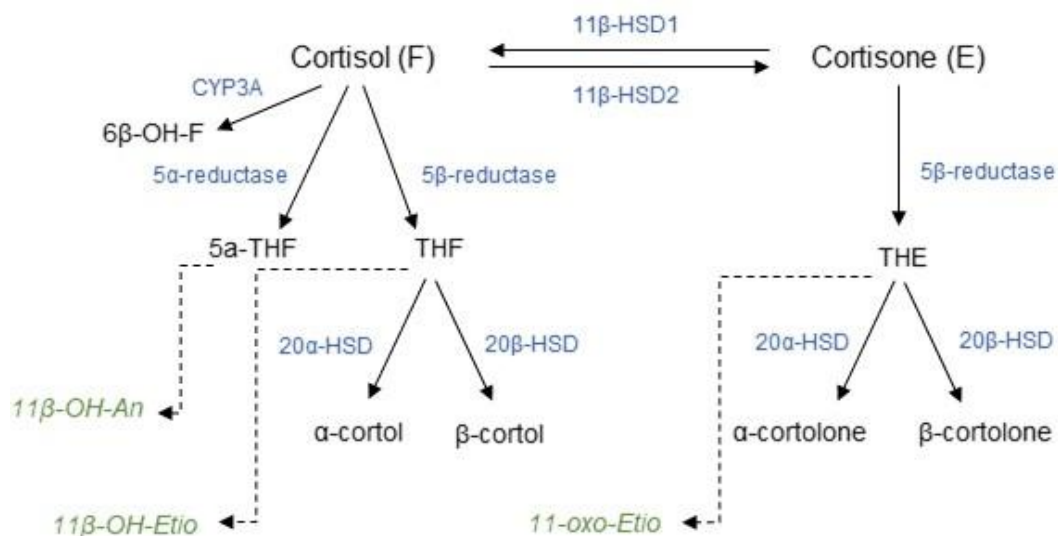


Figure 2 : Métabolisme du cortisol

En bleu les enzymes, en noir les métabolites à l'exception des 11oxy C19 stéroïdes écrits en vert.
 6β-OH-F : 6β-hydroxy-cortisol, THE : Tetrahydrocortisone, THF : Tetrahydrocortisol, 5α-THF: Allotetrahydrocortisol
 20α-HSD : 20α-hydroxydehydrogenase, 20β-HSD : 20β-hydroxydehydrogenase,
 11β-OH-An : 11β-OH-Androsterone, 11β-OH-Etio : 11β-OH-étiocholanolone, 11-oxo-Etio : 11-oxo-étiocholanolone

2) Métabolome stéroïdien et exposition au cortisol chez le patient insuffisant surrénalien

Le dosage de l'ensemble des métabolites des stéroïdes surrénaliens appelé stéroïdogramme est possible à partir d'un prélèvement urinaire des 24h analysé par spectrométrie de masse couplé à la chromatographie en phase gazeuse. Le stéroïdogramme permet d'avoir ainsi un aperçu d'ensemble du « métabolome stéroïdien ». Une attention particulière peut être portée à certains groupes de stéroïdes comme les métabolites du cortisol. L'étude indirecte de l'activité des enzymes de métabolisme du cortisol est possible par le calcul de ratios entre les stéroïdes en amont et en aval de l'enzyme.

Les patients présentant une IS peuvent être actuellement traités par deux formes d'HC: la forme classique à libération immédiate (LI-HC) dont la durée d'action est courte et nécessite 2 à 3 prises quotidiennes par jour ; la forme à libération modifiée (LM-HC) qui permet en une prise quotidienne d'obtenir un profil du cortisol plus physiologique. La LM-HC est constituée d'une couche externe immédiatement absorbée au niveau de l'estomac et du duodénum et d'une couche interne libérée progressivement le long de l'intestin grêle et de la partie proximale du colon. Cette forme commercialisée sous le nom de PLENADREN n'est pas disponible en France. Le traitement par LM-HC conduit à une amélioration du profil métabolique et immunitaire des patients IS en comparaison au traitement classique (8-11). Cette amélioration est en partie liée à une exposition totale moindre et une exposition circadienne plus physiologique. Elle pourrait cependant être aussi liée à une modification de métabolisme du cortisol.

Nous avons donc réalisé un stéroïdogramme urinaire à partir des échantillons issus du recueil urinaire des 24h réalisé au cours d'une étude prospective multicentrique en cross-over et double aveugle où des patients atteints d'IS périphérique auto-immunes ont reçu pendant 12 semaines un traitement par LI-HC ou LM-HC avec une dose journalière équivalente (ClinicalTrials.gov ID : NCT00915343) (9). L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du programme R (version 3.4.2). **J'ai co-encadré Johanna Mc Queen pour sa thèse de science** sur ce travail.

Cinquante patients (22 femmes, âge moyen 47 ans) et 124 témoins (73 femmes, âge moyen 48 ans) ont été inclus dans l'étude. Sous LI-HC en comparaison aux témoins, on observait une augmentation de la majorité des métabolites du cortisol et de la somme des principaux métabolites ou TCM (Total cortisol metabolites) ainsi qu'une augmentation de l'activité 11 β HSD1, 5 α -réductase et 5 β -réductase. Le traitement par LM-HC permettait de rétablir un profil proche des sujets contrôles. Après 12 semaines de traitement, les paramètres cliniques (poids, pression artérielle systolique et diastolique) étaient significativement diminués sous LM-HC en comparaison du LI-HC. Cependant, nous n'avons pas pu mettre en évidence

de corrélation entre les modifications métaboliques et les modifications des principaux métabolites du cortisol induites par le switch des traitements. L'excrétion des métabolites du cortisol et notamment le TCM était corrélé à la dose totale journalière d'HC et pour certains métabolites à l'aire sous la courbe du cortisol après prise.

La baisse des métabolites du cortisol ainsi que la baisse d'expression de la 11 β HSD1 témoigne d'une diminution d'exposition au cortisol chez les patients traités par LM-HC en comparaison au traitement par LI-HC. L'augmentation de l'activité 11 β HSD1, 5 α -réductase et 5 β -réductase est associée dans la littérature à un profil métabolique délétère (2,12,13). La diminution d'activité de ces enzymes en plus de la diminution de l'exposition au cortisol pourrait contribuer ainsi à l'amélioration métabolique observée chez les patients sous LM-HC. Une étude incluant un nombre plus large de patients permettrait de confirmer l'implication des modifications du métabolisme du cortisol dans l'amélioration métabolique sous LM-HC.

Enfin, cette étude montre que le stéroïdogramme urinaire avec l'étude des métabolites du cortisol constitue un marqueur facilement utilisable en routine pour l'évaluation de l'exposition au cortisol.

3) Biomarqueurs d'action du cortisol

Outre les dosages plasmatiques, urinaires, salivaires et capillaires du cortisol qui ne sont pas de bon reflet de l'action tissulaire du cortisol et en dehors du dosage des métabolites du cortisol dans les urines, il n'existe pas de BM d'exposition au cortisol et plus généralement aux GC. Afin de rechercher de nouveaux BM, le Pr. Johannsson a imaginé une série de 3 études chez des patients présentant une IS périphérique auto-immune. Ces patients qui n'ont plus aucune sécrétion endogène de cortisol sont un modèle intéressant d'étude des BM.

Ces 3 études visent à caractériser des BM d'exposition selon un modèle « on/off », « dose-réponse » et « rythme-réponse ». Durant mon post-doctorat, j'ai travaillé sur la deuxième et surtout la dernière étude.

a) Recherche de biomarqueurs selon un modèle « on-off »

Dix patients ont été sevrés en HC ou traités par une perfusion intraveineuse d'HC permettant de reproduire un rythme physiologique pendant 36h dans une étude en cross over et simple aveugle (BIOCORT, ClinicalTrials.gov ID : NCT02152553). Une étude de transcriptome, du miRnome et du métabolome a été réalisée chez ces patients permettant d'identifier des marqueurs d'expositions à l'aide d'une modélisation bio-informatique de réseaux d'interactions. Un interactome a été généré grâce aux 234 gènes différentiellement exprimés dans ce modèle « on/off ». Six miRNAs et 21 métabolites se sont révélés comme

d'intéressants potentiels biomarqueurs. Une analyse du protéome complétera cette première étude.

b) Recherche de BM selon le modèle « dose réponse »

Les potentiels BM seront d'autant plus intéressants qu'ils répondront d'un point de vue quantitatif à l'exposition au cortisol. L'étude est menée sous la forme d'une étude interventionnelle randomisée en cross-over et double aveugle comprenant deux périodes d'une semaine séparée par une période de wash-out de 2 à 5 semaines (DOSCORT, ClinicalTrials.gov ID: NCT03210545). Quatorze patients présentant une IS périphérique auto-immune sont en cours d'inclusion. La dexaméthasone est administrée par voie orale le matin avec soit une dose quotidienne de 0,75 mg (équivalent à 18,75 mg d'HC, soit une dose estimée physiologique), soit une dose quotidienne de 1,5 mg (équivalent à 37,5 mg d'HC, soit une dose supra physiologique) pendant 7 jours. Des prélèvements veineux et salivaires sont réalisés avant et 3h après la première et la dernière dose (à 8h et 11h) de chaque période de traitement. Durant les deux semaines de traitement, le patient porte un actimètre permettant d'enregistrer des informations cliniques concernant son activité, son sommeil et des paramètres cardiaques de base. D'un point de vue biologique, il est prévu une étude du transcriptome, du miRnome, du métabolome et du protéome comme pour la première étude. **J'ai co-encadré l'étudiante en thèse Johanna Mc Queen** pour la rédaction du protocole et l'optimisation des protocoles d'isolement des cellules mononuclées du sang périphérique (PBMC).

c) Recherche de marqueurs selon le modèle « réponse au rythme circadien »

En condition physiologique, la sécrétion de cortisol suit un rythme circadien avec une concentration maximale au petit matin et une diminution progressive au cours de la journée avec un nadir à minuit. Dans plusieurs situations physiopathologiques (cf. Partie I, I1), cette exposition est anormale d'un point de vue qualitatif. Les effets directs de l'exposition au cortisol à différents temps de la journée ont été peu étudiés. Cette troisième étude vise donc à étudier la réponse des BM en fonction du moment ou du profil d'exposition au cortisol.

J'ai élaboré le protocole pour cette troisième étude. L'étude sera menée sous la forme d'une étude interventionnelle sans aveugle avec une période randomisée en cross-over (CIMCORT). Durant une période de 8 jours de run-in, les patients seront exposés à un rythme circadien du cortisol physiologique grâce à une pompe sous-cutané délivrant en continue de l'HC à un débit adapté en fonction du temps. Dans un second temps, deux jours d'intervention randomisée en cross-over séparés de 5 jours de traitement selon les mêmes conditions que la période de run-in sont prévus. Le patient sera exposé à un bolus intraveineux d'hydrocortisone (0,25 mg/kg) permettant de reproduire un pic plasmatique de cortisol

équivalent à un stress (environ 1000 nmol/L en 30 minutes). Ce bolus sera réalisé soit le matin à 7h, soit le soir à 17h. Enfin, dans la dernière période du protocole, les patients seront exposés à un rythme non circadien du cortisol avec la même dose totale journalière délivrée par pompe sous-cutanée mais à débit constant sur 24h pendant 10 jours (Figure 3). Dix patients présentant une IS périphérique auto-immune seront inclus.

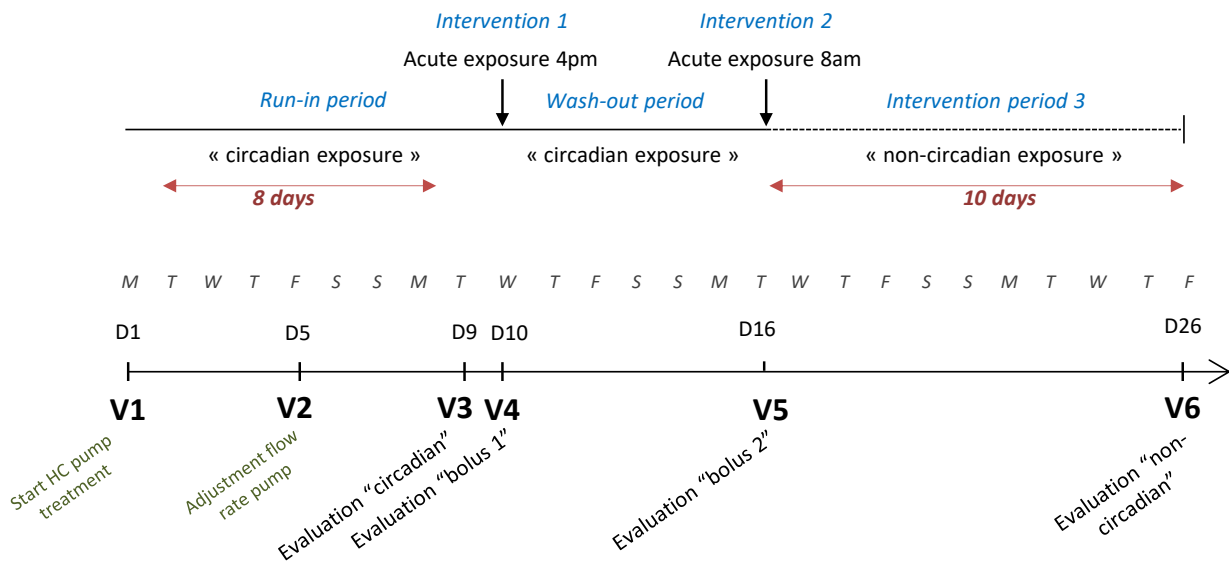


Figure 3 : Schéma du déroulement de l'étude CIMCORT

Les critères d'évaluation seront biologiques mais aussi cliniques. Des prélèvements veineux, salivaires et urinaires seront réalisés afin de préciser l'exposition et le profil pharmacodynamique du cortisol lors des différentes interventions et afin de rechercher/étudier les BM selon les mêmes modalités que les deux précédentes études (transcriptome, miRnome, métabolome et protéome). J'ai optimisé les protocoles d'extraction de l'ARN, microRNA, d'isolement des PBMC et de conservation du sérum et plasma afin de limiter l'échantillonnage sanguin à 600 mL total pour la totalité de ce protocole.

Par ailleurs la fonction immunitaire des patients sera étudiée au cours de cette étude. En effet, la fonction immunitaire suit aussi un rythme circadien et le cortisol influe celle-ci (14). Notamment, une altération de la fonction des cellules Natural Killer et une augmentation de la morbi-mortalité liée à des infections a été montrée chez les patients IS. Le traitement par LM-HC améliore ces paramètres (8). Pour cette étude, j'ai donc prévu la réalisation d'un immunophénotypage des PBMC des patients ce qui permettra d'étudier comment se modifient les différentes populations cellulaires en fonction des modalités d'exposition au cortisol. Afin d'aller plus loin, j'ai établi une collaboration avec de département de génomique clinique pour la réalisation d'un séquençage « single cell » afin d'étudier plus précisément les modifications d'expression de gène dans ces différentes conditions.

Finalement, les GC jouent un rôle important sur plusieurs aspects de la physiologie neuronale, notamment la régulation des fonctions de l'apprentissage et de la mémoire. Le rythme circadien du cortisol semble être un élément important de ce processus (15). Des IRM fonctionnelles cérébrales vont être réalisées le matin et l'après-midi au cours des différentes phases du protocole afin de déterminer comment les différentes modalités d'exposition au cortisol jouent sur ces mécanismes.

Actuellement, le protocole a été soumis aux différentes instances réglementaires (comité d'éthique, agence européenne du médicament). Le recrutement des patients était espéré pour fin 2020 afin de ne pas chevaucher avec l'étude DOSCORT mais la crise sanitaire engendrée par la pandémie de COVID-19 rend le calendrier difficilement prévisible.

Au total, ce triptyque d'études permettra dans les deux ans à venir de proposer de nouveaux BM d'exposition au cortisol potentiellement applicable à d'autres pathologies.

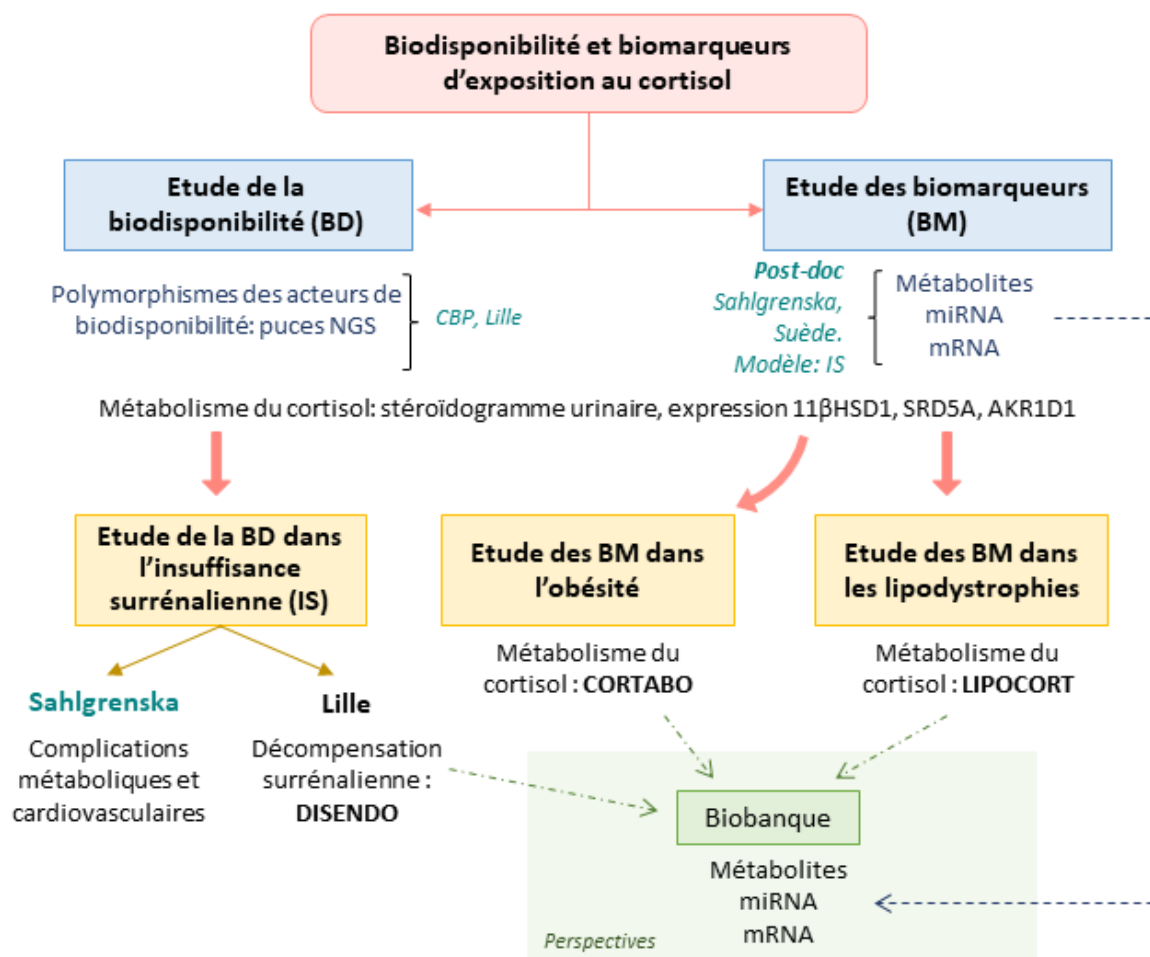


Figure 4 : Résumé des projets de recherche sur la biodisponibilité et les biomarqueurs du cortisol

II. PROJETS DE RECHERCHE

Ils sont résumés dans la figure 4.

1) Mise au point de nouveaux outils pour l'évaluation de la biodisponibilité du cortisol

a. Test de régénération de la cortisone en cortisol

L'évaluation de l'activité 11 β HSD1 par le stéroïdogramme urinaire (étude du ratio THF + 5 α THF/THE) est un outil intéressant car il est facile de réalisation et peu couteux mais il a des limites : des modifications de l'activité 11 β HSD2 peuvent contribuer à la modification du ratio et surtout, il ne permet pas de distinguer les activités 11 β HSD1 hépatique et adipocytaire qui peuvent être modifiées dans des sens contraires. Le test de régénération de la cortisone en cortisol permet d'étudier plus finement l'activité 11 β HSD1 hépatique voire l'activité adipocytaire. Le test consiste en l'administration per os de 25mg d'acétate de cortisone puis la mesure des concentrations plasmatiques de cortisol et de cortisone toutes les 20 minutes pendant 240 minutes (16,17). Chez des sujets sains, 1 mg de dexaméthasone est administré la veille pour freiner la production endogène de cortisol. Un cathéter peut être place en sous-cutané afin de réaliser des prélèvements de fluide interstitiel du tissu adipeux sous-cutané afin d'évaluer spécifique l'activité adipocytaire (CMA60, CMA Microdialysis) (18).

Je souhaiterais pouvoir mettre au point ce test à Lille en collaboration avec le Dr Héloïse Henry, pharmacienne au CHRU de Lille, et avec le Dr Amjad Ghulam, biologiste à Lille principalement impliqué dans le dosage des stéroïdes en spectrométrie de masse. Pour cela une bourse a été sollicitée auprès de l'académie de médecine pour réaliser une étude pilote chez 5 patients IS dans le cadre du projet DISENDO (cf. partie I, II.2.b).

b. Evaluation par NGS de polymorphismes génétiques pouvant influencer la biodisponibilité du cortisol

Des variations de gènes impliqués dans la BD du cortisol comme le GR, la CBG et la 11 β HSD1 ont été associées au syndrome métabolique, aux événements cardio-vasculaires et à l'altération du système immunitaire (19-21).

En collaboration avec le Dr Lucie Coppin et le Dr Marie-Françoise Odou, une puce NGS (Next Generation Sequencing) permettant d'évaluer les polymorphismes des gènes impliqués dans la BD du cortisol (*HSD11B1*, *HSD11B2*, *AKR1D1*, *SRD5A1*, *SRD5A2*, *SERPINA6*, *SERPINA1*, *NR3C1*, *NR3C2*, *NR5A1*, *H6PD*, *GLP1*, *NR5C1*) va être mise au point.

Ces outils permettront d'évaluer de manière plus complète les facteurs influençant la BD du cortisol dont le métabolisme du cortisol.

2) Etude de la biodisponibilité du cortisol dans l'insuffisance surrénalienne

a. Contexte scientifique :

Si le pronostic de l'IS a été drastiquement amélioré par les traitements substitutifs, les patients IS gardent une morbi-mortalité élevée liée aux complications métaboliques, cardiovasculaires et infectieuses (7) et aux décompensations surrénaliennes (DS).

Concernant l'augmentation du risque de développement de complications métaboliques et cardiovasculaires, plusieurs facteurs peuvent l'expliquer : l'exposition augmentée et non physiologique au cortisol (22), l'état inflammatoire chronique observé dans les maladies auto-immunes en général (23) et enfin l'inflammation engendrée par des infections itératives (24). Le rôle du microbiote intestinal serait aussi intéressant à considérer. En effet, une dysbiose a été observée dans différentes pathologies auto-immunes même si son rôle dans l'initiation, la maintenance ou la progression de la maladie n'est pas clair (25). Par ailleurs, une dysbiose est aussi observée dans l'obésité, le diabète de type 2 et l'athérosclérose et il existe plusieurs arguments issus d'études chez l'Homme et l'animal en faveur d'un rôle de cette dysbiose dans ces pathologies (26). Il est intéressant de noter que le microbiote intestinal est capable de métaboliser les GC (27) et participe par son interaction avec les cellules épithéliales intestinales au contrôle de la variation nyctéméral des corticostéroïdes chez la souris (28). Enfin, l'administration chronique de dexaméthasone altère le microbiote intestinal (29).

La DS est liée à un manque aigu de cortisol entraînant une altération de l'état de santé d'un patient associée à une hypotension artérielle résolutive après l'administration d'une dose de stress d'HC (30). C'est près d'un patient sur deux qui présentera au moins une DS avec une mortalité estimée à 0,5 pour 100 patients-années (31,32). En dehors de la mauvaise observance thérapeutique, les crises sont souvent déclenchées par un épisode infectieux intercurrent bien que des situations de stress plus modeste comme un exercice physique intense ou un stress psychologique sont rapportées comme facteurs déclenchants par environ 10% des patients (30). Dans environ 6 à 10% des cas, aucun facteur déclenchant n'est retrouvé (31-33). Outre la présence de co-morbidités, c'est principalement le fait d'avoir déjà fait plusieurs DS qui constituent le principal facteur de risque de DS (32), suggérant que des facteurs endogènes participent aux risques de décompensation.

En dehors des facteurs liés à l'absorption de l'HC après sa prise per os, d'autres facteurs impactent la BD de l'HC chez les patients IS (34). La présence du polymorphisme Bcl1 du GR a été associée chez des patients présentant une IS périphérique aux troubles de la régulation glycémique, à la dyslipidémie (35) et au surpoids (35,36). Dans une étude incluant 72 patients, une tendance à présenter plus de DS chez les patients porteurs du polymorphisme

Bcl1 par rapport aux non porteurs a été observée (37). Il a été montré une corrélation entre l'activité globale de la 11 β HSD1 et l'adiposité viscérale chez les patients atteints d'insuffisance corticotrope (38). L'implication potentielle des polymorphismes du gène *11BHS1* dans la survenue des complications de la supplémentation en HC au long cours a été suggérée par deux études montrant un indice de masse corporelle (IMC) plus élevé chez les patients porteurs des variants rs4844880 (36) et rs3753519 (39). Une baisse d'activité de la 11 β HSD1 peut au contraire diminuer l'effet des GC comme en témoignent plusieurs observations. Par exemple, un échec de traitement par cortisone lié à une baisse de l'activité de la 11 β HSD1 a été décrit chez un patient IS (40).

b. Projet de recherche

i. Risques cardio-vasculaires et métaboliques

Durant mon post-doctorat, j'ai participé au design d'une étude (ADCIS) qui sera menée à l'hôpital Sahlgrenska visant à étudier le risque cardiovasculaire et l'altération du système immunitaire dans une cohorte de 100 patients présentant une IS périphérique et 100 patients présentant une IS centrale en comparaison d'une population contrôle appariée pour l'âge et le sexe. Pour cette étude transversale où sera entre autres étudié la BD du cortisol par l'analyse du stéroïdogramme urinaire, j'ai proposé l'étude du microbiote intestinal et établie la collaboration avec le Pr. Fredrik Bäckhed (Department of Molecular and Clinical Medicine, Sahlgrenska University, Göteborg). Deux questions seront intéressantes à étudier : 1) Est-ce que le microbiote intestinal est modifié chez les patients IS ? ; 2) Est-ce que le microbiote intestinal participe à la BD du cortisol chez ces patients IS traités ; 3) Est-ce que l'éventuelle dysbiose pourrait participer à l'élévation du risque cardiovasculaire chez les patients ?

ii. Décompensations surrénaliennes

Afin de montrer que des variations des facteurs endogènes de BD du cortisol contribuent au risque de DS chez les patients IS, j'ai écrit un projet appelé DISENDO (Décompensation de l'IS: recherche de facteurs favorisant endogènes). Il s'agira d'une étude multicentrique prospective de cohorte évaluant la survenue des DS sur une période de 3 ans. L'objectif principal sera de rechercher si des polymorphismes des gènes impliqués dans la BD du cortisol contribuent au risque de décompensation. Les objectifs secondaires seront d'étudier l'activité 11 β HSD1 et la persistance d'une sécrétion résiduelle de GC à l'aide du stéroïdogramme urinaire réalisé de manière annuelle chez les patients. Le test de régénération du cortisol sera réalisé chez un sous-groupe de patients.

Au total, ces études permettront d'étudier le lien entre BD du cortisol et, d'une part, le risque de complications cardio-vasculaires et métaboliques et, d'autre part, le risque de DS chez les patients IS.

3) Etude des biomarqueurs d'exposition au cortisol dans l'obésité

a. Contexte scientifique

Si un excès franc de cortisol conduit à un syndrome de Cushing associant obésité, insulino-résistance et stéatose hépatique, des anomalies plus fines du métabolisme du cortisol sont observées chez le patient atteint d'obésité. De nombreuses études ont analysé le cortisol plasmatique, salivaire, urinaire ou même capillaire dans des cohortes de patients obèses mais les résultats sont globalement discordants (41).

De manière plus constante, une altération du métabolisme du cortisol est mise en évidence chez le patient obèse. L'expression et l'activité de la 11 β HSD1 sont élevées dans le tissu adipeux sous-cutané et viscéral en comparaison à des sujets contrôles (42-45). La production splanchnique de cortisol est ainsi augmentée constituant une « maladie de Cushing de l'omentum » (46). Au niveau hépatique, si l'expression de la 11 β HSD1 est similaire aux sujets non obèses (47), son activité est diminuée en cas d'obésité (43,48). L'implication de la 11 β HSD1 dans la pathogénie de l'obésité, du diabète de type 2 et du syndrome métabolique a été montrée par plusieurs modèles animaux et chez l'Homme (2). L'expression de la 11 β HSD1 est plus élevée dans le tissu adipeux viscéral chez les patients obèses présentant un syndrome métabolique par rapport aux autres (49,50). Son expression au niveau du tissu adipeux est corrélée positivement à différents paramètres métaboliques comme l'index HOMA-IR (44), la glycémie à jeun (51), le taux d'ASAT et d'ALAT (51,52) et l'IMC (42,43,53). Son expression hépatique a été corrélée négativement à l'IMC (51,52). Ces observations ont conduit à plusieurs essais thérapeutiques avec des inhibiteurs des 11 β HSD1 dans différentes pathologies métaboliques mais les résultats sont assez inconstants (54) suggérant d'autres mécanismes impliqués. Après perte de poids obtenue par modification des règles hygiéno-diététiques, aucune modification de l'expression ni de l'activité de la 11 β HSD1 n'a pu être observée au niveau du tissu adipeux (44,55). Au contraire, après chirurgie bariatrique, notamment après bypass gastrique (BG) une diminution de son expression adipocytaire est observée, maximale 1 an après la chirurgie (42,47,56,57). Son activité au niveau du tissu adipeux sous cutané diminue de manière concordante (57). Au niveau hépatique, son expression n'est pas modifiée après BG (47) alors que son activité augmente (57) suggérant la modulation de son activité par d'autres facteurs.

L'activité 5 α -réductase (SRD5A1 et SRD5A2) a été aussi étudiée chez le patient obèse. Son expression hépatique est positivement corrélée avec l'insulinémie à jeun et inversement corrélée avec les transaminases hépatiques (52). De plus, son activité semble élevée (43,48) et corrélée aux marqueurs d'insulinorésistance (58). L'inactivation de la 5 α -réductase type 1 chez la souris, l'isoforme majoritaire, entraîne une IS relative (59) et prédispose au développement d'une insulino-résistance et d'une stéatose hépatique (60,61). Après BG, on observe une diminution de l'excrétion du 5 α -THF suggérant la diminution de l'activité de la 5 α -réductase (57).

L'activité de la 5 β -réductase (AKR1D1) n'a jamais été étudiée spécifiquement chez le patient obèse. Des données chez l'homme lui suggèrent un rôle dans le diabète de type 2 (62) et la stéatose hépatique (13,16,63). *In vitro*, dans des lignées humaines d'hépatocytes, l'inactivation de *AKR1D1* semble plutôt délétère sur le métabolisme lipidique, glucidique et les paramètres inflammatoires (63). Après chirurgie bariatrique, il semblerait y avoir une baisse d'activité de la 5 β -réductase (57) qu'il serait aussi intéressante d'étayer.

b. Projet de recherche

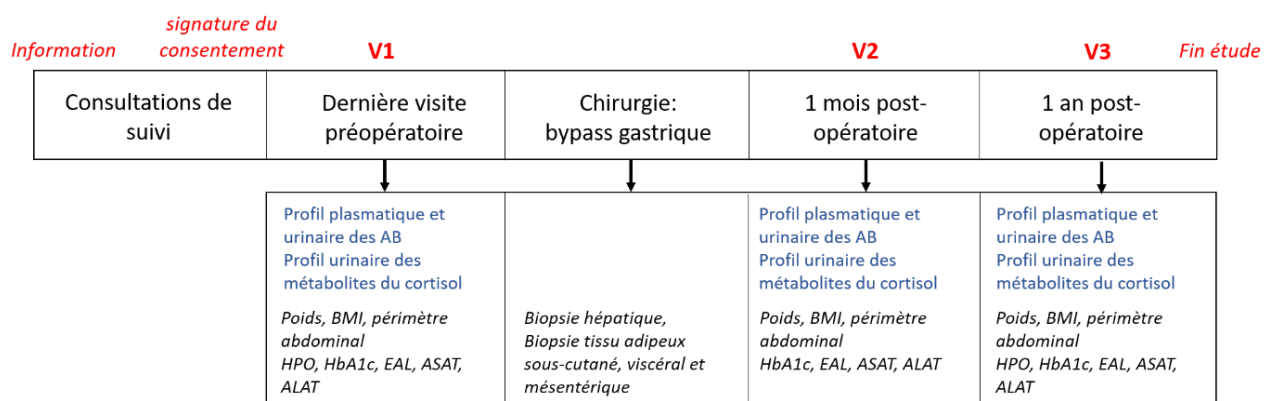
i. Un lien entre métabolisme du cortisol et complications métaboliques de l'obésité ?

Le dosage du cortisol libre urinaire (CLU) est réalisé systématiquement dans le bilan préopératoire des patients obèses adressés pour chirurgie bariatrique au CHR-U de Lille. La majorité des patients opérés à Lille sont inclus dans l'étude ABOS (Atlas Biologique de l'Obésité sévère). Il s'agit d'une étude longitudinale (ClinicalTrials.gov : NCT01129297) débutée en 2006 au CHRU de Lille ayant pour but de réaliser une collection d'échantillons biologiques destinée à la recherche sur l'obésité et/ou le diabète (5). Dans le cadre de cette étude, de nombreuses données cliniques et biologiques sont recueillies et une collection biologique de tissus adipeux et hépatique prélevés au moment de la chirurgie est réalisée. Les données du transcriptome hépatique de 919 patients sont déjà disponibles.

Léa Bouttement dans le cadre de sa thèse de médecine va étudier le lien entre CLU, expression des enzymes du métabolisme du cortisol et syndrome métabolique. L'objectif de sa thèse est de confirmer que les patients présentant un syndrome métabolique ont un CLU plus élevé que ceux qui ne présente pas de syndrome métabolique (49) et de comparer l'évolution métabolique post-opératoire des patients en fonction du CLU et de l'expression des enzymes impliquées dans le métabolisme du cortisol à partir des données du transcriptome hépatique. Seuls les CLU dosés par méthode RIA (Beckman Coulter ®) après extraction sont recueillis rétrospectivement (données non incluses dans ABOS). Les données préliminaires sur

56 patients ne retrouvent pas de différences significatives du CLU chez les patients présentant un syndrome métabolique par rapport à ceux n'en présentant pas. Les premières données de l'analyse du transcriptome montrent que l'expression hépatique de *AKR1D1*, *SRD5A1* et *HSD11B1* est plus faible chez les patients présentant un BMI>45 par rapport aux autres. De manière intéressante, il existe une corrélation positive entre l'expression de *SRD5A1* ou de *AKR1D1* et les transaminases hépatiques, le % de stéatose hépatique, le score de fibrose Metavir, l'HOMA-IR et l'HbA1c suggérant un rôle de ces enzymes dans la survenue de la stéatose hépatique et des troubles de la tolérance glucidique chez le sujet obèse.

Afin de confirmer la modification du métabolisme du cortisol après gastrique bypass (18) et aller plus loin par la recherche de corrélation entre d'un côté l'activité des enzymes et leurs métabolites et de l'autre les paramètres métaboliques clinico-biologiques, j'ai élaboré l'étude CORTABO (Etude du lien entre le métabolisme du cortisol et des AB chez des patients obèses avant et après chirurgie bariatrique) pour laquelle j'ai obtenu un financement (Figure 5). Dans cette étude monocentrique prospective de cohorte qui constitue une étude ancillaire d'ABOS est prévue le dosage du stéroïdogramme urinaire chez 30 femmes avant, à 1 mois et 1 an de la chirurgie ainsi que la réalisation du transcriptome hépatique et du tissu adipeux sous-cutané et viscéral à partir des tissus prélevés pendant la chirurgie. L'activité des enzymes pourra être notamment comparé à leur expression tissulaire. Le début de l'étude est prévu en Septembre 2020. **Hippolyte Dupuis (master 2) et Omolara Khadijat Tijani (thèse de science)** réaliseront le dosage du stéroïdogramme urinaire et les analyses avant et à 1 mois de la chirurgie bariatrique.



Exploration réalisée dans le cadre du protocole CORTABO
 Exploration réalisée dans le cadre du protocole ABBOS

Figure 5 : Schéma de déroulement de l'étude CORTABO

4) Etude des biomarqueurs d'exposition au cortisol dans les lipodystrophies

a. Contexte scientifique

Les lipodystrophies congénitales sont un groupe de pathologies rares et assez hétérogènes caractérisées par une répartition aberrante du tissu adipeux blanc pouvant être partielle ou généralisée. Elles se compliquent d'un syndrome d'insulino-résistance majeure avec hyperandrogénie, développement d'un diabète de type 2, d'une hypertriglycéridémie et d'une stéatose hépatique. L'atteinte cardiaque est fréquente.

Les laminopathies sont un groupe hétérogène de maladies liée à une mutation du gène *LMNA* codant pour la lamine A/C, une protéine nucléaire impliquée dans l'organisation structurale de la chromatine. La lipodystrophie familiale partielle de type 2 (LFP2 ; Omim 151660) ou syndrome de Dunningan est une laminopathie constituant la forme la plus fréquente de lipodystrophie congénitale avec une incidence estimée à 1/15 millions de personnes. Elle est caractérisée par une disparition du tissu adipeux des membres à partir de la puberté avec accumulation de graisse au niveau du visage, du cou et du tronc. La présentation clinique peut ainsi évoquer un hypercortisolisme mais au contraire du syndrome de Cushing, on observe une pseudo-hypertrophie des muscles des membres liée à la lipoatrophie. A l'imagerie, il existe une augmentation du tissu adipeux viscéral et une atrophie du tissu adipeux sous-cutané (64). Il existe des corrélations génotype-phénotype : la mutation hot-spot R482W ou les autres mutations affectant ce codon conduisent plus fréquemment à un trouble de la tolérance glucidique (>80%) que les autres mutations qui, au contraire, sont plus souvent responsables d'arythmie cardiaque (65).

Il existe d'autres causes de lipodystrophie congénitales ou acquises. Parmi les lipodystrophies acquises, les patients atteints de HIV peuvent développer des lipodystrophies associées à un syndrome métabolique avec hypertriglycéridémie et insulino-résistance. Ces formes de lipodystrophie sont principalement associées à l'utilisation des traitements antirétroviraux mais ont été également associées au déficit immunitaire.

Malgré les similarités cliniques entre la LFP2 et le syndrome de Cushing, l'évaluation standard du bilan glucocorticoïde ne montre pas d'anomalies (66). Cependant, cela n'exclue pas chez ces patients une anomalie du métabolisme du cortisol comme observé chez le sujet obèse. Dans les lipodystrophies induite par les thérapies antirétrovirales du HIV une élévation de l'expression de la 11 β HSD1 dans le tissu adipeux sous-cutané et une augmentation du ratio des métabolites du cortisol/métabolites de la cortisone ont été observées (67,68). L'expression adipocytaire de la 11 β HSD1 était corrélée dans une étude à plusieurs paramètres de l'insulino-résistance (67).

b. Projet de recherche

Afin de rechercher des anomalies du métabolisme du cortisol dans la LFP2 et étudier leur rôle éventuel, j'ai élaboré l'étude transversale LIPOCORT pour laquelle j'ai obtenu un financement. L'objectif principal est de comparer l'activité de la 11 β HSD1 chez les patients atteints de LFP2 par mutation du codon R482 du gène LMNA par rapport à un groupe contrôle. Les objectifs secondaires sont d'étudier l'expression de la 11 β HSD1 au niveau du tissu adipeux ainsi que l'excrétion urinaire des métabolites du cortisol chez les patients par rapport à un groupe contrôle et de corrélérer l'expression et l'activité de la 11 β HSD1 aux paramètres métaboliques des patients. Les données du groupe contrôle seront celles issues de l'étude STEROTEM (2013-A01632-43) pour le stéroïdogramme. Cette étude inclut 60 patients témoins, 30 hommes et 30 femmes qui ont bénéficié d'une évaluation complète du bilan surrénalien. Les données du groupe contrôle du PHRC IL-7 (ClinicalTrials.gov ID: NCT01784289) seront utilisées pour les biopsies du tissu adipeux. Le projet est en cours de traitement à la DRI. **Je prévois l'encadrement d'un nouveau master 2 pour l'année 2021-2022 pour cette étude.**

Au total, l'obésité et les lipodystrophies sont deux modèles cliniques intéressants pour l'étude du métabolisme du cortisol. Les études CORTABO et LIPOCORT permettront d'étudier dans ces pathologies le métabolisme du cortisol et son lien avec les complications métaboliques.

III. ORIGINALITE, BENEFICES ATTENDUS ET PERSPECTIVES

L'ensemble de ces études permettront de mieux décrire l'altération de l'exposition au cortisol dans différentes pathologies, IS, obésité et lipodystrophie, et mieux comprendre sa place dans la survenue des complications métaboliques et cardio-vasculaires de ces pathologies. Par ailleurs, l'étude DISENDO pourrait permettre d'améliorer la prise en charge des patients IS en adaptant de manière personnalisée leur substitution en HC en fonction de leur sensibilité aux GC ainsi qu'en proposant une éducation personnalisée pour les patients les plus à risque de DS. L'étude CORTABO ouvre des pistes intéressantes de recherche sur le rôle de SRD5A1 et AKR1D1 dans la stéatose hépatique non alcoolique et le diabète de type 2 avec potentiellement des débouchées sur le plan thérapeutique.

En collaboration avec l'équipe du Pr Johannsson à l'université Sahlgrenska, nous sommes donc en train de développer des outils pour l'étude de la BD et de l'exposition aux GC. Les perspectives de ce travail seront d'étudier les BM mis en évidence par les travaux du Pr Johannsson dans le modèle de l'obésité et des lipodystrophies grâce à la réalisation d'une biobanque lors des études CORTABO et LIPOCORT. En discussion avec le Pr Bertherat, ces

marqueurs pourraient être aussi rapidement testés chez des patients atteints d'une maladie de Cushing dans le cadre de l'étude COMPLICUSHING (ClinicalTrials.gov : NCT02568982), étude visant à étudier les complications métaboliques, cardiovasculaires et osseuses dans la maladie de Cushing.

Cela nous permettrait d'obtenir des résultats préliminaires qui pourraient permettre à plus long terme de postuler à un financement de type ERC en collaboration avec ces deux équipes (INSERM U1190 - Lille ; U1016 - Paris, Sahlgrenska University, équipe du Pr Johannsson, - Suède) dans un vaste projet de caractérisation des effets tissulaires du cortisol et de leurs conséquences en conditions pathologiques.

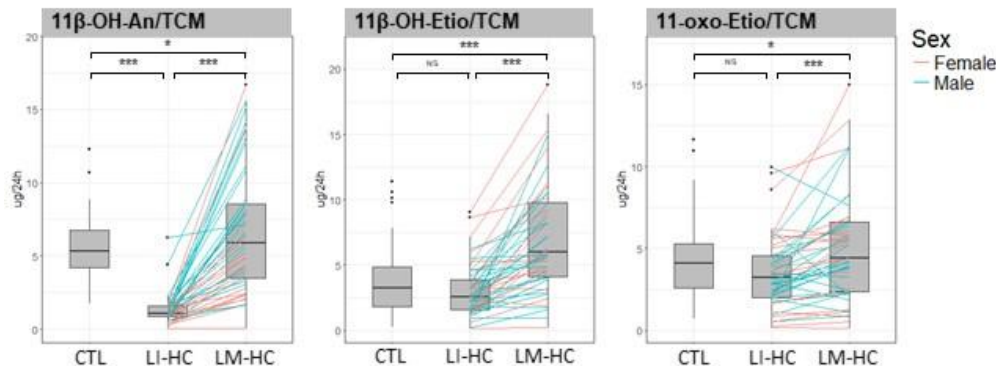
Enfin, en dehors de ces pathologies endocriniennes (IS, syndrome de Cushing, obésité et lipodystrophie, les outils développés dans ce projet pourraient être applicables à l'étude des effets secondaires des corticothérapies.

PARTIE 2 : ACIDES BILIAIRES, DES REGULATEURS DU METABOLISME DU CORTISOL ?

I. RESUME DES TRAVAUX ANTERIEURS

Dans le travail sur les métabolites du cortisol chez les patients IS traités par LI-HC ou LM-HC, j'ai pu observer une augmentation significative des 19-cétostéroïdes oxygénés en 11 (11-oxy-C19-stéroïdes : 11 β -OH-androstérone, 11- β -OH-étiocholanolone et 11-oxo-étiocholanolone) sous LM-HC par rapport au groupe contrôle ou au traitement par LI-HC (Figure 6).

La 11 β -OH-androstérone dérive pour sa majeure partie de l'androstènedione et pour une faible partie du 5 α -THF (69). La production d'androstérone étant à la fois surrénalienne et gonadique et la production d'androgènes surrénaliens étant aussi altérée chez les patients IS, les taux de 11 β -OH-androstérone sont effondrés chez les patients traités par LI-HC par rapport aux témoins. L'augmentation de ces métabolites sous LM-HS suggère donc qu'une partie de la LM-HC est métabolisée en 11 β -OH-androstérone. Ainsi, l'augmentation de l'excrétion des 11-oxy-C19-stéroïdes est en faveur d'une activation de l'enzyme clivant la chaîne latérale des stéroïdes. L'identité de l'enzyme réalisant cette réaction n'est pas connue (69).



Figures 6 : modification des 19-cétostéroïdes oxygénés en 11

Comparaison CTL vs patients : p-value ajustée pour le sexe, le poids et l'âge
Comparaison LI-HC vs LM-HC : p-value ajustée pour la période de traitement
Les lignes bleues et roses entre LI-HC et LM-HC représentent les modifications individuelles des métabolites et des ratios pour les hommes et les femmes respectivement
* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; NS : non significatif

De manière intéressante, le microbiote est capable *in vitro* de métaboliser le cortisol en 19 cétostéroïdes (70). En condition physiologique, le rôle du microbiote intestinal est mineur car seul une faible portion du cortisol est excrétée dans la bile et entre en contact avec le microbiote digestif (69). Cependant, l'absorption de la couche à libération prolongée de la LM-HC est plus distale, au niveau de l'intestin grêle, avec un temps de rétention intestinal plus

important que l'absorption de la LI-HC (71,72). L'hypothèse est ainsi que les facteurs gastro-intestinaux participent à la modification du métabolisme du cortisol observée avec la LI-HC. Il a été montré que l'exposition à l'HC classique évaluée par l'AUC plasmatique augmente d'environ 30% après prise d'HC après le repas en raison d'une augmentation du temps de dissolution du médicament et des concentrations plus élevées d'AB favorisant la dissolution des particules solides d'HC dans l'intestin grêle (71).

Ces observations suggèrent donc que les AB (et le microbiote intestinal) pourraient influencer le métabolisme du cortisol de manière mineure en condition physiologique et de façon plus significative en condition pathologique.

Par ailleurs, se pose la question d'un rôle direct ou indirect des 11-oxy-C19-stéroïdes dans l'amélioration métabolique observée chez les patients. En effet, dans l'étude chez les patients traités par LM-HC ou LI-HC, aucun métabolite n'était associé aux modifications métaboliques observées sous LM-HC (amélioration de la pression artérielle et du BMI) hormis l'excrétion de la 11- β -OH-étiocholanolone et de la 11-oxo-étiocholanolone.

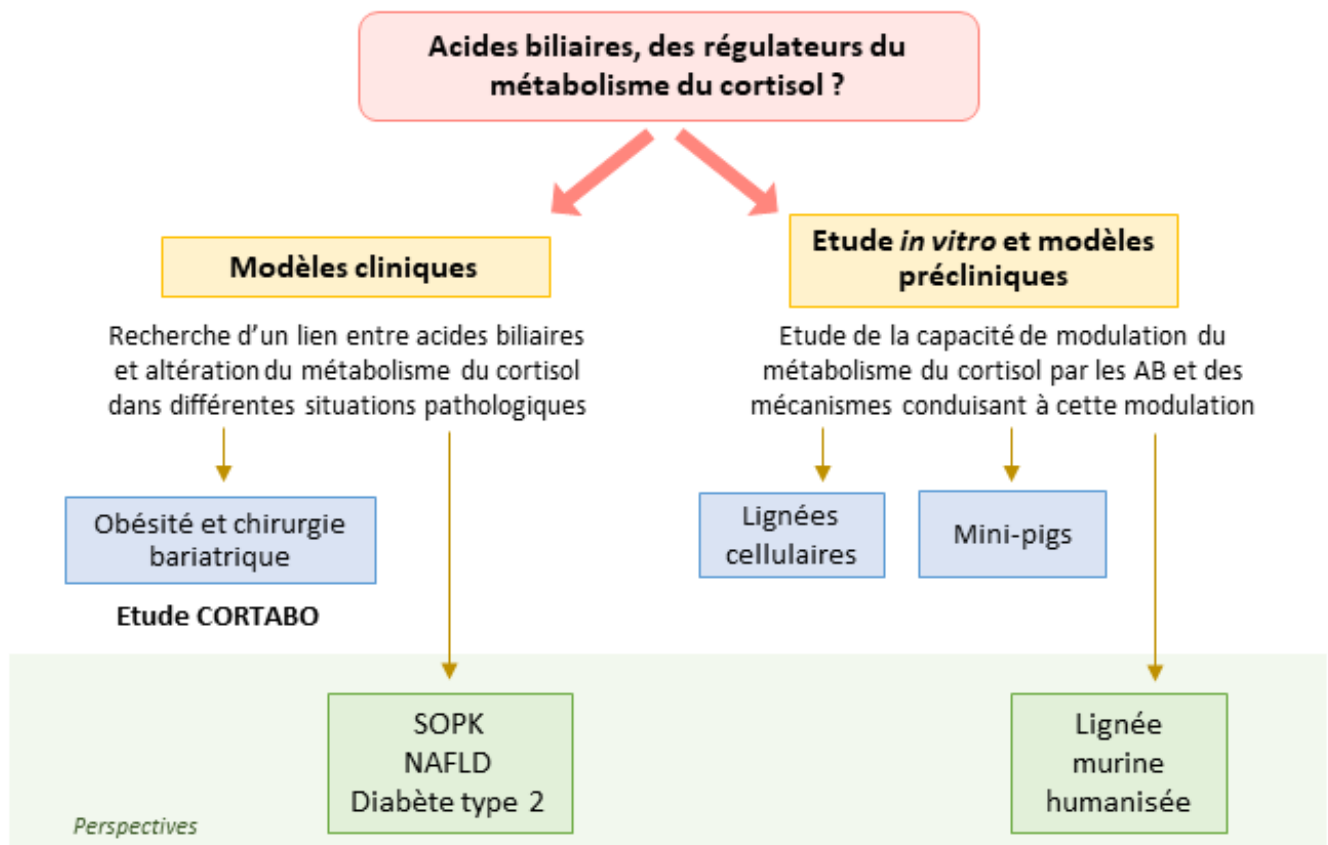


Figure 7 : Résumé des projets de recherche sur lien entre AB et métabolisme du cortisol

II. PROJETS DE RECHERCHE

Ils sont résumés dans la figure 7.

1) Contexte scientifique

a. Un lien entre acides biliaires et cortisol

Les AB sont des molécules stéroïdiennes synthétisées dans les hépatocytes péri-veineux à partir du cholestérol. La voie classique de synthèse des AB produit la majorité du pool des AB et est initiée par l'enzyme cytochrome (CYP) CYP7A1 (Figure 8). L'autre fraction des AB est synthétisée par une voie alternative initiée par la CYP27A1 (73). Les AB sont conjugués à la glycine, la taurine ou encore à des sulfates ou à l'acide glucuronique. La bile contenant les AB est sécrétée depuis le foie vers la vésicule biliaire où elle est stockée et concentrée. Au moment des repas, elle est libérée au niveau du duodénum et transite jusqu'aux intestins où sa fonction principale est l'activation des lipases pancréatiques et la formation des micelles contenant les graisses alimentaires et les vitamines lipophiles. Les AB sont ensuite déconjugués et transformés en AB secondaires par le microbiote intestinal. 95% de ces AB seront réabsorbés dans l'iléum distal. Les 5% restant seront réabsorbés passivement par le colon après leur déconjugaison par le microbiote intestinal ou seront perdus dans les fèces. Les AB réabsorbés retournent pour la majorité vers le foie où ils sont recyclés vers la bile. Une petite partie échappe à la recapture hépatique et circule au niveau plasmatique liée à des protéines de transport comme l'albumine ou les lipoprotéines. C'est cette partie des AB qui est maintenant considérée comme hormones car elle exerce des fonctions sur les tissus périphériques. Pour exercer leur action, les AB se lient à des récepteurs dont les principaux sont le récepteur nucléaire farnésoid X receptor (FXR) et le récepteur aux AB couplé à la protéine G, TGR5 (73,74). Les AB dont le C4, un précurseur, peuvent être mesurés au niveau plasmatique et urinaire par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse permettant la réalisation d'un profil complet des AB comprenant les 21 espèces.

Il est intéressant de constater que le cortisol et les AB présentent des similarités telles qu'être des hormones stéroïdiennes synthétisées à partir d'un précurseur commun, le cholestérol. L'AKR1D1 et AKR1C4 (Aldo-Keto Reductase Family 1, Membre C4) sont des enzymes impliquées à la fois dans la synthèse des AB et la dégradation du cortisol (75). La CYP3A4 participe à la fois à l'hydroxylation et l'élimination des AB et du cortisol (76) qui sont par ailleurs conjugués par des sulfo-transférases et des UDP-glucuronosyltransférases communes (73,77,78).

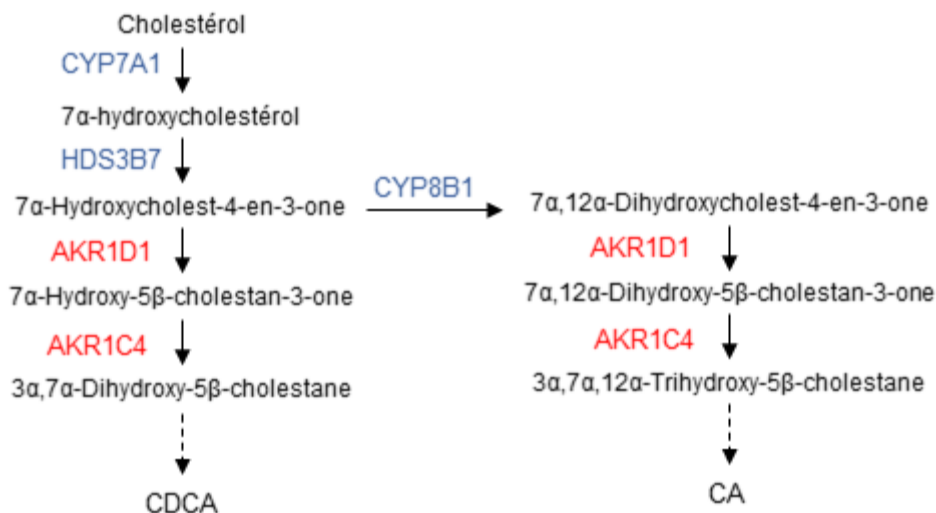


Figure 8 : Voie de synthèse classique des acides biliaires

En rouge les enzymes communes au métabolisme hépatique du cortisol

Devant le constat d'une rémission de l'arthrite rhumatoïde de patients atteints de cholestase obstructive, un lien entre cortisol et AB avait été évoqué avant même l'isolement du cortisol (79). A côté du parallélisme entre les voies métaboliques du cortisol et des AB évoqué ci-dessus, plusieurs études suggèrent que les AB interfèrent avec le métabolisme du cortisol. Chez les patients atteints de cholestase hépatique, une baisse de l'activité AKR1D1 et CYP3A4 (80,81) et une augmentation de l'activité 11βHSD1 (82) sont observées. *In vitro*, et chez l'animal il a été confirmé que les AB diminuaient l'activité de AKR1D1 (80). Chez les patients hospitalisés en réanimation, il a été observé une diminution de la clairance du cortisol liée à une augmentation de l'activité 11βHSD1 (malgré une diminution de son expression hépatique et adipocytaire) et à une diminution de l'expression et de l'activité SRD5A et AKR1D1 au niveau hépatique. La modification d'activité de ces enzymes étaient corrélées à l'augmentation du pool total d'AB observés chez ces patients (83).

De manière intéressante, le cortisol semble aussi interférer avec le métabolisme des AB. Chez le rat, il a été montré qu'un traitement par GC augmentait le cycle entéro-hépatique des AB et diminuait leur synthèse en diminuant l'expression de Cyp7A1 (84). L'inactivation chez la souris de la 11βHSD1 conduit à une augmentation du pool d'AB non conjugués *via* la modulation de FATP5 (fatty acid transport protein-5), un transporteur des acides gras qui participe aussi à la conjugaison des AB, et cela de manière indépendante du GR. Chez ces souris, une diminution de l'expression de *SRD5A1* était observée alors que l'expression de *AKR1D1* restait normale (85).

Enfin, quelques données sont en faveur d'un rôle des AB sur la synthèse du cortisol. Le récepteur FXR est fortement exprimé dans le foie mais aussi dans la glande surrénale (86)

bien que son rôle dans cette dernière reste peu connu. Chez la souris, en condition physiologique, l'activité surrénalienne de FXR est faible mais l'activation du récepteur par un agoniste synthétique (GW4064) conduit à une augmentation de la synthèse de la corticostérone (équivalent du cortisol chez la souris). Cette hypercorticostéronémie résulte d'une captation du cholestérol accrue liée à l'augmentation de l'expression de SR-BI (scavenger receptor class B type 1) (87). De plus, l'activation de FXR induit l'expression des OST (Organic solute transporter) alpha et beta au niveau surrénalien (87-89) facilitant ainsi le transport d'AB conjugués au niveau de la surrénale et l'exportation de composés intermédiaires stéroïdiens conjugués (89). L'activation de FXR induit aussi l'expression de la HSD3B2 (3 β -hydroxy-stéroïde déshydrogénase de type 2) (89). Chez la souris, l'induction d'une cholestase stimule la stéroïdogénèse *via* la voie de signalisation S1PR2 (Sphingosine-1-Phosphate Receptor 2), un autre récepteur des AB exprimé dans la glande surrénale.

b. Modification des acides biliaires chez l'obèse et après chirurgie bariatrique

Chez le patient obèse, la concentration des AB totaux est augmentée et cette augmentation est corrélée avec l'IMC (90,91) et l'HOMA-IR (91). Après BG et de manière plus modeste après sleeve gastrectomie, il est observé une augmentation de la concentration plasmatique des AB et une modification de leur composition. Cette augmentation est modeste les premières semaines mais se majore progressivement pour être plus importante plusieurs mois après la chirurgie (78,92). Elle n'est pas corrélée à la perte de poids induite par la chirurgie (93). Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer cette augmentation. Il est suggéré qu'elle pourrait être la conséquence d'une accélération du flux de nutriments au niveau de l'iléon, d'une altération du microbiote intestinal (92), d'une augmentation de la synthèse des AB ou d'une baisse de leur recapture hépatique (78).

Les modifications des AB pourraient contribuer à l'amélioration métabolique des patients après chirurgie bariatrique. Les patients présentant une rémission de leur diabète de type 2 sont les patients ayant les concentrations d'AB les plus élevées (94). Chez la souris, la création d'une dérivation biliaire vers le petit intestin conduit à une perte de poids et à une amélioration du métabolisme glucidique et de la stéatose hépatique (92). La modification des AB pourrait contribuer à l'amélioration métabolique par plusieurs mécanismes : 1) par une augmentation de l'hormone thyroïdienne active dans le tissu brun adipeux *via* la fixation des AB sur le récepteur TGR5 contribuant ainsi à une augmentation de la dépense énergétique (95) ; 2) par une augmentation de la sécrétion du PYY (peptide YY) ou du GLP-1 (Glucagon like Peptide-1) dont la concentration est corrélée avec celle des AB après BG (96,97) mais la cinétique d'augmentation, beaucoup plus précoce pour le GLP-1 et du PYY, est contre un lien

de causalité (96); 3) par l'augmentation de la sécrétion entérale de FGF19 (Fibroblast growth factor 19) contribuant à l'homéostasie glucidique (94) ; 4) par une modification du microbiote intestinal (98); 5) par une action des AB via TGR5 au niveau hypothalamique sur la prise alimentaire et la balance énergétique (99).

2) Etude translationnelle sur le modèle de l'obésité et la chirurgie bariatrique

a. Hypothèses et objectifs

Les données de la littérature (cf. partie I II.3) sont en faveur d'une augmentation de l'activité hépatique de la 11 β HSD1 et d'une diminution de l'activité SRD5A et AKR1D1 après chirurgie bariatrique chez le patient souffrant d'obésité. Des études *in vitro* et chez l'animal ont montré que les AB peuvent inhiber l'activité de AKR1D1 et induire l'activité de la 11 β HSD1. Les AB augmentant après chirurgie bariatrique, une des autres hypothèses de travail de l'étude CORTABO est que les modifications du métabolisme du cortisol et des AB après chirurgie sont liées (Figure 9).

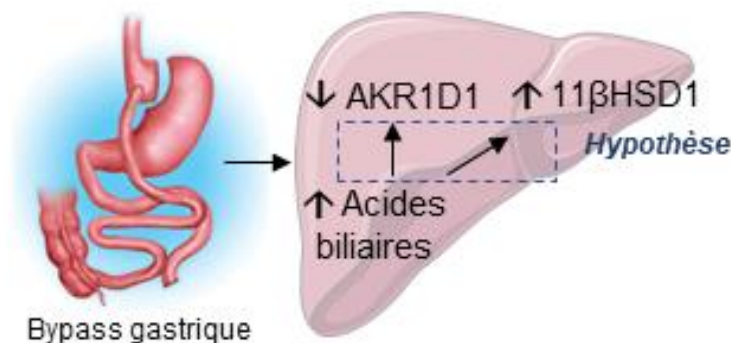


Figure 9 : Hypothèse d'un lien entre les modifications des AB et de l'activité des enzymes du métabolisme de cortisol

Ainsi la corrélation entre la modification des AB plasmatiques et la modification des métabolites urinaires de cortisol 1 mois et 1 an après la chirurgie bariatrique sera étudiée. On regardera alors spécifiquement si certaine modification qualitative ou quantitative du pool d'AB est corrélée à la modification de certains métabolites du cortisol en particulier les 19-cétostéroïdes oxygénés en 11 et à l'activité SRD5A, AKR1D1 et 11 β HSD1. **Omolara Khadijat Tijani (thèse de science) et Hippolyte Dupuis (master 2)** travailleront sur la corrélation entre AB et métabolites du cortisol.

3) Etude préclinique et modèles cellulaires

A côté de cette étude clinique, le lien entre métabolisme du cortisol et AB sera étayé à l'aide de modèles cellulaires et animaux. **Omolara Khadijat Tijani réalisera ce travail dans le cadre de sa thèse de science.**

Etude dans les lignées cellulaires :

- Choix de deux lignées cellulaires hépatiques humaines (IHH, HepaRG, HuH7, HepG2) dont le métabolisme du cortisol (dosage des métabolites dans le médium, étude de l'expression de *AKR1D1*, *SRD5A*, *11BHS1*) et la production d'AB seront les plus proches de lignées primaires hépatocytaires. A noter que la 11 β HSD1 n'est pas active dans les lignées humaines HepG2 et Huh7.
- Screening de la capacité d'inhibition et d'activation des activités AKR1D1 et SRD5A1/2 +/- 11 β HSD1 par un panel de composés biliaires (acide cholique, acide chénodésoxycholique, acide linoléique, acide dichloroacétique) dans les lignées d'hépatocytes sélectionnées.
- Etude des voies moléculaires impliquées dans la modulation du métabolisme hépatique du cortisol par les AB en ciblant les deux principaux récepteurs des AB, FXR et TGR5, par utilisation d'agoniste de ces récepteurs (GW4064 et INT-777 respectivement) ou inhibition par interférence de l'ARN.
- Etude des conséquences *in vitro* de l'inhibition de *SRD5A1* par siRNA dans des lignées hépatiques humaines sur : 1) l'expression de gènes impliqués dans le métabolisme glucidique, lipidique et l'inflammation (réalisation d'un RNAseq dans l'idéal) ; 2) la synthèse des AB ; 3) la clairance du cortisol. A noter que cette étude a déjà été réalisée pour AKR1D1 (63).

Modèles précliniques, le mini-pig :

- Caractérisation du métabolisme du cortisol chez le mini-pig.
- Etude de l'effet de l'un traitement par AB (acide cholique et acide chénodésoxycholique) ou de chélateur des AB (cholestyramine) sur le métabolisme du cortisol.
- Etude de la modification du métabolisme du cortisol et des AB après chirurgie bariatrique.
- Ce travail se fera avec l'aide de Thomas Hubert vétérinaire dans l'équipe du Pr Pattou. Le mini-pig est en effet un bon modèle de chirurgie bariatrique fréquemment utilisé par l'équipe du Pr Pattou (100), contrairement à la souris où la chirurgie est techniquement

difficile. Ce modèle permettra donc d'étudier plus finement les mécanismes via lesquels la chirurgie modifie le métabolisme du cortisol.

Modèle précliniques, la souris :

- Les espèces d'AB étant différentes entre les hommes, les cochons et les souris (101), l'équipe du Pr Staels dispose d'une colonie de souris (C57BL/6J) produisant un pool d'AB similaire à l'Homme par l'inactivation de la CYP2c70, enzyme conduisant à la production d'acide β -muricholique, espèce non observée chez l'homme (102).
- A noter que la souris, n'exprimant pas la 17-OH-hydroxylase, ne produit pas de cortisol mais de la corticostérone (composé B). Celle-ci est transformée en 11-déhydrocorticostérone (composé A) par la 11 β HSD2. Le composé B et A sont réduits au niveau du foie en 5 β -TétrahydroB, 5 α -TétrahydroA et 5 β -TétrahydroA par les enzymes SRD5A1 et AKR1D1. Ces métabolites sont aussi mesurables dans les urines.
- Sera ainsi étudier le métabolisme de la corticostérone chez ces souris après exposition à un régime normal ou riche en graisse afin d'induire une obésité, puis à un traitement par AB (acide cholique, acide chénodésoxycholique) ou par chélateurs des AB.

Au total, la littérature est en faveur d'un lien entre AB et cortisol. L'obésité s'avère un modèle intéressant pour étayer ce lien grâce à l'étude clinique CORTABO en parallèle de l'étude de modèles cellulaires et animaux.

III. ORIGINALITE, BENEFICES ATTENDUS ET PERSPECTIVES

Ce travail permettra d'avancer dans la compréhension des mécanismes conduisant aux complications métaboliques de l'obésité et à leur évolution après chirurgie bariatrique et plus généralement ce travail permettra d'étudier la place des AB dans la BD du cortisol. Ainsi, les résultats pourraient potentiellement ouvrir de nouvelles pistes thérapeutiques pour la modulation de la BD du cortisol via les AB.

L'obésité est un premier modèle clinique d'étude du lien entre AB et cortisol. Il existe aussi des données suggérant une modification des AB et du métabolisme du cortisol dans d'autres maladies métaboliques comme le diabète de type 2, la stéatose hépatique non alcooliques et le syndrome des ovaires polykystiques qui pourront ainsi constituer d'autres sujets d'études.

PARTIE III : TUMEURS SURRENALIENNES ET NEOPLASIES ENDOCRINIENNES GENETIQUES

I. RESUME DES TRAVAUX DE THESE DE SCIENCE

1) Génétique de l'hyperplasie bilatérale macronodulaire des surrénales

L'hyperplasie bilatérale macronodulaire des surrénales (HBMS) est une maladie rare caractérisée par le développement de nodules corticosurrénaux bilatéraux et d'un syndrome de Cushing. Elle est souvent diagnostiquée au cours de la cinquième décennie. L'étiologie de cette maladie n'était que partiellement connue mais le caractère bilatéral de l'atteinte surrénalienne et l'observation de cas familiaux suggéraient une origine génétique.

Durant ma thèse de science, j'ai participé à la mise en évidence du gène *ARMC5* comme gène causal de la maladie dans environ 25% des cas. Brièvement, l'analyse de l'ADN tumoral et leucocytaire d'une série de 33 patients opérés a permis de mettre en évidence chez 25% des patients une perte d'hétérozygotie neutre en nombres de copies de tout le bras court du chromosome 16 (16p) au niveau du tissu surrénalien. Un séquençage complet du génome de 5 patients (ADN germlinal et tumoral) a permis de mettre en évidence une mutation du gène *ARMC5* localisé en 16p chez 4 patients. Des mutations d'*ARMC5* ont été mises en évidence par séquençage direct chez 55% des 33 patients opérés (103). L'inactivation du gène se fait selon la théorie de Knudson (un événement germlinal inactivant le premier allèle associé à un autre événement somatique inactivant le second allèle) ce qui laisse supposer qu'*ARMC5* est un gène suppresseur de tumeur.

Afin de déterminer des corrélations génotype-phénotype, la cohorte initiale a été élargie pour constituer une série consécutive de 98 cas index de patients présentant des formes légères à sévères de la maladie, opérées ou non. Vingt-cinq % des patients présentaient une altération d'*ARMC5*. Les patients mutés avaient un syndrome de Cushing plus sévère cliniquement et biologiquement ainsi que des surrénales plus hypertrophiées et nodulaires en comparaison des patients non mutés. Ces patients étaient ainsi plus souvent opérés (104).

La fonction de la protéine *ARMC5* n'était pas connue lors de son identification comme gène de l'HBMS. *In vitro*, la surexpression du gène sauvage induit l'apoptose. La surexpression des mutants faux-sens retrouvés chez les patients entraîne moins d'apoptose que la protéine sauvage (103,105). *ARMC5* contient des domaines Armadillo et BTB, connus pour être impliqués dans l'interaction protéine-protéine. La voie AMPc/protéine kinase A (PKA) est une voie de signalisation importante pour la fonction surrénalienne. Des altérations des acteurs de cette voie sont impliquées dans différentes pathologies corticosurrénales (106). L'inactivation d'*ARMC5* conduit *in vitro* à une diminution de l'expression d'enzymes de la

stéroïdogénèse, de la production de cortisol et une diminution de l'activité PKA. De manière intéressante les souris *Armc5*^{+/-} (le KO complet étant létal au cours de développement embryonnaire), sur lesquelles j'ai travaillé durant ma mobilité au NIH, développent un hypocorticisme à l'âge d'1 an puis un hypercorticisme pour environ 1/3 à l'âge de 18 mois (107). J'ai par ailleurs co-encadré avec le Dr Berthon **Lucas Cécily** pour son **master 1** sur l'invalidation de *ARMC5* par morpholino chez le zebrafish sur lequel j'ai aussi travaillé.

Ainsi, dans les HBMS liées à une inactivation d'*ARMC5* la masse tumorale plus importante est probablement lié à la perte d'apoptose conduisant à l'hyperplasie nodulaire du tissu corticosurrénalien. Même si la production de cortisol est diminuée à l'échelle unicellulaire, l'hypercorticisme plus important observé chez les patients mutés pour *ARMC5* est probablement expliqué par l'effet masse. A noter que dans les HBMS même non muté pour *ARMC5* la stéroïdogénèse est stimulée de manière paracrine par une sécrétion ectopique surrénalienne d'ACTH (108).

2) Altération de la voie PKA dans les pathologies surrénaliennes

Les mutations du gène codant pour la sous-unité catalytique C α de la PKA sont responsables de près de la moitié des adénomes cortisoliques. Pour un autre travail de ma thèse de science, nous avons identifié par séquençage complet de l'exome une mutation somatique du gène codant pour la sous-unité catalytique C β (*PRKACB*) chez un patient présentant un adénome cortisolique responsable d'un syndrome de Cushing sévère. Nous avons montré que le mutant mis en évidence contribue au phénotype par une augmentation de la signalisation PKA/AMPc de base. Il s'agissait de la première démonstration de l'implication de cette sous-unité PKA dans la tumorigénèse surrénalienne.

J'ai aussi étudié un autre mutant *PRKACB* mis en évidence au niveau germlinal par séquençage complet de l'exome chez une patiente présentant un phénotype de type acrodysostose. La mutation conduisait à une augmentation de l'activité PKA en base et après stimulation avec l'utilisation de protéines recombinantes. Néanmoins, la protéine était instable conduisant à une haploinsuffisance pouvant expliquer le phénotype de la patiente, observée habituellement en cas de mutation activatrice de la sous-unité régulatrice de la PKA conduisant à une inactivation de la voie.

Enfin, j'ai participé à la caractérisation moléculaire des tumeurs surrénaliennes bénignes par « omic ». J'ai notamment été impliqué pour la recherche de gène candidat par exome dans les HBMS non mutés pour *ARMC5* et les complexes de Carney non mutés pour *PRKAR1A* (Cf. Partie III, II1).

Au total, durant ma thèse de science j'ai utilisé une approche par NGS pour rechercher des gènes candidats dans différentes pathologies surrénaliennes sécrétant du cortisol. J'ai réalisé l'étude fonctionnelle des mutants et établie des corrélations génotypes-phénotypes.

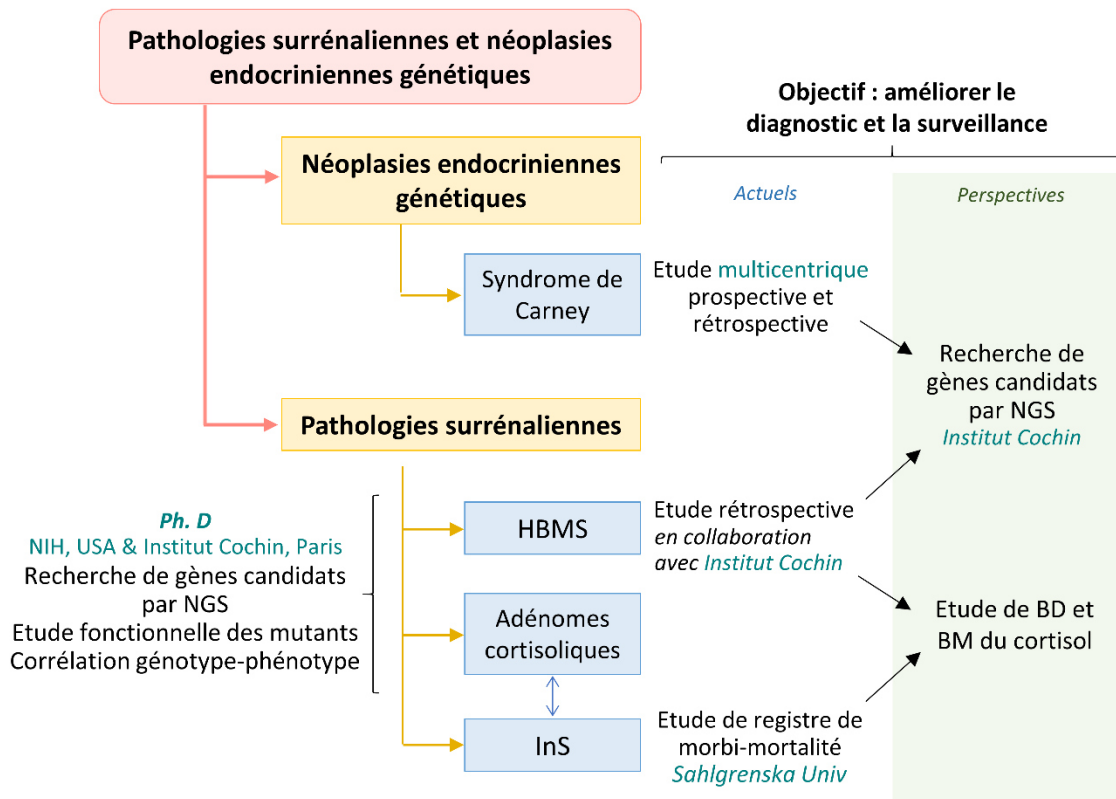


Figure 10 : Résumé des projets de recherche clinique sur les tumeurs surrénaliennes et les néoplasies endocriniennes génétiques

II. PROJETS DE RECHERCHE

Ils sont résumés dans la figure 10.

1) Contexte clinique

La surrénale est composée d'une zone centrale, la médullosurrénale, produisant les catécholamines ainsi que d'une zone périphérique, le cortex surrénalien. Le cortex est lui-même composé de trois zones avec de l'extérieur à l'intérieur :

- La zone glomérulée : elle produit les minéralocorticoïdes avec pour composé final l'aldostérone,
- La zone fasciculée : elle produit les GC avec pour composé final le cortisol,
- La zone réticulée : elle produit les androgènes surrénaliens avec pour composé principal le SDHA.

En dehors de l'IS, des pathologies tumorales peuvent affecter la surrénale :

- Pour le cortex : adénome (bénin) sécrétant des GC, des minéralocorticoïdes ou des androgènes, ou non sécrétant ; hyperplasie surrénalienne, nodulaire ou non, sécrétant des GC ou des minéralocorticoïdes ; carcinome corticosurrénalien (malin).
- Pour la medulla : tumeur appelée phéochromocytome (bénin ou malin).

Les pathologies surrénaliennes sont des pathologies relativement rares à l'exception de celle responsable d'hyperaldostéronisme primaire. Elles sont génétiques dans un nombre non négligeable de cas. Elles peuvent alors rentrer dans le cadre de syndrome associé à d'autres affections comme le complexe de Carney.

Le complexe de Carney (CNC) est une néoplasie endocrinienne et non endocrinienne liée dans 80% des cas à des mutations germinales autosomiques dominantes de la sous-unité régulatrice R1 α de la protéine kinase A (gène *PRKAR1A*). Elle est responsable d'une forme particulière d'hyperplasie surrénalienne bilatérale responsable d'un syndrome de Cushing appelé la dysplasie micronodulaire pigmentée des surrénales ou PPNAD (Primary Pigmented Nodular Adrenocortical Disease). Par ailleurs, elle conduit au développement d'autres tumeurs endocrines (adénomes hypophysaires, tumeurs thyroïdiennes, testiculaires et ovariennes) et non endocrines (myxomes cardiaques, cutanés et mammaire, schwannomes et ostéochondromyxome) (109).

Compte-tenu de leur rareté ou des signes de l'hypersecretion parfois non spécifique ou difficile à identifier surtout dans les formes pauci-symptomatiques, le diagnostic est souvent tardif entraînant une perte de chance pour le patient. Par ailleurs, la surveillance des formes les plus rares comme les hyperplasies surrénaliennes bilatérales sécrétants des GC est mal codifiée.

Des études cliniques et des études translationnelles sont donc nécessaires pour améliorer le diagnostic et la surveillance des patients porteurs de tumeurs surrénaliennes et de néoplasies endocriniennes génétiques.

2) Complexe de Carney

Des corrélations génotypes-phénotypes ont été décrites à partir de la cohorte du NIH, de la Mayo Clinic et de l'hôpital Cochin (110). La majorité des mutations de *PRKAR1A* sont privées mais plusieurs hot-spot ont été décrits (111), notamment la mutation c.709(-7-2)del6 localisée au niveau de l'intron 7 (112). La pénétrance de la maladie dans les familles porteuses de cette mutation n'est pas complète, estimée à moins de 60%.

Dans une première étude prospective observationnelle multicentrique (PHRC national Eva-carney, NCT00668291) incluant 70 patients atteints de CNC, PPNAD ou apparentés mutés pour *PRKAR1A* ayant des explorations standardisées annuelles pendant 3 ans, nous avons précisé la prévalence des différentes atteintes et montré que l'incidence des néoplasies non endocriniennes étaient faibles hormis les atteintes cardiaques (113).

Dans une seconde étude multicentrique à la fois prospective et rétrospective réalisée par **Fatimetou Abderrahmane** pour sa thèse de médecine, nous avons montré que le phénotype des patients porteurs de la mutation c.709(-7-2)del6 se limite aux PPNAD, lentigines, lésions thyroïdiennes et aux anomalies infracliniques du bilan somatotrope, sans développer de myxomes cardiaques ou de schwannomes.

Ces deux études permettront d'élaborer des recommandations pour le suivi des patients porteurs d'un complexe de Carney. Un suivi allégé pourra être proposé aux patients porteurs de la mutation c.709(-7-2)del6 par rapport aux autres patients CNC.

Dans l'étude Eva-Carney, nous avons observé la survenue d'un carcinome mammaire chez 15,8% des femmes de la cohorte ce qui semble supérieur à la population générale. De même, l'âge moyen de survenue était de 44,7 ans soit 17 ans plus tôt que ce qui est observé dans la population générale. Afin de prouver un lien de causalité entre la survenue de ces cancers et la mutation *PRKAR1A*, la recherche d'une perte d'expression de la protéine PRKAR1 en immunohistochimie au niveau du matériel tumoral d'une patiente lilloise opérée d'un cancer du sein va être réalisée en collaboration avec l'équipe du Pr Bertherat. Cette étude donnera des arguments supplémentaires pour proposer un dépistage précoce et rapproché du cancer du sein chez ces patientes.

Au total, ces études sur le complexe de Carney permettront de définir un rythme de surveillance des différentes atteintes de la maladie, rythme qui devra probablement être adapté pour les patients porteurs de la mutation c.709(-7-2)del6.

3) Hyperplasie bilatérale macronodulaire des surrénales

L'hypothèse dans les HBMS en particulier liée à *ARMC5* est que l'effet masse contribuerait à l'hypercortisolisme (cf. partie III, I1). D'un point de vue clinique, on devrait alors observer une corrélation entre l'hypercortisolisme et la masse tumorale. Par ailleurs, on sait que l'HBMS évolue lentement mais la vitesse de progression n'a jamais été évaluée. L'objectif du travail de thèse de **Pierre-Loup Hermant** est donc 1) d'évaluer si le volume tumoral mesuré par scanner est corrélé au cortisol après freinage minute par 1mg de dexaméthasone ; 2) d'étudier la vitesse de progression morphologique des HBMS ; 3) de chercher des corrélations

entre l'évolution biologique et le retentissement métabolique. Cette étude préliminaire est rétrospective avec le recueil des données des patients des services d'endocrinologie du CHRU de Lille et de l'hôpital Cochin à Paris. L'inclusion de 50 patients est prévue.

Cette étude permettra d'étayer l'hypothèse physiopathologique de « l'effet masse » et de proposer un rythme de surveillance des HBMS, notamment pour l'imagerie.

4) Incidentalomes surrenaliens

Un incidentalome surrenalien (InS) est défini par une masse surrenalienne détectée par une imagerie réalisée en l'absence de suspicion de pathologie surrenalienne. La fréquence des InS est estimée entre 1 et 5% des scanners abdominaux. Leur fréquence augmente avec l'âge. Doit être éliminer devant tout InS une lésion maligne et une hypersécrétion hormonale (114). Ainsi, un bilan endocrinien doit être réalisé systématiquement avec notamment un test de freinage minute par 1mg de dexaméthasone (prise de 1mg de dexaméthasone à minuit et dosage du cortisol à 8h le lendemain) pour s'assurer de l'absence de sécrétion de cortisol.

L'hypercorticisme infraclinique est caractérisé par un hypercortisolisme biologique, en général très modéré, sans signes cliniques de syndrome de Cushing. Il expose tout de même à une augmentation du risque de développement des complications du syndrome de Cushing dont le développement de pathologies métaboliques et cardiovasculaires (115). Trois études se sont intéressées à la morbi-mortalité des patients présentant un InS. Dans ces études le groupe contrôle utilisé étaient le groupe constitués des patients présentant un InS non sécrétant (116-118) défini par un cortisol lors du test de freinage minute < 50nmol/L (119). Pourtant, il est intéressant de constater qu'a été décrit chez les patients ayant un InS même non sécrétant une augmentation de la prévalence des troubles de la tolérance glycémique et un remodelage cardiovasculaire (120-122). De manière intéressante, dans une étude suédoise la mortalité n'était pas associée aux différentes catégories d'InS définies par la société européenne d'endocrinologie (119) alors qu'elle était corrélée à la valeur du cortisol après freinage (118). La sécrétion de cortisol devrait plutôt être considérée comme un continuum.

A ce jour, il n'existe aucune étude comparant la morbi-mortalité des patients présentant un InS en comparaison de la population générale. J'ai ainsi profité de mon post-doctorat en Suède pour lancer une étude de registre qui a pour objectif d'étudier la morbi-mortalité globale et spécifique cardiovasculaires, métaboliques et infectieuses chez les patients présentant un InS par rapport à la population générale et par rapport à un sous-groupe de patient ayant réalisé au moins un scanner abdominal. Pour cette étude, seront recrutés les patients admis entre 2002 et 2018 à l'hôpital universitaire de Sahlgrenska pour exploration d'un IS. L'inclusion

de 500 patients et 5000 contrôles appariés par l'âge et le sexe est prévu. Les résultats du test de freinage minute du cortisol pour les patients seront obtenus grâce au registre du laboratoire de l'université de Sahlgrenska. Je devais me rendre en Suède cet été et **encadrer une étudiante** sur le projet (équivalent de **stage de master 1** pour un stage de recherche d'1 mois) pour le contrôle de qualité des résultats biologiques mais la situation sanitaire actuelle va très probablement retarder le projet. Le projet a été accepté par le Comité de Protection des Personnes et je suis en attente d'avoir l'accès aux différents registres (Swedish National Patient Registry, Swedish Cancer Registry, National Diabetes Registry, Swedish National Cause of Death Registry, Longitudinal Integration Database for Health Insurance and Labor Market Studies (LISA), Prescription and Drug Registry).

Les résultats de cette étude pourraient conduire à une modification de la prise en charge des patients présentant un InS avec notamment la proposition d'un suivi rapproché et systématique des facteurs de risques cardio-vasculaires et métaboliques.

III. ORIGINALITE, BENEFICES ATTENDUS ET PERSPECTIVES

Ces études permettront de valoriser les cohortes lilloises de patients atteints de ces pathologies. Leur objectif global est l'amélioration de la prise en charge des patients et notamment de la surveillance. La collaboration avec l'équipe du Pr Bertherat permettra de participer à la recherche de nouveaux gènes candidats d'HBMS et de complexe de Carney. Ces études ouvrent enfin des perspectives de développement de recherche translationnelle locale. Notamment, l'objectif sera d'évaluer les BM d'exposition au cortisol dans ces cohortes de patients. Notamment, l'InS étant une pathologie fréquente avec des perspectives de mise en place d'un réseau de prise en charge en lien avec les services de radiologies, des cohortes prospectives pourront rapidement être constituées pour l'évaluation des BM.

CONCLUSIONS

Ce mémoire a permis de retracer mon parcours et mes principaux thèmes de recherche ainsi que de dessiner les perspectives de mes projets actuellement en cours de développement. Depuis ma thèse de science centrée essentiellement sur la génétique des tumeurs surrenaliennes (Pr Bertherat, UMR 1016, Paris) en passant par mon post-doctorat orienté vers la recherche de BM d'action du cortisol chez des patients IS (Pr Johannsson, Sahlgrenska University, Göteborg), je suis en train de développer localement une recherche translationnelle orientée vers deux principaux premiers axes : 1) l'étude de la BD et des BM du cortisol, 2) le lien potentiel entre AB et métabolisme du cortisol. Cette recherche se fait au sein de l'équipe du Pr Pattou (UMR 1190) en collaboration avec les autres unités de l'EGID, notamment le Pr Tailleux et le Pr Staels (UMR 1011) et l'institut de Biochimie et Biologie Moléculaire du CHR-U de Lille, en particulier le Dr Oddou, le Dr Coppin et le Dr Ghulam. Ces projets se font en lien avec mon activité clinique. Par ailleurs, je reste aussi active en recherche clinique avec plusieurs projets développés autour d'un 3^{ème} axe, les tumeurs surrenaliennes et les néoplasies endocriniennes multiples.

Pour l'ensemble de ces projets, j'ai encadré ou co-encadré une thèse de science, un master 1 et prochainement une autre thèse de science et un master 2 (et 6 thèses de médecine). J'ai aussi obtenu des fonds de recherche académique pour démarrer mes projets.

Enfin la réalisation de ces projets a été possible ou sera possible grâce au soutien précieux du Pr Vantyghem, du Pr Pattou, du Pr Tailleux, du Pr Johannsson et du Pr Bertherat que je remercie.

RÉFÉRENCES

1. Bae YJ, Kratzsch J. Corticosteroid-binding globulin: modulating mechanisms of bioavailability of cortisol and its clinical implications. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2015;29(5):761-772.
2. Chapman K, Holmes M, Seckl J. 11beta-hydroxysteroid dehydrogenases: intracellular gate-keepers of tissue glucocorticoid action. *Physiol Rev.* 2013;93(3):1139-1206.
3. Andrew R, Westerbacka J, Wahren J, Yki-Jarvinen H, Walker BR. The contribution of visceral adipose tissue to splanchnic cortisol production in healthy humans. *Diabetes.* 2005;54(5):1364-1370.
4. Basu R, Singh RJ, Basu A, Chittilapilly EG, Johnson CM, Toffolo G, Cobelli C, Rizza RA. Splanchnic cortisol production occurs in humans: evidence for conversion of cortisone to cortisol via the 11-beta hydroxysteroid dehydrogenase (11beta-hsd) type 1 pathway. *Diabetes.* 2004;53(8):2051-2059.
5. Bamberger CM, Schulte HM, Chrousos GP. Molecular determinants of glucocorticoid receptor function and tissue sensitivity to glucocorticoids. *Endocr Rev.* 1996;17(3):245-261.
6. Ramamoorthy S, Cidlowski JA. Exploring the molecular mechanisms of glucocorticoid receptor action from sensitivity to resistance. *Endocrine development.* 2013;24:41-56.
7. Johannsson G, Falorni A, Skrtic S, Lennernas H, Quinkler M, Monson JP, Stewart PM. Adrenal insufficiency: review of clinical outcomes with current glucocorticoid replacement therapy. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2015;82(1):2-11.
8. Isidori AM, Venneri MA, Graziadio C, Simeoli C, Fiore D, Hasenmajer V, Sbardella E, Gianfrilli D, Pozza C, Pasqualetti P, Morrone S, Santoni A, Naro F, Colao A, Pivonello R, Lenzi A. Effect of once-daily, modified-release hydrocortisone versus standard glucocorticoid therapy on metabolism and innate immunity in patients with adrenal insufficiency (DREAM): a single-blind, randomised controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2018;6(3):173-185.
9. Johannsson G, Nilsson AG, Bergthorsdottir R, Burman P, Dahlqvist P, Ekman B, Engstrom BE, Olsson T, Ragnarsson O, Ryberg M, Wahlberg J, Biller BM, Monson JP, Stewart PM, Lennernas H, Skrtic S. Improved cortisol exposure-time profile and outcome in patients with adrenal insufficiency: a prospective randomized trial of a novel hydrocortisone dual-release formulation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(2):473-481.
10. Giordano R, Guaraldi F, Marinazzo E, Fumarola F, Rampino A, Berardelli R, Karamouzis I, Lucchiari M, Manetta T, Mengozzi G, Arvat E, Ghigo E. Improvement of anthropometric and metabolic parameters, and quality of life following treatment with dual-release hydrocortisone in patients with Addison's disease. *Endocrine.* 2016;51(2):360-368.
11. Quinkler M, Miodini Nilsen R, Zopf K, Ventz M, Oksnes M. Modified-release hydrocortisone decreases BMI and HbA1c in patients with primary and secondary adrenal insufficiency. *Eur J Endocrinol.* 2015;172(5):619-626.
12. Hazlehurst JM, Oprescu AI, Nikolaou N, Di Guida R, Grinbergs AE, Davies NP, Flintham RB, Armstrong MJ, Taylor AE, Hughes BA, Yu J, Hodson L, Dunn WB, Tomlinson JW. Dual-5alpha-Reductase Inhibition Promotes Hepatic Lipid Accumulation in Man. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016;101(1):103-113.
13. Westerbacka J, Yki-Jarvinen H, Vehkavaara S, Hakkinen AM, Andrew R, Wake DJ, Seckl JR, Walker BR. Body fat distribution and cortisol metabolism in healthy men: enhanced 5beta-reductase and lower cortisol/cortisone metabolite ratios in men with fatty liver. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(10):4924-4931.

14. Geiger SS, Fagundes CT, Siegel RM. Chrono-immunology: progress and challenges in understanding links between the circadian and immune systems. *Immunology*. 2015;146(3):349-358.
15. Russell GM, Kalafatakis K, Lightman SL. The importance of biological oscillators for hypothalamic-pituitary-adrenal activity and tissue glucocorticoid response: coordinating stress and neurobehavioural adaptation. *J Neuroendocrinol*. 2015;27(6):378-388.
16. Ahmed A, Rabbitt E, Brady T, Brown C, Guest P, Bujalska IJ, Doig C, Newsome PN, Hubscher S, Elias E, Adams DH, Tomlinson JW, Stewart PM. A switch in hepatic cortisol metabolism across the spectrum of non alcoholic fatty liver disease. *PLoS ONE*. 2012;7(2):e29531.
17. Stewart PM, Wallace AM, Atherden SM, Shearing CH, Edwards CR. Mineralocorticoid activity of carbenoxolone: contrasting effects of carbenoxolone and liquorice on 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase activity in man. *Clin Sci (Lond)*. 1990;78(1):49-54.
18. Woods CP, Corrigan M, Gathercole L, Taylor A, Hughes B, Gaoatswe G, Manolopoulos K, Hogan AE, O'Connell J, Stewart PM, Tomlinson JW, O'Shea D, Sherlock M. Tissue specific regulation of glucocorticoids in severe obesity and the response to significant weight loss following bariatric surgery (BARICORT). *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(4):1434-1444.
19. Koper JW, van Rossum EF, van den Akker EL. Glucocorticoid receptor polymorphisms and haplotypes and their expression in health and disease. *Steroids*. 2014;92:62-73.
20. Lin HY, Underhill C, Lei JH, Helander-Claesson A, Lee HY, Gardill BR, Muller YA, Wang H, Hammond GL. High frequency of SERPINA6 polymorphisms that reduce plasma corticosteroid-binding globulin activity in Chinese subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(4):E678-686.
21. Lutz SZ, Peter A, Machicao F, Lamprinou A, Machann J, Schick F, Konigsrainer I, Konigsrainer A, Fritsche A, Staiger H, Haring HU, Stefan N, Kantartzis K. Genetic Variation in the 11beta-hydroxysteroid-dehydrogenase 1 Gene Determines NAFLD and Visceral Obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101(12):4743-4751.
22. Arlt W, Allolio B. Adrenal insufficiency. *Lancet*. 2003;361(9372):1881-1893.
23. Durante A, Bronzato S. The increased cardiovascular risk in patients affected by autoimmune diseases: review of the various manifestations. *J Clin Med Res*. 2015;7(6):379-384.
24. Smeeth L, Thomas SL, Hall AJ, Hubbard R, Farrington P, Vallance P. Risk of myocardial infarction and stroke after acute infection or vaccination. *N Engl J Med*. 2004;351(25):2611-2618.
25. McLean MH, Dieguez D, Jr., Miller LM, Young HA. Does the microbiota play a role in the pathogenesis of autoimmune diseases? *Gut*. 2015;64(2):332-341.
26. Jonsson AL, Backhed F. Role of gut microbiota in atherosclerosis. *Nature reviews Cardiology*. 2017;14(2):79-87.
27. Morris DJ, Ridlon JM. Glucocorticoids and gut bacteria: "The GALF Hypothesis" in the metagenomic era. *Steroids*. 2017;125:1-13.
28. Mukherji A, Kobiita A, Ye T, Chambon P. Homeostasis in intestinal epithelium is orchestrated by the circadian clock and microbiota cues transduced by TLRs. *Cell*. 2013;153(4):812-827.
29. Wu T, Yang L, Jiang J, Ni Y, Zhu J, Zheng X, Wang Q, Lu X, Fu Z. Chronic glucocorticoid treatment induced circadian clock disorder leads to lipid metabolism and gut microbiota alterations in rats. *Life Sci*. 2018;192:173-182.

30. Rushworth RL, Torpy DJ, Falhammar H. Adrenal Crisis. *N Engl J Med*. 2019;381(9):852-861.
31. White KG. A retrospective analysis of adrenal crisis in steroid-dependent patients: causes, frequency and outcomes. *BMC Endocr Disord*. 2019;19(1):129.
32. Hahner S, Spinnler C, Fassnacht M, Burger-Stritt S, Lang K, Milovanovic D, Beuschlein F, Willenberg HS, Quinkler M, Allolio B. High incidence of adrenal crisis in educated patients with chronic adrenal insufficiency: a prospective study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(2):407-416.
33. Hahner S, Loeffler M, Bleicken B, Drechsler C, Milovanovic D, Fassnacht M, Ventz M, Quinkler M, Allolio B. Epidemiology of adrenal crisis in chronic adrenal insufficiency: the need for new prevention strategies. *Eur J Endocrinol*. 2010;162(3):597-602.
34. Dineen R, Stewart PM, Sherlock M. Factors impacting on the action of glucocorticoids in patients receiving glucocorticoid therapy. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2019;90(1):3-14.
35. Giordano R, Marzotti S, Berardelli R, Karamouzis I, Brozzetti A, D'Angelo V, Mengozzi G, Mandrile G, Giachino D, Migliaretti G, Bini V, Falorni A, Ghigo E, Arvat E. BclI polymorphism of the glucocorticoid receptor gene is associated with increased obesity, impaired glucose metabolism and dyslipidaemia in patients with Addison's disease. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2012;77(6):863-870.
36. Molnar A, Kovesti A, Szucs N, Toth M, Igaz P, Racz K, Patocs A. Polymorphisms of the GR and HSD11B1 genes influence body mass index and weight gain during hormone replacement treatment in patients with Addison's disease. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2016;85(2):180-188.
37. Zopf K, Frey KR, Kienitz T, Ventz M, Bauer B, Quinkler M. BclI polymorphism of the glucocorticoid receptor and adrenal crisis in primary adrenal insufficiency. *Endocrine connections*. 2017;6(8):685-691.
38. Tomlinson JW, Bujalska I, Stewart PM, Cooper MS. The role of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase in central obesity and osteoporosis. *Endocr Res*. 2000;26(4):711-722.
39. Fichna M, Zurawek M, Gryczynska M, Sowinska A, Nowak J, Ruchala M. Polymorphic variants of the HSD11B1 gene may be involved in adverse metabolic effects of glucocorticoid replacement therapy in Addison's disease. *European journal of internal medicine*. 2016;31:99-104.
40. Nordenstrom A, Marcus C, Axelson M, Wedell A, Ritzen EM. Failure of cortisone acetate treatment in congenital adrenal hyperplasia because of defective 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase reductase activity. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84(4):1210-1213.
41. Anagnostis P, Athyros VG, Tziomalos K, Karagiannis A, Mikhailidis DP. Clinical review: The pathogenetic role of cortisol in the metabolic syndrome: a hypothesis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(8):2692-2701.
42. Methlie P, Dankel S, Myhra T, Christensen B, Gjerde J, Fadnes D, Vage V, Lovas K, Mellgren G. Changes in adipose glucocorticoid metabolism before and after bariatric surgery assessed by direct hormone measurements. *Obesity (Silver Spring)*. 2013;21(12):2495-2503.
43. Rask E, Olsson T, Soderberg S, Andrew R, Livingstone DE, Johnson O, Walker BR. Tissue-specific dysregulation of cortisol metabolism in human obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(3):1418-1421.
44. Engeli S, Bohnke J, Feldpausch M, Gorzelniak K, Heintze U, Janke J, Luft FC, Sharma AM. Regulation of 11beta-HSD genes in human adipose tissue: influence of central obesity and weight loss. *Obes Res*. 2004;12(1):9-17.

45. Paulmyer-Lacroix O, Boullu S, Oliver C, Alessi MC, Grino M. Expression of the mRNA coding for 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in adipose tissue from obese patients: an in situ hybridization study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(6):2701-2705.
46. Bujalska IJ, Kumar S, Stewart PM. Does central obesity reflect "Cushing's disease of the omentum"? *Lancet.* 1997;349(9060):1210-1213.
47. Pardina E, Baena-Fustegueras JA, Fort JM, Ferrer R, Rossell J, Esteve M, Peinado-Onsurbe J, Grasa M. Hepatic and visceral adipose tissue 11betaHSD1 expressions are markers of body weight loss after bariatric surgery. *Obesity (Silver Spring).* 2015;23(9):1856-1863.
48. Rask E, Walker BR, Soderberg S, Livingstone DE, Eliasson M, Johnson O, Andrew R, Olsson T. Tissue-specific changes in peripheral cortisol metabolism in obese women: increased adipose 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 activity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(7):3330-3336.
49. Constantinopoulos P, Michalaki M, Kottorou A, Habeos I, Psyrogiannis A, Kalfarentzos F, Kyriazopoulou V. Cortisol in tissue and systemic level as a contributing factor to the development of metabolic syndrome in severely obese patients. *Eur J Endocrinol.* 2015;172(1):69-78.
50. Torrecilla E, Fernandez-Vazquez G, Vicent D, Sanchez-Franco F, Barabash A, Cabrerizo L, Sanchez-Pernaute A, Torres AJ, Rubio MA. Liver upregulation of genes involved in cortisol production and action is associated with metabolic syndrome in morbidly obese patients. *Obes Surg.* 2012;22(3):478-486.
51. Baudrand R, Carvajal CA, Riquelme A, Morales M, Solis N, Pizarro M, Escalona A, Boza C, Perez G, Dominguez A, Arrese M, Fardella CE. Overexpression of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in hepatic and visceral adipose tissue is associated with metabolic disorders in morbidly obese patients. *Obes Surg.* 2010;20(1):77-83.
52. Baudrand R, Dominguez JM, Carvajal CA, Riquelme A, Campino C, Macchiavello S, Bozinovic M, Morales M, Pizarro M, Solis N, Escalona A, Boza C, Arrese M, Fardella CE. Overexpression of hepatic 5alpha-reductase and 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in visceral adipose tissue is associated with hyperinsulinemia in morbidly obese patients. *Metabolism: clinical and experimental.* 2011;60(12):1775-1780.
53. Mariniello B, Ronconi V, Rilli S, Bernante P, Boscaro M, Mantero F, Giacchetti G. Adipose tissue 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 expression in obesity and Cushing's syndrome. *Eur J Endocrinol.* 2006;155(3):435-441.
54. Stomby A, Andrew R, Walker BR, Olsson T. Tissue-specific dysregulation of cortisol regeneration by 11betaHSD1 in obesity: has it promised too much? *Diabetologia.* 2014;57(6):1100-1110.
55. Tomlinson JW, Moore JS, Clark PM, Holder G, Shakespeare L, Stewart PM. Weight loss increases 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 expression in human adipose tissue. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(6):2711-2716.
56. Rask E, Simonyte K, Lonn L, Axelson M. Cortisol metabolism after weight loss: associations with 11 beta-HSD type 1 and markers of obesity in women. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2013;78(5):700-705.
57. Woods CP, Hazlehurst JM, Tomlinson JW. Glucocorticoids and non-alcoholic fatty liver disease. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2015;154:94-103.
58. Tomlinson JW, Finney J, Gay C, Hughes BA, Hughes SV, Stewart PM. Impaired glucose tolerance and insulin resistance are associated with increased adipose 11beta-

- hydroxysteroid dehydrogenase type 1 expression and elevated hepatic 5alpha-reductase activity. *Diabetes*. 2008;57(10):2652-2660.
59. Livingstone DE, Di Rollo EM, Yang C, Codrington LE, Mathews JA, Kara M, Hughes KA, Kenyon CJ, Walker BR, Andrew R. Relative adrenal insufficiency in mice deficient in 5alpha-reductase 1. *J Endocrinol*. 2014;222(2):257-266.
 60. Livingstone DE, Barat P, Di Rollo EM, Rees GA, Weldin BA, Rog-Zielinska EA, MacFarlane DP, Walker BR, Andrew R. 5alpha-Reductase type 1 deficiency or inhibition predisposes to insulin resistance, hepatic steatosis, and liver fibrosis in rodents. *Diabetes*. 2015;64(2):447-458.
 61. Livingstone DE, Di Rollo EM, Mak TC, Sooy K, Walker BR, Andrew R. Metabolic dysfunction in female mice with disruption of 5alpha-reductase 1. *J Endocrinol*. 2017;232(1):29-36.
 62. Valanejad L, Ghareeb M, Shiffka S, Nadolny C, Chen Y, Guo L, Verma R, You S, Akhlaghi F, Deng R. Dysregulation of Delta(4)-3-oxosteroid 5beta-reductase in diabetic patients: Implications and mechanisms. *Mol Cell Endocrinol*. 2018;470:127-141.
 63. Nikolaou N, Gathercole LL, Marchand L, Althari S, Dempster NJ, Green CJ, van de Bunt M, McNeil C, Arvaniti A, Hughes BA, Sgromo B, Gillies RS, Marschall HU, Penning TM, Ryan J, Arlt W, Hodson L, Tomlinson JW. AKR1D1 is a novel regulator of metabolic phenotype in human hepatocytes and is dysregulated in non-alcoholic fatty liver disease. *Metabolism: clinical and experimental*. 2019;99:67-80.
 64. Vantyghem MC, Balavoine AS, Douillard C, Defrance F, Dieudonne L, Mouton F, Lemaire C, Bertrand-Escoufflaire N, Bourdelle-Hego MF, Devemy F, Evrard A, Gheerbrand D, Girardot C, Gumuche S, Hober C, Topolinski H, Lamblin B, Mycinski B, Ryndak A, Karrouz W, Duvivier E, Merlen E, Cortet C, Weill J, Lacroix D, Wemeau JL. How to diagnose a lipodystrophy syndrome. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2012;73(3):170-189.
 65. Kwapich M, Lacroix D, Espiard S, Ninni S, Brigadeau F, Kouakam C, Degroote P, Laurent JM, Tiffreau V, Jannin A, Humbert L, Ben Hamou A, Tard C, Ben Yaou R, Lamblin N, Klug D, Richard P, Vigouroux C, Bonne G, Vantyghem MC, Diamenord AWG. Cardiometabolic assessment of lamin A/C gene mutation carriers: a phenotype-genotype correlation. *Diabetes & metabolism*. 2019;45(4):382-389.
 66. Resende ATP, Martins CS, Bueno AC, Moreira AC, Foss-Freitas MC, de Castro M. Phenotypic diversity and glucocorticoid sensitivity in patients with familial partial lipodystrophy type 2. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2019;91(1):94-103.
 67. Sutinen J, Kannisto K, Korshennikova E, Nyman T, Ehrenborg E, Andrew R, Wake DJ, Hamsten A, Walker BR, Yki-Jarvinen H. In the lipodystrophy associated with highly active antiretroviral therapy, pseudo-Cushing's syndrome is associated with increased regeneration of cortisol by 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in adipose tissue. *Diabetologia*. 2004;47(10):1668-1671.
 68. Kratz M, Purnell JQ, Breen PA, Thomas KK, Utzschneider KM, Carr DB, Kahn SE, Hughes JP, Rutledge EA, Van Yserloo B, Yukawa M, Weigle DS. Reduced adipogenic gene expression in thigh adipose tissue precedes human immunodeficiency virus-associated lipodystrophy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(3):959-966.
 69. Shackleton CH, Neres MS, Hughes BA, Stewart PM, Kater CE. 17-Hydroxylase/C17,20-lyase (CYP17) is not the enzyme responsible for side-chain cleavage of cortisol and its metabolites. *Steroids*. 2008;73(6):652-656.
 70. Cerone-McLernon AM, Winter J, Mosbach EH, Bokkenheuser VD. Side-chain cleavage of cortisol by fecal flora. *Biochim Biophys Acta*. 1981;666(3):341-347.

71. Lennernas H, Skrtic S, Johannsson G. Replacement therapy of oral hydrocortisone in adrenal insufficiency: the influence of gastrointestinal factors. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2008;4(6):749-758.
72. Johannsson G, Bergthorsdottir R, Nilsson AG, Lennernas H, Hedner T, Skrtic S. Improving glucocorticoid replacement therapy using a novel modified-release hydrocortisone tablet: a pharmacokinetic study. *Eur J Endocrinol.* 2009;161(1):119-130.
73. Lefebvre P, Cariou B, Lien F, Kuipers F, Staels B. Role of bile acids and bile acid receptors in metabolic regulation. *Physiological reviews.* 2009;89(1):147-191.
74. Houten SM, Watanabe M, Auwerx J. Endocrine functions of bile acids. *EMBO J.* 2006;25(7):1419-1425.
75. Nikolaou N, Gathercole LL, Kirkwood L, Dunford JE, Hughes BA, Gilligan LC, Oppermann U, Penning TM, Arlt W, Hodson L, Tomlinson JW. AKR1D1 regulates glucocorticoid availability and glucocorticoid receptor activation in human hepatoma cells. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology.* 2019;189:218-227.
76. Bodin K, Lindbom U, Diczfalusy U. Novel pathways of bile acid metabolism involving CYP3A4. *Biochim Biophys Acta.* 2005;1687(1-3):84-93.
77. Saner KJ, Suzuki T, Sasano H, Pizzey J, Ho C, Strauss JF, 3rd, Carr BR, Rainey WE. Steroid sulfotransferase 2A1 gene transcription is regulated by steroidogenic factor 1 and GATA-6 in the human adrenal. *Mol Endocrinol.* 2005;19(1):184-197.
78. Chavez-Talavera O, Tailleux A, Lefebvre P, Staels B. Bile Acid Control of Metabolism and Inflammation in Obesity, Type 2 Diabetes, Dyslipidemia, and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology.* 2017;152(7):1679-1694.e1673.
79. Hench PS. Potential Reversibility of Rheumatoid Arthritis. *Annals of the rheumatic diseases.* 1949;8(2):90-96.
80. McNeilly AD, Macfarlane DP, O'Flaherty E, Livingstone DE, Mitic T, McConnell KM, McKenzie SM, Davies E, Reynolds RM, Thiesson HC, Skott O, Walker BR, Andrew R. Bile acids modulate glucocorticoid metabolism and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in obstructive jaundice. *J Hepatol.* 2010;52(5):705-711.
81. Parizek A, Hill M, Duskova M, Vitek L, Velikova M, Kancheva R, Simjak P, Koucky M, Kokrdova Z, Adamcova K, Cerny A, Hajek Z, Starka L. A Comprehensive Evaluation of Steroid Metabolism in Women with Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy. *PLoS ONE.* 2016;11(8):e0159203.
82. Quattropani C, Vogt B, Odermatt A, Dick B, Frey BM, Frey FJ. Reduced activity of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase in patients with cholestasis. *The Journal of clinical investigation.* 2001;108(9):1299-1305.
83. Boonen E, Vervenne H, Meersseman P, Andrew R, Mortier L, Declercq PE, Vanwijngaerden YM, Spriet I, Wouters PJ, Vander Perre S, Langouche L, Vanhorebeek I, Walker BR, Van den Berghe G. Reduced cortisol metabolism during critical illness. *N Engl J Med.* 2013;368(16):1477-1488.
84. Xiao Y, Yan W, Zhou K, Cao Y, Cai W. Glucocorticoid treatment alters systemic bile acid homeostasis by regulating the biosynthesis and transport of bile salts. *Dig Liver Dis.* 2016;48(7):771-779.
85. Penno CA, Morgan SA, Rose AJ, Herzig S, Lavery GG, Odermatt A. 11beta-Hydroxysteroid dehydrogenase-1 is involved in bile acid homeostasis by modulating fatty acid transport protein-5 in the liver of mice. *Mol Metab.* 2014;3(5):554-564.

86. Forman BM, Goode E, Chen J, Oro AE, Bradley DJ, Perlmann T, Noonan DJ, Burka LT, McMorris T, Lamph WW, Evans RM, Weinberger C. Identification of a nuclear receptor that is activated by farnesol metabolites. *Cell*. 1995;81(5):687-693.
87. Hoekstra M, van der Sluis RJ, Li Z, Oosterveer MH, Groen AK, Van Berkel TJ. FXR agonist GW4064 increases plasma glucocorticoid levels in C57BL/6 mice. *Mol Cell Endocrinol*. 2012;362(1-2):69-75.
88. Xing Y, Saner-Amigh K, Nakamura Y, Hinshelwood MM, Carr BR, Mason JI, Rainey WE. The farnesoid X receptor regulates transcription of 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in human adrenal cells. *Mol Cell Endocrinol*. 2009;299(2):153-162.
89. Lee H, Zhang Y, Lee FY, Nelson SF, Gonzalez FJ, Edwards PA. FXR regulates organic solute transporters alpha and beta in the adrenal gland, kidney, and intestine. *J Lipid Res*. 2006;47(1):201-214.
90. Prinz P, Hofmann T, Ahnis A, Elbelt U, Goebel-Stengel M, Klapp BF, Rose M, Stengel A. Plasma bile acids show a positive correlation with body mass index and are negatively associated with cognitive restraint of eating in obese patients. *Frontiers in neuroscience*. 2015;9:199.
91. Cariou B, Chetiveaux M, Zair Y, Pouteau E, Disse E, Guyomarc'h-Delasalle B, Laville M, Krempf M. Fasting plasma chenodeoxycholic acid and cholic acid concentrations are inversely correlated with insulin sensitivity in adults. *Nutrition & metabolism*. 2011;8(1):48.
92. Pucci A, Batterham RL. Mechanisms underlying the weight loss effects of RYGB and SG: similar, yet different. *J Endocrinol Invest*. 2019;42(2):117-128.
93. Dirksen C, Jorgensen NB, Bojsen-Moller KN, Kielgast U, Jacobsen SH, Clausen TR, Worm D, Hartmann B, Rehfeld JF, Damgaard M, Madsen JL, Madsbad S, Holst JJ, Hansen DL. Gut hormones, early dumping and resting energy expenditure in patients with good and poor weight loss response after Roux-en-Y gastric bypass. *International journal of obesity (2005)*. 2013;37(11):1452-1459.
94. Gerhard GS, Styer AM, Wood GC, Roesch SL, Petrick AT, Gabrielsen J, Strodel WE, Still CD, Argyropoulos G. A role for fibroblast growth factor 19 and bile acids in diabetes remission after Roux-en-Y gastric bypass. *Diabetes care*. 2013;36(7):1859-1864.
95. Watanabe M, Houten SM, Matakaki C, Christoffolete MA, Kim BW, Sato H, Messaddeq N, Harney JW, Ezaki O, Kodama T, Schoonjans K, Bianco AC, Auwerx J. Bile acids induce energy expenditure by promoting intracellular thyroid hormone activation. *Nature*. 2006;439(7075):484-489.
96. Steinert RE, Peterli R, Keller S, Meyer-Gerspach AC, Drewe J, Peters T, Beglinger C. Bile acids and gut peptide secretion after bariatric surgery: a 1-year prospective randomized pilot trial. *Obesity (Silver Spring)*. 2013;21(12):E660-668.
97. Patti ME, Houten SM, Bianco AC, Bernier R, Larsen PR, Holst JJ, Badman MK, Maratos-Flier E, Mun EC, Pihlajamaki J, Auwerx J, Goldfine AB. Serum bile acids are higher in humans with prior gastric bypass: potential contribution to improved glucose and lipid metabolism. *Obesity (Silver Spring)*. 2009;17(9):1671-1677.
98. Liou AP, Paziuk M, Luevano JM, Jr., Machineni S, Turnbaugh PJ, Kaplan LM. Conserved shifts in the gut microbiota due to gastric bypass reduce host weight and adiposity. *Science translational medicine*. 2013;5(178):178ra141.
99. Castellanos A. Role of hypothalamic bile acid-TGR5 signaling in the regulation of energy balance. *Endocrine Abstracts*. 2019;63(OC6.3).

100. Chavez-Talavera O, Baud G, Spinelli V, Daoudi M, Kouach M, Goossens JF, Vallez E, Caiazza R, Ghunaim M, Hubert T, Lestavel S, Tailleux A, Staels B, Pattou F. Roux-en-Y gastric bypass increases systemic but not portal bile acid concentrations by decreasing hepatic bile acid uptake in minipigs. *International journal of obesity (2005)*. 2017;41(4):664-668.
101. Spinelli V, Lalloyer F, Baud G, Osto E, Kouach M, Daoudi M, Vallez E, Raverdy V, Goossens JF, Descat A, Doytcheva P, Hubert T, Lutz TA, Lestavel S, Staels B, Pattou F, Tailleux A. Influence of Roux-en-Y gastric bypass on plasma bile acid profiles: a comparative study between rats, pigs and humans. *International journal of obesity (2005)*. 2016;40(8):1260-1267.
102. de Boer JF, Verkade E, Mulder NL, de Vries HD, Huijkman N, Koehorst M, Boer T, Wolters JC, Bloks VW, van de Sluis B, Kuipers F. A human-like bile acid pool induced by deletion of hepatic Cyp2c70 modulates effects of FXR activation in mice. *J Lipid Res*. 2020;61(3):291-305.
103. Assié G, Libé R, Espiard S, Rizk-Rabin M, Guimier A, Luscap W, Barreau O, Lefèvre L, Sibony M, Guignat L, Rodriguez S, Perlemoine K, René-Corail F, Letourneur F, Trabulsi B, Poussier A, Chabbert-Buffet N, Borson-Chazot F, Groussin L, Bertagna X, Stratakis CA, Ragazzon B, Bertherat J. ARMC5 Mutations in Macronodular Adrenal Hyperplasia with Cushing's Syndrome. *N Engl J Med*. 2013;369(22):2105-2114.
104. Espiard S, Drougat L, Libe R, Assie G, Perlemoine K, Guignat L, Barrande G, Brucker-Davis F, Doullay F, Lopez S, Sonnet E, Torremocha F, Pinsard D, Chabbert-Buffet N, Raffin-Sanson ML, Groussin L, Borson-Chazot F, Coste J, Bertagna X, Stratakis CA, Beuschlein F, Ragazzon B, Bertherat J. ARMC5 Mutations in a Large Cohort of Primary Macronodular Adrenal Hyperplasia: Clinical and Functional Consequences. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(6):E926-935.
105. Espiard S, Drougat L, Libé R, Assié G, Perlemoine K, Guignat L, Barrande G, Brucker-Davis F, Doullay F, Lopez S, Sonnet E, Torremocha F, Pinsard D, Chabbert-Buffet N, Raffin-Sanson M-L, Groussin L, Borson-Chazot F, Coste J, Bertagna X, Stratakis CA, Beuschlein F, Ragazzon B, Bertherat J. ARMC5 mutations in a large cohort of primary macronodular adrenal hyperplasia: clinical and functional consequences. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;jc20144204.
106. Espiard S, Ragazzon B, Bertherat J. Protein kinase A alterations in adrenocortical tumors. *Horm Metab Res*. 2014;46(12):869-875.
107. Berthon A, Faucz FR, Espiard S, Drougat L, Bertherat J, Stratakis CA. Age-dependent effects of Armc5 haploinsufficiency on adrenocortical function. *Hum Mol Genet*. 2017;26(18):3495-3507.
108. Louiset E, Duparc C, Young J, Renouf S, Tetsi Nomigni M, Boutelet I, Libé R, Bram Z, Groussin L, Caron P, Tabarin A, Grunenberger F, Christin-Maitre S, Bertagna X, Kuhn J-M, Anouar Y, Bertherat J, Lefebvre H. Intraadrenal corticotropin in bilateral macronodular adrenal hyperplasia. *N Engl J Med*. 2013;369(22):2115-2125.
109. Stratakis CA, Kirschner LS, Carney JA. Clinical and molecular features of the Carney complex: diagnostic criteria and recommendations for patient evaluation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(9):4041-4046.
110. Bertherat J, Horvath A, Groussin L, Grabar S, Boikos S, Cazabat L, Libe R, René-Corail F, Stergiopoulos S, Bourdeau I, Bei T, Clauser E, Calender A, Kirschner LS, Bertagna X, Carney JA, Stratakis CA. Mutations in regulatory subunit type 1A of cyclic adenosine 5'-monophosphate-dependent protein kinase (PRKAR1A): phenotype analysis in 353 patients and 80 different genotypes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(6):2085-2091.

111. Horvath A, Bertherat J, Groussin L, Guillaud-Bataille M, Tsang K, Cazabat L, Libé R, Remmers E, René-Corail F, Faucz FR, Clauser E, Calender A, Bertagna X, Carney JA, Stratakis CA. Mutations and polymorphisms in the gene encoding regulatory subunit type 1-alpha of protein kinase A (PRKAR1A): an update. *Hum Mutat.* 2010;31(4):369-379.
112. Groussin L, Horvath A, Jullian E, Boikos S, Rene-Corail F, Lefebvre H, Cephise-Velayoudom F-L, Vantyghem M-C, Chanson P, Conte-Devolx B, Lucas M, Gentil A, Malchoff CD, Tissier F, Carney JA, Bertagna X, Stratakis CA, Bertherat J. A PRKAR1A mutation associated with primary pigmented nodular adrenocortical disease in 12 kindreds. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(5):1943-1949.
113. Espiard S, Vantyghem MC, Assie G, Cardot-Bauters C, Raverot G, Brucker-Davis F, Archambeaud-Mouvieroux F, Lefebvre H, Nunes ML, Tabarin A, Lienhardt A, Chabre O, Houang M, Bottineau M, Stroer S, Groussin L, Guignat L, Cabanes L, Feydy A, Bonnet F, North MO, Dupin N, Grabar S, Duboc D, Bertherat J. Frequency and Incidence of Carney Complex Manifestations: A Prospective Multicenter Study With a Three-Year Follow-Up. *J Clin Endocrinol Metab.* 2020;105(3).
114. Espiard S, Benomar K, Loyer C, Vahe C, Vantyghem MC. European recommendations for the management of adrenal incidentalomas: A debate on patients follow-up. *Ann Endocrinol (Paris).* 2018;79(1):45-48.
115. Chiodini I, Morelli V. Subclinical Hypercortisolism: How to Deal with It? *Front Horm Res.* 2016;46:28-38.
116. Debono M, Bradburn M, Bull M, Harrison B, Ross RJ, Newell-Price J. Cortisol as a marker for increased mortality in patients with incidental adrenocortical adenomas. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(12):4462-4470.
117. Di Dalmazi G, Vicennati V, Garelli S, Casadio E, Rinaldi E, Giampalma E, Mosconi C, Golfieri R, Paccapelo A, Pagotto U, Pasquali R. Cardiovascular events and mortality in patients with adrenal incidentalomas that are either non-secreting or associated with intermediate phenotype or subclinical Cushing's syndrome: a 15-year retrospective study. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2014;2(5):396-405.
118. Patrova J, Jarocka I, Wahrenberg H, Falhammar H. Clinical Outcomes in Adrenal Incidentaloma: Experience from One Center. *Endocr Pract.* 2015;21(8):870-877.
119. Fassnacht M, Arlt W, Bancos I, Dralle H, Newell-Price J, Sahdev A, Tabarin A, Terzolo M, Tsagarakis S, Dekkers OM. Management of adrenal incidentalomas: European Society of Endocrinology Clinical Practice Guideline in collaboration with the European Network for the Study of Adrenal Tumors. *Eur J Endocrinol.* 2016;175(2):G1-G34.
120. Lopez D, Luque-Fernandez MA, Steele A, Adler GK, Turchin A, Vaidya A. "Nonfunctional" Adrenal Tumors and the Risk for Incident Diabetes and Cardiovascular Outcomes: A Cohort Study. *Ann Intern Med.* 2016;165(8):533-542.
121. Yener S, Baris M, Secil M, Akinci B, Comlekci A, Yesil S. Is there an association between non-functioning adrenal adenoma and endothelial dysfunction? *J Endocrinol Invest.* 2011;34(4):265-270.
122. Androulakis, II, Kaltsas GA, Kollias GE, Markou AC, Gouli AK, Thomas DA, Alexandraki KI, Papamichael CM, Hadjidakis DJ, Piaditis GP. Patients with apparently nonfunctioning adrenal incidentalomas may be at increased cardiovascular risk due to excessive cortisol secretion. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(8):2754-2762.

ANNEXE

25 **Clinical Trial Registration number : NCT00915343**

26

27 **Corresponding author's contact information:**

28 Espiard Stéphanie

29 *Present address:* Department of Endocrinology, diabetology and metabolism, Huriez Hospital, Lille

30 University, Lille, France

31 E-mail: stephanie.espiard@live.fr

32 Phone number: +33 3 20445962

33

34 **Name and address of person to whom reprint requests should be addressed:**

35 Stéphanie Espiard,

36 Present address: Service d'endocrinologie, diabétologie et métabolisme, Hôpital Huriez, rue Michel

37 Polonovski, CHRU Lille, 59037 Lille Cedex, France

38

39 **Source of funding:** This project received financial support from the Swedish Research Council (Project
40 2015-02561), Swedish federal government under the LUA/ALF agreement (ALFGBG-719531) and
41 Investigator initiated research grant from Shire International GmbH (SWE_000991).

42 SE is supported for this work by a FRM (Fondation pour la Recherche Médicale) post-doctoral grant.

43

44 **Disclosure summary:** MS declares a research Funding from Shire Ltd. GJ declares periodic
45 consulting and lecture fees for Shire. Other authors have nothing to declare in relation to this work.

46

47

48

49 **Abstract**

50 **Introduction:** Oral once-daily dual-release hydrocortisone (DR-HC) replacement therapy has
51 demonstrated an improved metabolic profile among patients with adrenal insufficiency (AI) compared
52 to conventional thrice-daily (TID-HC) therapy. This effect could be related to a more physiological
53 cortisol profile, but also to a modified pattern of cortisol metabolism.

54 **Objective:** To study cortisol metabolism during DR-HC and TID-HC.

55 **Methods:** Patients with primary AI received DR-HC or an equal total daily dose of TID-HC in a
56 randomized crossover 3-month multi-center study. Cortisol metabolites were measured by gas
57 chromatography/mass spectrometry on 24h urinary collections from patients and healthy controls.

58 **Results:** Fifty patients and 124 healthy controls were included. Total cortisol metabolites decreased
59 during DR-HC compared to TID-HC ($p < 0.001$) and reached controls' values ($p = 0.089$). Compared to
60 controls, the urinary THF+5 α THF/THE ratio, reflecting 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1
61 (11 β HSD1) activity, was increased with both DR-HC ($p < 0.001$) and TID-HC ($p < 0.001$) but was
62 reduced with DR-HC compared with TID-HC ($p < 0.05$). Urinary E/F reflecting 11 β HSD2 activity was
63 decreased with TID-HC versus controls ($p < 0.01$) but normalized with DR-HC ($p = 0.358$). The 5 α and
64 5 β -reduced metabolites decreased with DR-HC compared to TID-HC. The urinary THF/5 α THF ratio
65 was increased during both treatments indicating an increased 5 β -reductase activity.

66 **Conclusion:** The urinary cortisol metabolome shows striking abnormalities in patients receiving
67 conventional HC replacement therapy with increased 11 β HSD1 activity that may account for the
68 deleterious metabolic phenotype in AI. Its change towards normalization with DR-HC may mediate
69 some beneficial metabolic effects. The urinary cortisol metabolome may serve as a tool to assess a more
70 optimal cortisol replacement therapy.

71

72 **Précis:** Patients with adrenal insufficiency treated by conventional hydrocortisone harbor an abnormal
73 pattern of cortisol metabolism. Treatment with dual release hydrocortisone re-establishes a profile close
74 to healthy controls.

Frequency and Incidence of Carney Complex Manifestations: A Prospective Multicenter Study With a Three-Year Follow-Up

Stéphanie Espiard^{1,2,3}, Marie-Christine Vantyghem³, Guillaume Assié^{1,2}, Catherine Cardot-Bauters³, Gerald Raverot⁴, Françoise Brucker-Davis⁵, Françoise Archambeaud-Mouvier⁶, Hervé Lefebvre⁷, Marie-Laure Nunes⁸, Antoine Tabarin⁸, Anne Lienhardt⁹, Olivier Chabre¹⁰, Muriel Houang¹¹, Muriel Bottineau¹², Sebastian Stroër¹³, Lionel Groussin^{1,2}, Laurence Guignat², Laure Cabanes¹⁴, Antoine Feydy¹³, Fideline Bonnet¹⁵, Marie Odile North¹⁶, Nicolas Dupin¹⁷, Sophie Grabar¹², Denis Duboc¹⁴, and Jérôme Bertherat^{1,2}

¹INSERM U1016, CNRS UMR8104, Institut Cochin, Université Paris Descartes, 75005 Paris; ²Service d'Endocrinologie, Centre de référence des maladies rares de la surrénale, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Hôpital Cochin, 75014 Paris, France; ³Service d'endocrinologie, diabétologie, métabolisme et nutrition, CHR-U de Lille, Hôpital Huriez, 59000 Lille, France; ⁴Fédération d'endocrinologie, groupement Hospitalier Est, Hospices Civils de Lyon, 69677 Bron, France; ⁵Service d'endocrinologie, diabétologie et médecine de la reproduction, CHU de Nice, 06200 Nice, France; ⁶Service d'endocrinologie, CHU de Limoges, Hôpital Le Cluzeau, 87000 Limoges, France; ⁷Service d'endocrinologie, diabète et maladie métabolique, CHU de Rouen, 76031 Rouen, France; ⁸Service d'endocrinologie, diabétologie et maladies métaboliques, Faculté de médecine Bordeaux-Victor-Ségalen, CHU de Bordeaux, Hôpital Haut-Lévêque, 33600 Pessac, France; ⁹Service de Pédiatrie, CHU de Limoges, 87000 Limoges, France; ¹⁰Service d'Endocrinologie, CHU Grenoble Alpes and Université Grenoble Alpes, 38043 Grenoble, France; ¹¹Service d'endocrinologie pédiatrique, CHU Paris Est, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, 75012 Paris, France; ¹²Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité AP-HP, Unité de Biostatistique et Epidémiologie, Groupe Hospitalier Cochin Broca Hôtel-Dieu, Paris, France; ¹³Service de Radiologie B, AP-HP, Hôpital Cochin, 27 rue du Faubourg Saint-Jacques, 75014 Paris, France; ¹⁴Service de Cardiologie, Hôpital Cochin, APHP, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, 75014 Paris, France; ¹⁵Service d'Hormonologie, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Hôpital Cochin, 75014 Paris, France; ¹⁶Service d'Oncogénétique, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Hôpital Cochin, 75014 Paris, France; and ¹⁷Service de Dermatologie, Hôpital Cochin, Assistance publique - Hôpitaux de Paris, 75014 Paris, France

ORCID number: 0000-0001-8756-7218 (O. Chabre).

Introduction: Carney Complex (CNC) is a rare multiple endocrine and nonendocrine neoplasia syndrome. Manifestations and genotype-phenotype correlations have been described by retrospective studies, but no prospective study evaluating the occurrence of the different manifestations has been available so far.

Methods: This multicenter national prospective study included patients with CNC, primary pigmented nodular adrenal disease (PPNAD), or a pathogenic *PRKAR1A* mutation; after a full initial workup, participants were followed for 3 years with annual standardized evaluation.

Reversal of a Blunted Follicle-Stimulating Hormone by Chemotherapy in an Inhibin B–Secreting Adrenocortical Carcinoma

Stéphanie Espiard,^{1*} Najiba Lahlou,^{2*} Mathilde Sibony,³ Estelle Louiset,⁶
Marie Bienvenu,⁴ Jérôme Bertherat,^{1,7} Bertrand Dousset,^{5,7} Lionel Groussin,^{1,7*}
and Rossella Libé^{1,8*}

*Departments of ¹Endocrinology, ²Hormonology, ³Pathology, ⁴Nuclear Medicine, and
⁵Endocrine Surgery, Cochin Hospital, 75014 Paris, France;*

*⁶Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale Unité 982, Laboratory of Neuronal and
Neuroendocrine Differentiation and Communication, Institute for Research and Innovation in
Biomedicine, France University of Rouen, 76130 Mont-Saint-Aignan, France;*

*⁷Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale Unité 1016, Centre National de la Recherche
Scientifique Unité Mixte de Recherche 8104, Université Paris-Descartes, Institut Cochin, 75014 Paris,
France; and*

⁸French Network for Adrenal Cancer, Cochin Hospital, 75014 Paris, France

Context: Adrenocortical carcinomas (ACCs) are revealed in 60% of cases by steroid hypersecretion. Alternatively, it is uncommon to observe a paraneoplastic syndrome due to a peptide oversecretion.

Case Description: We describe a 60-year-old man with a right adrenal mass. Hormonal evaluation showed an ACTH-independent Cushing syndrome. Surprisingly, follicle-stimulating hormone (FSH) levels were suppressed and blunted during gonadotropin-releasing hormone stimulation, despite normal luteinizing hormone levels. Levels of inhibin B, which negatively regulates the pituitary FSH, were very high. Given the atypical hormonal findings, an adrenal mass biopsy was performed, which allowed the diagnosis of an adrenocortical tumor (positive for steroidogenic factor-1 immunostaining). Moreover, an intense α -inhibin subunit immunostaining was observed. Because of the presence of metastases, the patient received mitotane and chemotherapy (etoposide and cisplatin). After 2 cycles, the inhibin B dropped. After 5 cycles, tumor size was reduced by 15%. Inhibin B levels remained low, and basal and gonadotropin-releasing hormone–stimulated FSH levels normalized. The patient underwent tumor resection, and pathology confirmed the ACC diagnosis (Weiss score of 9). The intensity of the α -inhibin subunit immunostaining was significantly decreased.

Conclusions: We report the case of an inhibin B–secreting ACC in which the response to chemotherapy and mitotane was associated with a normalization of inhibin B secretion, allowing the reversal of the blunted FSH secretion. Inhibin B should be measured in case of suppressed FSH levels despite normal luteinizing hormone levels and may be considered a tumoral marker in some ACCs, even during treatment follow-up.

Copyright © 2017 by the Endocrine Society

This article has been published under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY-NC-ND; <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Freeform/Key Words: inhibin B, adrenocortical carcinoma, tumor marker

Adrenocortical carcinoma (ACC) is a rare malignancy of the adrenal gland with a poor prognosis, especially in metastatic stages, with a 5 year overall survival of 0% to 15%, depending on the series. ACC presents with symptoms caused by hormone production (glucocorticoids, androgens, mineralocorticoids, or estrogens) in ~60% of the cases [1].

*These authors contributed equally to this study.

Abbreviations: ACC, adrenocortical carcinoma; FSH, follicle-stimulating hormone; GnRH, gonadotropin-releasing hormone; IGF2, insulin-like growth factor 2; LH, luteinizing hormone

Letter to the Editor

Arnaud Jannin, Lucas Peltier, Michèle d'Herbomez, Frédérique Defrance, Sophie Marcelli, Adrien Ben Hamou, Linda Humbert, Jean-Louis Wémeau, Marie-Christine Vantyghem* and Stéphanie Espiard*

Lesson from inappropriate TSH-receptor antibody measurement in hypothyroidism: case series and literature review

<https://doi.org/10.1515/cclm-2019-0090>

Received January 26, 2019; accepted February 6, 2019

Keywords: autoantibody; autoimmune thyroid disease; bioassay; severe hypothyroidism; thyrotropin (TSH)-receptor blocking antibodies.

To the Editor,

Autoimmune thyroid diseases (AITD) occur frequently, and two biological markers of thyroid autoimmunity are used routinely: anti-thyroid peroxidase antibodies (TPO-Abs) and anti-thyrotropin receptor (TSHR) antibodies (TRAbs). According to the American guidelines, TPO-Abs should not be measured in every patient with hypothyroidism but in those with subclinical hypothyroidism, as in these cases results can modify patient management. Otherwise, measurement of TRAbs is recommended in all cases of hyperthyroidism for the diagnosis of Grave's disease (GD) [1].

***Corresponding authors: Marie-Christine Vantyghem, MD, PhD,** Department of Endocrinology, Diabetology and Metabolism, CHU Lille, F-59000, Lille, France, E-mail: mcvantyghem@gmail.com; and **Dr. Stéphanie Espiard, MD, PhD,** Department of Endocrinology, Diabetology and Metabolism, CHU Lille, 1, Rue Polonovski, 59037 Lille, France, Phone: +33 (0)3 2 0444 535, Fax: +33 (0)3 2 0446 985, E-mail: stephanie.espiard@live.fr

Arnaud Jannin, Adrien Ben Hamou, Linda Humbert and Jean-Louis Wémeau: Department of Endocrinology, Diabetology and Metabolism, CHU Lille, Lille, France.

<https://orcid.org/0000-0002-6031-4816> (A. Jannin)

Lucas Peltier: CHU Rennes, Department of Biochemistry, Rennes, France; and University of Rennes 1, Faculty of Medicine, Rennes, France

Michèle d'Herbomez: CHU Lille, Immunoanalysis Center, Biology and Pathology Center, Lille, France

Frédérique Defrance: CH Bethune, Endocrinology, Diabetology and Metabolism, Bethune, France

Sophie Marcelli: Medical Practice Endocrinology, Roubaix, France

In contrast to TPO-Abs, TRAbs are directly responsible for thyroid dysfunction. Stimulating TRAbs, known as thyroid stimulating antibodies (TSAbs), activate the cAMP pathway through TSHR, leading to hyperthyroidism. In some patients, other TRAbs, known as thyroid blocking antibodies (TBAbs) act rather as competitive inhibitors of TSH binding to TSHR, thereby favoring hypothyroidism. The functional activity of TRAbs can be evaluated by a bioassay. The presence of TBAbs has been mainly described in GD, where a "switch" in the production of TSAbs towards TBAbs has been described [2]. The prevalence of TBAbs in patients with AITD has been estimated at 9.3% [3]. Despite a large amount of literature on these antibodies [4], data about the clinical presentation of hypothyroidic patients with TBAbs are scarce. Indeed, testing for TBAbs is recommended in pregnant women with a history of GD; it is also often done in patients with GD with difficulty in treatment adjustment or secondary progression towards hypothyroidism, as well as in patients with orbitopathy without GD. Between 2010 and 2017, a functional TRAbs bioassay was requested by the Department of Biology at Lille University for 39 patients, including 30 patients with such a background and nine patients having hypothyroidism without a history of hyperthyroidism or ophthalmopathy. We therefore reviewed the clinical presentation of these nine patients (Table 1).



The TRAbs measurements were performed in one pregnant patient (P1), in three patients (P3, P6, P9) with bone marrow transplant (BMT) and because of negative or low levels of TPO-Abs and antithyroglobulin antibodies (Tg-Abs) in two patients (P2, P5). In the three other cases, the reason for prescription was unclear. The inhibitory activity of TRAbs was determined with a bioassay using JP26 Chinese hamster ovary cells transfected with cloned human TSHR, as has been previously described [5]. The blocking activity was expressed as a percentage of thyrocyte inhibition and was considered positive above 30%. Concomitant stimulating activity was also detected in one

RESEARCH

Open Access



Systematic thyroid screening in myotonic dystrophy: link between thyroid volume and insulin resistance

Adrien Ben Hamou^{1,13*} , Stéphanie Espiard¹, Christine Do Cao¹, Miriam Ladsous¹, Camille Loyer¹, Alexandre Moerman², Samuel Boury³, Maéva Kyheng⁴, Claire-Marie Dhaenens⁵, Vincent Tiffreau⁶, Pascal Pigny⁷, Gilles Lebuffe⁸, Robert Caiazza^{9,11,12}, Sébastien Aubert¹⁰ and Marie Christine Vantghem^{1,6,11,12,13*} 

Abstract

Background: Myotonic dystrophy (DM1), a neuromuscular disease related to *DMPK* gene mutations, is associated to endocrine disorders and cancer. A routine endocrine work-up, including thyroid ultrasound (US), was conducted in 115 genetically-proven DM1 patients in a neuromuscular reference center. The aim of this study was to determine the prevalence and the causes of US thyroid abnormalities in DM1.

Results: In the whole population (age 45.1 ± 12.2 years, 61.7% female), palpable nodules or goiters were present in 29.2%. The percentage of US goiter (thyroid volume > 18 mL) and US nodules were, respectively, 38.3 and 60.9%. Sixteen of the 115 patients had a thyroidectomy, after 22 fine-needle aspiration cytology guided by thyroid imaging reporting and data system (TIRADS) classification. Six micro- (1/6 pT3) and 3 macro-papillary thyroid carcinoma (PTCs) (2/3 intermediate risk) were diagnosed (7.9% of 115). Thyroid US led to the diagnosis of 4 multifocal and 2 unifocal (including 1 macro-PTC) non-palpable PTCs. Ultrasound thyroid volume was positively correlated to body mass index (BMI) ($p = 0.015$) and parity ($p = 0.036$), and was inversely correlated to TSH ($p < 0.001$) and vitamin D levels ($p = 0.023$). The BMI, the frequencies of glucose intolerance and PTC were significantly higher in UsGoiter versus non-UsGoiter groups.

Conclusion: In this systematically screened DM1 cohort, the frequency of UsGoiter, mainly associated to BMI, was about 40%, US nodules 60%, thyroidectomies 13–14%, and PTCs 8%, two-thirds of them being micro-PTCs with good prognosis. Therefore, a systematic screening remains debatable. A targeted US screening in case of clinical abnormality or high BMI seems more appropriate.

Keywords: Myotonic dystrophy, Papillary thyroid carcinoma, Ultrasound scan, Thyroid nodule, Thyroid goiter

Introduction

Myotonic dystrophy (DM) is the most common inherited, autosomal dominant neuromuscular disorder in adults, affecting 1 out of 8000 people. This multi-systemic disease causes myotonia and muscle weakness in skeletal muscles with a risk of life-threatening cardiorespiratory disorders. The disease is very heterogeneous with regard to the age of onset, clinical manifestations, and severity. Two genetic types of DM have been described corresponding to an expansion of, respectively, cytosine thymidine guanine (CTG) and CCTG repeats in non-coding regions

(3'-untranslated region) of the myotonic dystrophy protein kinase (*DMPK*) gene for DM1, and zinc finger protein 9 (*ZnF9*) gene for DM2.

The length of the (CTG)_n repeat expansion in DM1 is correlated with the severity of the disease and age of onset, defining five clinical types (congenital, infantile, juvenile, adult onset and late onset forms) [1]. The nuclear retention of mutant ribonucleic acid (RNA) alters RNA metabolism in patient's tissues by targeting RNA-binding proteins, particularly Cytosine-Uridine-Guanine-binding protein 1 (CUGBP1) and muscle blind-like protein 1 (MBNL1). The phenotype variability is also attributed to an anticipation mechanism and possible somatic mosaicism. There is currently no curative treatment [1, 2].

* Correspondence: adrien.benhamou@hotmail.fr; mc-vantghem@chru-lille.fr

¹CHU Lille, Endocrinology, Diabetology and Metabolism, F-59000 Lille, France
Full list of author information is available at the end of the article



A Novel Mutation in THRA Gene Associated With an Atypical Phenotype of Resistance to Thyroid Hormone

Stéphanie Espiard,* Frédérique Savagner,* Frédéric Flamant,*
Virginie Vlaeminck-Guillem, Romain Guyot, Mathilde Munier,
Michele d'Herbomez, William Bourguet, Graziella Pinto, Christian Rose,
Patrice Rodien,* and Jean-Louis Wémeau*†

Context: RTH α is a recently discovered resistance to thyroid hormone (RTH) due to mutation of *THRA*, the gene encoding TR α 1, the thyroid hormone receptor. It has been described in a few patients with growth retardation, short stature, and a low free T₄/free T₃ (FT4/FT3) ratio.

Objective: A 27-year-old patient presenting with dwarfism and a low FT4/FT3 ratio was investigated.

Design: Clinical, biochemical, and radiological data were collected. Whole exome sequencing was performed in the patient and her relatives.

Results: The patient exhibited congenital macrocytic anemia and severe bone malformation with growth retardation, dwarfism, clavicular agenesis, and abnormalities of the fingers, toes, and elbow joints. In adulthood, she presented with active behavior, chronic motor diarrhea, and hypercalcemia. Treatment with T₃ led to heart rate acceleration, worsening of diarrhea, and TSH suppression. Low resting energy expenditure normalized on T₃, rT₃, SHBG, and IGF-1 remained normal. A de novo monoallelic missense mutation in *THRA* was discovered, the N359Y amino acid substitution (c.1075A>T), which affected both the TR α 1 and the non-receptor isoform TR α 2. The mutant TR α 1 had a decrease in transcriptional activity related to decreased T₃ binding and a dominant-negative effect on the wild-type receptor.

Conclusions: This patient presents a new phenotype including more significant bone abnormalities, lower TSH, and higher FT3 levels, without certainty of all her symptoms with the TR α 1^{N359Y} mutation. This case suggests that patients with a low FT4/FT3 ratio should be screened for *THRA* mutations, even if clinical and biological features differ from previous reported cases of RTH α . (*J Clin Endocrinol Metab* 100: 2841–2848, 2015)

The activity of thyroid hormones (THs), including T₃ and its less active precursor, T₄, is mainly mediated by specific nuclear receptors encoded by two genes, *THRA* (TH receptor α gene) and *THRB* (TH receptor β gene), which code for several thyroid receptors (TRs): TR α 1, TR β 1, and TR β 2. Although *THRA* expression is nearly ubiquitous, *THRB* expression is predominant in the liver, kidneys, pituitary gland, retina, and some areas of the adult brain (1). Due to alternate splicing, alternate start codon usage, and the presence of intronic transcription

promoter, *THRA* encodes a number of other proteins, namely TR α 2, TR α 3, TR $\Delta\alpha$ 1, TR $\Delta\alpha$ 2, p28, and p43. The functions of these evolutionary conserved proteins are currently unclear. Hundreds of *THRB* germline mutations have been reported, which cause a genetic disease originally called resistance to THs (RTH) but now known as RTH β (2).

In contrast, the first *THRA* germline mutations were reported only recently and led to the discovery of a new genetic disease called RTH α (3). The first mutation

ISSN Print 0021-972X ISSN Online 1945-7197

Printed in USA

Copyright © 2015 by the Endocrine Society

Received January 13, 2015. Accepted May 28, 2015.

First Published Online June 2, 2015

* S.E., F.S., F.F., P.R. and J.-L.W. contributed equally to this work.

† Author Affiliations are shown at the bottom of the next page.

Abbreviations: CDA-1, type 1 congenital dyserythropoietic anemia; DR4, direct repeat 4; FT3, free T₃; FT4, free T₄; N, normal; REE, resting energy expenditure; RTH, resistance to TH; TH, thyroid hormones; TR, thyroid receptor; WES, whole exome sequencing.

Ectopic Subcutaneous Implantation of Thyroid Tissue After Gasless Transaxillary Robotic Thyroidectomy for Papillary Thyroid Cancer

Stéphanie Espiard,¹ Gregory Petyt,² Georges Lion,² Amandine Béron,² Christine Do Cao,¹ Jean-Louis Wémeau,¹ Marie-Christine Vantghem,¹ Francois Pattou,³ and Robert Caiazzo³

Dear Editor:

Over the past decade, transaxillary robot-assisted thyroidectomy (TRAT) has played a growing role in the management of thyroid nodules. TRAT offers the benefit of avoiding neck scarring, and is also considered safe and effective for treating small symptomatic goiters, Graves' disease, and thyroid carcinomas in experienced hands (1). Despite thousands of patients being operated on in Asia for a long time, few cases of ectopic subcutaneous thyroid tissue (STI) presenting as new palpable masses several years after the original endoscopic thyroid surgery have recently been described (2,3). In our

center, 60 patients underwent a gasless TRAT between 2011 and 2014. Twenty of these patients had papillary carcinomas, and 19 of them subsequently underwent radioiodine therapy (RIT). ¹³¹I whole-body scans (WBSs) performed after RIT revealed that two of these patients had an abnormal uptake located in the surgical pathway, thus suggesting STI.

The two patients, women aged 33 and 39 years (see Fig. 1, panels 1 and 2, respectively), each presented initially with a single thyroid nodule (30 and 40 mm, respectively) in the right lobe, with nonsuspicious ultrasonography and cytological characteristics, but they reported some cervical discomfort. They underwent unilateral TRA lobectomy. In both instances,

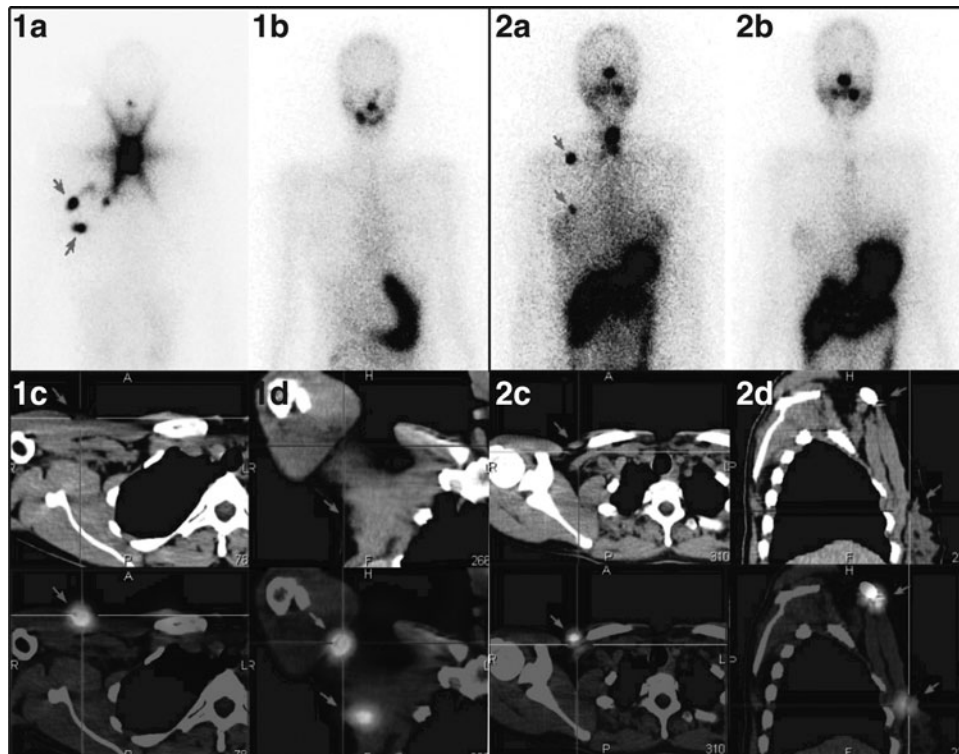


FIG. 1. Imaging studies of the patients with subcutaneous implantation of thyroid tissue after transaxillary robotic thyroidectomy. Panel 1: patient 1; panel 2: patient 2. Whole body scan acquired two days after the first radioiodine therapy (RIT; 3.7 GBq after levothyroxine withdrawal; 1a, 2a) shows ectopic thyroid tissue (arrows). The ectopic thyroid tissue is no longer detectable on scans performed after a second RIT (3.7 GBq after recombinant human thyrotropin stimulation; 1b, 2b). Single photon emission computed tomography performed at the time of the first RIT demonstrates ectopic ¹³¹I uptake without clear underlying lesions (arrows): axial (1c, 2c), coronal (1d), and sagittal plane (2d).

Departments of ¹Endocrinology and Metabolism, ²Nuclear Medicine, and ³Endocrine Surgery, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille, Lille, France.

Curriculum vitae : Stéphanie ESPIARD

Née le 23/01/1984 à Grande-Synthe

Nationalité Française

Adresse personnelle : 25 rue de la Baignerie, apt 5, Et 4, 59800 Lille

Adresse professionnelle : Service d'endocrinologie, diabétologie, métabolisme et nutrition, Hôpital Huriez, 4^{ème} Ouest, Rue Michel Polonovski, 59037 Lille Cedex

Tél. : 0683280537

Mail : stephanie.espiard@chru-lille.fr
stephanie.espiard@univ-lille.fr

Numéro Inscription à l'ordre : 59/23633	N° RPPS : 10100789774
SCORE SIGAPS : 396	SCORE SIAPS 2 : 299/NA/40
H-index (Web of science) : 10	

Sommaire du CV

1. Coursus académique et professionnel	2
1.1. Titres et Diplômes	2
1.2. Fonctions.....	2
1.3. Mobilités	2
1.4. Distinctions, prix et bourses	2
2. Activité d'encadrement	3
2.1. Encadrement en science	3
2.2. Encadrement en médecine.....	3
3. Liste des publications et communications	4
3.1. Publications dans des revues internationales ou nationales avec comité de lecture répertoriées par les bases de données internationales.....	4
3.2. Articles dans des revues nationales à comité de lecture.....	7
3.3. Chapitres d'ouvrages scientifiques et publications didactiques.....	7
3.4. Liste des communications libres	7
3.5. Articles de vulgarisation scientifique	10
4. Protocoles de recherche.....	10
4.1. Financement obtenu de protocoles de recherche	10
4.2. Participation active à des protocoles de recherche	11
4.3. Collaborations suivies avec d'autres laboratoires et équipes	11
5. Activités d'enseignements	12
5.1. Activités d'enseignements liées à la recherche	12
5.2. Autres activités d'enseignement universitaire	12
5.3. Participation à des jury de thèse.....	12
5.4. Conférences comme invitée	13
6. Activité d'animation et de rayonnement	14
6.1. Organisation de congrès/journées d'étude	14
6.2. Appartenance à des Comités de lecture.....	14
6.3. Réseaux et sociétés savantes	14

1. Coursus académique et professionnel

1.1. Titres et Diplômes

1.1.1. Recherche

- Doctorat de biologie moléculaire et cellulaire (université Paris Descartes), Novembre 2016
- Master 2 en biologie de la santé (université Lille 2), Octobre 2012

1.1.2. Médecine

- Doctorat de médecine (Université Lille 2), Octobre 2013
- DES d'endocrinologie et métabolisme (Université Lille 2), Octobre 2013
- Diplôme universitaire des pathologies hypothalamo-hypophysaires (université Paris Sud), 2010
- Diplôme inter-universitaire de thyroïdologie (Université Lille 2), 2012

1.2. Fonctions

- **2018- présent** : maître de conférences – praticien hospitalier, service d'endocrinologie, diabétologie et métabolisme, CHR-U de Lille ; UMR 1190, équipe du Pr Pattou, EGID
- **2017-2018** : chercheur postdoctoral, département d'endocrinologie, équipe du Pr. Gudmundur Johannsson, Université Sahlgrenska, Göteborg, Suède.
- **2015-2017** : chef de clinique des universités, service d'endocrinologie, diabétologie et métabolisme, CHR-U de Lille.
- **2013-2015** : poste-accueil INSERM, INSERM U1016, Institut Cochin, équipe « tumeurs endocrines », Paris.
- **2011-2012** : année recherche, INSERM U1016, Institut Cochin, équipe « tumeurs endocrines », Paris
- **2008-2011 & 2012-2013** : internat (Université Lille 2) : interne en médecine inter-région Nord; inter-CHU service d'endocrinologie, Hôpital Cochin, Paris ; hors filière, service de biologie hormonale, CBP, CHRU de Lille.

1.3. Mobilités

- **Nov 2017-Sep 2018** : Post-doctorat, département d'endocrinologie, équipe du Pr. Gudmundur Johannsson, Université Sahlgrenska, Göteborg, Suède
- **Mai 2014- Janv 2015** : Visiteur scientifique, laboratoire du Dr. Stratakis, Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development (NICHD), National Institut of Health, Bethesda, USA

1.4. Distinctions, prix et bourses

1.4.1. Financements personnels et bourses obtenus

- Travel award : nommée par la société française d'endocrinologie (SFE) pour le programme « Global Leader Academic » du congrès américain d'endocrinologie ENDO 2020

- Bourse post-doctorale de la FRM (2017-2018)
- Bourse de thèse « Poste-accueil », INSERM (2013-2015)
- Bourses doctorales de mobilité de l'université Paris Descartes (2014)
- Bourse de master 2 « Année recherche », ministère de la santé (2011-2012)

1.4.2. Prix et distinctions

- Prix « International Endocrine Scholars Program », société européenne d'endocrinologie (2017)
- Prix « meilleure communication orale », congrès de la SFE (2017)
- Prix « meilleure publication de l'année », European Network for the Study of Adrenal Tumors (2014)
- Prix « meilleure communication orale », congrès de la SFE (2013)

2. Activité d'encadrement

2.1. Encadrement en science

2.1.1. Co-encadrement de thèses de science

- **2017-présent** : Ph.D medical science, Johanna Mc Queen (co-encadrement) (Université Sahlgrenska, Göteborg)

2.1.2. Encadrement de masters

- **2020-2021**: master 2 Biologie-Santé, parcours « precision health », Hipolyte Dupuis (Université de Lille)
- **2014**: master 1, Lucas Cécily (co-encadrement) (NICHD, NIH, Bethesda)

2.1.3. Autres

- **2015** : étudiant ERASMUS, Radu Dragulin (institut Cochin, Paris)

2.2. Encadrement en médecine

2.2.1. Thèses de médecine

- **Soutenance en 2019** : 2 thèses (Arnaud Jannin et Fatimetou Abderrahmane)
- **Soutenance prévue en 2020** : 1 thèse (Mélicha Bourgeau)
- **Soutenances prévues en 2021** : 3 thèses (Pierre-Loup Herman, Elise Bouillet, Léa Bouttement)

2.2.2. Mémoires

- **2017-présent** : mémoire de DIU de thyroïdologie, Arnaud Jannin

3. Liste des publications et communications

3.1. Publications dans des revues internationales ou nationales avec comité de lecture répertoriées par les bases de données internationales

Cf. annexe avec indicateurs de production scientifique pour facteurs d'impact et quantiles du domaine.

3.1.1. Publications avant la thèse de science

1. **Espiard S***, Balavoine AS, Mouton F, Fry S, Vantyghem MC, Wémeau JL. [Endocrine disorders in a polymedicated patient]. *Presse Med.* 2013 Mar;42(3):378-81. ***Corresponding author**

3.1.2. Publications des travaux de thèse de science

1. **Espiard S**, Drougat L, Settas N, Heydar S, Bathon K, Calebiro D, Bertherat J, Levine M, Constantine, Stratakis CA. Germline sequence variants of the second most important protein kinase A catalytic subunit (PRKACB) in patients with skeletal or adrenocortical disease. *Endocr Relat Cancer*. **Accepté**
2. Faillot S, Foulonneau T, Neou M, **Espiard S**, Garinet S, Vaczlavik A, Jouinot A, Luscap-Rondof W, Septier A, Drougat L, Perlemoine K, Ragazzon B, Rizk-Rabin M, Sibony M, Bonnet F, Guibourdenche J, Libe R, Groussin L, Dousset B, de Reyniès A, Bertherat J, Assié G. Genomic classification of benign adrenocortical lesions. *Endocr Relat Cancer*. **Révisions mineures**
3. **Espiard S****, Knape MJ**, Bathon K, Assié G, Rizk-Rabin M, Faillot S, Luscap-Rondof W, Abid D, Guignat L, Calebiro D, Herberg FW, Stratakis CA, Bertherat J. Activating PRKACB somatic mutation in cortisol-producing adenomas. *JCI Insight*. 2018 Apr 19;3(8). pii: 98296. ****Cofirst author**
4. Berthon A, Faucez FR, **Espiard S**, Drougat L, Bertherat J, Stratakis CA. Age-dependent effects of Armc5 haploinsufficiency on adrenocortical function. *Hum Mol Genet*. 2017 Sep 15;26(18):3495-3507.
5. Rego T, Fonseca F, **Espiard S**, Perlemoine K, Bertherat J, Agapito A. ARMC5 mutation in a Portuguese family with primary bilateral macronodular adrenal hyperplasia (PBMAH). *Endocrinol Diabetes Metab Case Rep*. 2017 Mar 27;2017.
6. Correa R, Zilbermint M, Berthon A, **Espiard S**, Batsis M, Papadakis GZ, Xekouki P, Lodish MB, Bertherat J, Faucez FR, Stratakis CA. The ARMC5 gene shows extensive genetic variance in primary macronodular adrenocortical hyperplasia. *Eur J Endocrinol*. 2015 Oct;173(4):435-40.
7. **Espiard S**, Drougat L, Libé R, Assié G, Perlemoine K, Guignat L, Barrande G, Brucker-Davis F, Doullay F, Lopez S, Sonnet E, Torremocha F, Pinsard D, Chabbert-Buffet N, Raffin-Sanson ML, Groussin L, Borson-Chazot F, Coste J, Bertagna X, Stratakis CA, Beuschlein F, Ragazzon B, Bertherat J. ARMC5 Mutations in a Large Cohort of Primary Macronodular Adrenal Hyperplasia: Clinical and Functional Consequences. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015 Jun;100(6):E926-35.
8. Zilbermint M, Xekouki P, Faucez FR, Berthon A, Gkourogianni A, Scherthaner-Reiter MH, Batsis M, Sinaii N, Quezado MM, Merino M, Hodes A, Abraham SB, Libé R, Assié G, **Espiard S**, Drougat L, Ragazzon B, Davis A, Gebreab SY, Neff R, Kebebew E, Bertherat J, Lodish MB, Stratakis CA. Primary Aldosteronism and ARMC5 Variants. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015 Jun;100(6):E900-9.
9. Faucez FR, Zilbermint M, Lodish MB, Szarek E, Trivellin G, Sinaii N, Berthon A, Libé R, Assié G, **Espiard S**, Drougat L, Ragazzon B, Bertherat J, Stratakis CA. Macronodular adrenal hyperplasia due to mutations in an armadillo repeat containing 5 (ARMC5) gene: a clinical and genetic investigation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014 Jun;99(6):E1113-9.

10. Assié G**, Libé R**, **Espiard S****, Rizk-Rabin M**, Guimier A, Luscap W, Barreau O, Lefèvre L, Sibony M, Guignat L, Rodriguez S, Perlemoine K, René-Corail F, Letourneur F, Trabulsi B, Poussier A, Chabbert-Buffet N, Borson-Chazot F, Groussin L, Bertagna X, Stratakis CA, Ragazzon B, Bertherat J. ARMC5 mutations in macronodular adrenal hyperplasia with Cushing's syndrome. *N Engl J Med*. 2013 Nov 28;369(22):2105-14. ****Cofirst author**

3.1.3. Publications après 2015 sans lien avec la thèse de science

1. **Espiard S****, McQueen J, Sherlock M, Ragnarsson O, Bergthorsdottir R, Burman B, Dahlqvist P, Ekman B, Engström BE, Nilsson AG, Skrtic S, Wahlberg J, Stewart PM, Johannsson G. Improved urinary cortisol metabolome in patients with primary adrenal insufficiency: a prospective randomized trial of dual-release hydrocortisone. *J Clin Endocrinol Metab*. **Révisions**. ****Corresponding author**
2. **Espiard S**, Vantyghem MC, Assié G, Cardot-Bauters C, Raverot G, Brucker-Davis F, Archambeaud-Mouvieroux F, Lefebvre H, Nunes ML, Tabarin A, Lienhardt A, Chabre O, Houang M, Bottineau M, Stroër S, Groussin L, Guignat L, Cabanes L, Feydy A, Bonnet F, North MO, Dupin N, Grabar S, Duboc D, Bertherat J. Frequency and Incidence of Carney Complex Manifestations: A Prospective Multicenter Study With a Three-Year Follow-Up. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020 Mar 1;105(3)
3. Vantyghem MC, Chetboun M, Gmyr V, Jannin A, **Espiard S**, Le Mapihan K, Raverdy V, Delalleau N, Machuron F, Hubert T, Frimat M, Van Belle E, Hazzan M, Pigny P, Noel C, Caiazzo R, Kerr-Conte J, Pattou F; Members of the Spanish Back Pain Research Network Task Force for the Improvement of Inter-Disciplinary Management of Spinal Metastasis. Ten-Year Outcome of Islet Alone or Islet After Kidney Transplantation in Type 1 Diabetes: A Prospective Parallel-Arm Cohort Study. *Diabetes Care*. 2019 Nov;42(11):2042-2049
4. Ben Hamou A, Ghanassia E, **Espiard S**, Abi Rached H, Jannin A, Correas JM, Do Cao C, Kyheng M, Vantyghem MC, Monpeyssen H. Safety and efficacy of thermal ablation (radiofrequency and laser): should we treat all types of thyroid nodules? (†). *Int J Hyperthermia*. 2019;36(1):666-676.
5. Ben Hamou A, Kipnis E, Elbaz A, Bignon A, Nseir S, Tamion F, Du Cheyron D, Jaillette E, Voisin B, Robriquet L, Vanbaelinghem C, Thellier D, Abi Rached H, Jannin A, Duhamel A, Behal H, Machuron F, **Espiard S**, Preiser JC, Preau S, Pattou F, Jourdain M. Association of transcription factor 7-like 2 gene (TCF7L2) polymorphisms with stress-related hyperglycaemia (SRH) in intensive care and resulting outcomes: The READIAB study. *Diabetes Metab*. 2019 May 20.
6. Jannin A, Peltier L, d'Herbomez M, Defrance F, Marcelli S, Ben Hamou A, Humbert L, Wémeau JL, Vantyghem MC, **Espiard S****. Lesson from inappropriate TSH-receptor antibody measurement in hypothyroidism: case series and literature review. *Clin Chem Lab Med*. 2019 Aug 27;57(9):e218-e221. ****Corresponding author**
7. Ben Hamou A, **Espiard S**, Do Cao C, Ladsous M, Loyer C, Moerman A, Boury S, Kyheng M, Dhaenens CM, Tiffreau V, Pigny P, Lebuffe G, Caiazzo R, Aubert S, Vantyghem MC. Systematic thyroid screening in myotonic dystrophy: link between thyroid volume and insulin resistance. *Orphanet J Rare Dis*. 2019 Feb 13;14(1):42.
8. Kwapich M, Lacroix D, **Espiard S**, Ninni S, Brigadeau F, Kouakam C, Degroote P, Laurent JM, Tiffreau V, Jannin A, Humbert L, Ben Hamou A, Tard C, Ben Yaou R, Lamblin N, Klug D, Richard P, Vigouroux C, Bonne G, Vantyghem MC; Diamenord-AEDNL Working Group. Cardiometabolic assessment of lamin A/C gene mutation carriers: a phenotype-genotype correlation. *Diabetes Metab*. 2019 Sep;45(4):382-389.
9. Bensmaïne F, Benomar K, **Espiard S**, Vahe C, Le Mapihan K, Lion G, Lemdani M, Chazard E, Ernst O, Vigouroux C, Pigny P, Vantyghem MC. Irisin levels in LMNA-associated partial lipodystrophies. *Diabetes Metab*. 2019 Jan;45(1):67-75.

10. Jannin A, **Espiard S**, Douillard C, Pasquier F, Bellanné-Chantelot C, Vantyghem MC. Hyperinsulinemic hypoglycemia without insulinoma: Think of activating glucokinase mutation. *Presse Med.* 2018 Jun;47(6):595-597.
11. Jannin A, **Espiard S**, Benomar K, Do Cao C, Mycinski B, Porte H, D'Herbomez M, Penel N, Vantyghem MC. Non-islet-cell tumour hypoglycaemia (NICTH): About a series of 6 cases. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2019 Feb;80(1):21-25.
12. **Espiard S**, Lahlou N, Sibony M, Louiset E, Bienvenu M, Bertherat J, Dousset B, Groussin L, Libé R. Reversal of a Blunted Follicle-Stimulating Hormone by Chemotherapy in an Inhibin B-Secreting Adrenocortical Carcinoma. *J Endocr Soc.* 2017 Jan 12;1(1):46-50.
13. Benomar K, Chetboun M, **Espiard S**, Jannin A, Le Mapihan K, Gmyr V, Caiazzo R, Torres F, Raverdy V, Bonner C, D'Herbomez M, Pigny P, Noel C, Kerr-Conte J, Pattou F, Vantyghem MC. Purity of islet preparations and 5-year metabolic outcome of allogenic islet transplantation. *Am J Transplant.* 2018 Apr;18(4):945-951.
14. **Espiard S****, Petyt G, Lion G, Béron A, Do Cao C, Wémeau JL, Vantyghem MC, Pattou F, Caiazzo R. Ectopic Subcutaneous Implantation of Thyroid Tissue After Gasless Transaxillary Robotic Thyroidectomy for Papillary Thyroid Cancer. *Thyroid.* 2015 Dec;25(12):1381-2. ****Corresponding author**
15. **Espiard S****, Savagner F, Flamant F, Vlaeminck-Guillem V, Guyot R, Munier M, d'Herbomez M, Bourguet W, Pinto G, Rose C, Rodien P, Wémeau JL. A Novel Mutation in THRA Gene Associated With an Atypical Phenotype of Resistance to Thyroid Hormone. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015 Aug;100(8):2841-8. ****Corresponding author**

3.1.4. Revues de la littérature

1. **Espiard S****, Benomar K, Loyer C, Vahé C, Vantyghem MC. European recommendations for the management of adrenal incidentalomas: A debate on patients follow-up. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2018 Feb;79(1):45-48. ****Corresponding author**
2. Benomar K, **Espiard S**, Loyer C, Jannin A, Vantyghem MC. [Atrial natriuretic hormones and metabolic syndrome: recent advances]. *Presse Med.* 2018 Feb;47(2):116-124.
3. **Espiard S****, Vantyghem MC, Desailoud R. Actualisation sur l'hypoparathyroïdie : un peu de théorie, beaucoup de pratique: Update on hypoparathyroidism: a little theory, a lot of practice. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2017 Oct;78 Suppl 1:S1-S10. ****Corresponding author**
4. Vahe C, Benomar K, **Espiard S**, Coppin L, Jannin A, Odou MF, Vantyghem MC. Diseases associated with calcium-sensing receptor. *Orphanet J Rare Dis.* 2017 Jan 25;12(1):19.
5. Benomar K, **Espiard S**, Vahe C, Le Mapihan K, Jannin A, Dharancy S, Hazzan M, Vantyghem MC. Post-transplantation diabetes: Treatment à la carte? *Diabetes Metab.* 2016 Nov 10.
6. Angelousi A, Zilbermint M, Berthon A, **Espiard S**, Stratakis CA. Diagnosis and Management of Hereditary Adrenal Cancer. *Recent Results Cancer Res.* 2016;205:125-47.
7. Vlaeminck-Guillem V, **Espiard S**, Flamant F, Wémeau JL. TR α receptor mutations extend the spectrum of syndromes of reduced sensitivity to thyroid hormone. *Presse Med.* 2015 Nov;44(11):1103-12.
8. Drougat L, **Espiard S**, Bertherat J. Genetics of primary bilateral macronodular adrenal hyperplasia: a model for early diagnosis of Cushing's syndrome? *Eur J Endocrinol.* 2015 Oct;173(4):M121-31.

9. **Espiard S**, Bertherat J. The genetics of adrenocortical tumors. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2015 Jun;44(2):311-34.
10. **Espiard S**, Ragazzon B, Bertherat J. Protein kinase A alterations in adrenocortical tumors. *Horm Metab Res.* 2014 Nov;46(12):869-75.
11. **Espiard S**, Bertherat J. Carney complex. *Front Horm Res.* 2013;41:50-62.

3.2. Articles dans des revues nationales à comité de lecture

1. Wémeau J-L, **Espiard S**, Vlaeminck-Guillem V, Jaffiol C. Différents degrés de sensibilité aux hormones thyroïdiennes. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine.* Volume 204, Issue 2, February 2020 Pages 186-197

3.3. Chapitres d'ouvrages scientifiques et publications didactiques

1. **Espiard S**, Bauters C, Cortet C, Douillard C, Ladsous M, Vantyghem MC. Endocrinopathie et excès pondéral. Elsevier Masson Consulte - Endocrinologie-Nutrition (*soumis*).
2. **Espiard S**, Vlaeminck V. Structure et physiologie thyroïdiennes. Elsevier Masson Consulte - Endocrinologie-Nutrition. 2019
3. Humbert L, **Espiard S**, Sendid B, Vantyghem MC, Polyendocrinopathies auto-immunes, Elsevier Masson Consulte - Endocrinologie-Nutrition. 2018
4. **Espiard S**, Johannsson G. Growth hormone deficiency in adult childhood cancer survivors. Springer nature - Cancer Aftercare and Late Treatment Effects in the Young: From Childhood to Early Adulthood, 2018.
5. **Espiard S**, Bertherat J. PPNAD, Carney complex and other micronodular hyperplasia. Elsevier - Encyclopedia of Endocrine Diseases, Second Edition, 2018
6. C. Do Cao C, Ladsous M, Leteurtre E, **Espiard S**, d'Herbomez M, Wémeau JL. Nodules du corps thyroïde. Elsevier Masson Consulte - Endocrinologie-Nutrition, volume 12, n°2, Avril 2015.
7. **Espiard S** et al. Tumeurs de la corticosurrénale : une moisson de nouveaux gènes grâce à la génomique. Les éditions de médecine pratique - Livre des Journées Nicolas Guéritée d'Endocrinologie et Maladies Métaboliques, Novembre 2014.

3.4. Liste des communications libres

3.4.1. Listes des communications libres avec actes

Communications orales en 1er ou dernier auteur :

1. **S Espiard**, J McQueen, M Sherlock, O Ragnarsson, R Bergthorsdottir, P Burman, P Dahlqvist, B Ekman, Britt, E Engström, A G Nilsson, S Skrtic, J Wahlberg, PM Stewart, G Johannsson. The urinary cortisol metabolome in patients with adrenal insufficiency: Dual-release hydrocortisone is less deleterious than conventional hydrocortisone therapy. *Ann. Endocrinol.* 2018; 79(3)185. *61ème Journées Internationales d'Endocrinologie Clinique KLOTZ (Paris, Juin 2018)*
2. F Abderrahmane, G Raverot, H Lefebvre, C Cardot-Bauters, MC Vantyghem, J Bertherat, **S Espiard**. Phenotype of patients carrying the c.709(-7-2)del PRKAR1A mutation in a large cohort of 40 patients. *Endocrine Abstracts* (2019) 67 O20, *7ème ESE Young Endocrinologists and Scientists (EYES) Meeting (Athènes, Sept 2019)*

3. **S. Espiard**, C. Cardot-Bauters, G. Raverot, M.L. Nunes, F. Brucker-Davis, M. Houang, F. Archambeaud-Mouveroux, A. Lienhardt, H. Lefebvre, O. Chabre, A. Tabarin, M.C. Vantyghem, J. Bertherat. Détermination de la fréquence et de l'incidence des manifestations du complexe de Carney à partir d'une première étude prospective incluant 70 patients. *Ann. Endocrinol.* 2017;5240(4):199. *32^{ème} congrès de la SFE (Octobre 2017)*
4. **S. Espiard**, M. Knape, K. Bathon, D. Abid, D. Calebiro, S. Faillot, G. Assié, L. Drougat, F. Herberg, C. Stratakis, J. Bertherat. Identification et étude fonctionnelle d'une mutation activatrice de la sous-unité catalytique C β de la PKA (PRKACB) dans un adénome corticosurrénalien sécrétant des glucocorticoïdes. *Ann. Endocrinol.* 2016;74(4):265–266. *31^{ème} congrès de la SFE (Octobre 2016)*
5. **S. Espiard**, C. Cardot-Bauters, G. Raverot, F. Brucker-Davis, F. Archambeaud-Mouveroux, A. Lienhardt, H. Lefebvre, O. Chabre, A. Tabarin, MC. Vantyghem, J. Bertherat. Description of known and unknown manifestations of Carney Complex based on the French national prospective study Eva-Carney. *WorldMEN 2016 (Utrecht, Septembre 2016)*
6. **S. Espiard**, L. Drougat, R. Libe, G. Assie, K. Perlemoine, L. Guignat, G. Barrande, F. S Brucker-Davis, S. Lopez, E. Sonnet, F. Torremocha, N. Chabbert-Bufferet, ML. F. Raffin-Sanson, L. Groussin, F. Borson-Chazot, X. Bertagna, C. A. Stratakis, F. Beuschlein, B. Ragazzon, J. Bertherat. Armadillo Repeat Containing 5 Gene (ARMC5) in a Large Cohort of Primary Bilateral Macronodular Adrenal Hyperplasia (PBMAH): Genotype-Phenotype Correlations. *Meeting Abstracts. Endocrine Society;* 2015:OR06–4. *97^{ème} congrès annuel de l'Endocrine Society (San Diego, Mar 2015)*
7. **S. Espiard**, V. Grégoire, S. De Beauce, C. Do Cao, M. Ladsous, S. Boury, E. Leteurtre, P. Pigny, J.-L. Wémeau. Mutation V600E de BRAF sur le produit de cytoponction thyroïdienne : expérience des 52 premières recherches au CHU de Lille. *Ann. Endocrinol.* 2012;73(4)258. *29^{ème} congrès annuel de la SFE (Toulouse, Oct 2012)*
8. **S. Espiard**, G. Assié, A. Guimier, R. Libé, K. Perlemoine, O. Barreau, X. Bertagna, L. Groussin, J. Bertherat. Génétique de l'hyperplasie macronodulaire des surrénales : recherche d'un gène candidat au niveau du bras court du chromosome 16. *Ann. Endocrinol.* 2012;73(4)264. *29^{ème} congrès annuel de la SFE (Toulouse, Oct 2012)*
9. **S. Espiard**, F. Savagner, M. D'herbomez, C. Rose, A.S. Balavoine, K. Benomar, P. Rodien, J.L. Wémeau. Syndrome polymalformatif, dysérythropoïèse, hyperparathyroïdie primaire et diarrhée chez une patiente porteuse d'une mutation du gène du récepteur alpha des hormones thyroïdiennes. *Ann. Endocrinol.* 2012;73(4)274. *29^{ème} congrès annuel de la SFE (Toulouse, Oct 2012)*
10. **S. Espiard**. Cellules souches, développement hypophysaire et surrénalien. *Ann. Endocrinol.* 2013;74(1):6–7. *14^{ème} réunion nationale des internes d'endocrinologie (Paris, Sep 2012)*

Communications affichées en 1er ou dernier auteur :

1. A Jannin, A Beron, MH Vieillard, MC Vantyghem, R Chapurlat, C Do Cao, **S Espiard**. Altered bone mass and microarchitecture in catecholamine-secreting malignant paraganglioma. *22^{ème} congrès européen d'endocrinologie (Prague, Mai 2020, annulé pour COVID-19)*
2. F Abderrahmane, G Raverot, H Lefebvre, C Cardot-Bauters, MC Vantyghem, J Bertherat, **S Espiard**. Phenotype of patients carrying the c.709(-7-2)del PRKAR1A mutation in a large cohort of 40 patients. *95^{ème} congrès annuel de l'Endocrine Society (San Francisco, Mars 2020, annulé pour COVID-19) (présentation orale de poster)*
3. A Jannin, L Peltier, M D'Herbomez, F Defrance, S Marcelli, A Ben Hamou, L Humbert, JL Wémeau, MC Vantyghem, **S Espiard**. Clinical presentation of hypothyroidism caused by TSH-receptor

antibody. *Endocrine Abstracts* (2019) 63 P808. *21ème congrès européen d'endocrinologie (Lyon, Mai 2019)*

4. **S Espiard**, J McQueen, M Sherlock, O Ragnarsson, R Bergthorsdottir, P Burman, P Dahlqvist, B Ekman, Britt, E Engström, A G Nilsson, S Skrtic, J Wahlberg, PM Stewart, G Johannsson. The urinary cortisol metabolome in patients with adrenal insufficiency: dual-release hydrocortisone is less deleterious than conventional hydrocortisone therapy. *Endocrine Abstracts* (2018) 56 GP30. *20ème congrès européen d'endocrinologie (Barcelone, Mai 2018) (présentation orale de poster)*
5. **S Espiard**, J McQueen, M Sherlock, O Ragnarsson, R Bergthorsdottir, P Burman, P Dahlqvist, B Ekman, Britt, E Engström, A G Nilsson, S Skrtic, J Wahlberg, PM Stewart, G Johannsson. Urinary steroid profile in patients with primary adrenal insufficiency under conventional glucocorticoid replacement: a case control study. *Endocrine Abstracts* (2018) 56 P160. *20ème congrès européen d'endocrinologie (Barcelone, Mai 2018)*
6. **Espiard S**, McQueen J, Ragnarsson O, Bergthorsdottir R, Burman P, Dahlqvist P, Ekman B, Edén Engström B, Nilsson AG, Skrtic S, Wahlberg J, Sherlock M, Stewart PM and Johannsson G. Urinary steroid profile in patients with primary adrenal insufficiency under conventional glucocorticoid replacement: a case control study. *3ème congrès national Endodiabète de Suède (Göteborg, Mars 2018)*. **(présentation orale de poster)**
7. **Espiard S**, Cardot-Bauters C, Raverot G, Nunes M-L, Brucker-Davis F, Houang M, Archambeaud-Mouvier F, Lienhardt A, Lefebvre H, Chabre O, Tabarin A, Vantyghem M-C, Bertherat J. Evaluation of the occurrence of the manifestations of Carney complex in a french cohort of 70 patients during a three years standardized follow-up. *Endocrine Abstracts* (2017) 49 GP120. *19ème congrès européen d'endocrinologie (Lisbonne, Mai 2017) (présentation orale de poster)*
8. **Espiard S**, Knape M, Bathon K, Assie G, Abid D, Faillot S, Calebiro D, Herberg F, Stratakis C, Bertherat J. A PRKACB somatic mutation in a cortisol producing adenoma: a new example of protein kinase A activation leading to adrenal Cushing syndrome. *Endocrine Abstracts* 2017;49(GP28). *19ème congrès européen d'endocrinologie, (Lisbonne, Mai 2017) (présentation orale de poster)*
9. F. Kohler, C. Do Cao, M.C. Vantyghem, **S. Espiard**. Une surdité d'origine neuro-endocrine ? *Ann. Endocrinol.* 2017;5240(4):199. *32ème congrès de la SFE (Octobre 2017)*
10. **S. Espiard**, S. Faillot, A. Vaczlavik, G. Assié, R. Libé, K. Perlemoine, L. Drougat, B. Ragazzon, C. Stratakis, G. Raverot, M.O. North, E. Clauser, F. Borson-Chazot, J. Bertherat. La délétion large d'ARMC5 dans l'Hyperplasie Macronodulaire Bilatérale des Surrénales. *Ann. Endocrinol.* 2016;74(4)311. *31ème congrès de la SFE (Octobre 2016)*
11. **S. Espiard**, N. Lahlou, M. Sibony, M. Bienvenu, J. Bertherat, B. Dousset, L. Groussin, R. Libé. Sécrétion d'inhibine-B par un corticosurrénales. *Ann. Endocrinol.* 2015;76(4)469-470. *30ème congrès de la SFE (Octobre 2016)*
12. **S. Espiard**, C. Cardot-Bauters, G. Raverot, M.L. Nunes, F. Brucker-Davis, M. Houang, F. Archambeaud, A. Lienhardt, H. Lefebvre, O. Chabre, A. Tabarin, M.C. Vantyghem, J. Bertherat. Description prospective des manifestations du complexe de Carney : première analyse du PHRC national EVA-Carney. *Ann. Endocrinol.* 2015;76(4)320-321. *30ème congrès de la SFE (Octobre 2015) (présentation orale de poster)*
13. **S. Espiard**, F. Savagner, M. D'herbomez, C. Rose, P. Rodien, JL. Wemeau. Polymalformation, dyserythropoietic anemia, primary hyperparathyroidism and diarrhoea in a patient with mutation of the thyroid hormone receptor alpha gene (THR α). *Meeting Abstracts. Endocrine Society*; 2013: SUN-431. *95ème congrès annuel de l'Endocrine Society (San Francisco, Jun 2013)*
14. **S. Espiard**, AS. Balavoine, F. Mouton, MC. Vantyghem, JL. Wemeau. Pseudosyndrome de Cushing et NASH iatrogène par prise de budesonide, prednisolone, amiodarone et d'un inhibiteur

du cytochrome P450 3A4, l'itraconazole. *Ann. Endocrinol.* 2010;71(5):422. *27^{ème} congrès annuel de la SFE (Deauville, Oct 2010)*

15. **S. Espiard**, L. Seurin, E. Merlen, JL. Wémeau, P. Fontaine, C. Cortet. Adénome somatotrope compliqué d'une apoplexie hypophysaire : a propos d'un cas. *Ann. Endocrinol.* 2010;71(5):402. *27^{ème} congrès annuel de la SFE (Deauville, Oct 2010)*
16. **S. Espiard**, P. Perimenis, E. Proust-Lemoine, E. Leteurtre. S. Boury, JL. Wémeau, C. Do Cao. Efficacité de la ciclosporine dans la thyroïdite de Riedel : à propos de 2 observations. *Ann. Endocrinol.* 2019;71(5):350. *26^{ème} congrès annuel de la SFE (Nice, Oct 2009)*
17. **S. Espiard**, E. Proust-Lemoine, C. Do Cao, E. Leteurtre, B. Carnaille, JL. Wémeau. et al. A propos d'un cas de corticosurrénales de forme myxoïde. *Ann. Endocrinol.* 2019;71(5):403. *26^{ème} congrès annuel de la SFE (Nice, Oct 2009)*

3.4.2. Liste des communications libres sans actes

1. **S. Espiard**, L. Drougat, R. Libé, G. Assié, Beuschlein F, B. Ragazzon, J. Bertherat Armadillo repeat containing 5 gene (ARMC5) mutations in primary bilateral macronodular adrenal hyperplasia. *French German workshop « integrative biology in metabolic and cardiovascular » (Mars 2015) (présentation orale de poster)*

3.5. Articles de vulgarisation scientifique

- Participation aux Newsletter de la Société Française d'Endocrinologie (SFE) :
 1. Jun 2013 : *En direct de l'ENDO San Francisco*
 2. Mars 2015 : *En direct de l'ENDO San Diego*
 3. Juin 2014 : « *Un nouveau gène muté dans les cancers thyroïdiens agressifs : TERT* »
 4. Mai 2015 : « *RCAN1-4, un gène suppresseur de métastases dans le cancer thyroïdien différencié* »
 5. Sep 2015 : « *Le phénotype de l'hyperplasie macronodulaire des surrénales associé aux mutations du nouveau gène suppresseur de tumeur ARMC5 se précise* »
 6. Mars 2019 : « *Os et cortisol : quoi de neuf chez les patients présentant un incidentalome surrénalien ?* »
 7. Novembre 2019 : « *Dosage de la T3L chez les patients substitués par L-thyroxine après thyroïdectomie ou irathérapie : les patients sont-ils euthyroïdiens ?* »

4. Protocoles de recherche

4.1. Financement obtenu de protocoles de recherche

- **CORTABO** :
 - *Titre de l'étude* : Etude du lien entre le métabolisme du cortisol et des acides biliaires chez des patients obèses avant et après chirurgie bariatrique.
 - *Type de recherche* : étude monocentrique prospective de cohorte
 - *Financement* : Aide à l'Emergence Jeune Chercheur du GIRCI Nord-Ouest 2019 : 40k euros.
 - *Rôle* : Investigateur principal et coordinateur
- **LIPOCORT** :

- *Titre de l'étude* : Etude du métabolisme du cortisol dans la lipodystrophie familiale partielle de type 2.
 - *Type de recherche* : étude transversale
 - *Financement* : Fonds hospitaliers d'aide à l'émergence et la structuration des activités et équipes de recherche 2019, CHRU Lille ; 30k euros
 - *Rôle* : Investigateur principal et coordinateur
- **STEROTEM (2013-A01632-43)** :
 - *Titre de l'étude* : Analyse de la distribution des stéroïdes surrénaliens sanguins et urinaires mesurés par spectrométrie de masse couplée à la chromatographie liquide dans une population témoin.
 - *Type de recherche* : étude transversale
 - *Financement* : Association régionale d'endocrinologie et métabolisme et centre Biologie Pathologie du CHR-U de Lille en 2013 : 15k
 - *Rôle* : Investigateur principal

4.2. Participation active à des protocoles de recherche

- **GVAD** :
 - *Titre de l'étude* : Glycemic Variability in patients with Addison Disease
 - *Type de recherche* : étude multicentrique internationale de soin courant
 - *Rôle* : Investigateur principal
- **DABS (RCB 2017-A03312-51)** :
 - *Titre de l'étude* : Détermination de valeurs seuils d'aldostérone en HPLC-MS/MS, de rénine et du rapport aldostérone/rénine pour le diagnostic d'Hyperaldostéronisme primaire
 - *Type de recherche* : recherche interventionnelle à risque minime
 - *Rôle* : Investigateur principal
- **PHR-C COMPLICUSHING (ClinicalTrials.gov : NCT02568982)** :
 - *Titre de l'étude* : Evaluation des complications métaboliques, cardiovasculaires, osseuses et de la qualité de vie dans la maladie de Cushing.
 - *Type de recherche* : étude pluricentrique prospective de cohorte
 - *Rôle* : Co-investigatrice
- **Etude NOVARTIS LINC3 (ClinicalTrials.gov : NCT02180217)**:
 - *Titre de l'étude* : Safety and Efficacy of LCI699 for the Treatment of Patients With Cushing's Disease
 - *Type de recherche* : essai clinique de phase 3
 - *Rôle* : co-investigatrice

4.3. Collaborations suivies avec d'autres laboratoires et équipes

- Unité Inserm U1239 « Différenciation et Communication Neuronale et Neuroendocrine », équipe du Pr Lefebvre (Rouen)
 - *Etude de la voie sonic hedgehog dans les corticosurrénalomes*
 - *Inhibine et tumeurs surrénaliennes*

- Unité Inserm U1016, équipe du Pr Bertherat « Génomique et Signalisation des tumeurs endocrines » (Institut Cochin, Paris)
- Département d'endocrinologie, équipe du Pr. Gudmundur Johannsson, Université Sahlgrenska, Göteborg, Suède
 - o Etude CIMCORT (*cf. exposé des projets de recherche*)
 - o Etude morbi-mortalité des patients porteurs d'une incidentalome surrénalien non sécrétant

5. Activités d'enseignements

5.1. Activités d'enseignements liées à la recherche

1 cours réalisé dans le cadre de l'option physiologie du master 1 de biologie en 2017.

5.2. Autres activités d'enseignement universitaire

5.2.1. Formation

- Certification SIDES
- Maîtrise de stage universitaire 2ème cycle

5.2.2. Enseignements du 1^{er}, 2nd et 3^{ème} cycle des études médicales

2015-2017 & 2018-présent :

- Cours magistraux et ED aux MED4 (15h/an)
- Cours du DES d'endocrinologie (20h/an)
- Cours ponctuel dans le cadre de l'AUEC des maladies métaboliques et du DES de médecine générale (moyenne 6h/an)
- Rédaction de support pour le e-learning de la plateforme SIDES (2 supports)

2009-2013 :

- Conférences d'endocrinologie aux MED5 et MED6 (72 conférences)

5.2.3. Formation des professions de santé

- Cours magistraux d'endocrinologie aux étudiants infirmiers, de pharmacie et de chirurgie dentaire (environ 5h/an)

5.2.4. Investissement au sein de la faculté

- **2018-présent** : participation au bureau des examens
- **2019-présent** : participation au groupe de travail « apprentissage et évaluation de la compétence » pour le R2C
- **2018-2020** : mise en place de l'examen de compétence en MED4 puis MED5

5.3. Participation à des jury de thèse

- Jury de thèse de médecine (autre que thèse dirigée) :

- **Année universitaire 2019-2020** : 5 thèses de médecine générale

5.4. Conférences comme invitée

5.4.1. Symposiums dans le cadre de la formation continue de départements d'endocrinologie en France ou à l'étranger

1. Nov. 2019, Hôpital Huriez, Lille : « *les effets métaboliques des traitements de l'insuffisance surrénaliennes* »
2. Sept. 2019, Athènes, Hôpital Laïkos, Grèce : « *once-daily dual-release hydrocortisone: different metabolic effect* »
3. Nov. 2018, Hôpital Sahlgrenska, Göteborg, Suède : « *cortisol-producing tumors* »
4. Sept. 2017, Kremlin Bicêtre, Paris : « *L'hyperplasie macronodulaire des surrénales, de la clinique à un peu de génétique* »
5. Déc. 2015, Hôpital Huriez, Lille : « *Adénomes corticotropes : actualités physiopathologiques et surveillance thérapeutique* »
6. Oct. 2015, Hôpital Cochin, Paris : « *Les résistances aux hormones thyroïdiennes* »

5.4.2. Conférences régionales

7. 2020, Lille, Journées Régionales d'Endocrinologie : « *cortisol et infection* »
8. 2020, Lille, Journée Interrégionale Nord du Réseau RENATEN : « *phéochromocytome et grossesse* »
9. 2019, Lille, Club Thyroïde Nord : « *Etats de résistance aux hormones thyroïdiennes : quand les évoquer ? comment les gérer ?* »
10. 2019, Lesquin, Journées régionales endocrinologie, diabétologie et infectiologie : « *cortisol et infection* »
11. 2019, Lille, Journées Régionales d'Endocrinologie : « *Prise en charge des incidentalomes surrénaux – nouvelles recommandations* »
12. 2018, Lille, Journées Régionales d'Endocrinologie : « *Le cortisol à son rythme* ».
13. 2013, Lille, Club Thyroïde Nord : « *Peut-on négliger les microcarcinomes thyroïdiens ?* »

5.4.3. Conférences nationales

14. Janv. 2020, Marseille, ENDO master classes : « *les hyperplasies macronodulaires des surrénales* »
15. Fév. 2019, Paris, Rencontre nationale d'endocrinologie Cochin : « *L'Hydrocortisone à libération prolongée : des effets métaboliques différents ?* »
16. Oct. 2017, Poitiers, congrès de la société française d'endocrinologie : « *Actualisation sur l'hypoparathyroïdie: un peu de théorie, beaucoup de pratique* »
17. Mar. 2015, Paris, Workshop gonadotrope : « *Inhibin B and adrenocortical carcinoma* »

6. Activité d'animation et de rayonnement

6.1. Organisation de congrès/journées d'étude

- Participation à l'organisation des journées régionales d'endocrinologie 2019 et 2020

6.2. Appartenance à des Comités de lecture

- Appartenance au comité de lecture des *Annales d'Endocrinologie* (2020-présent)
- Révision ponctuelle pour *Endocrine*
- Révision régulière pour *l'European Journal of Endocrinology*

6.3. Réseaux et sociétés savantes

- SFE (Société Française d'Endocrinologie) : membre
- European Society of Endocrinology (ESE) : membre
- ESE Young Endocrinologists & Scientists (EYES): membre
- Réseaux français CORTico, MEDullosurrénale et Tumeurs Endocrines (COMETE) et European Network for the Study of Adrenal Tumors (ENSAT) : membre