

# ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Année 2005 - Thèse n° .....

## *DIAGNOSTIC ET SUIVI THERAPEUTIQUE DU SYNDROME DE CUSHING - DOSAGE DES PHOSPHATASES ALCALINES CORTICO-INDUITES -*

# THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I  
(Médecine - Pharmacie)  
et soutenue publiquement le 07 novembre 2005  
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

*RICKLIN Anthony*  
Né le 13 juin 1980  
à Albertville (Savoie)



# ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Année 2005 - Thèse n° .....

## *DIAGNOSTIC ET SUIVI THERAPEUTIQUE DU SYNDROME DE CUSHING - DOSAGE DES PHOSPHATASES ALCALINES CORTICO-INDUITES -*

# THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I  
(Médecine - Pharmacie)  
et soutenue publiquement le 07 novembre 2005  
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

*RICKLIN Anthony*  
Né le 13 juin 1980  
à Albertville (Savoie)



**DEPARTEMENTS ET CORPS ENSEIGNANT DE L'ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON**

*Directeur : Stéphane MARTINOT*

Au 1er JANVIER 2005

DEPARTEMENT	PREX	PSI	PRD	MC	Confédération Associés IPAC Et ISPV	AFRC	Chargés de consultations et d'enseignement
<b>DEPART SANTÉ PUBLIQUE VÉTÉRINAIRE</b> Microbiologie, Immunologie, Pathologie Générale	Y. RICHARD		A. LACHERETZ M. ARTOIS	V. GUERIN-FAUBLEE 90 % A. KODJO D. GREZEL J. VIALARD			
Pathologie infectieuse							
Parasitologie & Maladies parasitaires	MC. CHAUVE	G. BOURDOISEAU		MP. CALLAIT CARDINAL L. ZENNER			
Qualité et Sécurité des Aliments		G. CHANTEGRELET	P. DEMONT C. VERNOZY	A. GONTHIER	S. COLARDELLE	ISPV	
Législation & Jurisprudence			A. LACHERETZ	P. SABATIER ML. DELIGNETTE 80 % K. CHALVET-MONFRAY			
Bio-Mathématiques							
<b>DEPART DES ANIMAUX DE COMPAGNIE</b>							
Anatomie		E. CHATELAIN	T. ROGER	S. SAWAYA	R. DA ROCHA CARARO	MCC	BENREDOUANE K. N. GAY I. GOUJON
Chirurgie et Anesthésiologie		J.P. GENEVOIS	D. FAU E. VIGUIER D. REMY		G. CHANOIT S. JUNOT K. PORTIER C. DECOSNE-JUNOT	MCC MCC MCC MCC	C. CAROZZO
Anatomie-pathologique/Dermatologie-Cancérologie/ Hématologie		J.P. MAGNOL C. FOURNEL	C. FLEURY	T. MARCHAL	D. WATRELOT-VIRIEUX P. BELLI D. PIN	MCC MCA MCA	I. BUBLOT C. GALET C. ESCRIOU
Médecine interne		J.L. CADORE		L. CHABANNE F. PONCE	M. HUGONNARD	MCC	F. DURIEUX
Imagerie médicale				E. CAUVIN	J. SONET	MCC	
<b>DEPART DES PRODUCTIONS ANIMALES</b>							
Zootéchnie, Ethologie & Economie rurale		M. FRANCK		P. LETERME			L. MOUNIER
Nutrition et Alimentation		F. BADINAND	M. RACHAIL-BRETIN	D. GRANCHER L. ALVES de OLIVEIRA G. EGRON-MORAND S. BUFF P. GUERIN			
Biol & Patho de la Reproduction		P. BEZILLE	T. ALOGNINOUBA	R. FRIKHA M.A. ARCANGIOLI D. LE GRAND	D. LAURENT	MCA	N. GRAUD P. DEBARNOT D. LAURENT
Patho Animaux de Production							
<b>DEPART SCIENCES BIOLOGIQUES</b>							
Physiologie /thérapeutique	R. BOIVIN			J.J. THIEBAULT J.M. BONNET-GARIN 90 % T. BURONFOSSE V. LAMBERT			
Biophysique /Biochimie		F. GARNIER	E. BENOIT F. GRAIN				
Génétique et Biologie moléculaire		G. KECK	P. JAUSSAUD P. BERNY				
Pharmacie / Toxicologie Législation du Médicament							
Langues					C. FARMER R. SULLIVAN	IPAC IPAC	
<b>DEPART HIPPIQUE</b>							
Psychologie équine		J.L. CADORE O. LEPAGE		A. LEBLOND A. BENAMOU-SMITH			
Clinique équine							
Expertise nécropsique			C. FLEURY				

A Monsieur le Professeur Jacques ORGIAZZI,  
De la Faculté de Médecine Claude Bernard-Lyon I,  
Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.  
Hommage respectueux.

A Monsieur le Professeur Etienne BENOIT,  
De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon,  
Qui a accepté et encouragé l'élaboration de cette thèse,  
Qu'il trouve ici l'expression de notre profonde reconnaissance.

A Madame le Maître de Conférence Frédérique PONCE,  
De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon,  
Qui a accepté de faire partie de notre jury de thèse,  
Qu'elle trouve ici l'expression de nos sincères remerciements.

Aux techniciennes des services de Biochimie et d'Endocrinologie de l'Ecole Nationale  
Vétérinaire de Lyon,  
En reconnaissance de leur aide formidable.

A mes parents,  
Merci infiniment pour m'avoir permis de suivre la voie que j'avais choisie,  
Je ne saurai jamais suffisamment vous exprimer ma gratitude.

A mon Frère Nicolas,  
Merci pour son soutien et notre connivence.

A toute ma famille,  
Avec toute mon affection.

A tous mes amis qui m'ont supporté et soutenu, à tous nos moments rôlistiques si intenses et éphémères, à nos parties de cartes passionnées, à nos virées inoubliables sur Internet, à nos pique-niques mémorables, à nos vacances idylliques.  
Se reconnaîtront Alexandre, Annabelle, Cédric, Céline, Eric, Estelle, Imré, Jérémy, Julie, Heidi, Lucie, Lucile, Lucille, Marie, Nathalie, Marion, Ophélie, Pierrick, Rémy, Romain, Sabrina, Simon et Sophie.  
Qu'ils restent à jamais gravés dans mes souvenirs.

# SOMMAIRE

SOMMAIRE .....	1
LISTE DES FIGURES.....	7
LISTE DES TABLEAUX .....	11
INTRODUCTION.....	13
<b>PREMIERE PARTIE :</b>	
<b>ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DU SYNDROME DE CUSHING.....</b>	<b>15</b>
<b>I- RAPPELS ANATOMO-HISTOLOGIQUES.....</b>	<b>17</b>
<b>A- Les glandes surrénales .....</b>	<b>17</b>
1- Anatomie .....	17
2- Histologie .....	18
<b>B- Le complexe hypothalamo-hypophysaire.....</b>	<b>20</b>
1- Anatomie .....	20
2- Histologie .....	22
<b>II- PHYSIOLOGIE .....</b>	<b>23</b>
<b>A- Synthèses des glucocorticoïdes .....</b>	<b>23</b>
1- Localisation .....	23
2- Biosynthèse .....	23
<b>B- Régulation de la sécrétion des glucocorticoïdes.....</b>	<b>25</b>
<b>C- Transport des glucocorticoïdes .....</b>	<b>30</b>
<b>D- Mécanisme d'action cellulaire des glucocorticoïdes.....</b>	<b>30</b>
<b>E- Effets physiologiques des glucocorticoïdes.....</b>	<b>30</b>
1- Action sur le métabolisme.....	30
2- Action sur l'inflammation, l'allergie et l'immunité.....	31
3- Action sur les paramètres hématologiques et biochimiques .....	32
4- Action sur les fonctions endocrines .....	33
<b>F- Catabolisme et élimination des glucocorticoïdes.....</b>	<b>33</b>
<b>III- ETIOPATHOLOGIE.....</b>	<b>34</b>
<b>A- L'hypercorticisme d'origine surrénalienne ou hypercorticisme primaire .....</b>	<b>34</b>
1- Adénomes surrénaliens .....	34
2- Carcinomes surrénaliens .....	35
3- Tumeurs surrénaliennes particulières.....	35
<b>B- L'hypercorticisme d'origine hypophysaire ou hypercorticisme secondaire... 35</b>	<b>35</b>
1- Les tumeurs hypophysaires .....	36
2- Les hyperplasies .....	36
5- Le dérèglement du système de rétrocontrôle négatif .....	38
<b>C- L'hypercorticisme dû à une production ectopique d'ACTH ou syndrome paranéoplasique.....</b>	<b>38</b>
<b>IV- EPIDEMIOLOGIE .....</b>	<b>38</b>
<b>A- Age .....</b>	<b>38</b>

<b>B-</b>	<b>Sexe</b> .....	39
<b>C-</b>	<b>Race et poids</b> .....	39
<b>V-</b>	<b>SYMPTOMATOLOGIE</b> .....	40
<b>A-</b>	<b>Appareil urinaire</b> .....	40
1-	Polyuro-polydipsie .....	40
2-	Cystite et pyélonéphrite .....	40
<b>B-</b>	<b>Appareil digestif</b> .....	41
1-	Polyphagie .....	41
2-	Obésité .....	41
3-	Ptose abdominale et hépatomégalie .....	41
<b>C-</b>	<b>Peau</b> .....	41
1-	Alopécie .....	41
2-	Atrophie cutanée et peau hypotonique .....	42
3-	Comédons .....	42
4-	Troubles de la pigmentation .....	42
5-	Calcinose cutanée .....	42
6-	Séborrhée .....	42
7-	Papules et macules .....	42
8-	Pétéchies et ecchymoses cutanées .....	42
9-	Prurit .....	43
10-	Surinfections .....	43
11-	Les troubles de la cicatrisation .....	43
<b>D-</b>	<b>Appareil locomoteur</b> .....	43
1-	Atteinte neuromusculaire .....	43
2-	Atteintes ostéoarticulaire et tendineuse .....	45
3-	Atteinte neurologique .....	45
4-	Atteinte osseuse .....	46
<b>E-</b>	<b>Appareil reproducteur</b> .....	46
1-	Troubles reproducteurs chez le mâle .....	46
2-	Troubles reproducteurs chez la femelle .....	46
<b>F-</b>	<b>Appareil respiratoire</b> .....	46
1-	Polypnée .....	46
2-	Dyspnée et détresse respiratoire .....	47
3-	Infections .....	47
<b>G-</b>	<b>Appareil cardiovasculaire</b> .....	47
1-	Hypertension artérielle systémique .....	47
2-	Insuffisance cardiaque congestive .....	47
3-	Thromboembolie pulmonaire .....	47
<b>H-</b>	<b>Comportement</b> .....	48
<b>I-</b>	<b>Ophtalmologie</b> .....	48
<b>VI-</b>	<b>DIAGNOSTIC DE SUSPICION DU SYNDROME DE CUSHING</b> .....	48
<b>A-</b>	<b>Examen clinique</b> .....	48
<b>B-</b>	<b>Examens de laboratoire</b> .....	49
1-	Hématologie .....	49
2-	Biochimie .....	49
3-	Ionogramme .....	51
4-	Analyses urinaires .....	52
5-	Fonctions endocriniennes .....	52
6-	Biopsies .....	52

<b>VII-</b>	<b>DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL DU SYNDROME DE CUSHING</b> .....	54
<b>A-</b>	<b>Polyuro-polydipsie</b> .....	54
<b>B-</b>	<b>Troubles cutanés</b> .....	54
<b>VIII-</b>	<b>DIAGNOSTIC POSITIF DU SYNDROME DE CUSHING</b> .....	55
<b>A-</b>	<b>Tests endocrinologiques statiques</b> .....	55
1-	Dosage de la cortisolémie basale.....	55
2-	Dosages urinaires .....	55
<b>B-</b>	<b>Tests endocrinologiques dynamiques</b> .....	56
1-	Dosage de la cortisolémie après stimulation à l'ACTH.....	56
2-	Dosage de la cortisolémie après freinage faible à la dexaméthasone.....	50
3-	Test à la Métyrapone .....	63
<b>IX-</b>	<b>DIAGNOSTIC ETIOLOGIQUE DU SYNDROME DE CUSHING</b> .....	64
<b>A-</b>	<b>Test endocrinologique statique : dosage de l'ACTHémie</b> .....	64
1-	Principes .....	64
2-	Protocoles .....	64
3-	Interprétation .....	64
4-	Valeur diagnostique du test.....	64
5-	Avantages et inconvénients.....	65
<b>B-</b>	<b>Tests endocrinologiques dynamiques</b> .....	65
1-	Dosage de la cortisolémie après freinage fort à la dexaméthasone.....	65
2-	Dosage de la cortisolémie après stimulation à l'ACTH et freinage faible à la dexaméthasone .....	67
3-	Dosage du rapport cortisol libre urinaire sur créatinine urinaire (RCCU) combiné au test de freinage à la dexaméthasone forte dose.....	72
<b>C-</b>	<b>Imagerie médicale</b> .....	73
1-	Radiographie .....	73
2-	Echographie.....	74
3-	Scintigraphie.....	76
4-	Tomodensitométrie ou scanner .....	77
5-	L'imagerie par résonance magnétique (IRM) .....	78
<b>X-</b>	<b>DEMARCHE DIAGNOSTIQUE</b> .....	80
<b>A-</b>	<b>Diagnostic positif</b> .....	80
<b>B-</b>	<b>Diagnostic étiologique</b> .....	81
1-	Techniques biologiques.....	81
2-	Techniques d'imagerie médicale.....	82
<b>XI-</b>	<b>PRONOSTIC</b> .....	83
<b>XII-</b>	<b>TRAITEMENT</b> .....	84
<b>A-</b>	<b>Traitement chirurgical</b> .....	84
1-	L'hypophysectomie .....	84
2-	La surrénalectomie .....	84
<b>B-</b>	<b>Radiothérapie</b> .....	88
<b>C-</b>	<b>Traitement médical</b> .....	88
1-	L'o,p'-DDD .....	88
2-	Les inhibiteurs de la synthèse des stéroïdes surrénaliens.....	93
3-	Les inhibiteurs de la sécrétion hypophysaire d'ACTH .....	97
4-	Un inhibiteur compétitif des récepteurs aux glucocorticoïdes : la Mifépristone (RU 486).....	99

## DEUXIEME PARTIE :

<b>ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DES PHOSPHATASES ALCALINES</b> .....	101
<b>I- GENERALITES</b> .....	101
<b>A- Définitions</b> .....	103
<b>B- Classification</b> .....	103
<b>II- CARACTERISTIQUES DES PHOSPHATASES ALCALINES</b> .....	104
<b>A- Structure des phosphatases alcalines</b> .....	104
1- Structure primaire .....	104
2- Structure secondaire .....	105
3- Structure tertiaire .....	105
4- Structure quaternaire .....	106
<b>B- Répartition des phosphatases alcalines</b> .....	106
1- Distribution tissulaire .....	106
2- Localisation au niveau des cellules .....	107
<b>C- Rôles des phosphatases alcalines</b> .....	108
1- Importance des phosphatases alcalines osseuses .....	108
2- Rôle des phosphatases alcalines au niveau des intestins .....	108
3- Fonctions des phosphatases alcalines dans le foie .....	108
<b>D- Circulation et transport des PAL</b> .....	109
1- Les phosphatases alcalines plasmatiques .....	109
2- Le transport lymphatique .....	112
<b>E- Mode d'action</b> .....	112
<b>F- Catabolisme et élimination</b> .....	113
1- Excrétion biliaire .....	113
2- Excrétion urinaire .....	115
<b>III- LES DIFFERENTES ISOENZYMES DES PAL</b> .....	115
<b>A- Définitions</b> .....	115
1- Les isoenzymes .....	115
2- Les isoformes .....	115
<b>B- Méthodes de fractionnement des isoenzymes des phosphatases alcalines</b> ....	115
1- La dénaturation .....	115
2- L'action des inhibiteurs .....	117
3- L'affinité pour les lectines .....	121
4- L'électrophorèse .....	123
5- La chromatographie .....	125
6- L'immunologie .....	125
<b>C- Les différents types d'isoenzymes de phosphatases alcalines</b> .....	127
1- Le nombre de gènes codant pour les différentes isoenzymes .....	127
2- Les isoenzymes « non spécifiques d'organe » .....	128
3- Les isoenzymes de type « intestinale » .....	128
<b>IV- LES VARIATIONS QUANTITATIVES DES PAL</b> .....	128
<b>A- Les variations physiologiques</b> .....	128
1- Chez les chiots .....	128
2- Chez les femelles gestantes .....	131
<b>B- Les variations pathologiques</b> .....	131
1- La cholestase hépatique .....	131
2- Les affections osseuses .....	132
3- Les affections aiguës .....	133
4- Les tumeurs des autres organes .....	133
5- Les substances exogènes .....	133

<b>TROISIEME PARTIE :</b>	
<b>ETUDE EXPERIMENTALE DU DIAGNOSTIC ET DU SUIVI THERAPEUTIQUE</b>	
<b>DU SYNDROME DE CUSHING.....</b>	<b>139</b>
<b>I- MATERIELS ET METHODES .....</b>	<b>141</b>
<b>A- Le choix de la population malade .....</b>	<b>141</b>
1- Définition de la population.....	141
2- Sélection de la population .....	141
3- La population malade .....	142
4- Les limites du suivi .....	143
<b>B- Le choix de la population témoin .....</b>	<b>150</b>
1- Définition de la population.....	150
2- Sélection de la population .....	150
3- La population témoin .....	151
<b>II- LE DIAGNOSTIC DU SYNDROME DE CUSHING .....</b>	<b>151</b>
<b>A- Répartition des populations.....</b>	<b>151</b>
<b>B- Test diagnostique à un seuil.....</b>	<b>151</b>
1- Définition des caractéristiques du test.....	151
2- Calcul du seuil .....	158
3- Efficacité diagnostique .....	159
<b>C- Test diagnostique à deux seuils .....</b>	<b>163</b>
1- Définitions des seuils .....	163
2- Efficacité diagnostique .....	164
<b>D- Discussion .....</b>	<b>165</b>
1- Répartition des populations.....	165
2- Test diagnostique à un seuil .....	165
3- Test diagnostique à deux seuils.....	167
4- Choix du test.....	168
<b>III- LE SUIVI THERAPEUTIQUE DU SYNDROME DE CUSHING.....</b>	<b>169</b>
<b>A- Corrélation entre les PAL cortico-induites et la cortisolémie après stimulation</b>	
<b>à l'ACTH.....</b>	<b>169</b>
<b>B- Description des courbes de suivi .....</b>	<b>170</b>
<b>C- Discussion .....</b>	<b>175</b>
1- Corrélation entre les PAL cortico-induites et la cortisolémie après stimulation à	
l'ACTH.....	175
2- Description des courbes de suivi.....	175
 <b>CONCLUSION.....</b>	 <b>177</b>
 <b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	 <b>179</b>



## LISTE DES FIGURES

<b>Figure n° 1 :</b> Anatomie topographique des glandes surrénales du chien (1 : glandes surrénales, 2 : rein gauche, 3 : aorte abdominale, 4 : veine cave postérieure, 5 : artère et veine lombo-surrénales gauches, 6 : artère et veine rénales gauches, 7 : veine ovarienne gauche, 8 : uretère gauche, 9 : vessie).....	17
<b>Figure n° 2 :</b> Schéma d'une coupe transversale d'un chien au niveau de la deuxième vertèbre lombaire [ <sup>55</sup> ]. .....	18
<b>Figure n° 3 :</b> Les différentes zones de la surrénale normale, d'après O. BUCHER.....	19
<b>Figure n° 4 :</b> Schéma montrant les différentes parties de l'hypophyse.....	21
<b>Figure n° 5 :</b> Schéma montrant l'irrigation de l'adénohypophyse. ....	21
<b>Figure n° 6 :</b> Formule développée du cholestérol. ....	23
<b>Figure n° 7 :</b> Formule développée du cortisol.....	24
<b>Figure n° 8 :</b> Formule développée de l'aldostérone. ....	24
<b>Figure n° 9 :</b> Formule développée de la testostérone.....	24
<b>Figure n° 10 :</b> Biosynthèse des corticoïdes surrénaux et des stéroïdes sexuels [ <sup>10</sup> ]. .....	26
<b>Figure n° 11:</b> Fonctionnement et régulation de l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien..	27
<b>Figure n° 12 :</b> Mécanisme d'action de l'ACTH sur la synthèse des corticoïdes au niveau des cellules surrénales.....	28
<b>Figure n° 13 :</b> Schéma représentatif de la proopiomélanocortine : sites de clivage préférentiels indiqués par des paires d'acides aminés et principaux peptides produits selon la localisation. ....	29
<b>Figure n° 14 :</b> Axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien normal et pathologique [ <sup>66</sup> ]. ....	37
<b>Figure n° 15 :</b> Risque relatif de syndrome de Cushing spontané selon l'âge [ <sup>187</sup> ]. ....	39
<b>Figure n° 16 :</b> Conséquences de l'incomplète fermeture de la selle turcique [ <sup>23</sup> ]. ....	445
<b>Figure n° 17 :</b> Coupe histologique de peau d'un chien souffrant d'hypercorticisme : il est possible d'observer la présence de volumineux comédons et l'atrophie épidermique, les follicules pileux en phase télogène et l'hyperkératose (x90) [ <sup>73</sup> ]. .....	53
<b>Figure n° 18 :</b> Coupe histologique de peau d'un chien souffrant d'hypercorticisme : il est possible de noter l'atrophie épidermique, folliculaire et sébacée (x35) [ <sup>73</sup> ]. .....	53
<b>Figure n° 19 :</b> Mesure du RCCU chez des chiens sains, des chiens atteints d'hypercorticisme, des chiens suspects de Cushing et des chiens souffrants de pathologies non surrénales [ <sup>168</sup> ]. ....	556
<b>Figure n° 20 :</b> Interprétation du test de stimulation à l'ACTH [ <sup>64</sup> ]. ....	59
<b>Figure n° 21 :</b> Interprétation du test de freinage faible à la Dexaméthasone [ <sup>133</sup> ]. ....	62
<b>Figure n° 22 :</b> Concentrations en ACTH plasmatique endogène chez des chiens sains et des chiens atteints d'hypercorticisme primaire (TS) ou d'hypercorticisme d'origine hypophysaire (HCH) [ <sup>133</sup> ]. .....	65
<b>Figure n° 23 :</b> Interprétation du test de freinage fort à la Dexaméthasone [ <sup>133</sup> ]. .....	68
<b>Figure n° 24 :</b> Interprétation du test combiné de freinage à la dexaméthasone et de stimulation à l'ACTH [ <sup>94</sup> ]. ....	71
<b>Figure n° 25 :</b> Variation de la cortisolémie chez 16 chiens sains, 6 chiens souffrant d'hypercorticisme primaire et 15 chiens souffrant d'hypercorticisme d'origine hypophysaire, suite au test combiné de freinage à la dexaméthasone et de stimulation à l'ACTH [ <sup>48</sup> ]. .....	71
<b>Figure n° 26 :</b> Variation du cortisol plasmatique suite au test combiné de freinage à la dexaméthasone et de stimulation à l'ACTH : mise en évidence de 4 réponses anormales (I, II, III et IV) [ <sup>39</sup> ]. .....	72

<b>Figure n° 27</b> : Coupe longitudinale de la glande surrénale gauche d'un chien atteint d'hypercorticisme secondaire : on note une augmentation globale de la taille de la glande et une conservation de sa forme et de son échostructure. ....	75
<b>Figure n° 28</b> : Adénocarcinome sécrétant surrénalien (entre les flèches > et <) : les repères vasculaires représentés par l'artère coeliaque (A COEL), l'artère mésentérique crâniale (AMC) et l'aorte (AO) sont visibles. ....	75
<b>Figure n° 29</b> : Formule développée du NP-59. ....	77
<b>Figure n° 30</b> : Coupe sagittale du crâne d'un chien atteint d'hypercorticisme d'origine hypophysaire, par IRM et après injection de gadolinium : on note la présence d'un macroadénome hypophysaire indiqué par la flèche (cliché P. Barthez). ....	79
<b>Figure n° 31</b> : Diagnostic du syndrome de Cushing [25]. ....	81
<b>Figure n° 32</b> : Diagnostic étiologique du syndrome de Cushing : exploration par la biologie en première intention [25]. ....	82
<b>Figure n° 33</b> : Diagnostic étiologique du syndrome de Cushing : exploration par l'imagerie en première intention [25]. ....	83
<b>Figure n° 34</b> : Lieu d'incision cutané en vue de l'adrénalectomie (le lieu de pénétration dans l'espace rétropéritonéal est indiqué par le X) [89]. ....	86
<b>Figure n° 35</b> : Aspect de la surrénale droite pour l'opérateur (les écarteurs et une partie de la graisse ont été omis dans un but de clarté) [89]. ....	86
<b>Figure n° 36</b> : Application d'un clip sur un pédicule : on divise la veine diaphragmatique caudale entre deux clips (le champs disposé sous les écarteurs a été omis dans un but de clarté) [89]. ....	87
<b>Figure n° 37</b> : On détache la glande au niveau de son pôle antérieur en éliminant une petite portion du péritoine [89]. ....	87
<b>Figure n° 38</b> : Formule développée de l'o,p'-DDD. ....	889
<b>Figure n° 39</b> : Formule développée du kétoconazole. ....	94
<b>Figure n° 40</b> : Formule développée de la Métyrapone. ....	96
<b>Figure n° 41</b> : Formule développée de l'aminoglutéthimide. ....	97
<b>Figure n° 42</b> : Formule développée du trilostane. ....	97
<b>Figure n° 43</b> : Métabolisme de la dopamine et influence des M.A.O. et du déprényl [64]. ....	98
<b>Figure n° 44</b> : Formule développée de la cyproheptadine. ....	99
<b>Figure n° 45</b> : Formule développée de la bromocriptine. ....	99
<b>Figure n° 46</b> : Modèle moléculaire de la phosphatase alcaline. ....	105
<b>Figure n° 47</b> : Electrogramme des PAL extraites du foie, des intestins, des reins, du placenta, des os et de tumeur hépatique [82]. ....	106
<b>Figure n° 48</b> : Distribution tissulaires des PAL dans l'espèce canine [93]. ....	107
<b>Figure n° 49</b> : Localisation intracellulaire des PAL dans l'espèce canine (SF = fraction soluble, MS = fraction microsomale, MT = fraction mitochondriale, NF = fraction nucléaire et débris cellulaire) [93]. ....	107
<b>Figure n° 50</b> : Electrogramme des PAL sériques provenant de chiots et d'animaux atteints d'ostéosarcome et de pathologie rénale, avec pour marqueurs la PAL hépatique [82]. ....	109
<b>Figure n° 51</b> : Electrogramme des PAL sériques provenant d'animaux atteints d'hépatite, de syndrome de Cushing, de tumeur hépatique et d'obstruction biliaire, avec pour marqueurs la PAL hépatique [82]. ....	110
<b>Figure n° 52</b> : Clearance des PAL d'origine intestinale (●—), rénale (○—) et placentaire (Δ—) injectées par voie intraveineuse [83]. ....	111
<b>Figure n° 53</b> : Clearance des PAL d'origine hépatique (●—) et cortico-induites (Δ—) injectées par voie intraveineuse [83]. ....	111
<b>Figure n° 54</b> : Clearance des PAL d'origine hépatique (●—) et cortico-induites (Δ—) après élimination des groupements d'acide sialique par ajout de neuraminidase [83]. ....	112

<b>Figure n° 55</b> : Influence de la fétuine et de l'asialofétuine sur l'excrétion biliaire de la phosphatase alcaline d'origine intestinale chez un rat [164].....	114
<b>Figure n° 56</b> : Influence du glucose, du lactose et du galactose sur l'excrétion biliaire de la phosphatase alcaline d'origine intestinale chez un rat [164].....	114
<b>Figure n° 57</b> : Graphe illustrant le pourcentage d'inactivation des PAL tissulaire par la chaleur à 56° C pendant 30 minutes [152]. .....	116
<b>Figure n° 58</b> : Graphe illustrant le pourcentage d'inactivation des PAL sériques par la chaleur à 56° C pendant 30 minutes [152]. .....	116
<b>Figure n° 59</b> : Structure moléculaire du tétramisole, du lévamisole et du dexamisole.....	117
<b>Figure n° 60</b> : L'inhibition spécifique des phosphatases alcalines par le lévamisole (▲—), L-Phénylalanine (●—) et la R 8231 (x—) [177].....	118
<b>Figure n° 61</b> : L'effet de la L-phenylalanine sur l'activité des PAL plasmatique chez le chien (●— : PAL cortico-induites, Δ— : PAL osseuses et hépatique) [36]. .....	120
<b>Figure n° 62</b> : Séparation des PAL osseuses (B), des PAL hépatiques (L) et des PAL cortico-induites (S) par électrophorèse avec du WGL (droite) et sans WGL (gauche). Les flèches indiquent l'origine de la migration. 1 : hépatite, 2 : Cushing, 3 : ostéosarcome, 4 : chiot, 5 : corticothérapie, 6 : extrait de foie [97]. .....	122
<b>Figure n° 63</b> : Précipitation dose-dépendante des PAL osseuse (●) et hépatique (■) par le WGA. <i>Note</i> : la précipitation des PAL intestinales est de 70 %, 58 % et 33 % pour une concentration de WGA respectivement de 2,0 mg/ml, 2,5 mg/ml et 3,0 mg/ml (données non incluses dans le graphe) [76]. .....	122
<b>Figure n° 64</b> : Précipitation dose-dépendante des PAL osseuse (●) et hépatique (■) par la Concavaline-A. <i>Note</i> : la précipitation des PAL intestinales est de 86 %, 83 %, 67 % et 45 % pour une concentration de Concavaline-A respectivement de 2 mg/ml, 3 mg/ml, 4 mg/ml et 5 mg/ml (données non incluses dans le graphe) [44]. .....	123
<b>Figure n° 65</b> : Migration électrophorétique des différentes phosphatases alcalines, avec ajout de neuraminidase lors de la migration des PAL hépatiques et cortico-induites [83]. ....	124
<b>Figure n° 66</b> : Comportement migratoire des PAL cortico-induites (CAP), séminales (SAP), intestinales (IAP), hépatiques (LAP) et osseuses (BAP) lors de l'électrophorèse [101].	124
<b>Figure n° 67</b> : Comportement migratoire des PAL cortico-induites (CAP), séminales (SAP), intestinales (IAP), hépatiques (LAP) et osseuses (BAP) après ajout de neuraminidase lors de l'électrophorèse [101]. .....	124
<b>Figure n° 68</b> : Mesure de la fixation des anticorps anti-PAL cortico-induites après ajout d'un mélange de PAL hépatiques et cortico-induites (●—), de PAL cortico-induites (○—) et de PAL d'origine hépatique (Δ—) [76]. .....	126
<b>Figure n° 69</b> : Activité des PAL osseuses (U/L) dans le sérum de chiens en fonction de l'âge. A droite, la droite en noir représente la régression linéaire entre l'activité des PAL osseuse et l'âge du chien et la droite en gris représente l'intervalle de confiance de 95 % [159]. .....	128
<b>Figure n° 70</b> : Activité des PAL plasmatiques chez des chiens ayant reçu un placebo pendant 56 jours et chez des chiens ayant développé une dégénérescence hépatique cortico-induite après avoir reçu des injections de corticoïdes pendant 14 jours [3]. .....	134
<b>Figure n° 71</b> : Importance du phénomène de dégénérescence vacuolaire chez des chiens ayant reçu un placebo pendant 56 jours et chez des chiens ayant développé une dégénérescence hépatique cortico-induite après avoir reçu des injections de corticoïdes pendant 14 jours (0 : moins de 10 % des hépatocytes sont atteints, 1 : 10-30 % des hépatocytes sont atteints, 2 : 30-60 % des hépatocytes sont atteints, 3 : 60-100 % des hépatocytes sont atteints) [3]. .....	135

<b>Figure n° 72</b> : Composition en glycogène des hépatocytes chez des chiens ayant reçu un placebo pendant 56 jours et chez des chiens ayant développé une dégénérescence hépatique cortico-induite après avoir reçu des injections de corticoïdes pendant 14 jours, (mild increase : 10-50 % d'augmentation du nombre de granules de glycogène, moderate increase : 50-100 % d'augmentation du nombre de granules de glycogène, marked increase : plus de 100 % d'augmentation du nombre de granules de glycogène) [3].	136
<b>Figure n° 73</b> : Variations et moyennes des PAL cortico-induites totales lors de syndrome de Cushing, de corticothérapie, de pathologies hépatiques et de diabète sucré [188].	136
<b>Figure n° 74</b> : Relation entre le dosage de phénytoïne et l'activité des PAL sériques chez 7 chiens, à qui il a été administré de la phénytoïne pendant 6 mois ou plus [19].	137
<b>Figure n° 75</b> : Distribution de la population malade et de la population étudiée en fonction de Log (PAL + lévamisole) (PAL + lévamisole = activité des PAL cortico-induites résiduelles après inhibition par le lévamisole).	156
<b>Figure n° 76</b> : Distribution de la population malade et de la population étudiée en fonction de Log (PAL + lévamisole).	156
<b>Figure n° 77</b> : Courbe ROC des différents seuils de dosage de PAL après inhibition par le lévamisole.	159
<b>Figure n° 78</b> : Comparaison des courbes ROC des différents seuils de dosage des PAL totales et des PAL après inhibition par le lévamisole.	161
<b>Figure n° 79</b> : Variation de la valeur prédictive positive (VPP) en fonction de la prévalence relative pour le seuil de 140 UI/L de PAL après inhibition par le lévamisole.	162
<b>Figure n° 80</b> : Variation de la valeur prédictive négative (VPN) en fonction de la prévalence relative pour le seuil de 140 UI/L de PAL après inhibition par le lévamisole.	163
<b>Figure n° 81</b> : Variation de la valeur prédictive positive (VPP) en fonction de la prévalence relative pour les seuils de 40 UI/L et 380 UI/L de PAL après inhibition par le lévamisole.	164
<b>Figure n° 82</b> : Variation de la valeur prédictive négative (VPN) en fonction de la prévalence relative pour les seuils de 40 UI/L et 380 UI/L de PAL après inhibition par le lévamisole.	165
<b>Figure n° 83</b> : Corrélation entre Log (cortisolémie post-stimulation) et Log (PAL + lévamisole).	169
<b>Figure n° 84</b> : Evolution des PAL cortico-induites et de la cortisolémie post-stimulation chez le chien n° 1.	170
<b>Figure n° 85</b> : Evolution des PAL cortico-induites et de la cortisolémie post-stimulation chez le chien n° 2.	171
<b>Figure n° 86</b> : Evolution des PAL cortico-induites et de la cortisolémie post-stimulation chez le chien n° 4.	172
<b>Figure n° 87</b> : Evolution des PAL cortico-induites et de la cortisolémie post-stimulation chez le chien n° 8.	172
<b>Figure n° 88</b> : Evolution des PAL cortico-induites et de la cortisolémie post-stimulation chez le chien n° 10.	173
<b>Figure n° 89</b> : Evolution des PAL cortico-induites et de la cortisolémie post-stimulation chez le chien n° 16.	174
<b>Figure n° 90</b> : Evolution des PAL cortico-induites et de la cortisolémie post-stimulation chez le chien n° 27.	174

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau n° 1 :</b> Distribution des chiens ayant un syndrome de Cushing spontané ( $\%_1$ : pourcentage de Cushing spontané par rapport à la race, $\%_2$ : pourcentage de représentation par race dans la population, R : indice de prédisposition ( $R = \%_1 / \%_2$ ), si $R > 1$ , la race est prédisposée au syndrome de Cushing) [187].	40
<b>Tableau n° 2 :</b> Résultats hématologiques de cent dix sept chiens atteints de syndrome de Cushing [22].	49
<b>Tableau n° 3 :</b> Résultats Biochimique de cent dix sept chiens atteints de syndrome de Cushing [22].	51
<b>Tableau n° 4 :</b> Interprétation du test proposé par Meijer [22].	60
<b>Tableau n° 5 :</b> Protocoles du test de freinage fort à la dexaméthasone [105].	66
<b>Tableau n° 6 :</b> Protocoles du test combiné de freinage à la dexaméthasone (DXM) et de stimulation à l'ACTH.	69
<b>Tableau n° 7 :</b> Pourcentage d'inhibition des PAL par le lévamisole.	119
<b>Tableau n° 8 :</b> Pourcentage d'inhibition des phosphatases alcalines par la L-Phénylalanine.	119
<b>Tableau n° 9 :</b> Valeurs des $I_{50}$ (mM) de différents inhibiteurs des phosphatases alcalines [177].	121
<b>Tableau n° 10 :</b> Activité des phosphatases alcalines après ajout d'anticorps anti-PAL intestinale, hépatique et osseuse [154].	125
<b>Tableau n° 11 :</b> Spécificité de substrat des phosphatases alcalines [177].	127
<b>Tableau n° 12 :</b> Caractéristiques des isoenzymes « non-spécifiques d'organe » regroupant les phosphatases alcalines d'origine hépatique, osseuse, rénale et placentaire.	129
<b>Tableau n° 13 :</b> Caractéristiques des isoenzymes de type « intestinal » regroupant les phosphatases alcalines d'origine intestinale et cortico-induites.	130
<b>Tableau n° 14 :</b> Variation des phosphatases alcalines plasmatiques (TALP), osseuses (BALP), hépatiques (LALP) et cortico-induites (CALP) en fonction de l'âge du chien.	131
<b>Tableau n° 15 :</b> Suivi de la cortisolémie avant et après stimulation à l'ACTH, des PAL et des PAL cortico-induites chez les chiens de l'étude.	144 à 149
<b>Tableau n° 16 :</b> Bilan biochimique et diagnostic des chiens de la population témoin.	1522 à 155
<b>Tableau n° 17 :</b> Variation de la sensibilité et de la spécificité du dosage des PAL après inhibition par le lévamisole en fonction des différents seuils.	158
<b>Tableau n° 18 :</b> Variation de la sensibilité et de la spécificité du dosage des PAL totales en fonction des différents seuils.	160



## **INTRODUCTION**

Le syndrome de Cushing est la dysendocrinie la plus fréquemment rencontrée dans l'espèce canine. Son évolution est progressive et l'aspect clinique provoqué par cette pathologie est protéiforme mais tout de même assez remarquable. Le polymorphisme de la symptomatologie résulte du fait que l'hypercorticisme affecte la production des glucocorticoïdes qui possèdent une action sur l'ensemble de l'organisme et provoquent la variation de nombreux paramètres biologiques. L'un des paramètres que cette étude aura pour but d'analyser sera l'activité des phosphatases alcalines.

Les examens complémentaires mis au point dans l'optique de réaliser le diagnostic de cette pathologie se basent sur les modifications de ces paramètres. Afin, de mieux comprendre l'intérêt et l'utilité de ces examens, la physiologie et l'étiopathologie du syndrome de Cushing seront étudiées en premier lieu. Puis, ces examens seront décrits afin de mettre en évidence la complexité du diagnostic de l'hypercorticisme. Enfin, la description des différents traitements possibles de cette pathologie clôturera la première partie.

Par la suite, une étude approfondie sera menée sur les phosphatases alcalines, afin de comprendre leur physiologie et leurs rôles dans l'organisme. Nous analyserons également leurs variations physiologiques et pathologiques et nous pourrons mettre en évidence qu'une forme particulière de phosphatases alcalines spécifiques aux chiens, est produite systématiquement lors d'hypercorticisme ; elles seront alors qualifiées de phosphatases alcalines cortico-induites.

Enfin, l'étude mettra en évidence une technique particulière permettant le dosage exclusif de ces phosphatases alcalines spécifiques et tentera par la même, de mettre à profit ce dosage afin de permettre la réalisation d'un test diagnostique du syndrome de Cushing, ainsi qu'un test permettant le suivi thérapeutique de cette pathologie.



**PREMIERE PARTIE :**  
**ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DU SYNDROME DE CUSHING**

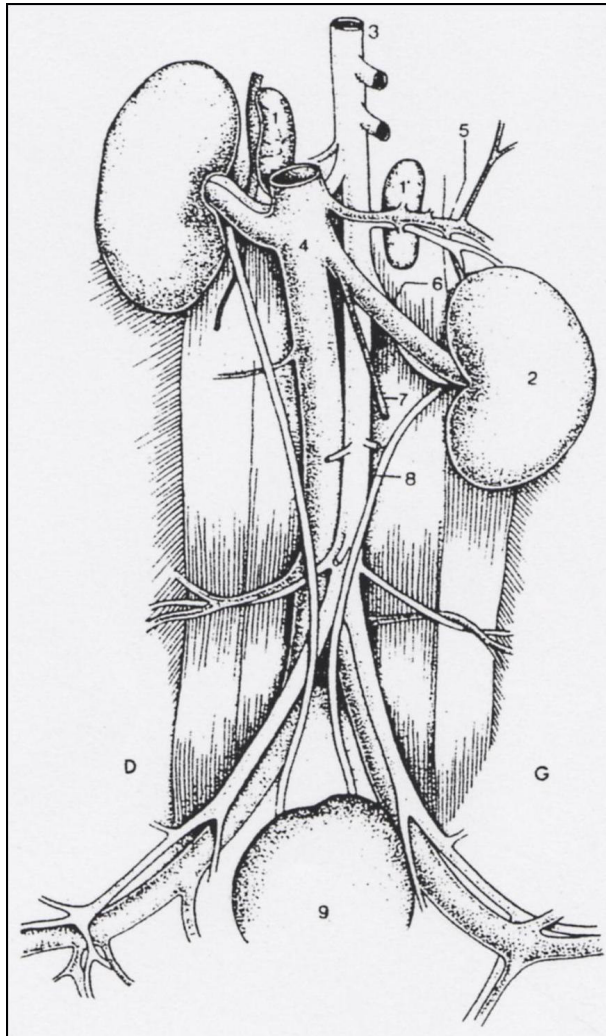


# I- RAPPELS ANATOMO-HISTOLOGIQUES

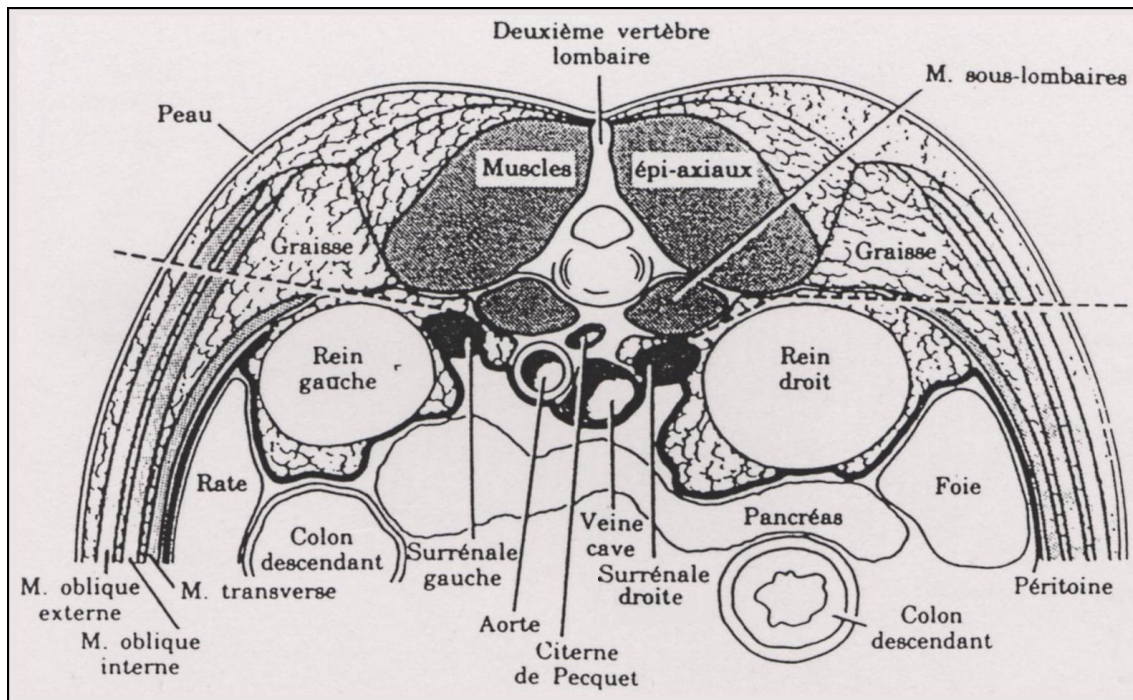
## A- Les glandes surrénales

### 1- Anatomie

Les glandes surrénales sont des glandes endocrines paires situées au niveau de la face antéromédiane des reins. Chez le chien, elles sont de petite taille (moins de 7 mm) et de forme ovale (Figure n° 1, et Figure n° 2, page 18). Chaque glande est contenue dans une capsule d'où partent des cloisons rayonnantes de tissu conjonctif avec de larges capillaires qui pénètrent dans la glande. De plus, chaque glande est constituée d'une corticale externe et d'une médullaire centrale. La corticale ou cortex est d'un aspect ferme et légèrement jaune, et la médullaire ou médulla est elle, d'aspect brun foncé et paraît molle. On note également une importante vascularisation au niveau de la médulla. Enfin, il est intéressant de rappeler que l'innervation des glandes surrénales est issue du système nerveux sympathique, via les nerfs du plexus coeliaque et des nerfs splanchniques [65, 72, 90].



**Figure n° 1 :** Anatomie topographique des glandes surrénales du chien (1 : glandes surrénales, 2 : rein gauche, 3 : aorte abdominale, 4 : veine cave postérieure, 5 : artère et veine lombo-surrénales gauches, 6 : artère et veine rénales gauches, 7 : veine ovarienne gauche, 8 : uretère gauche, 9 : vessie).



**Figure n° 2 :** Schéma d'une coupe transversale d'un chien au niveau de la deuxième vertèbre lombaire [55].

## 2- Histologie

Chaque glande surrénale est constituée de deux zones dont les fonctions et l'origine embryologique diffèrent : la corticosurrénale et la médullosurrénale.

### a- La corticosurrénale

La corticosurrénale est divisée en trois zones fonctionnelles et de nature histologique différente. De l'extérieur vers l'intérieur, on a :

- la zone glomérulée ou *zone glomerulosa*, constituée de cellules groupées en amas plus ou moins arrondis (Figure n° 3, page 19),
- la zone fasciculée ou *zona fasciculata*, dont les cellules se disposent en longs cordons perpendiculaires à la surface (Figure n° 3, page 19),
- la zone réticulée ou *zona reticularis*, où les cellules sont organisées en réseau de cordons anastomosés (Figure n° 3, page 19).

Ces trois zones sécrètent trois types d'hormones qui dérivent toutes du cholestérol : les glucocorticoïdes (avec notamment le cortisol) produits par les zones fasciculée et réticulée, les minéralocorticoïdes (avec notamment l'aldostérone) sécrétés par la zone glomérulée et des stéroïdes sexuels (tels que les androgènes et la 17- $\alpha$ -hydroxyprogestéronne) produits par les zones fasciculée et réticulée. Les cellules constituant la corticosurrénale sont donc des cellules endocrines ; elles possèdent un réticulum endoplasmique lisse très développé, de nombreuses mitochondries à crêtes tubulaires, des liposomes et des amas pigmentaires de lipofuscine [21, 51, 55, 65, 69, 72].

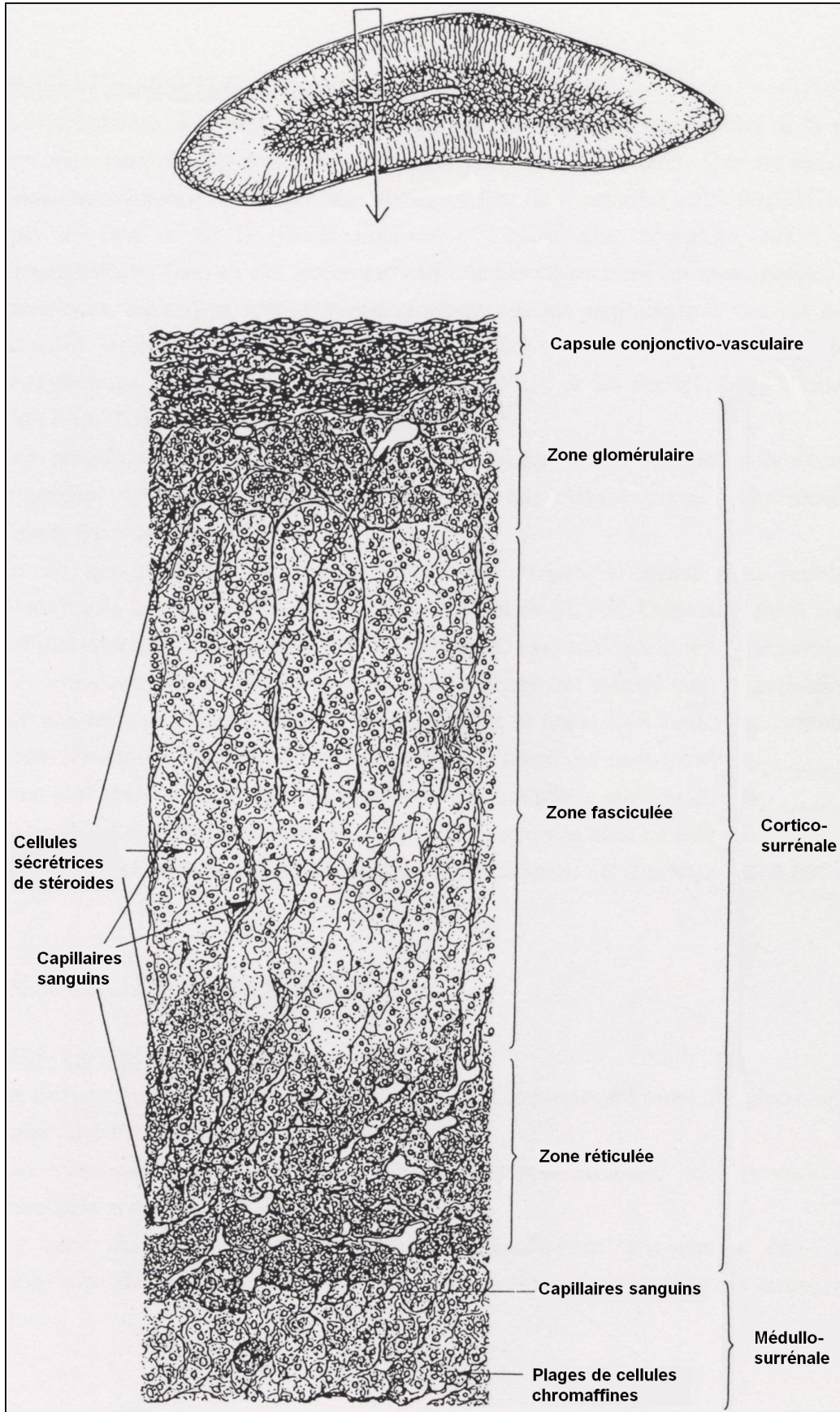


Figure n° 3 : Les différentes zones de la surrénale normale, d'après O. BUCHER.

## b- La médullosurrénale

Cette zone centrale est constituée de cordons de grandes cellules glandulaires chromaffines polyédriques sécrétant des catécholamines tels que l'adrénaline et la noradrénaline, son précurseur. De nombreux capillaires sanguins fenêtrés et un réseau conjonctif entourent ces cordons (Figure n° 3, page 19).

### **B- Le complexe hypothalamo-hypophysaire**

#### 1- Anatomie

##### a- L'hypothalamus

L'hypothalamus est situé à la base du diencephale. Il est divisé en trois régions distinctes :

- la région hypothalamique rostrale
- la région hypothalamique intermédiaire ou tubérale
- la région hypothalamique caudale

Chacune de ces régions est, à son tour, sub-divisée en noyaux constitués des corps cellulaires des neurones [37, 69].

##### b- L'hypophyse

###### ➤ *Structure*

L'hypophyse se subdivise en deux parties : l'adénohypophyse craniâlement et la neurohypophyse caudalement (Figure n° 4, page 21) [8, 37].

L'adénohypophyse est elle-même constituée de trois zones [8, 37] :

- le lobe antérieur ou *pars anterior*, situé dans la selle turcique,
- le lobe intermédiaire ou *pars intermedia*, situé entre le lobe antérieur et la neurohypophyse,
- le lobe tubéral ou *pars tuberalis*, dont la localisation est suprasellaire.

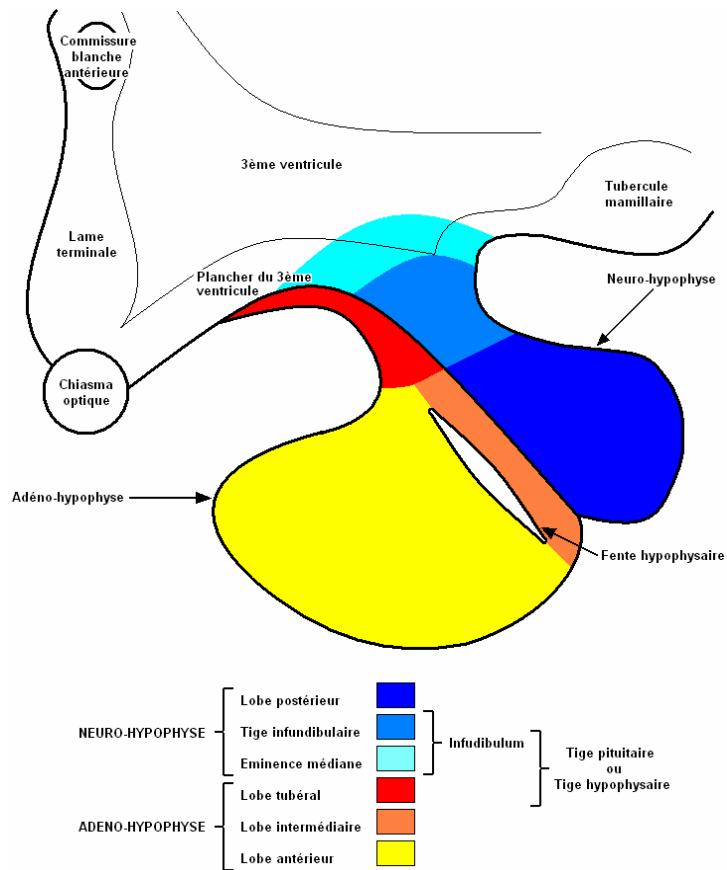
La neurohypophyse est également subdivisée en trois parties [8, 37] :

- l'éminence médiane, située à la base du troisième ventricule en arrière du chiasma optique,
- la tige infundibulaire qui constitue, avec l'éminence médiane, l'infundibulum,
- le lobe postérieur.

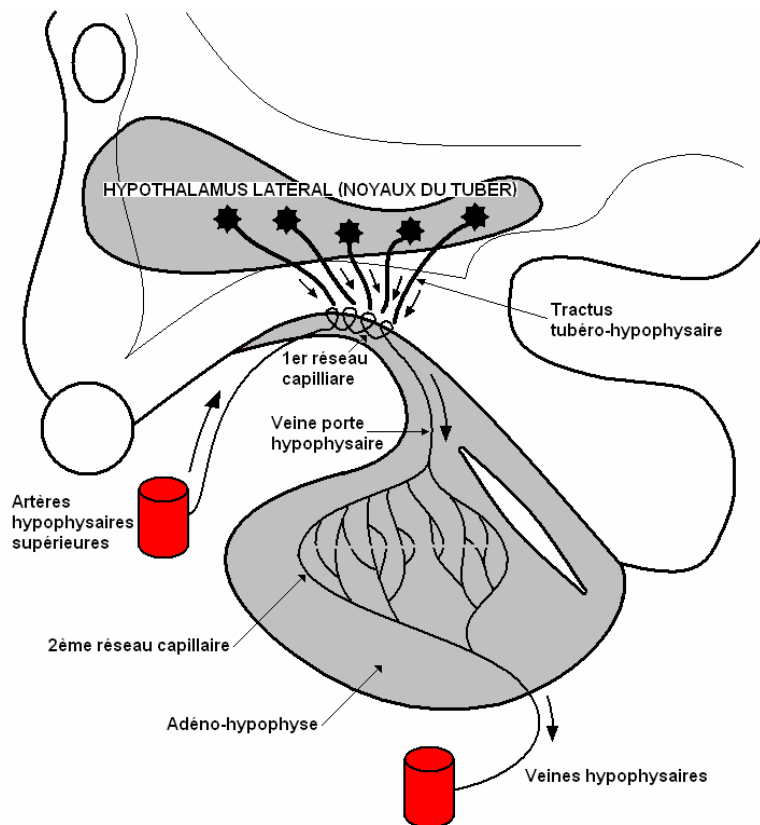
On peut noter que la tige infundibulaire, l'éminence médiane et le lobe tubéral forment la tige pituitaire ou tige hypophysaire.

###### ➤ *Vascularisation*

Au niveau de l'hypophyse, on peut remarquer la présence de deux systèmes portes (Figure n° 5, page 21) [8, 37, 64]. Le premier est issu des artères hypophysaires supérieures. Il se situe à la base de l'hypothalamus. Puis les veinules issues de ces capillaires deviennent coalescentes et longent le lobe tubéral ; elles forment les veines porte hypophysaires. Enfin celles-ci donnent un nouveau système porte au sein même du lobe antérieur de l'adénohypophyse, en se capillarissant en sinusoides. Ce second réseau est ensuite drainé par les veines hypophysaires. Celles-ci confluent finalement au niveau des veines jugulaires. Mais l'adénohypophyse est également vascularisée par des artérioles trabéculaires issues des artères hypophysaires supérieures ou de la carotide interne.



**Figure n° 4 :** Schéma montrant les différentes parties de l'hypophyse.



**Figure n° 5 :** Schéma montrant l'irrigation de l'adénohypophyse.

La vascularisation de la neurohypophyse semble moins complexe. La *pars nervosa* et la *pars intermedia* sont vascularisées par des capillaires issus des artères hypophysaires moyennes et inférieures, qui pénètrent ensuite dans l'adénohypophyse pour s'anastomoser avec les réseaux de capillaires issus des artères hypophysaires supérieures.

Il existerait de nombreuses anastomoses entre les réseaux vasculaires de l'adénohypophyse et de la neurohypophyse. De plus, le courant sanguin ne serait pas uniquement descendant car il existerait des communications ascendantes vers l'hypothalamus.

### ➤ *Innervation*

L'innervation de l'adénohypophyse par l'hypothalamus est particulière. En effet, il a été démontré que cette innervation ne reposait pas sur le schéma classique du transfert de l'influx nerveux via la libération de neurotransmetteurs au niveau de synapses. La communication nerveuse se fait par l'intermédiaire du premier système porte dont les capillaires sont en contact avec des axones originaires des noyaux parvocellulaires et magnocellulaires qui sécrètent des facteurs hypothalamiques déclencheurs (Releasing Hormone) ou inhibiteurs (Inhibitory Hormone). Le deuxième système porte permet de distribuer ces peptides aux neurones de l'adénohypophyse [8, 37].

Les axones des noyaux supraoptique et paraventriculaire courent à travers l'éminence médiane et la tige infundibulaire pour se terminer dans la *pars nervosa* ; l'innervation est donc plus classique [8, 37].

## 2- Histologie

### a- L'hypothalamus

Deux types de neurones composent l'hypothalamus. Les premiers sont semblables à ceux des autres centres autonomes. En effet, ils sont capables de recevoir, d'intégrer, de conduire et de transmettre les influx nerveux via la sécrétion de vasopressine et d'ocytocine. Certains d'entre eux se prolongent via leurs axones dans l'infundibulum et le lobe postérieur de l'hypophyse. Ils possèdent un péricaryon de grande taille et sont regroupés au sein des noyaux supraoptique et paraventriculaire de l'hypothalamus. Le second type de neurones diffère dans le fait qu'ils sont capables en plus, de sécréter des peptides dans un système capillaire à l'extrémité de leurs axones, situé au niveau de l'éminence médiane ; ils fonctionnent comme des cellules endocrines [8, 37].

### b- L'hypophyse

L'adénohypophyse est constituée de cellules agencées sous forme de cordons entourés d'une lame basale et séparés par du tissu conjonctif et des capillaires. Le lobe antérieur contient plusieurs types de cellules endocrines [7, 8, 37, 72] :

- des cellules somatotropes qui sécrètent la GH (Growth Hormone),
- des cellules lactotropes qui sécrètent la prolactine,
- des cellules corticotropes qui sécrètent la POMC (AdenoCorticoTropic Hormone) qui produit l'ACTH,
- des cellules thyrotropes qui sécrètent la TSH (Thyrotropin Stimulating Hormone),
- des cellules folliculotropes qui sécrètent la FSH (Follicle Stimulating Hormone),
- des cellules lutéotropes qui sécrètent la LH (Luteotropin Hormone),
- des cellules lipotropes qui sécrètent la LPH.

Il semblerait que les cellules folliculotropes jouent également un rôle dans les échanges ioniques et possèdent une activité phagocytaire. Il est à noter que ces cellules ont une disposition particulière au sein du lobe antérieur ; les cellules somatotropes et lactotropes se disposent plutôt latéralement et les cellules mélanocorticotropes se situent préférentiellement craniâlement et caudalement.

Le lobe intermédiaire est constitué de deux types cellulaires [7, 37, 51, 55, 64, 69, 72, 75, 179] :

- des cellules mélanotropes (cellules A) qui sécrètent différents peptides dont de la  $\alpha$ MSH et de la  $\beta$ endorphine et en moindre quantité de l'ACTH
- des cellules corticotropes (cellules B), en moindre quantité et qui sécrètent de l'ACTH

Le lobe tubéral est lui, composé de cellules gonadotropes (folliculotropes et lutéotropes) et de cellules thyroïdiques, ainsi que d'autres cellules sécrétrices dont la fonction est encore inconnue.

La neurohypophyse est principalement constituée de neurones. Dans la tige infundibulaire, les fibres nerveuses sont parallèles. A l'inverse, le lobe postérieur est constitué de neurones dont les axones divergent dans toutes les directions pour aboutir sur des capillaires. L'ensemble forme donc un réseau très dense. On note également la présence de cellules gliales qui jouent un rôle dans la régulation de la sécrétion de la vasopressine et de l'ocytocine [37].

## II- PHYSIOLOGIE

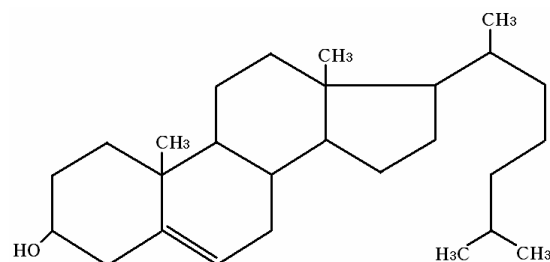
### A- Synthèses des glucocorticoïdes

#### 1- Localisation

Le cortex des glandes surrénales sécrètent trois types d'hormones : les glucocorticoïdes, les minéralocorticoïdes et les stéroïdes sexuels. Les hormones minéralocorticoïdes sont sécrétées exclusivement par la zone glomérulée de la corticosurrénale. Les glucocorticoïdes et les stéroïdes sexuels sont produits par les zones réticulées et fasciculées, sous la dépendance de l'ACTH hypophysaire.

#### 2- Biosynthèse

Les hormones produites par la corticosurrénale sont des hormones stéroïdes qui possèdent toutes un noyau à 17 carbones : le noyau cyclopenténophénanthrénique. Ces hormones dérivent donc du cholestérol (Figure n° 6) [10, 21, 55, 72, 189]. Il est à noter que 80 % du cholestérol utilisé provient du cholestérol sanguin et 20 % est synthétisé sur place.

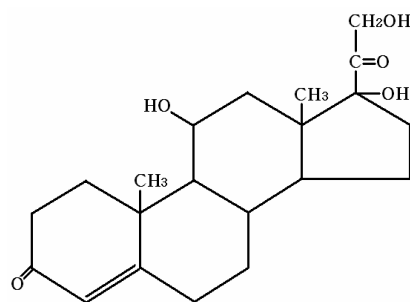


**Figure n°6** : Formule développée du cholestérol.

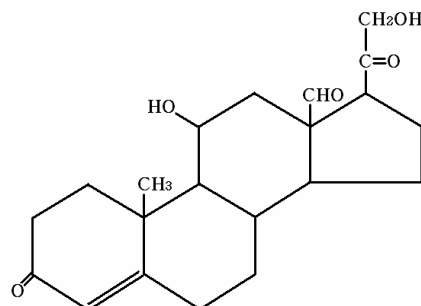
La première étape de cette biosynthèse est la formation de la pregnénolone à partir du cholestérol [10, 21, 55]. Celui-ci va subir une coupure au niveau de sa chaîne latérale entre les carbones 20 et 22, faisant intervenir plusieurs enzymes : des hydroxylases et une desmolase (Figure n° 10, page 26). Cette réaction a lieu dans les mitochondries des cellules du cortex surrénalien et nécessite la présence de NADPH (Nicotine-Amide-Dinucléotide-Phosphate) et d'oxygène moléculaire. Il faut rappeler que le cholestérol provient de l'absorption intestinale, de la synthèse hépatique et en moindre proportion de la synthèse *in situ* à partir d'acétates.

Puis différentes voies sont possibles :

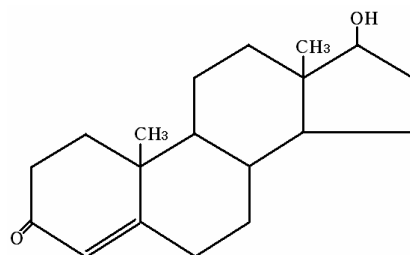
- la biosynthèse des glucocorticoïdes : synthèse du cortisol (Figure n° 7)
- la biosynthèse des minéralocorticoïdes : synthèse de l'aldostérone (Figure n° 8)
- la biosynthèse des stéroïdes sexuels : synthèse du  $\Delta^4$ andostène-3,17-dione qui est le précurseur de la testostérone (Figure n° 9)



**Figure n° 7 :** Formule développée du cortisol.



**Figure n° 8 :** Formule développée de l'aldostérone.



**Figure n° 9 :** Formule développée de la testostérone.

Ces voies dépendent de l'équipement enzymatique des différentes zones. Ainsi, les cellules des zones fasciculée et réticulée ne possèdent pas de 18-hydroxylase, ni de 18-OH-déshydrogénase, et sont donc incapables de synthétiser des minéralocorticoïdes. Par contre,

les cellules de la zone glomérulée ne peuvent pas sécréter de glucocorticoïdes, ni de stéroïdes sexuels, car elles ne possèdent pas de 17- $\alpha$ -hydroxylase [55].

Dans une deuxième étape, la pregnénolone est oxydée en C3 par la 3 $\beta$ hydroxystéroïde déshydrogénase microsomiale NAD dépendante, puis la double liaison en 5-6 est isomérisée en 4-5 par la  $\Delta^5\Delta^4$ isomérase. Le produit obtenu est alors la progestérone (Figure n°10, page 26) [10, 21].

Dans une troisième étape, la progestérone subit trois hydroxylations : en C17 $\alpha$  par la 17 $\alpha$ hydroxylase pour former la 17-hydroxyprogestérone, puis en C21 $\alpha$  par la 21 $\beta$ hydroxylase pour former le 11-désoxycortisol, et enfin en C11 $\beta$  par la 11 $\beta$ hydroxylase pour aboutir au cortisol (Figure n°10, page 26). Les deux premières hydroxylations ont lieu dans le réticulum endoplasmique alors que la troisième a lieu dans les mitochondries [10, 21].

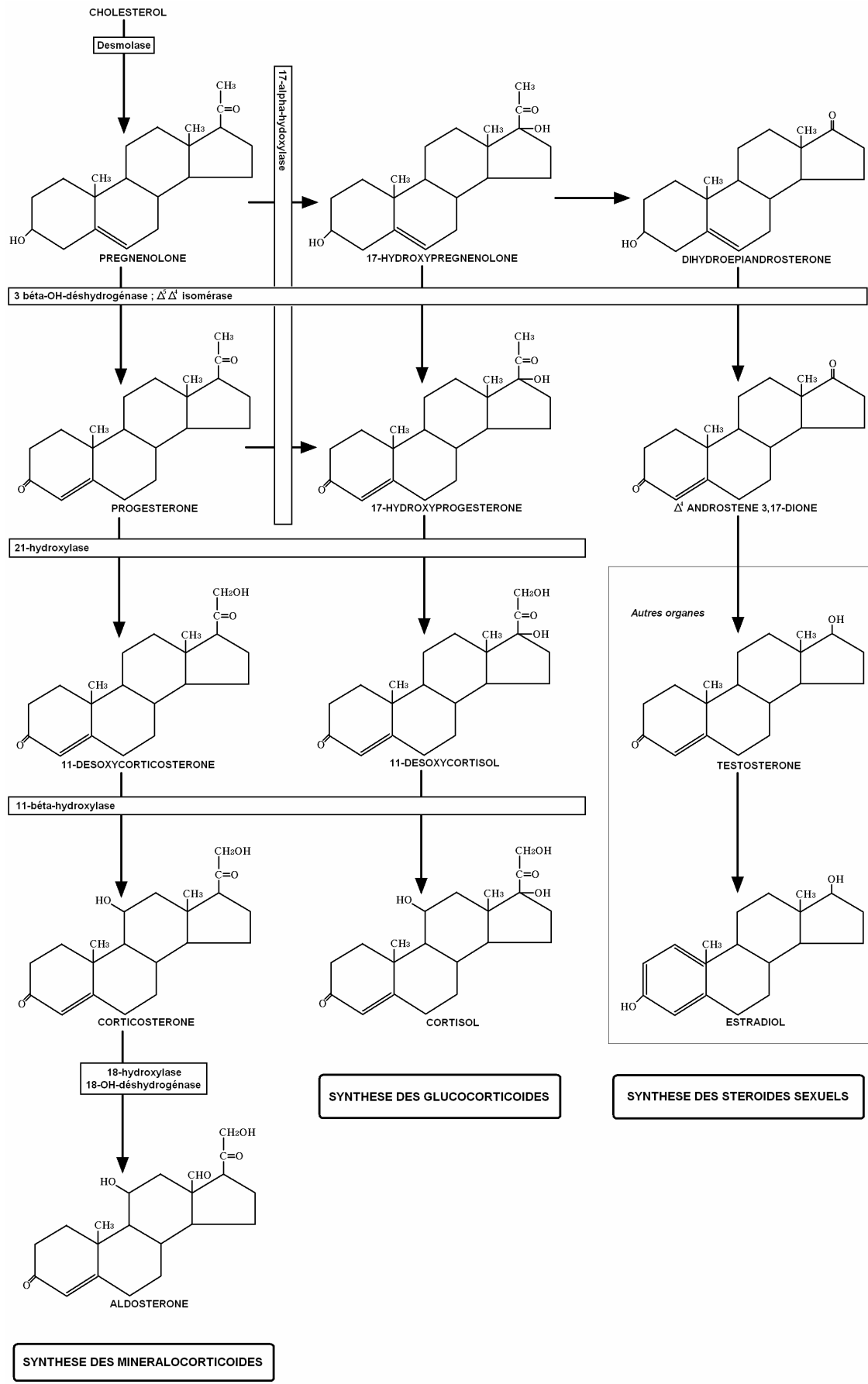
Une autre voie existe mais elle est accessoire : la pregnénolone subit une hydroxylation en C17 $\alpha$  par la 17 $\alpha$ hydroxylase pour former la 17-hydroxypregnenolone qui à son tour forme la 17-hydroxyprogestérone par l'action de la 3-béta-OH-déshydrogénase et de la  $\Delta^5\Delta^4$ isomérase (Figure n°10, page 26).

Il est à noter enfin que le cortisol est en équilibre avec la cortisone. Celle-ci est synthétisée par l'oxydation hépatique du cortisol et constitue alors un réservoir de glucocorticoïdes [110].

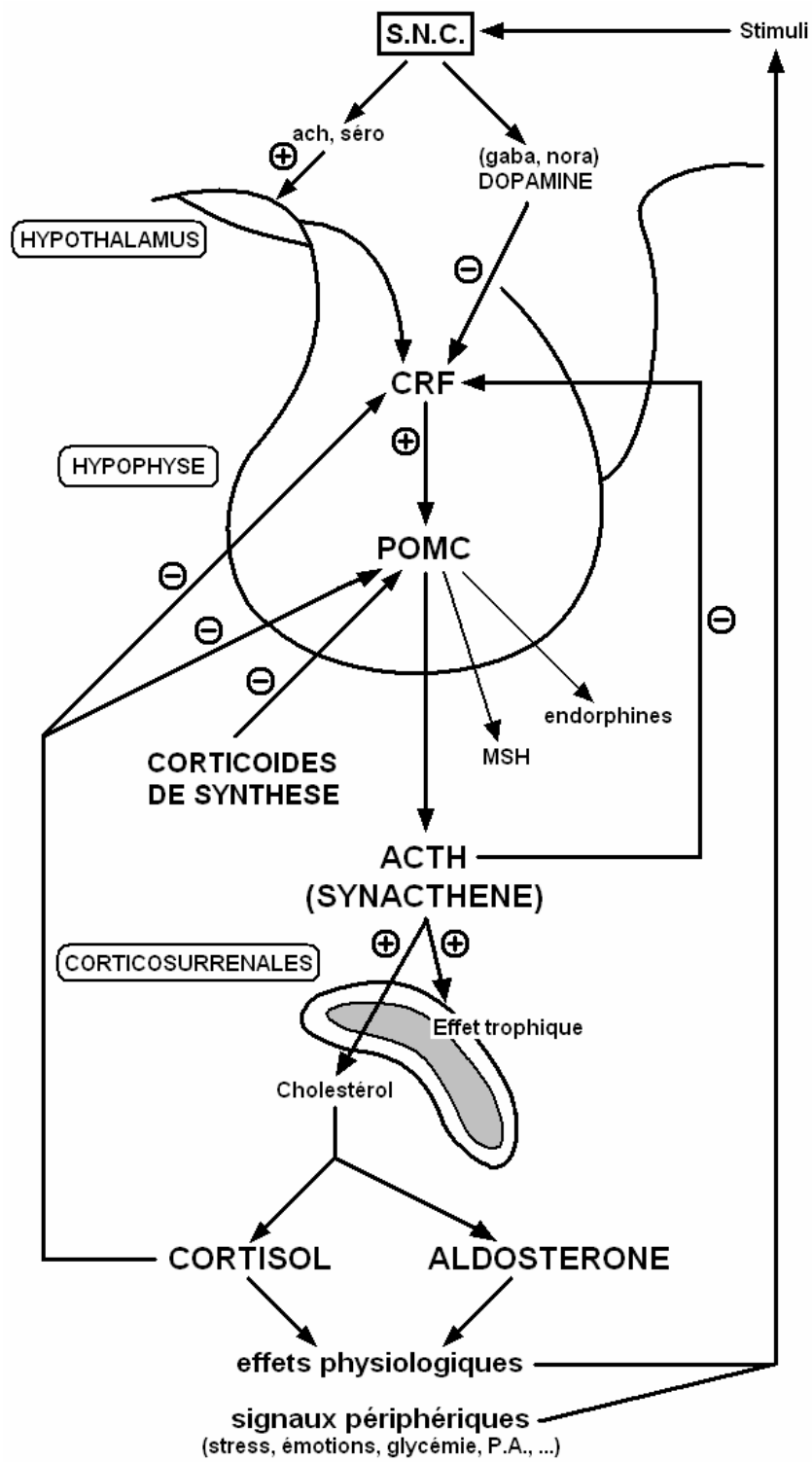
## **B- Régulation de la sécrétion des glucocorticoïdes**

La biosynthèse des glucocorticoïdes et des stéroïdes sexuels sécrétés par la corticosurrénale est sous la dépendance du taux plasmatique d'ACTH (adrénocorticotrophin hormone), produite par l'adénohypophyse (Figure n° 11, page 27) [21, 50, 55, 64, 65, 69, 94, 104, 189]. Il s'agit d'un polypeptide constitué de 39 acides aminés qui possède une action hyperplasante sur la corticosurrénale : elle exerce à la fois une action trophique sur le cortex surrénalien et un contrôle de la production du cortisol et des stéroïdes sexuels [21, 50, 55, 72]. L'ACTH est véhiculée jusqu'aux glandes surrénales par le sang. Puis elle se fixe sur des récepteurs spécifiques au niveau des cellules cibles corticosurrénales, provoquant une activation d'une adénylcyclase qui permet la déphosphorylation de l'ATP (Adénosine Tri-Phosphate) en AMPc (Adénosine Mono-Phosphate cyclique) (Figure n° 12, page 28). L'AMPc stimule alors la conversion du cholestérol en pregnénolone. L'ACTH stimule également la lipolyse au niveau du tissu adipeux. On peut noter que la sécrétion d'ACTH et de cortisol se produit par pulse de courte durée.

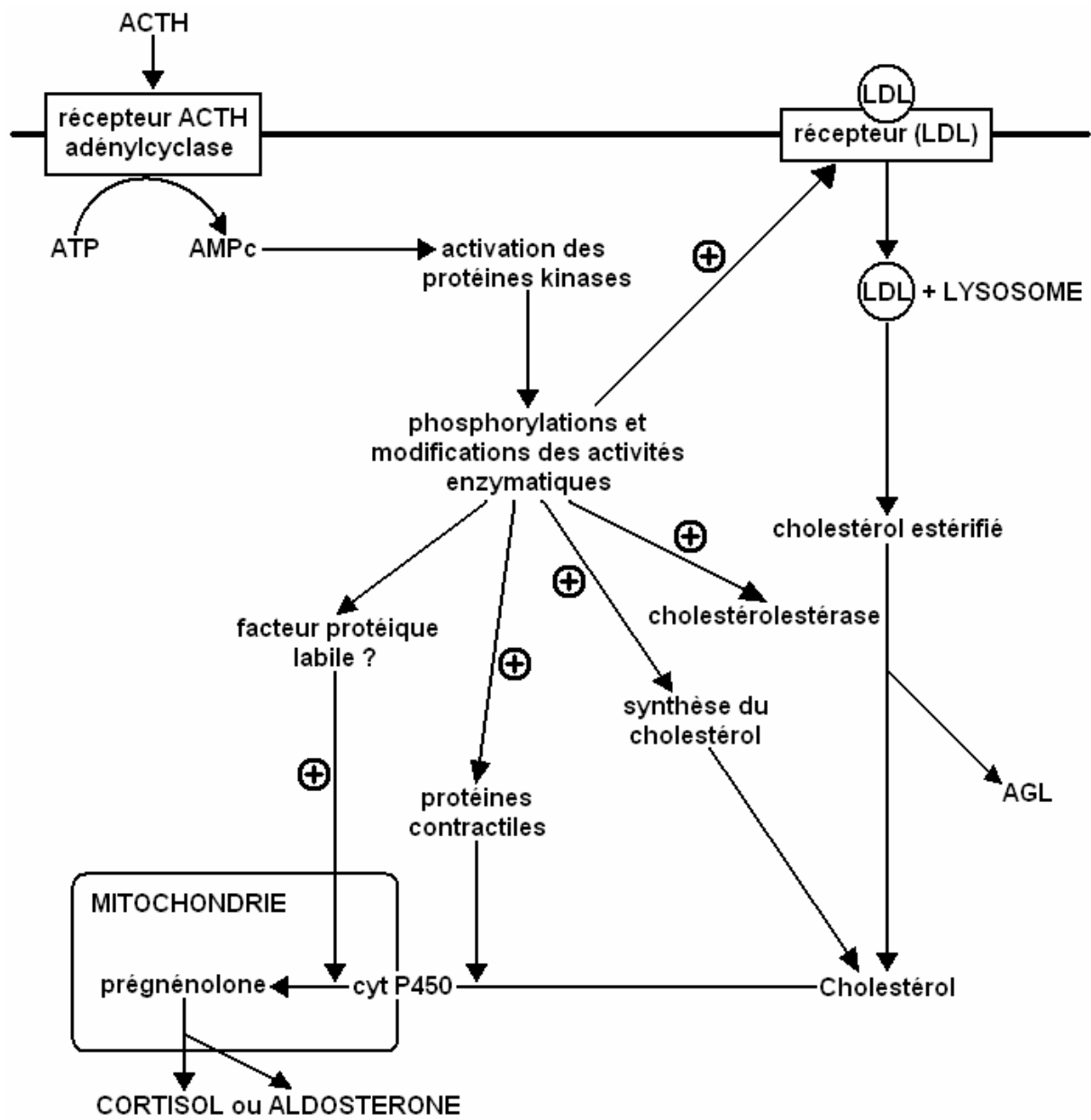
Il faut rappeler que l'ACTH est synthétisée dans les cellules corticotropes du lobe antérieur de l'adénohypophyse [50, 65, 189], à partir de son précurseur, la POMC (propiomélanocortine), comme l'indique la Figure n° 13 (page 29) [7, 50, 55, 64, 72]. Au sein de ces cellules, la POMC subit de nombreux clivages protéolytiques et les fragments peptidiques subissent alors différentes réactions post-transformationnelles : glycosylation, acétylation, phosphorylation, amidation, ... Par voie de conséquence, les granules de sécrétion contiennent un ensemble de peptides issus de la maturation de la POMC : l'ACTH et la  $\beta$ LPH. Par ailleurs, il a été démontré que le lobe intermédiaire produit également de l'ACTH car il est constitué de deux types cellulaires : 10 % de cellules corticotropes (cellules B) identiques à celles du lobe antérieur et 90 % de cellules mélanotropes (cellules A). Ces dernières produisent également de la POMC, mais sa maturation diffère de celle des cellules B. En effet, les peptides issus de cette maturation post-transcriptionnelle sont la  $\gamma$ MSH, la  $\alpha$ MSH, le CLIP, la  $\alpha$ LPH et la  $\beta$ endorphine.



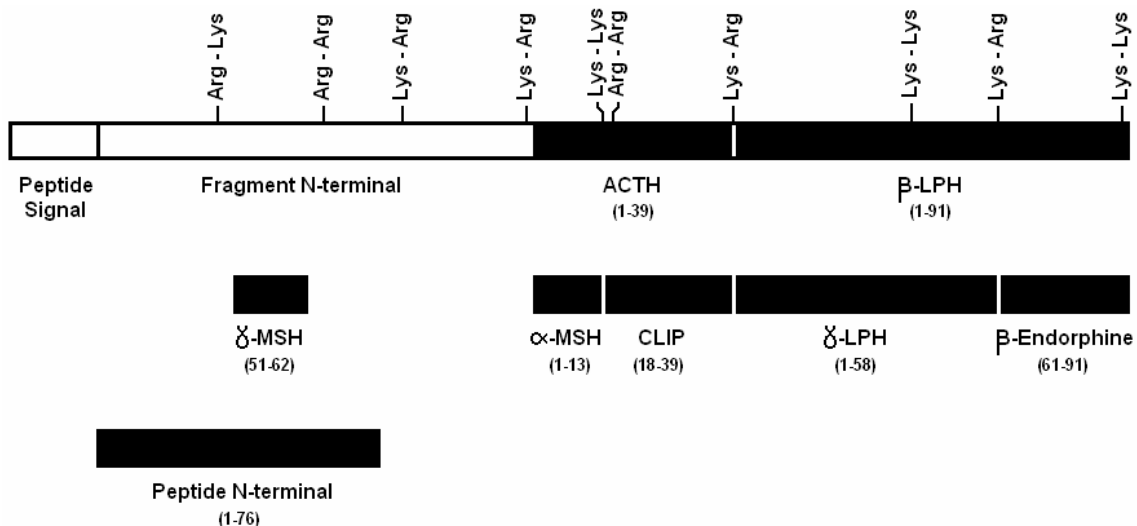
**Figure n° 10 : Biosynthèse des corticoïdes surrénaliens et des stéroïdes sexuels [10].**



**Figure n° 11:** Fonctionnement et régulation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien.



**Figure n° 12 :** Mécanisme d'action de l'ACTH sur la synthèse des corticoïdes au niveau des cellules surrénaliennes.



**Figure n° 13 :** Schéma représentatif de la proopiomélanocortine : sites de clivage préférentiels indiqués par des paires d'acides aminés et principaux peptides produits selon la localisation.

La stimulation de la sécrétion d'ACTH est contrôlée, à son tour, par la CRH (ou corticolibérine) produite par le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus pour les cellules du lobe antérieur, et par la dopamine sécrétée par les neurones du noyau arqué de l'hypothalamus pour les cellules du lobe intermédiaire [7, 21, 50, 51, 55, 64, 65, 69, 72, 92, 94, 104, 128, 147, 179, 191].

Egalement, la CRH est elle-même régulée de deux manières :

- un rétrocontrôle long qui est déterminé par le taux circulant de cortisol libre et une régulation par les centres supérieurs via la dopamine, le GABA et la noradrénaline pour son inhibition, et la sérotonine, l'adrénaline et l'acétylcholine pour sa stimulation [13, 21, 51, 55, 64, 68, 69, 104, 147, 179]
- un rétrocontrôle court déterminé par le taux circulant d'ACTH [50, 69, 104].

Enfin, les glucocorticoïdes exercent un rétrocontrôle négatif à la fois sur la sécrétion de la CRH et sur celle de l'ACTH [7, 21, 55, 64, 65, 72, 92, 104, 189]. On peut rappeler que ce dernier se compose de deux phénomènes. Le premier est un rétrocontrôle négatif rapide (moins de dix minutes), qui maintient la cortisolémie dans les limites physiologiques et qui ne porte que sur la sécrétion stimulée. Le second est un rétrocontrôle négatif retardé, qui n'est observé que dans les situations pathologiques (hypercorticisme, stress continu consécutif à une affection chronique, traitement par les glucocorticoïdes) et qui porte à la fois la sécrétion stimulée et sur la sécrétion tonique. Ces deux rétrocontrôles existent en raison de l'existence de deux types de récepteurs spécifiques :

- les récepteurs aux minéralocorticoïdes (MCR) sur lesquels les glucocorticoïdes se fixent également. Ils sont situés sur l'hippocampe et leur stimulation inhibe les sécrétions cyclique et tonique (rétrocontrôle lent).
- les récepteurs propres aux glucocorticoïdes (GR) situés sur l'hippocampe. Ils sont antagonistes des récepteurs aux minéralocorticoïdes et sont responsables du rétrocontrôle négatif rapide. Par conséquent, le rétrocontrôle lent est fonction du rapport MGC/GR dans l'hippocampe.

Il a été démontré, chez l'homme, l'existence d'un rythme circadien de la sécrétion d'ACTH qui est à l'origine des variations du taux plasmatique de cortisol libre au cours de la

journée. Cela n'a pas été mis en évidence chez le chien mais il a été observé chez le chien huit à seize pics de sécrétion répartis sur la journée [50, 55, 65, 72, 94, 104].

Le stress intervient également dans la régulation de la sécrétion des glucocorticoïdes. Lors de stress physique ou psychologique, le système nerveux central stimule directement la sécrétion d'ACTH et inhibe le rétrocontrôle exercé par les glucocorticoïdes sur la production de CRH et d'ACTH [50, 65, 72, 104].

### **C- Transport des glucocorticoïdes**

Les glucocorticoïdes sont transportés dans le plasma sous deux formes : libre ou liée à des protéines. Une très faible quantité est également présente dans les érythrocytes. La forme libre représente environ 8 à 10 % des glucocorticoïdes plasmatiques ; il s'agit de la forme biologiquement active. Le reste des glucocorticoïdes (90 %) est lié à des protéines plasmatiques. La majeure partie du cortisol (environ 70 %) est fixée par une protéine spécifique, la CBG (Corticostéroïd Binding Globulin) ou transcortine qui possède une haute affinité pour le cortisol mais sa capacité de fixation est limitée. Par conséquent, si la concentration plasmatique en cortisol est trop élevée, celui-ci est fixé alors par la sérumalbumine, de façon non spécifique. Cela permet d'éviter une variation trop importante de la fraction libre [21, 94].

Il faut également noter que la CBG se fixe également avec la corticostérone et la progestérone. Une augmentation de la progestéronémie provoquera donc une augmentation de la fraction libre du cortisol. De plus, les oestrogènes stimulent la synthèse de la transcortine, par conséquent, une hyperoestrogénémie sera responsable d'une diminution de la fraction libre. Enfin, certains stéroïdes de synthèse peuvent être liés à la CBG, comme la prédnisolone, contrairement à d'autres, tels que la dexaméthasone et la triamcilonone [21].

### **D- Mécanisme d'action cellulaire des glucocorticoïdes**

Les glucocorticoïdes pénètrent dans les cellules cibles en traversant les structures membranaires par un mécanisme passif, en raison de leur caractère lipophile. Il a cependant été démontré, dans certaines cellules hypophysaires, que ce passage transmembranaire était facilité. Puis une fois dans le cytoplasme de la cellule cible, les glucocorticoïdes se fixent sur des récepteurs spécifiques. Cette liaison est très spécifique, saturable, stable et nécessaire pour une réponse hormonale. Puis le complexe hormone-récepteur migre dans le noyau pour se fixer sur la chromatine nucléaire. Cette fixation nécessite au préalable une activation de ce complexe. Il résulte alors de cette liaison, une modification de la régulation de la synthèse protéique. Il est à noter enfin que tous les organes ne répondent pas de la même manière aux corticoïdes ; la réponse tissulaire est fonction de la présence ou non de ces récepteurs spécifiques et de la régulation génomique [179].

### **E- Effets physiologiques des glucocorticoïdes**

#### **1- Action sur le métabolisme**

##### **a- Le métabolisme général**

Les glucocorticoïdes sont responsables d'une stimulation du catabolisme périphérique, c'est-à-dire, au niveau de la peau, des muscles, des tissus conjonctifs, osseux, lymphoïdes et adipeux [72, 104, 189, 191]. Par contre, ils provoquent une stimulation de l'anabolisme au niveau du foie.

#### b- Le métabolisme glucidique

Ils sont responsables d'une hyperglycémie via la limitation de la captation et de l'utilisation périphérique du glucose. En effet, ils agissent en tant qu'antagonistes de l'insuline. Par contre, ils augmentent la néoglucogénèse au niveau du foie en potentialisant l'action glycogénolytique de l'adrénaline et du glucagon et en agissant directement sur les enzymes de la glycogénèse et la synthèse de nombreuses enzymes hépatiques. Ils augmentent également la libération des acides aminés glucoformateurs à partir des réserves protéiques périphériques de l'organisme. Pour lutter contre cette hyperglycémie, des mécanismes compensateurs vont être mis en place tels que l'augmentation de la sécrétion d'insuline [21, 55, 72, 104, 165, 189, 191].

#### c- Le métabolisme protéique

Ils augmentent le catabolisme protéique et diminuent l'anabolisme protéique dans les tissus périphériques (notamment celui du collagène). Il en résulte alors une amyotrophie, une ostéoporose et une fragilisation du tissu conjonctif. D'un point de vue biochimique, on note une augmentation de l'acidoémie. Au niveau hépatique, les glucocorticoïdes stimulent l'anabolisme protéique ; leur activité collagénasique est très importante [21, 55, 72, 104, 189, 191].

#### d- Le métabolisme lipidique

Les glucocorticoïdes stimulent la lipolyse. Ils favorisent donc la libération des acides gras dans le sang. De ce fait, la cholestérolémie, la triglycéridémie et la lipémie sont augmentées. On note également une redistribution des graisses au niveau du tronc, au dépend des extrémités. L'apparence du chien est alors caractéristique, avec une apparence de « tonneau » avec « une bosse de bison » [21, 55, 72, 104, 189, 191].

#### e- Le métabolisme hydro-électrique

A la différence de chez l'homme, ils n'affectent pas ou très peu la natrémie. Mais ils provoquent une hypokaliémie par pertes urinaires en potassium, et comme pour l'homme, ils sont responsables d'une polyuro-polydipsie (pour l'étiologie, voir V-A-1- Polyuro-polydipsie) [21, 51, 55, 72, 104, 165, 166, 179, 189, 191].

#### f- Le métabolisme du calcium

Les glucocorticoïdes possèdent une activité anti-vitamine D. Il en résulte une négativation du bilan calcique avec diminution de l'absorption intestinale et de la réabsorption tubulaire du calcium [72, 104].

### 2- Action sur l'inflammation, l'allergie et l'immunité

Les glucocorticoïdes agissent au niveau des membranes ; ils maintiennent ainsi l'intégrité des membranes cellulaires et la stabilité des membranes des lysosomes intracellulaires. Ils présentent également des propriétés vasculaires concernant la vasoconstriction et la perméabilité capillaire. Cela leur confère un rôle non négligeable pour lutter contre l'inflammation [11, 21, 72, 104, 124, 165, 189].

Mais les glucocorticoïdes possèdent aussi une action immunosuppressive en agissant sur [11, 21, 72, 104, 124, 165] :

- les macrophages et les monocytes en diminuant la phagocytose, le chimiotactisme, la reconnaissance des antigènes et la migration vers les sites de l'inflammation,
- les polynucléaires neutrophiles en déprimant la phagocytose et la migration tissulaire,
- les lymphocytes via leur effet lympholytique,
- les anticorps circulant en diminuant leur synthèse,
- le complément en inhibant la synthèse de certaines fractions.

Enfin, le cortisol présente une action anti-allergique [11, 21, 104, 165, 189]. En effet il diminue la biosynthèse des eicosanoïdes en inhibant la phospholipase qui les synthétise. Il a été démontré qu'ils favorisent la production de lipocortine (ou macromoduline) qui est une protéine inhibitrice de cette phospholipase. Les glucocorticoïdes inhibent également la dégranulation des mastocytes. En outre, en diminuant la synthèse des anticorps circulants, ils luttent également contre l'allergie. De plus il semblerait qu'ils interfèrent avec la fixation des IgE sur les récepteurs des polynucléaires basophiles ou des mastocytes.

### 3- Action sur les paramètres hématologiques et biochimiques

Les glucocorticoïdes sont responsables d'une séquestration médullaire et splénique des polynucléaires éosinophiles, provoquant alors une éosinopénie marquée. Il semblerait qu'il y ait aussi une destruction périphérique de ces éosinophiles. Ils possèdent également une toxicité sur les lymphocytes, ce qui est à l'origine d'une lymphopénie. Mais cette lymphopénie est également provoquée par un stockage des lymphocytes dans la moelle osseuse et la rate. En outre, ils agissent sur la démargination capillaire des neutrophiles et des monocytes. On observe alors une neutrophilie et une monocytose. La forte libération des neutrophiles stockés dans la moelle osseuse contribue également à cette neutrophilie. Enfin, lors d'un syndrome de Cushing, on note également parfois une érythrocytose, ainsi qu'une thrombocytose. Cependant, le mécanisme n'est pas encore bien défini [21, 50, 51, 55, 67, 72, 80, 92, 104, 133, 165, 179].

Concernant les paramètres biochimiques, lors d'un syndrome de Cushing, il peut être observé [21, 50, 51, 55, 67, 72, 79, 133, 179] :

- une hypercholestérolémie, une hypertriglycéridémie et une hyperlipémie, suite à la stimulation de la lipolyse,
- une hyperglycémie, secondaire à la stimulation de l'anabolisme du glucose par le foie et à l'inhibition du catabolisme périphérique du glucose,
- une augmentation de la créatinine et de l'urée plasmatique, consécutive au catabolisme protéique,
- une augmentation des acides biliaires, résultant de la cholestase hépatique provoquée par l'accumulation de glycogène dans les hépatocytes,
- une augmentation des phosphatases alcalines, provoquée par la cholestase hépatique,
- une augmentation de l'alanine aminotransférase, en raison de la dégénérescence des hépatocytes,
- une augmentation de l'amylase et de la lipase, due à l'augmentation de la cholestérolémie et de la lipidémie, ainsi qu'à une pancréatite provoquée par la polyphagie.

#### 4- Action sur les fonctions endocrines

##### a- La fonction thyroïdienne

Les effets des glucocorticoïdes sur la fonction thyroïdienne se manifestent par une diminution des taux plasmatiques de triiodothyronine (T3) et de tétraiodothyronine (T4). Le mécanisme n'est pas encore bien défini mais plusieurs hypothèses sont avancées [<sup>21, 50, 51, 55, 67, 80, 92, 95, 135, 136, 143, 165, 179</sup>] :

- la réduction de la sécrétion de la TSH (Thyroid Stimulating Hormone) suite au rétrocontrôle négatif qu'exercent les glucocorticoïdes sur l'hypophyse,
- l'inhibition de la libération de la TRH (Thyrotropin Releasing Hormone) consécutive au rétrocontrôle négatif sur l'hypothalamus,
- la réduction de la quantité de TBG (Thyroxine Binding Globulin) résultant de la stimulation du catabolisme protéique par les corticoïdes,
- un effet direct du cortisol sur la thyroïde,
- l'effet stabilisateur des corticoïdes sur la membrane lysosomiale des cellules folliculaires thyroïdiennes, inhibant l'hydrolyse lysosomiale et conduisant à une diminution de la fonction thyroïdienne.

##### b- La fonction de reproduction

Lors d'un syndrome de Cushing, on peut observer une baisse de la libido, un anoestrus persistant et une atrophie testiculaire (voir V-E- Troubles reproducteurs). Le mécanisme n'est pas clairement identifié mais on suppose que les glucocorticoïdes provoquent une inhibition de la libération de LH via leur rétrocontrôle négatif sur l'hypophyse. Il s'ensuit alors une diminution du taux plasmatique de testostérone. Il a également été démontré qu'un excès de corticoïdes provoque une diminution de la sécrétion de la FSH [<sup>21, 51, 55</sup>].

##### c- La fonction endocrine du pancréas

Il a été noté lors de syndrome de Cushing spontané une insulino-résistance ainsi qu'une tolérance anormale au glucose [<sup>50, 55, 121, 134, 143, 165</sup>]. Selon certains auteurs, la première phase de l'hypercorticisme correspondrait à un stade prédiabétique (60 % des cas) ; pour compenser l'insulino-résistance cortico-induite et maintenir une glycémie normale ou dans les limites supérieures, le pancréas sécrèterait d'avantage d'insuline. Puis la seconde phase du syndrome de Cushing correspondrait à une phase de décompensation avec apparition d'un diabète sucré (20 % des cas) ; les réserves d'insuline s'épuisant, on noterait alors une hyperglycémie ainsi qu'une glycosurie [<sup>21, 55, 92, 134, 143, 190</sup>].

#### **F- Catabolisme et élimination des glucocorticoïdes**

La majeure partie des glucocorticoïdes est métabolisée par le foie en composés inactifs, par le biais de nombreuses réductions successives [<sup>10, 21, 189</sup>]. Il en résulte alors la formation de dihydrodérivés (réduction de la double liaison  $\Delta 4$ ), de tétrahydrodérivés (réduction de la cétone en C3) et enfin d'hexahydrodérivés (réduction de la cétone en C20).

L'élimination est à la fois biliaire et urinaire après glucuronoconjugaison ou sulfuroconjugaison [<sup>10, 21, 189</sup>].

### **III- ETIOPATHOLOGIE**

On distingue trois formes d'hypercorticisme spontané ou naturel :

- L'hypercorticisme spontané primaire : l'hypercorticisme est d'origine surrénalienne et est consécutif à une production excessive de cortisol suite au développement d'une tumeur au niveau du cortex d'une glande surrénale (Figure n° 14, page 37).
- L'hypercorticisme spontané secondaire : l'hypercorticisme est d'origine hypothalamo-hypophysaire et résulte de la production excessive d'ACTH provoquant ainsi une production excessive de cortisol par les deux glandes surrénales (Figure n° 14, page 37).
- L'hypercorticisme spontané d'origine paranéoplasique : cet hypercorticisme résulte de la production ectopique d'ACTH par une tumeur extrahypophysaire.

Il existe enfin une quatrième forme d'hypercorticisme : l'hypercorticisme iatrogène consécutif à l'administration de glucocorticoïdes (Figure n° 14, page 37). Mais cette forme ne sera pas développée, car elle ne concerne pas le sujet de cette thèse.

#### **A- L'hypercorticisme d'origine surrénalienne ou hypercorticisme primaire**

Cette étiologie regroupe environ 15 à 20 % des hypercorticismes spontanés chez le chien [5, 21, 23, 25, 50, 51, 61, 62, 64, 67, 69, 72, 79, 80, 94, 104, 118, 124, 133, 143, 165, 179, 191]. L'hypercorticisme primaire résulte d'une tumeur sécrétante de la corticosurrénale (Figure n° 14, page 37). Au cours du processus tumoral, les cellules perdent leurs récepteurs à l'ACTH, devenant absolument insensibles à toute régulation [50, 64]. Cette tumeur est la plupart du temps unilatérale mais certains auteurs rapportent l'existence de tumeurs surrénales bilatérales. Celles-ci restent néanmoins très rares [55, 61, 80, 146]. Par ailleurs, ces tumeurs peuvent être soit à caractère bénin, soit à caractère malin ; les adénomes et les carcinomes se rencontrent de façon équivalente [5, 21, 25, 69, 72, 94, 104, 133, 143, 191]. REUSCH C.E. et al. [146] ont mis en évidence qu'il était impossible de distinguer cliniquement ces deux types de tumeurs et que seules l'histologie et l'imagerie médicale le permettaient. Enfin, certains auteurs [133] rapportent que dans de rares cas, il a été noté la coexistence d'une tumeur fonctionnelle de la corticosurrénale et d'un adénome pituitaire. Dans ce cas précis, la glande surrénale controlatérale est hyperplasiée [55, 67].

Ces tumeurs fonctionnelles augmentent donc la cortisolémie qui inhibe la sécrétion de CRH et d'ACTH par le biais du rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire. Cela provoque donc l'atrophie de la glande surrénale controlatérale, ou du moins l'atrophie des zones fasciculée et réticulée (la zone glomérulée est moins dépendante de l'ACTH), ainsi que l'atrophie de toutes les cellules saines de la corticosurrénale de la glande tumorale [21, 25, 51, 55, 64, 65, 80, 94, 133, 161].

##### **1- Adénomes surrénaux**

Les adénomes des glandes surrénales apparaissent entourés d'une capsule et leur taille varie entre 1 et 6 cm ; ils sont donc visibles macroscopiquement. Par rapport au rein adjacent, les adénomes n'excèdent pas les trois quarts de leur longueur. Ils sont constitués principalement de cellules provenant de la zone fasciculée, et dans une moindre proportion de cellules issues de la zone réticulée. Enfin, il est à noter qu'environ 50 % des adénomes surrénaux sont partiellement calcifiés. Il est donc possible de visualiser la moitié des adénomes surrénaux sur un cliché radiographique [50, 51, 55, 143, 190].

## 2- Carcinomes surrenaliens

La taille de ces tumeurs est comparable à celle du rein adjacent. Il arrive même que leur taille dépasse nettement celle du rein. Les carcinomes des glandes surrenales ne sont pas encapsulés. Ils sont richement vascularisés et des foyers de nécrose, d'hémorragie et/ou de dégénérescence kystique peuvent être présents. Environ la moitié de ces carcinomes sont partiellement calcifiés, donc visibles à la radiographie. L'aspect histologique de ces tumeurs est très variable. Enfin, ces tumeurs peuvent se métastaser notamment au niveau du foie et des poumons, et envahir les structures avoisinantes, telles que le rein ipsilatéral, la veine cave, l'aorte et le péritoine [<sup>50, 51, 55, 118, 143, 161, 167, 190</sup>].

## 3- Tumeurs surrenaliennes particulières

La grande majorité des tumeurs surrenaliennes responsables d'hypercorticisme primaire sécrètent du cortisol en grande quantité. Cependant, de nombreux auteurs [<sup>55, 123, 144, 174</sup>] ont observé des hypercorticismes associés à des tumeurs surrenaliennes et dont les réponses aux différents tests diagnostiques étaient normales. Ils mirent en évidence que ces processus néoplasiques ne sécrétaient pas de cortisol mais des hormones sexuelles et des précurseurs du cortisol comme la 17-hydroxyprogestérone et la progestérone. En effet, toutes les cellules tumorales proviennent d'une seule et même cellule, or pour sécréter du cortisol, cette cellule doit posséder tout l'équipement enzymatique nécessaire. Donc, si cet équipement est incomplet, cette cellule ne produira que les précurseurs du cortisol. Par ailleurs, la progestérone et la 17-hydroxyprogestérone possèdent une activité glucocorticoïde et elles peuvent se fixer sur la transcortine, faisant ainsi augmenter la fraction libre et active du cortisol aux dépens de sa fraction liée. Ces molécules peuvent donc provoquer les symptômes d'un syndrome de Cushing sans hypercortisolémie notable.

Ce type de tumeur explique donc que certains hypercorticismes « primaires » ne répondent à aucun test diagnostique, diminuant de ce fait leur sensibilité et leur fiabilité. On peut observer que le traitement de ces tumeurs est identique à celui de l'hypercorticisme primaire.

## **B- L'hypercorticisme d'origine hypophysaire ou hypercorticisme secondaire**

80 à 85 % des hypercorticismes spontanés ont pour origine une production excessive d'ACTH par l'hypophyse ; on parle alors d'hypercorticisme secondaire [<sup>21, 23, 25, 43, 50, 55, 62, 64, 67, 69, 72, 75, 79, 80, 92, 99, 104, 118, 124, 133, 143, 165, 179, 191</sup>]. Selon les auteurs, 20 à 100 % des chiens souffrant d'hypercorticisme secondaire présentent une tumeur hypophysaire [<sup>21, 37, 50, 55, 80, 133</sup>]. En l'absence de tumeur hypophysaire, les auteurs parlent d'hyperplasie idiopathique bilatérale des surrenales [<sup>21, 80</sup>].

Il est à noter que des incertitudes persistent quant à l'origine exacte de la production excessive d'ACTH [<sup>5, 50, 55, 80, 92, 94, 104, 128, 133, 190</sup>] :

- origine hypophysaire, avec des adénomes sécrétants autonomes
- origine hypothalamique, avec la stimulation excessive des cellules corticotropes hypophysaires par la CRH, due à une perturbation de la régulation hypothalamo-hypophysaire et associée à l'existence d'une hyperplasie hypophysaire ou d'adénome non autonomes

## 1- Les tumeurs hypophysaires

En cas de tumeur hypophysaire fonctionnelle, c'est-à-dire sécrétante, le taux plasmatique en ACTH est fortement augmenté et par voie de conséquence, la cortisolémie augmente suite à l'hyperplasie bilatérale des zones réticulée et fasciculée (Figure n° 14, page 37) [55, 65, 104]. De plus, ces tumeurs sont réfractaires au rétrocontrôle négatif qu'exercent les glucocorticoïdes sur l'hypophyse et ne sont plus sous la dépendance de la CRH et de la balance stimulation  $\beta$  adrénergique / inhibition dopaminergique.

Il faut également noter que les tumeurs hypophysaires sont soit à caractère bénin, soit à caractère malin. Mais il a été rapporté dans la littérature que la majorité d'entre elles sont des adénomes. Plus précisément, les tumeurs les plus fréquentes sont les adénomes de la *pars distalis* (70 %) [5, 13, 21, 23, 40, 50, 99, 104, 128, 133, 143, 190], puis les adénomes de la *pars intermédia* (30 %) [23, 72, 99, 104, 128, 143, 190]. Ce dernier type de tumeur expliquerait le fait qu'environ 30 % des hypercorticismes secondaires ne répondent pas au test de stimulation à l'ACTH [37, 64]. Des carcinomes hypophysaires ont tout de même été observés par quelques auteurs [12, 33, 120, 143].

Les auteurs distinguent les tumeurs hypophysaires, également, en fonction de leur taille [25, 43, 50, 55, 75, 99, 120]. Si leur diamètre n'excède pas 1 cm, on parle de microadénomes, et dans le cas contraire, on les qualifie de macroadénomes. Il est à noter que ce seuil est complètement arbitraire.

### a- Les microadénomes

Environ 40-45 % des microadénomes hypophysaires ont une taille qui n'excède pas 3 mm, lors du diagnostic. Cela signifie que cette masse tumorale ne peut être visualisable par tomodensitométrie ou par IRM. Le reste des microadénomes (55 à 60 %) ont un diamètre compris entre 3 mm et 1,2 cm, lors du diagnostic d'hypercorticisme. Ces masses tumorales ne sont habituellement pas encapsulées ; elles sont bordées de cellules hypophysaires non tumorales plus ou moins aplaties. Histologiquement, ces microadénomes sont constitués de couches compactes de cellules basophiles, qui sont agencées en sinusoides. Enfin, ces cellules présentent une hyalinisation périnucléaire [23, 37, 50, 51, 55, 92].

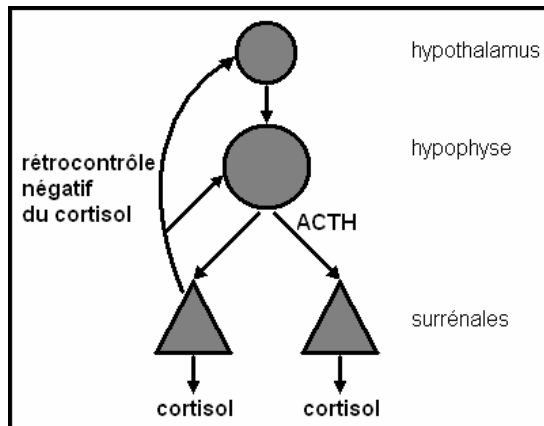
### b- Les macroadénomes

10 à 20 % des chiens souffrant d'hypercorticisme secondaire développent un macroadénome [23, 43, 50, 55, 64, 68, 99, 143]. Mais ces macroadénomes ne sont pas toujours présents lors du diagnostic ; ils apparaissent alors 4 à 36 mois après le début du traitement. La selle turcique du chien étant incomplètement fermée, le développement dorsal de ces macroadénomes peut comprimer voire envahir les structures adjacentes, notamment l'hypothalamus provoquant de ce fait l'apparition de troubles neurologiques [43, 68, 99, 160] (voir V-3-d- Signes associés à l'expansion d'une tumeur hypophysaire). A l'histologie, les cellules apparaissent chromophobes et contiennent de l'ACTH ainsi que des peptides issus de la maturation de la POMC [23, 33, 37, 40, 51, 55, 92, 99, 143, 190].

## 2- Les hyperplasies

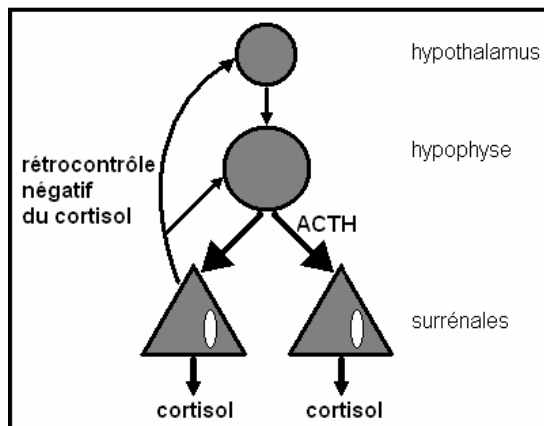
L'origine de la production excessive d'ACTH ou de cortisol peut ne pas être tumorale. Il s'agit alors d'hyperplasie.

Animal normal



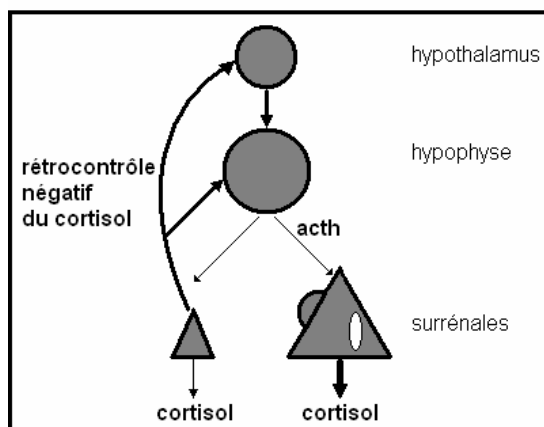
- ◆ hypophyse sécrète ACTH
- ◆ cortex surrénalien (zone réticulée et fasciculée) sécrète glucocorticoïdes endogènes : cortisol
- ◆ effet feed back négatif du cortisol ; régulation de la sécrétion d'ACTH et de cortisol

Hypercorticisme hypophysaire  
80-85% des cas



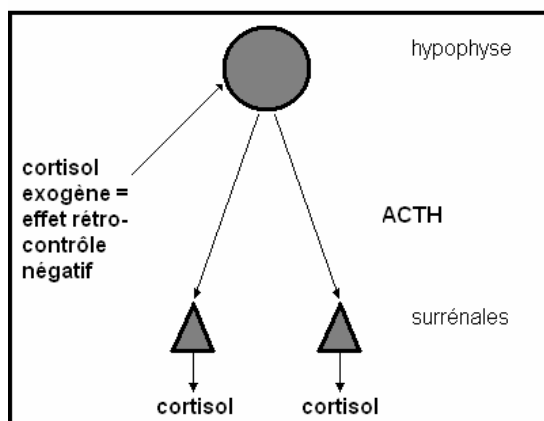
- ◆ hypophyse (microadénome dans 90% des cas) sécrète ACTH en excès
- ◆ hyperstimulation du cortex surrénalien, hyperplasie bilatérale, hypersécrétion de cortisol
- ◆ effet feed back négatif s'exerçant peu ou pas sur l'hypophyse pathologique

Hypercorticisme surrénalien  
15-20% des cas



- ◆ excès de sécrétion unilatérale de cortisol par une tumeur unilatérale du cortex surrénalien
- ◆ effet feed back négatif important sur l'hypophyse ; effondrement de la sécrétion d'ACTH
- ◆ atrophie des zones réticulée et fasciculée de la surrénale controlatérale
- ◆ **sécrétion de cortisol indépendante du contrôle hypophysaire**

Hypercorticisme iatrogène



- ◆ corticoïdes exogènes utilisés en excès ou chroniquement
- ◆ effet feed back négatif prolongé, effondrement de la sécrétion d'ACTH, hypoplasie du cortex surrénalien
- ◆ effondrement de la sécrétion de glucocorticoïdes endogènes
- ◆ **hypocorticisme physiologique**

Figure n° 14 : Axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien normal et pathologique [66].

#### a- L'hyperplasie surrénalienne

Il est possible de visualiser une hypertrophie des deux glandes surrénales en l'absence de tumeur surrénalienne bilatérale et de tumeur hypophysaire. On parle alors d'hyperplasie idiopathique bilatérale des surrénales. Les cellules des zones glomérulée et fasciculée sont hyperplasiées sous l'action de la forte concentration plasmatique en ACTH. Il existe également une autre forme d'hyperplasie surrénalienne appelée hyperplasie nodulaire, qui affecte 5 à 10 % des chiens atteints d'hypercorticisme secondaire [50, 55]. Cependant, la pathogénie de ce syndrome n'est pas connue.

#### b- L'hyperplasie hypophysaire

Il a été observé chez un faible pourcentage de chiens souffrant d'hypercorticisme secondaire une hyperplasie diffuse des cellules corticotrophes. La plupart de ces chiens présentent également une tumeur hypophysaire. Cette hyperplasie serait consécutive à un dérèglement du système nerveux central, qui produirait de la CRH et d'autres facteurs en excès, stimulant ainsi les cellules corticotrophes [50, 51, 55, 104].

#### 5- Le dérèglement du système de rétrocontrôle négatif

Il serait possible qu'il existe un échappement au rétrocontrôle négatif qu'exercent les glucocorticoïdes sur l'axe hypothalamo-hypophysaire. La production d'ACTH deviendrait alors excessive malgré l'absence totale de lésion de l'hypothalamus et de l'hypophyse. Cependant cette étiologie est très difficile à mettre en évidence.

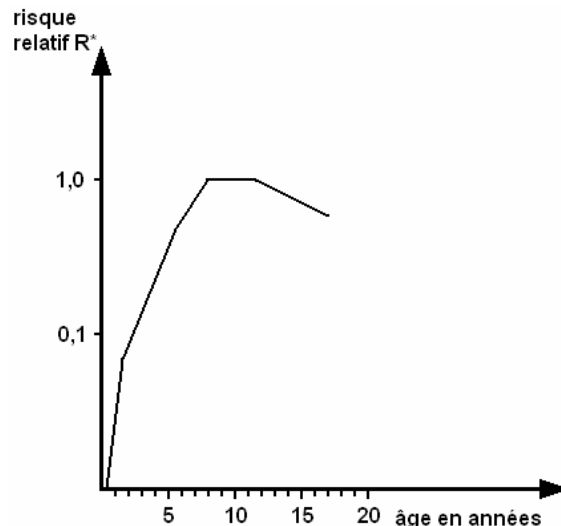
#### **C- L'hypercorticisme dû à une production ectopique d'ACTH ou syndrome paranéoplasique**

Chez l'homme, il a été décrit la présence d'hypercorticisme paranéoplasique résultant de la production excessive d'ACTH ou d'une substance « ACTH-like » à activité corticotrope, par une tumeur maligne extrahypophysaire et extrasurrénalienne. Il en résulte une hyperplasie bilatérale des deux glandes surrénales. Ces tumeurs n'ont pas de localisation particulière : carcinome bronchique, thymome, carcinome pancréatique et lymphome. Cette étiologie regroupe environ 10 % des hypercorticismes chez l'homme, mais elle reste exceptionnelle chez le chien [12, 23, 50, 52, 55, 72, 92, 104, 133, 143, 165, 179, 190].

### **IV- EPIDEMIOLOGIE**

#### **A- Age**

La plupart des chiens atteints d'hypercorticisme spontané sont d'âge moyen (6 à 8 ans), mais le syndrome de Cushing peut apparaître à tout âge ; la littérature rapporte que les âges extrêmes sont 1 et 18 ans (Figure n° 15, page 39). Les chiens souffrant d'un hypercorticisme spontané secondaire sont généralement âgés de plus de 6 ans et environ 75 % d'entre eux sont âgés de plus de 9 ans, avec un âge médian de 11,4 ans [50, 55, 67, 69, 72, 80]. Les chiens atteints d'un hypercorticisme spontané primaire semblent être plus âgés ; ils sont diagnostiqués assez souvent entre 6 et 16 ans et environ 90 % d'entre eux sont âgés de plus de 9 ans avec un âge médian de 11,6 ans [50, 51, 55, 62, 67, 69, 72, 80].



**Figure n° 15 :** Risque relatif de syndrome de Cushing spontané selon l'âge [187].

### **B- Sexe**

Selon de nombreux auteurs, aucune prédominance de sexe n'a été mise en évidence concernant l'hypercorticisme hypophyso-dépendant [21, 40, 64, 179]. Alors que d'après FELDMAN E.C. et al. [55], 55 à 60 % de ces chiens sont des femelles.

En revanche, il semblerait que les femelles soient nettement plus affectées par les tumeurs surrénaliennes que les mâles. Le ratio sexuel semble être de 2 pour 1 d'après SCOTT D.W. [165]. FELDMAN E.C. et al. [55] arrivent à la même conclusion en estimant que 60 à 65 % des chiens souffrant d'hypercorticisme spontané primaire sont des femelles. Pour CARLOTTI D. et al. [21] et NOGUES J.P. [118], 70 à 75 % des chiens souffrant d'hypercorticisme d'origine surrénalienne sont des femelles. Alors que pour GOY-THOLLOT I. et al. [67] et GROUX D. et al. [72], les femelles ont un risque six fois plus élevé que les mâles.

### **C- Race et poids**

L'hypercorticisme secondaire affecte surtout les caniches, les teckels, les différentes races de terriers, les boxers et les races brachycéphales [21, 50, 51, 55, 67, 69, 72, 99, 143, 187].

Le syndrome de Cushing d'origine surrénalienne se rencontre plutôt chez les bergers allemands, les labradors retriever et les races de grande taille [51, 55, 67, 69, 72, 143, 187]. Cependant, les teckels, les terriers et les caniches (de toute race) sont aussi prédisposés à cette pathologie (Tableau n° 1, page 40).

Il est intéressant de rappeler que les auteurs américains observent des différences concernant les races atteintes [55, 165].

On observe également qu'environ 75 % de chiens atteints d'hypercorticisme secondaire ont un poids inférieur à 20 kg. Par contre 45 à 50 % de ces chiens souffrant de tumeur surrénalienne, pèsent plus de 20 kg [51].

Races	Nombre	% <sub>1</sub>	% <sub>2</sub>	R
Caniche moyen	27	3,2	1,5	2,1
Caniche nain et toy	203	23,8	11,9	2,0
Teckel	128	15,0	7,1	2,1
Boxer	23	2,7	1,8	1,5
Berger allemand	16	1,9	6,3	0,3
Setter	4	0,5	1,7	0,3
Yorkshire	10	1,2	0,5	2,6
Labrador	16	1,9	2,7	0,7
Cocker	6	0,7	5	0,2

**Tableau n° 1 :** Distribution des chiens ayant un syndrome de Cushing spontané (%<sub>1</sub> : pourcentage de Cushing spontané par rapport à la race, %<sub>2</sub> : pourcentage de représentation par race dans la population, R : indice de prédisposition ( $R = \%_1 / \%_2$ ), si  $R > 1$ , la race est prédisposée au syndrome de Cushing) [187].

## V- SYMPTOMATOLOGIE

### A- Appareil urinaire

#### 1- Polyuro-polydipsie (80-95 %)

Cette manifestation est la plus fréquente dans le syndrome de Cushing. On parle de polydipsie quand la consommation d'eau est supérieure à 100 ml/kg/24 heures et la polyurie est définie par un volume urinaire supérieur à 50 ml/kg/24 heures [62, 153]. La polydipsie peut être primaire ou bien elle peut être consécutive à une polyurie. Dans le cas de l'hypercorticisme spontané, il s'agit d'une polyurie primaire non osmotique. En effet, les glucocorticoïdes agiraient via deux voies [50, 55, 67, 72, 92, 104, 127, 133, 143, 153, 179] :

- un diabète insipide central partiel : par une forte diminution de la sécrétion de l'ADH via le rétrocontrôle négatif des glucocorticoïdes sur l'hypothalamus.
- un diabète insipide secondaire néphrogénique partiel : par une augmentation du débit de filtration glomérulaire et par l'augmentation de la clearance de l'eau libre via une interférence des glucocorticoïdes avec l'ADH au niveau des tubes collecteurs rénaux.

La densité urinaire est fortement diminuée ; elle est souvent inférieure à 1,015 [50, 55, 67, 80, 92, 108, 143, 190].

Il est à noter que l'hypertension artérielle consécutive à l'hypercorticisme, aggrave cette polyuro-polydipsie en raison des glomérulopathies (glomérulosclérose, atrophie glomérulaire et glomérulonéphrite) qu'elle provoque [109].

#### 2- Cystite et pyélonéphrite

Les glucocorticoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires et immunosuppressives, ce qui prédispose les chiens souffrant d'hypercorticisme aux infections. Par ailleurs, on peut observer chez ces chiens une stase urinaire au niveau de la vessie, qui associée à une faible densité urinaire favorise l'apparition de cystites. Ces dernières peuvent se disséminer par voie rétrograde via les uretères jusqu'aux reins et provoquer une pyélonéphrite. De plus, du fait de l'action anti-inflammatoire des glucocorticoïdes, les chiens souffrant d'hypercorticisme associé à une infection du tractus urinaire ne présentent pas de

strangurie, ni de pollakiurie, ni de leucocyturie. On peut noter également que le risque de formation d'urolithiases d'oxalate de calcium est dix fois plus élevé chez les chiens souffrant d'hypercorticisme, en raison de l'augmentation de l'excrétion urinaire de calcium. Les risques accrus d'infection du tractus urinaires contribuent aussi au risque de formation d'urolithiases d'oxalate de calcium [50, 51, 55, 62, 67, 68, 92, 104, 108, 124, 143, 165].

## **B- Appareil digestif**

### **1- Polyphagie (57-90 %)**

Généralement, la polyphagie passe pour être un signe de bonne santé pour les propriétaires. En réalité, il s'agit souvent d'une des manifestations d'une pathologie. De plus, l'animal ingérant tout ce qui passe à sa portée, il peut se développer des pancréatites. L'origine n'est pas certaine, mais il semblerait que les glucocorticoïdes induisent un état d'insulino-résistance, avec pour effet l'installation d'un diabète sucré subclinique, responsable alors de la polyphagie [55]. Mais ce symptôme pourrait être également du à l'action directe des glucocorticoïdes sur le centre hypothalamique de la faim [21, 50, 51, 55, 61, 62, 67, 72, 75, 79, 80, 118, 143, 146, 166, 179, 190].

### **2- Obésité (43-50 %)**

L'obésité est aussi souvent un motif de consultation. Mais en réalité, il ne s'agit pas d'une prise de poids, mais d'une redistribution des graisses, essentiellement au niveau des épaules, des lombes et de l'abdomen. Cette redistribution se fait au dépend des protéines musculaires (musculatures des membres, de la sangle abdominale, ...) [50, 51, 55, 80, 108, 133, 179, 191].

### **3- Ptose abdominale et hépatomégalie (61-97 %)**

Cette apparence est évocatrice du syndrome de Cushing. La redistribution troncale des graisses, les dépôts graisseux mésentériques, le relâchement de la musculature de la sangle abdominale, l'hépatomégalie et la distension chronique de la vessie sont à l'origine de cette ptose de la sangle abdominale [12, 21, 50, 51, 55, 61, 62, 67, 72, 75, 80, 92, 104, 108, 121, 124, 133, 143, 146, 165, 166, 179, 190, 191].

## **C- Peau**

### **1- Alopécie (63-74 %)**

Cette alopécie initialement non prurigineuse résulte de l'atrophie des follicules pileux, des glandes sébacées et de l'épiderme. Par ailleurs la kératine s'accumule au niveau des follicules pileux, provoquant ainsi la rupture de l'attache du poil et donc sa chute. Les poils peuvent donc être aisément arrachés mais leur repousse est défectueuse. Cette alopécie se manifeste au niveau du cou, des flancs, de l'abdomen et puis du dos. Mais elle épargne habituellement la tête et l'extrémité des membres. Cette alopécie n'est pas systématiquement bilatérale. Cependant beaucoup d'animaux ne présentent qu'une raréfaction modérée voire légère du pelage. Par contre, il ne se développe pas chez le chien d'hirsutisme, contrairement à de nombreuses espèces dont l'homme. Enfin, il semble que les chiens de petite taille soient plus affectés que ceux de grande taille [9, 12, 21, 50, 51, 55, 61, 67, 72, 78, 79, 80, 92, 104, 118, 121, 124, 133, 135, 143, 146, 165, 166, 179, 186, 190, 191].

## 2- Atrophie cutanée et peau hypotonique (77-90 %)

La peau est la plupart du temps fine et hypotonique. Cela résulte de l'atrophie de l'épiderme et du tissu fibro-élastique, ainsi que de la diminution de l'anabolisme du collagène. On note la perte d'élasticité de l'épiderme cliniquement par la persistance du pli de peau, qui peut faussement faire penser à un état de déshydratation [12, 50, 55, 61, 67, 72, 78, 80, 92, 104, 108, 118, 143, 146, 165, 179, 186].

## 3- Comédons (25-34 %)

Il s'agit de bouchons folliculaires constitués de kératine. On les trouve sous forme de « points noirs », généralement sur la face ventrale de l'abdomen, au voisinage des mamelons. Mais leur présence est inconstante [12, 21, 50, 51, 72, 78, 80, 104, 118, 124, 133, 143, 165, 179, 186].

## 4- Troubles de la pigmentation (23 %)

On peut noter une hyperpigmentation diffuse ou en plage, sous forme de macule. Elle est alors moins marquée que dans l'hypothyroïdie ou l'insuffisance somatotrope. Mais il est possible également d'observer une hypopigmentation. Selon certains auteurs, l'hyperpigmentation résulterait de l'activité mélanotrope de l'ACTH et de la sécrétion associée de MSH par l'hypophyse [21, 50, 51, 55, 61, 67, 78, 80, 104, 124, 133, 135, 143, 165, 179, 186, 191].

## 5- Calcinose cutanée (8-40 %)

Il s'agit de la seule manifestation cutanée pathognomonique du syndrome de Cushing. Elle résulte d'un dépôt calcique dans le derme et l'épiderme. Elle apparaît préférentiellement au niveau des zones temporales, la ligne du dos, du cou, de la face ventrale de l'abdomen et des régions inguinales et axillaires ; on note initialement des papules dermiques fermes qui forment ensuite des plaques érythémateuses pouvant s'ulcérer et former des croûtes. En plus de la peau, elle peut également affecter la cavité buccale et les coussinets plantaires. En début d'évolution, cette manifestation cutanée est très rare, mais en revanche elle devient assez fréquente dans les cas chroniques, où elle peut évoluer vers une calcification de la peau, de la langue et des tendons [12, 21, 51, 61, 67, 72, 78, 80, 92, 104, 133, 143, 165, 179, 186, 191].

## 6- Séborrhée (30 %)

Elle peut être sèche ou grasse. Il s'agit souvent d'une complication des troubles cutanés initiaux [55, 104, 191].

## 7- Papules et macules

Elles résultent d'une télangiectasie, c'est-à-dire, une dilatation permanente des vaisseaux sanguins cutanés, et d'une phlébectasie, autrement dit, une dilatation et une prolifération des vaisseaux sanguins [67, 78, 80, 124, 143, 190].

## 8- Pétéchies et ecchymoses cutanées

On observe parfois des suffusions hémorragiques, notamment au niveau des ponctions veineuses et des zones de contact telles que le thorax et l'abdomen. Ces hémorragies résultent

de la fragilité des capillaires via l'appauvrissement de la paroi en collagène, ainsi que de la diminution de l'activation plaquettaire [<sup>50, 55, 57, 78, 80, 104, 118, 143, 165, 179</sup>].

## 9- Prurit

Initialement, l'hypercorticisme n'est pas prurigineux. Mais, un prurit peut apparaître suite à l'apparition de calcinose cutanée, de séborrhée ou d'infections cutanées [<sup>55, 145, 186</sup>].

## 10- Surinfections

L'effet immunosuppresseur et anti-inflammatoire des glucocorticoïdes peut provoquer l'apparition d'infections bactériennes ou parasitaires.

### a- Pyodermite (55 %)

Il s'agit le plus souvent de folliculite, mais il est possible d'observer des lésions non folliculaires peu inflammatoires de type impétigo bulleux. L'antibiothérapie est souvent un échec et les récives sont nombreuses [<sup>55, 67, 72, 78, 80, 104, 124, 143, 165, 179, 186</sup>].

### b- Démodécie

Il a été observé à de rares occasions des Demodex sur des chiens atteints d'hypercorticisme. Or cette dermatose parasitaire est peut fréquente chez les chiens. De ce fait, si une démodécie généralisée ou localisée est diagnostiquée, il est conseillé alors de vérifier l'état hormonal de l'animal, notamment un éventuel syndrome de Cushing [<sup>55, 186</sup>].

## 11- Les troubles de la cicatrisation

La diminution de la prolifération des fibroblastes, de la synthèse du collagène et de la réponse immunitaire entraîne un retard à la cicatrisation des plaies d'origine traumatique ou chirurgicale.

## **D- Appareil locomoteur**

### 1- Atteinte neuromusculaire

#### a- Faiblesse (57 %) et atrophie musculaire (35 %)

Elles résultent toutes les deux de la stimulation du catabolisme protéique périphérique induite par l'excès de glucocorticoïdes endogènes. On observe alors une fonte musculaire. Les propriétaires remarquent aisément ces troubles car le chien devient réticent ou incapable de monter les escaliers, sur les fauteuils et dans la voiture [<sup>12, 21, 50, 51, 55, 61, 62, 67, 72, 80, 92, 96, 104, 121, 133, 135, 146, 165, 179, 190, 191</sup>].

#### b- Myotonie

Le syndrome de Cushing peut s'accompagner parfois d'une pseudomyotonie caractérisée par une raideur, une faiblesse musculaire et une amyotrophie des membres postérieurs (notamment le segment proximal), se traduisant par une persistance de la contraction musculaire après l'effort volontaire. Mais elle peut également atteindre les membres antérieurs. Il s'agit plus précisément d'une myopathie métabolique liée à l'excès de cortisol et se manifestant par des lésions dégénératives et atrophiques des fibres musculaires. Cependant

l'étiologie de cette myopathie n'est pas encore connue et certaines hypothèses ont été avancées telles que la déplétion du potassium musculaire, l'altération des voies de la glycolyse oxydative ou l'augmentation du métabolisme oxydatif. A l'électromyographie, on peut mettre en évidence des « décharges bizarres et de haute fréquence » (bizarre high frequency discharge) d'une durée allant jusqu'à 20 secondes. Ces décharges peuvent s'interrompre brusquement en produisant dans le haut-parleur de l'électromyographe un son ressemblant à celui d'un bombardier en piqué (« dive-bomber sound »). Par contre, la vitesse de conduction nerveuse ne présente aucune anomalie.

Il faut préciser que le traitement de l'hypercorticisme spontané n'améliore pas cette pseudomyotonie et que son évolution se traduit par une aggravation progressive et une atteinte des membres antérieurs. Cependant, il est possible de traiter l'animal de manière palliative avec de la mexilétiline qui est un antiarythmique de classe I b et qui possède un effet stabilisateur de membrane. La posologie est alors de 20 à 60 mg 3 fois par jour, en fonction de l'amélioration clinique [<sup>15, 23, 34, 43, 50, 55, 67, 71, 74, 80, 92, 96, 104, 137, 143, 179</sup>].

## 2- Atteintes ostéoarticulaire et tendineuse

Liées au catabolisme protéique et plus précisément à celui du collagène, une laxité et une fragilité ligamentaires peuvent apparaître. Elles peuvent alors entraîner des luxations patellaires, des ruptures unilatérales ou bilatérales du ligament croisé antérieur du genou, des pathologies articulaires intervertébrales, entre autres [<sup>67, 72, 104</sup>].

## 3- Atteinte neurologique

### a- Léthargie (62 %)

Il s'agit de l'affection du système nerveux central la plus fréquemment observée dans l'hyperadrénocorticisme. Mais la léthargie peut aussi être la manifestation de la faiblesse et de l'atrophie musculaires. Cela se traduit alors par une inactivité de l'animal malgré le fait qu'il soit alerte [<sup>21, 50, 51, 55, 62, 75, 92, 96, 104, 133, 135, 165, 190, 191</sup>].

### b- Fatigabilité (75 – 85 %)

Cela se traduit par une intolérance à l'effort. Les chiens atteints d'hyperadrénocorticisme ne peuvent plus courir ou faire de longues promenades [<sup>67, 96, 104, 190, 191</sup>].

### c- Paralysie faciale (7 %)

Cette paralysie peut être unilatérale ou bilatérale. Son origine n'est pas encore bien définie [<sup>21, 55, 67, 104, 133</sup>].

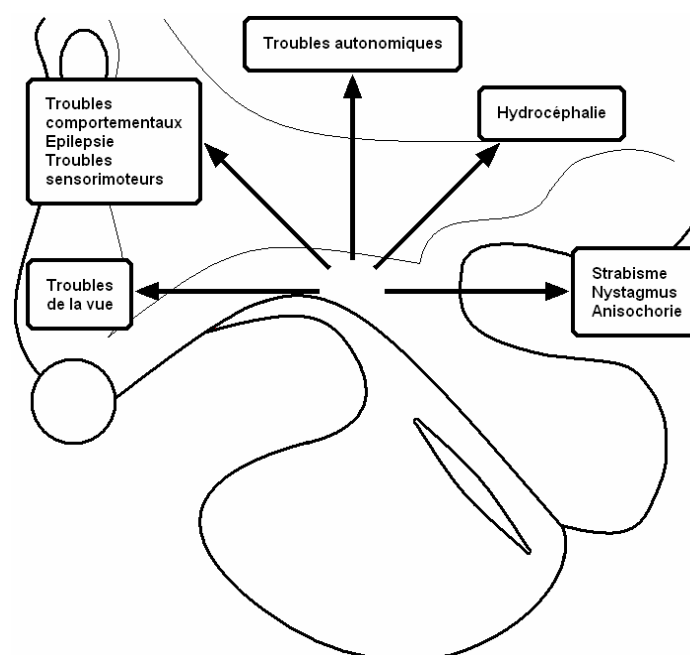
### d- Signes associés à l'expansion d'une tumeur hypophysaire (13 %)

Comme il a été décrit précédemment, l'hypophyse est imparfaitement scellée par la selle turcique. Par conséquent la prolifération de la tumeur hypophysaire peut provoquer alors une déformation du plancher hypothalamique et un envahissement du troisième ventricule. Mais les symptômes diffèrent selon les zones atteintes (Figure n° 16, page 45) :

- Si la prolifération est craniâle, on observe une compression du chiasma optique ainsi qu'un étirement des nerfs crâniens III, IV et VI avec pour conséquence, une diminution de l'acuité visuelle, des signes d'ophtalmoplégie et une perte du réflexe pupillaire.

- Si la prolifération tumorale est crano-dorsale, on a une compression des lobes frontaux et du diencéphale entraînant des troubles comportementaux (agressivité, peur), une démarche sans but, en cercle, des positions de pousser au mur, des crises épileptiformes et des troubles sensoriels et moteurs.
- Si la prolifération tumorale est dorsale, l'hypothalamus est alors atteint avec un dérèglement de l'axe hypothalamo-hypophysaire (apparition d'un diabète insipide) et une perturbation du fonctionnement des centres régulateurs hypothalamiques (apparition de troubles de l'appétit, modifications brutales de la température corporelle, trouble de la fréquence cardiaque).
- Si la prolifération tumorale est caudo-dorsale, le troisième ventricule est alors envahi, ce qui provoque un état hydrocéphalique par la perturbation de l'absorption ou du mouvement du liquide céphalorachidien.
- Si la prolifération tumorale est caudale, il y a compression des nerfs trijumeau avec apparition d'une paralysie motrice de muscles masticateurs.

Ces symptômes neurologiques évoluent de manière progressive et peuvent passer inaperçus dans un premier temps. Mais il est possible également qu'ils soient présents avant le diagnostic d'hypercorticisme. Par ailleurs, il a été observé l'apparition de troubles neurologiques liés à la présence d'une tumeur hypophysaire 30 à 60 jours après le traitement du syndrome de Cushing (20 à 30% des cas) ou après 6 mois de traitement (40 à 60% des cas). Chez l'homme, il a été mis en évidence le syndrome de Nelson ; la suppression du rétrocontrôle négatif exercé par les glucocorticoïdes sur l'hypophyse, provoquerait le développement de tumeurs hypophysaires. Cependant, aucun auteur n'a réussi à prouver l'existence de ce syndrome chez le chien. Enfin, de nombreux auteurs ont mis en évidence une corrélation entre l'intensité des troubles neurologiques et la taille de la tumeur hypophysaire. Mais d'autres paramètres interviennent également tels que la localisation, le rythme de croissance, l'envahissement des structures adjacentes et l'intensité de l'inflammation et de l'œdème péri-tumoral. Ainsi, tous les macroadénomes hypophysaires ne provoquent pas de manifestations neurologiques, et à l'inverse, certains microadénomes peuvent en être la cause [21, 23, 33, 43, 50, 51, 55, 67, 99, 104, 114, 115, 120, 121, 133, 143, 160, 165].



**Figure n° 16 :** Conséquences de l'incomplète fermeture de la selle turcique [23].

#### 4- Atteinte osseuse

On peut observer à de rares occasions des fractures spontanées lors d'hypercorticisme, suite à une diminution de 25 % de la masse osseuse. Cette ostéopénie serait plutôt la conséquence d'une diminution de l'activité ostéoblastique, que de l'augmentation de l'ostéolyse [72, 92, 143, 165, 191].

#### **E- Appareil reproducteur**

##### 1- Troubles reproducteurs chez le mâle

###### a- Atrophie testiculaire (29-60 %)

La sécrétion en excès de glucocorticoïdes provoque un rétrocontrôle négatif au niveau de l'hypophyse. Cela entraîne donc une inhibition de la sécrétion des hormones hypophysaires, dont notamment les gonadotropines hypophysaires (FSH et LH). De ce fait, cela provoque chez le mâle une atrophie testiculaire bilatérale [21, 50, 51, 55, 62, 67, 72, 92, 133, 135, 165, 179, 191].

###### b- Syndrome de « féminisation »

On observe également une baisse de la libido et une diminution de la concentration plasmatique de testostérone. La sécrétion des androgènes testiculaires chute, alors que celle des surrénales augmente. Mais l'action des androgènes surrénaliens étant négligeable chez les mâles contrairement aux androgènes testiculaires, il en résulte un syndrome de « féminisation » [55, 67, 72, 80, 104, 143, 165, 179].

##### 2- Troubles reproducteurs chez la femelle

###### a- Anoestrus prolongé ou permanent (54-85 %)

Comme chez le mâle, le taux plasmatique de gonadotropine hypophysaire est très faible, ce qui provoque la mise en place d'un état d'anoestrus chez la chienne. Souvent, la durée de l'anoestrus reflète la durée de l'hypercorticisme. Les chiennes souffrant de Cushing hypophyso-dépendant ont aussi une hyperprolactinémie qui interviendrait également dans l'inhibition de l'activité des ovaires [21, 50, 51, 55, 62, 67, 72, 80, 92, 104, 118, 133, 143, 165, 166, 179, 190, 191].

###### b- Hypertrophie clitoridienne

Chez ces chiennes, la production d'androgènes ovariens est normale mais celle des surrénales est augmentée. Par conséquent le taux plasmatique des androgènes augmente fortement, provoquant alors un syndrome de « virilisation », se traduisant par une hypertrophie clitoridienne chez certaines de ces chiennes. Un nombre plus restreint d'entre elles ont aussi présenté des adénomes périnéaux et une hypertestotéronémie [32, 50, 51, 55, 67, 72, 104, 143, 165, 166].

#### **F- Appareil respiratoire**

##### 1- Polypnée (30-31 %)

Cette manifestation résulte le plus souvent d'un essoufflement [21, 50, 51, 55, 67, 72, 80, 104, 133, 143, 179] résultant :

- d'une faible mobilisation diaphragmatique due à l'augmentation de la pression abdominale via l'hépatomégalie et les dépôts mésentériques de graisses,

- d'une faiblesse et d'une atrophie des muscles intercostaux et du diaphragme due à la stimulation du catabolisme protéique par les glucocorticoïdes,
- de la réduction de la capacité thoracique due à la redistribution troncale des graisses,
- la diminution de la compliance pulmonaire.

## 2- Dyspnée et détresse respiratoire

La polypnée permet de compenser l'essoufflement de l'animal. Mais lorsque la décompensation apparaît, on note alors une dyspnée [<sup>96, 104</sup>]. En cas de thrombo-embolie pulmonaire, l'animal souffre d'une détresse respiratoire dont l'issue est souvent la mort [<sup>55, 67, 104, 133, 161, 179</sup>].

## 3- Infections

En raison de la diminution de l'immunité de l'animal, des infections pulmonaires peuvent se développer comme une pneumonie ou une bronchopneumonie [<sup>92, 104, 124</sup>].

# **G- Appareil cardiovasculaire**

## 1- Hypertension artérielle systémique

L'hypertension artérielle systémique est une complication du syndrome de Cushing, notée dans 50 % des cas d'hypercorticisme. L'excès de glucocorticoïdes et d'ACTH provoque une augmentation du substrat protéique angiotensinogène sur lequel la rénine agit pour stimuler l'activation de l'angiotensine I. Ainsi, le système rénine-angiotensine se trouve stimulé, provoquant alors une vasoconstriction responsable de l'augmentation de la pression artérielle systémique. Mais cette hypertension artérielle est également provoquée par l'augmentation de la volémie, consécutive de l'augmentation de l'absorption sodique au niveau du tubule rénal et de la rétention hydrique qui s'ensuit. Il semblerait également selon certains auteurs que les glucocorticoïdes stimuleraient directement la sécrétion d'adrénaline, aggravant le phénomène de vasoconstriction [<sup>21, 23, 50, 51, 55, 67, 92, 104, 109, 133, 165, 179</sup>].

## 2- Insuffisance cardiaque congestive

Tout comme l'hypertension artérielle, l'insuffisance cardiaque congestive est une complication de l'hypercorticisme. L'hypertension artérielle induite par l'excès de cortisol est responsable de l'augmentation de la postcharge qui s'oppose à l'éjection systolique du sang. La charge du travail myocardique augmentant considérablement, il s'ensuit une hypertrophie des ventricules. Puis on observera une insuffisance cardiaque congestive quand le cœur ne pourra plus compenser. Il est à noter que le syndrome de Cushing affecte les chiens âgés dont la race est prédisposée à une fibrose acquise des valvules mitrales et tricuspides. Cela aggrave donc d'avantage les effets de l'hypertension [<sup>51, 55, 67, 109, 133, 179</sup>].

## 3- Thromboembolie pulmonaire

Ce trouble très fréquent chez l'homme est une complication de l'hypercorticisme. L'étiopathogénie est encore incertaine mais il semblerait qu'elle soit la conséquence d'un état d'hypercoagulabilité suite à la diminution de l'anti-thrombine III ainsi qu'à l'augmentation des facteurs de coagulation II, V, VII, IX, X, XII, du fibrinogène et du plasminogène. A la radiographie, on peut alors observer des images d'effusion pleurale avec une augmentation du

diamètre des artères pulmonaires. Les chiens sont alors en détresse respiratoire aiguë, avec orthopnée et peuvent présenter un pouls jugulaire [<sup>50, 51, 55, 57, 67, 80, 92, 104, 133, 143, 161</sup>].

## **H- Comportement**

L'excès en glucocorticoïdes, en ACTH et autres neurotransmetteurs est responsable en partie des troubles psychiatriques causés par l'hyperadrénocorticisme primaire ou secondaire. On note alors une modification des fonctions affectives (avec apparition d'une irritabilité, d'une dépression, d'une hyperkynésie et/ou d'une hyperactivité), cognitives (avec une inattention, une distractibilité, une désorientation et/ou une confusion) et végétatives (avec une augmentation du temps de veille et une variation de l'appétit) [<sup>23, 72, 80</sup>].

## **I- Ophtalmologie**

Il s'agit souvent de complications relativement rares, avec des ulcères cornéens torpides ou des kératopathies calciques. On note également des hyphémas et des décollements de la rétine, consécutifs à l'hypertension artérielle. Enfin on observe lors d'hypercorticisme une pathologie oculaire particulière : le SARD ou Sudden Acquired Retinal Degeneration Syndrome. Il s'agit d'une dégénérescence non inflammatoire et d'une destruction des photorécepteurs de la rétine, provoquant alors une cécité soudaine et permanente. Mais tous les auteurs ne sont pas d'accord sur ce sujet [<sup>21, 51, 55, 62, 67, 104, 109, 143</sup>].

# **VI- DIAGNOSTIC DE SUSPICION DU SYNDROME DE CUSHING**

## **A- Examen clinique**

La première étape importante de cet examen est de préciser les motifs de consultation ; la polyuro-polydipsie, l'alopecie, l'obésité et/ou la polyphagie sont généralement les plus fréquents. L'examen clinique se base ensuite sur l'anamnèse ; l'âge et la race de l'animal sont très importants à prendre en compte. Le sexe est un paramètre moins fiable, mais en général, les femelles semblent plus atteintes que les mâles. Puis, il faut analyser les commémoratifs. La prise de boisson, la quantité d'urine émise (la plupart du temps, le propriétaire considère la polyurie comme un manque de propreté), l'alimentation et les affections intercurrentes (diabète sucré, infection du tractus urinaire, ...) sont des paramètres cruciaux à prendre en considération dans le diagnostic de l'hypercorticisme. Enfin vient le moment de l'examen clinique proprement dit. Il convient d'observer le chien à distance et de noter d'éventuelles alopecie, obésité, amyotrophie, léthargie, postures anormales (traduisant une hyperlaxité ligamentaire et/ou une éventuelle fracture), dyspnée et/ou atteintes neurologiques (telles que la marche en cercle, le pousser au mur, une modification du comportement). Une fois ces observations faites, un examen rapproché peut être entrepris. Il est alors intéressant de réaliser une palpation de l'abdomen (pour rechercher une hépatomégalie) et de la sphère uro-génitale (pour noter une atrophie testiculaire ou une hypertrophie clitoridienne), des examens dermatologique (pour rechercher une calcinose cutanée, des comédons, des troubles de la pigmentation), ophtalmologique (pour observer des ulcères cornéens, un hyphéma ou un décollement de la rétine) et neurologique minutieux, et une mesure de la pression artérielle systémique (pour mettre en évidence une hypertension artérielle). Cet examen clinique doit être réalisé avec minutie car aucun diagnostic ne doit uniquement se baser sur les examens complémentaires biologiques, de laboratoire et d'imagerie médicale.

## **B- Examens de laboratoire**

### **1- Hématologie**

#### **a- Hémogramme**

20 à 25 % des chiens souffrant d'hypercorticisme, présentent une leucocytose, avec des valeurs pouvant atteindre 40000 leucocytes / mm<sup>3</sup>. De plus, comme la montre le Tableau n° 2, la plupart des lignées blanches sont affectées [<sup>22, 24, 50, 51, 55, 62, 67, 105, 108, 118, 124, 133, 137, 143, 146, 165, 166, 179, 186, 190, 191</sup>] et on note :

- une lymphopénie (14 – 79 %)
- une éosinopénie (81 – 90 %)
- une neutrophilie (32 – 60 %)
- une monocytose (30 %)

Une érythrocytose est observée également dans 12 à 15 % des cas. CHAPPELLIER P. [<sup>24</sup>] parle plutôt d'hématies fantômes qui seraient en réalité un artéfact provoqué par l'hypercholestérolémie ou l'hypertriglycéridémie qui rendent le plasma lactescent et faussent les résultats en les surestimant.

Hématologie	Normes (n)	Extrêmes observés	Pourcentages		N
			> n	< n	
Leucocytes / mm <sup>3</sup>	6000-17000	3800-45300	24 %	5 %	117
Lymphocytes / mm <sup>3</sup>	1000-4800	0-2923	0 %	79 %	117
Eosinophile / mm <sup>3</sup>	100-1250	0-1708	1 %	81 %	117
Monocytes / mm <sup>3</sup>	150-1350	0-3588	30 %	2 %	117
Globules rouges / mm <sup>3</sup>	5,5-8,5	2,85-8,88	1 %	12 %	116
Hémoglobine g/l	12-18	7,5-20,5	17 %	6 %	115

**Tableau n° 2 :** Résultats hématologiques de cent dix sept chiens atteints de syndrome de Cushing [<sup>22</sup>].

#### **b- Bilan d'hémostase**

Il est possible d'observer une thrombocytose mais cette manifestation est rare.

On note également un état d'hypercoagulabilité, provoqué par l'augmentation des facteurs de coagulation V, VIII, IX, X, du fibrinogène, du plasminogène et de l'antithrombine III [<sup>51, 57, 67, 80, 92, 104, 133, 143, 161</sup>].

### **2- Biochimie**

#### **a- Enzymologie**

Lors de syndrome de Cushing, il est fréquent d'observer des modifications enzymologiques, notamment concernant les phosphatases alcalines, l'alanine aminotransférase, la lipase et l'amylase.

##### ➤ *Phosphatase alcaline sérique (PAL)*

Dans 70 à 95 % des cas d'hypercorticisme, les phosphatases alcalines (PAL) sont augmentées fortement (Tableau n° 3, page 51). Des valeurs comprises entre 400 et 1000 UI/l

de PAL ne sont pas rares, et il est possible d'avoir des valeurs supérieures à 5000 UI/l. Cette élévation est liée à la fois à l'hépatopathie stéroïdienne et à l'induction par les glucocorticoïdes d'une isoenzyme particulière qui n'existe que chez le chien : les phosphatases cortico-induites ou SIAP (Steroid Induced Alkaline Phosphatase). On peut remarquer qu'il n'existe pas de corrélation entre la concentration en SIAP et la sévérité du syndrome de Cushing.

Ainsi le dosage des PAL est très sensible. Cependant, de nombreuses pathologies peuvent provoquer une telle augmentation, telles que les hépatites, les pathologies osseuses, certaines tumeurs, ... Par conséquent, la spécificité du test est nettement moins bonne. Ce test peut donc être utilisé comme diagnostic d'exclusion ; si les PAL sont normales, on peut alors exclure un syndrome de Cushing, mais si on note une anomalie dans leur dosage, il est impossible de conclure quant à la présence d'un hypercorticisme.

Comme il a été mentionné précédemment, l'augmentation des PAL sériques résulte de celle des PAL cortico-induites. Ainsi, le dosage de celles-ci pourrait être plus sensible et plus spécifique. Pour cela, de nombreuses techniques existent telles que l'inhibition par la chaleur ou par le lévamisole entre autres. Cependant, certaines pathologies provoqueraient également leur augmentation. Ce test semble donc plus sensible et plus spécifique que le dosage des PAL sériques, mais, la spécificité serait encore insuffisante pour permettre un diagnostic étiologique. Cependant, l'utilisation de ce test pour un diagnostic positif ou un diagnostic d'exclusion serait encore plus fiable que le dosage des PAL sériques [9, 12, 22, 25, 29, 50, 51, 55, 61, 62, 67, 73, 79, 80, 92, 105, 108, 118, 121, 124, 137, 143, 146, 165, 169, 179, 186].

#### ➤ *Alanine aminotransférase (ALT)*

L'élévation du taux plasmatique est également fréquente dans l'hypercorticisme, mais elle est généralement modérée et ne dépasse rarement 400 UI/l (Tableau n° 3, page 51). On l'observe dans 50 à 74 % des cas. Elle est consécutive à la lyse des hépatocytes provoquée par l'hépatopathie stéroïdienne [22, 50, 51, 55, 61, 67, 80, 105, 124, 137, 143, 146, 165, 186].

#### ➤ *Amylase et lipase*

La pancréatite est souvent une complication du syndrome de Cushing, consécutive à la polyphagie et à l'augmentation de la cholestérolémie et de l'hyperlipidémie. Il s'ensuit de ce fait, une augmentation des amylases et des lipases. Mais ces manifestations biochimiques sont peu fréquentes et peu spécifiques.

#### b- Glycémie (45-57 %)

Durant le stade prédiabétique, la glycémie est normale ou modérément augmentée (Tableau n° 3, page 51). Mais quand le diabète sucré patent s'installe, le taux plasmatique de glucose augmente de façon très importante, jusqu'à sept fois les normes supérieures [12, 22, 29, 67, 105, 108, 124, 143, 190].

#### c- Urémie et créatininémie

L'urée et la créatinine sont souvent normales voire diminuées chez le chien souffrant du syndrome de Cushing (Tableau n° 3, page 51). On observe cette diminution dans 50 à 60 % des cas d'hypercorticisme [9, 22, 50, 67, 108].

#### d- Cholestérolémie, triglycéridémie et lipémie

Les glucocorticoïdes stimulent la lipolyse. Ils sont donc responsables d'une augmentation des concentrations plasmatiques en cholestérol, lipides et triglycérides, dans 48 à 95 % des cas de syndrome de Cushing (Tableau n° 3). Il est intéressant de noter qu'en cas d'hyperlipidémie, la numération de la formule sanguine, les dosages de l'hémoglobine, de la protéinémie, de l'albuminémie, de la bilirubinémie, de la calcémie, de phosphatémie, de la natrémie, des PAL, et des amylases sont altérés [9, 12, 22, 29, 50, 51, 55, 61, 62, 67, 80, 105, 108, 137, 143, 166, 186, 190].

Biochimie	Normes (n)	Extrêmes observés	Pourcentages		N
			> n	< n	
Glycémie g/l	0,7-1,10	0,62-7,7	57 %	3 %	91
Urée g/l	0,12-0,18	0,04-1,12	19 %	56 %	111
Créatinine mg/l	10-20	1,5-80	16 %	67 %	12
SGTP UI/l	4,8-24	2-587	74 %	2 %	57
PAL UI/l	29-137	6,2-8950	70 %	7 %	71
Cholestérolémie g/l	1,25-2,50	1,8-8,24	90 %	0 %	71

**Tableau n° 3 :** Résultats Biochimique de cent dix sept chiens atteints de syndrome de Cushing [22].

#### e- Phosphatémie (38 %)

Dans un tiers des hypercorticisismes, une hypophosphatémie est notable. Cette diminution résulterait de la stimulation de la phosphaturie [50, 133].

#### f- Acides biliaires

Le taux plasmatique des acides biliaires se trouve dans les normes supérieures voire modérément augmenté, dans 30 % des cas de syndrome de Cushing, suite au développement d'une hépatopathie stéroïdienne [55].

### 3- Ionogramme

#### a- Natrémie

Une augmentation modérée de la natrémie est notable dans 30 à 40 % des cas d'hypercorticisme [50, 51, 55].

#### b- Kaliémie

La kaliémie diminue légèrement chez 48 % des chiens souffrant du syndrome de Cushing [12, 50, 51, 55, 133].

#### 4- Analyses urinaires

##### a- Densité

Le syndrome de Cushing se manifeste par une diminution de la densité urinaire. Dans 60 à 85 % des cas d'hypercorticisme, cette densité est inférieure à 1,015 [<sup>50, 55, 67, 80, 92, 108, 143, 190</sup>].

##### b- Glucosurie

La glucosurie est généralement consécutive à une hyperglycémie (syndrome de Fanconi mis à part). Par conséquent, durant le stade prédiabétique, où la glycémie est normale à modérément augmentée, on ne note pas de glucosurie. Par contre, dans les 5 à 20 % des cas où se développe un diabète sucré, l'hyperglycémie est telle qu'elle provoque une glucosurie notable.

##### c- Protéinurie

On peut observer une protéinurie dans 69 % des cas. Elle est généralement modérée et les hypoprotéïnémies sévères sont exceptionnelles. Cette protéinurie ne provoque pas, non plus, d'hypoalbuminémie. On peut préciser que la fuite d'antithrombine III est extrêmement rare. Par ailleurs le rapport protéines sur créatinines urinaire (RPCU) est en moyenne de 2,3. Plus précisément 75 % des chiens atteints d'hypercorticisme possèdent un RPCU supérieur à 1,0.

##### d- Cytobactériologique

Un examen cytbactériologique des urines est souvent nécessaire car les infections du tractus urinaires sont très fréquentes chez le chien souffrant d'hypercorticisme. Les cultures urinaires sont positives dans 40 à 55 % des cas d'hypercorticisme. Egalement, les chiens atteints d'hypercorticisme développent souvent des urolithiases d'oxalate de calcium [<sup>50</sup>].

#### 5- Fonctions endocriniennes

Environ 70 % des chiens souffrant d'hypercorticisme ont une diminution de leur concentration basale en triiodotyronine (T3) et de thyroxine (ou tétraiodotyronine ou T4). Comme il y a une baisse de la concentration en T4 basale sans hypothyroïdie vrai, on parle d' « euthyroid sick syndrome ». La stimulation thyroïdienne par la TSH (thyrostimuline) exogène est diminuée et inférieure à la réponse obtenue chez le chien sain [<sup>21, 50, 51, 55, 67, 80, 92, 95, 135, 143, 165, 179</sup>].

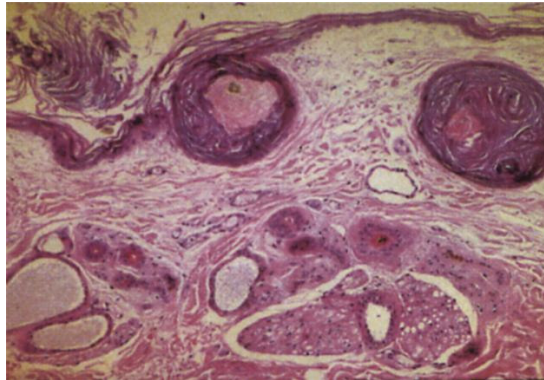
Pour 60 % des cas d'hypercorticisme, on note un état prédiabétique : le taux plasmatique en insuline est augmenté, une hyperglycémie est notable à jeun et une intolérance au glucose s'installe. Mais dans 10 à 20 % des cas, un diabète sucré patent apparaît avec une hyperglycémie et une forte diminution du taux sérique d'insuline [<sup>21, 55, 92, 134, 143, 190</sup>].

#### 6- Biopsies

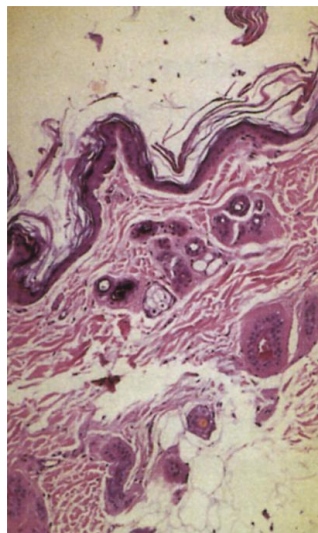
##### a- Biopsie cutanée

Les modifications sont peu spécifiques, avec une hyperkératose ortho-kératosique, une kératose folliculaire, des follicules pileux de petite taille en phase télogène ou catagène (Figure n° 17, page 53), une atrophie des glandes sébacées (Figure n° 18, page 53) [<sup>21, 22, 73, 78, 131, 186</sup>]. On note également une atrophie épidermique et folliculaire marquée (on observe trois

couches de cellules nucléées tout au plus), mais chez certains chiens, l'épaisseur de l'épiderme peut être normale. On peut également observer, avec la coloration de Von Kossa, une calcinose folliculaire, manifestation cutanée pathognomonique du syndrome de Cushing. Les comédons sont fréquemment présents. Malgré la faible spécificité de ces troubles cutanés, si l'on observe à la fois une atrophie de l'épiderme, des comédons, des follicules pileux en phase télogène et une calcinose cutanée, on peut alors poser un diagnostic de certitude [22, 78, 131]. Cependant, des tests biologiques devront tout de même être entrepris pour confirmer le diagnostic.



**Figure n° 17 :** Coupe histologique de peau d'un chien souffrant d'hypercorticisme : il est possible d'observer la présence de volumineux comédons et l'atrophie épidermique, les follicule pileux en phase télogène et l'hyperkératose (x90) [73].



**Figure n° 18 :** Coupe histologique de peau d'un chien souffrant d'hypercorticisme : il est possible de noter l'atrophie épidermique, folliculaire et sébacée (x35) [73].

#### b- Biopsie hépatique

La biopsie hépatique, effectuée plus facilement par voie trans-abdominale, révèle une accumulation intracellulaire de glycogène et de lipides, objectivée par une dégénérescence hépatocytaire micro- et macrovacuolaire centrolobulaire et périportale, les larges vacuoles occasionnant un déplacement du noyau en périphérie de la cellule. Ces changements peuvent

être accompagnés de foyers de nécrose de désintégration centrolobulaire [21, 51, 131, 179]. Il est à noter que l'hépatopathie stéroïdo-induite est spécifique de l'espèce canine.

### c- Biopsie musculaire

En cas de myotonie, on réalise une biopsie des muscles proximaux des membres postérieurs. A l'histologie, on note une myopathie dégénérative non inflammatoire avec une atrophie sporadique des fibres musculaires de type II, une hypertrophie et un regroupement des fibres musculaires de type I, une accumulation des mitochondries en région subsarcolemmale, une infiltration lipidique et une nécrose. Néanmoins, ces modifications pathologiques ne sont pas spécifiques [12, 15, 23, 34, 43, 71, 74, 137].

## **VII- DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL DU SYNDROME DE CUSHING**

Dans un premier temps, il est nécessaire de noter si l'origine des symptômes n'est pas iatrogène. Ainsi, l'apport de glucocorticoïdes exogènes de manière prolongée peut provoquer un hypercorticisme iatrogène dont les manifestations cliniques, hématologiques et biochimiques sont similaires à celles de l'hypercorticisme spontané. Mais un traitement à base d'anticonvulsivants tels que le phénobarbital, la primidone ou la phénytoïne peut conduire au même symptômes : polyuro-polydipsie, polyphagie, léthargie avec augmentation des enzymes hépatiques, anomalies de la sécrétion des glucocorticoïdes pouvant ainsi fausser les résultats du dosage de la cortisolémie après stimulation à l'ACTH. On peut rappeler que les oestrogènes et la progestérone peuvent modifier également ces résultats. Dans un deuxième temps, il est nécessaire de différencier l'hypercorticisme spontané de toutes les pathologies responsables de polyuro-polydipsie et de troubles cutanés ; les symptômes les plus récurrents dans le syndrome de Cushing.

### **A- Polyuro-polydipsie**

Le symptôme le plus souvent noté et donc recherché dans l'hypercorticisme spontané est la polyuro-polydipsie [9, 22, 73, 127, 153]. De ce fait il faut distinguer :

- les polydipsies primaires causées par le diabète sucré, l'hypercalcémie, l'hypokaliémie, la potomanie, l'hyperthyroïdie, l'insuffisance hépatique et les tumeurs hypothalamiques
- les polyuries primaires non osmotiques provoquées par les diabètes insipides centraux (phéochromocytome, tumeur, malformation, ...), les diabètes insipides néphrogéniques (pyométre, pyélonéphrite bactérienne, septicémie, maladie d'Addison, ...) et l'hypotonie médullaire rénale.
- les polyurie primaires osmotiques dues à un diabète sucré, une diurèse post-obstructive, une insuffisance rénale, des diurétiques osmotiques, une acromégalie, un syndrome de Fanconi, ...

### **B- Troubles cutanés**

Ces troubles sont très fréquents parmi les symptômes du syndrome de Cushing. C'est pour cela qu'il est nécessaire de les distinguer sous peine de fausser le diagnostic d'hypercorticisme [22, 73, 78, 118, 165] :

- les autres dysendocrinies avec troubles cutanés tels que les dysendocrinies sexuelles (tumeurs testiculaires sécrétantes, syndrome de féminisation idiopathique, alopecie

- répondant à la castration, hyperoestrogénisme, dysendocrinie sexuelle surrénalienne, alopecie X, ...), l'hypothyroïdie, ...
- les alopecies non hormonales et non parasitaires avec l'alopecie des robes diluées ou dysplasie des follicules pileux noirs, l'alopecie récurrentes des flancs, l'effluvium télogène, l'effluvium anagène, l'alopecia aerata, l'adénite sébacée, la dysplasie folliculaire, ...
  - les alopecies parasitaires telles que les dermatophytoses, les démodécies, ...

## **VIII- DIAGNOSTIC POSITIF DU SYNDROME DE CUSHING**

### **A- Tests endocrinologiques statiques**

#### **1- Dosage de la cortisolémie basale**

La sécrétion de l'ACTH étant pulsatile, celle du cortisol basal l'est également. Ainsi même si la cortisolémie basale, chez un chien souffrant d'hyperadrénocorticisme, est plus élevée que chez un chien sain, il est impossible de l'exploiter. Donc en raison d'une spécificité et d'une sensibilité faibles, ce test n'est pas utilisé [22, 45, 50, 51, 55, 73, 105, 110, 133, 139].

#### **2- Dosages urinaires**

##### **a- Dosage des 17-cétostéroïdes urinaires**

Les 17-cétostéroïdes sont à la fois sécrétés par les gonades et par les surrénales. Par conséquent, leur dosage n'est pas spécifique et n'est donc pas utilisé [79, 165].

##### **b- Dosage des hydroxystéroïdes urinaires**

Le 17,20,21-trihydroxystéroïdes constitue le principal métabolite urinaire du cortisol chez le chien (60 %). Or, la technique permettant le dosage de ces hydroxystéroïdes en médecine humaine dose uniquement les 17,21-dihydroxystéroïdes présents en faible quantité dans l'urine des chiens. De ce fait, il est nécessaire d'adapter la technique humaine à la médecine vétérinaire. De surcroît, elle nécessite un recueil des urines sur 24 heures, ce qui est difficilement réalisable en pratique [79, 179].

##### **c- Dosage du rapport cortisol urinaire / créatinine urinaire : RCCU**

###### **➤ Principes**

Les glucocorticoïdes urinaires sont constitués à 70 % de cortisol et à 30 % de métabolites du catabolisme du cortisol. Néanmoins le dosage du RCCU se réalise sur l'urine totale.

Le dosage du cortisol libre dans la miction du matin semble pouvoir refléter raisonnablement la production de cortisol au cours des 8 à 12 heures précédentes chez le chien. En effet, le cortisol plasmatique est présent sous deux formes ; une forme liée aux protéines et une forme active libre qui est filtrée sans réabsorption rénale. Donc une augmentation du cortisol plasmatique se traduit par une augmentation relative du cortisol disponible pour la filtration, et donc du cortisol urinaire. Par ailleurs, la concentration urinaire en cortisol dépend de la fonction rénale et notamment du débit de filtration glomérulaire. Une anomalie à ce niveau peut modifier la cette concentration. Donc pour corriger des différences entre cette concentration et la filtration rénale, il faut doser la créatinine urinaire dont la clearance est constante (en l'absence d'affections musculaires et rénales) et calculer alors la valeur du RCCU [25, 50, 54, 55, 62, 69, 73, 121, 143, 168, 171].

➤ *Protocole*

Il faut recueillir les premières urines du matin afin d'apprécier la cortisolémie sur un laps de temps le plus long possible. Le recueil d'urine doit être réalisé deux à trois matins de suite, chez le propriétaire, calmement afin d'éviter tout stress à l'origine de faux positifs. Enfin, les échantillons doivent être conservés à +4 °C.

➤ *Interprétation*

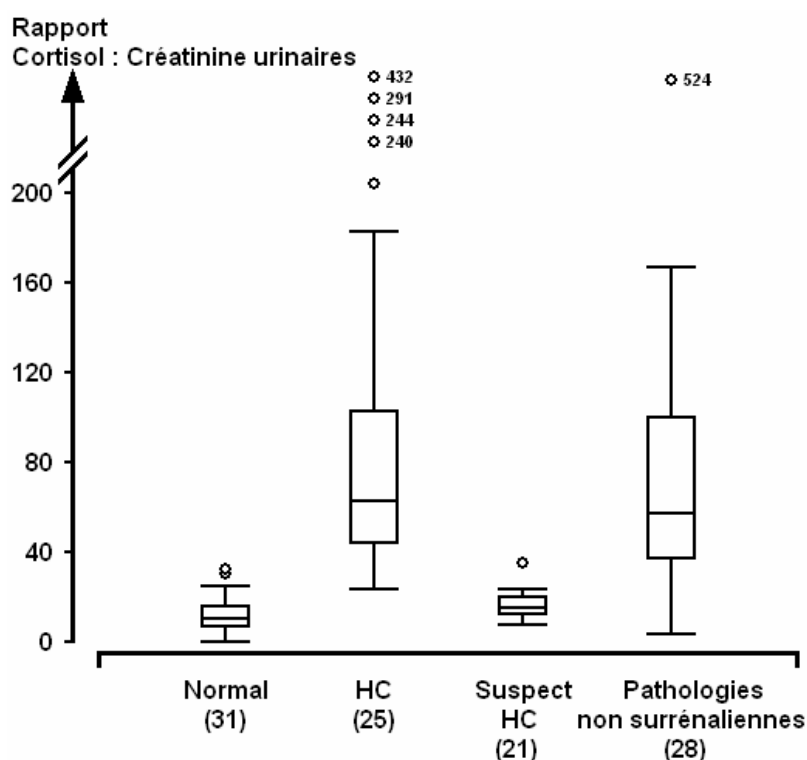
On peut noter 3 cas [25, 66, 69, 73, 80] :

- si le RCCU est inférieur à  $10 \cdot 10^{-6}$ , le résultat est compatible avec l'absence d'hypercorticisme
- si le RCCU est compris entre  $10 \cdot 10^{-6}$  et  $60 \cdot 10^{-6}$ , l'animal est suspect et les résultats sont douteux
- si le RCCU est supérieur à  $60 \cdot 10^{-6}$ , l'hypercorticisme est possible

Mais on peut simplifier l'interprétation en prenant comme valeur seuil  $10 \cdot 10^{-6}$ . Ainsi si le RCCU est inférieur à ce seuil, on peut exclure un syndrome de Cushing, mais s'il est supérieur à cette valeur, on ne peut rien conclure (Figure n° 19).

➤ *Valeur diagnostique du test*

Ce test possède une excellente sensibilité qui avoisine les 95-100 %. De ce fait, les faux négatifs sont très rares. Par contre, la spécificité de ce dosage est médiocre, car elle n'atteint que 20-27 % (Figure n° 19). Cela n'est donc pas concevable pour un test diagnostique [50, 51, 54, 55, 67, 69, 73, 79, 80, 121, 149, 168].



**Figure n° 19 :** Mesure du RCCU chez des chiens sains, des chiens atteints d'hypercorticisme, des chiens suspects de Cushing et des chiens souffrants de pathologies non surrénaliennes [168].

Du fait de la très faible spécificité, la VPP est elle aussi, médiocre. Donc ce test ne peut pas être utilisé comme test diagnostique. Cependant, la VPN avoisine les 95-100 %, ce qui procure à ce test une autre utilité : le diagnostic d'exclusion. En effet, avec une telle VPN, si le RCCU est normal, le chien a de très forte chance d'être sain (jusqu'à 5 % d'erreur). Par contre, si on note une anomalie, on ne peut absolument pas conclure quant à la présence ou l'absence d'un hypercorticisme, et donc d'autres tests plus spécifiques, doivent être entrepris [25, 55, 67, 121, 149].

#### ➤ *Avantages et inconvénients*

Ce test est très sensible, par conséquent il peut être utilisé pour un diagnostic d'exclusion du syndrome de Cushing. De plus, il est aisément réalisable, disponible, très rapide et peu onéreux. Il faut tout de même conserver les urines à +4° C pendant 3 jours maximum (jusqu'à +25° C pour certains auteurs) [25, 66, 73, 79].

Malheureusement, ce test ne permet pas de diagnostiquer les hypercorticismes iatrogènes car les résultats sont comparables à ceux obtenus chez les chiens sains. De plus, la spécificité est médiocre, faisant apparaître alors de très nombreux faux positifs. Il faut également préciser que cette spécificité chute dramatiquement chez les chiens souffrant d'une perturbation autre que surrénalienne, notamment chez ceux qui présentent une polyuro-polydipsie ou une atteinte musculaire. Il en est de même dans certaines conditions physiologiques, telles que le stress et l'hyperthermie. De ce fait, il est inconcevable de se baser sur ce test pour diagnostiquer un hypercorticisme [25, 54, 62, 66, 67, 73, 79, 80, 168, 171].

### **B- Tests endocrinologiques dynamiques**

#### **1- Dosage de la cortisolémie après stimulation à l'ACTH**

##### **a- Principes**

L'administration d'ACTH en grande quantité permet de juger la capacité sécrétoire maximale des surrénales. La réponse à la stimulation sera donc directement en rapport avec la réserve fonctionnelle des surrénales. Lors d'hypercorticisme secondaire, les corticosurrénales sont hyperfonctionnelles en raison de la sécrétion chronique d'ACTH ; la réponse au test va donc être exagérée. Mais en cas de tumeur surrénalienne, la sécrétion d'ACTH est effondrée ; l'apport d'ACTH exogène en grande quantité va provoquer une réponse modérée [25, 50, 55, 69, 79, 80, 105, 124, 143].

##### **b- Protocole**

Dans un premier temps (T0), il faut prélever un échantillon de sang sur tube sec ou hépariné pour doser la cortisolémie basale. Dans un deuxième temps, on injecte de l'ACTH de synthèse (Synacthène<sup>R</sup>) par voie intramusculaire ou intraveineuse, afin de stimuler et d'obtenir un pic de sécrétion de cortisol. La dose diffère selon le poids de l'animal :

- 0,25 mg si le chien pèse moins de 25 kg
- 0,50 mg si le poids excède 25 kg

Dans un troisième temps (T1), on prélève un nouvel échantillon de sang sur tube sec ou hépariné pour mesurer à nouveau la cortisolémie, une heure après l'injection de Synacthène<sup>R</sup> si celle-ci a été réalisée par voie intraveineuse, ou 90 minute après l'injection d'ACTH si celle a été faite par voie intramusculaire. Il est nécessaire de centrifuger le tube s'il faut envoyer le sérum par la poste au laboratoire d'analyse [22, 25, 55, 66, 69, 73, 79, 105, 143].

### c- Interprétation

Si la cortisolémie est inférieure à 100 nmol/l, à T1, on a alors à faire à un hypocorticisme spontané ou à un hypercorticisme iatrogène. Si la cortisolémie est supérieure à 500 nmol/l à T1, le résultat est alors compatible avec un hypercorticisme endogène (Figure n° 20, page 59). Cependant, l'évolution de la cortisolémie ne peut en aucun cas permettre de distinguer un hypercorticisme primaire d'un hypercorticisme d'origine hypophysaire [25, 55, 66, 69, 73, 80, 124].

### d- Valeur diagnostique du test

La sensibilité du test est de 67-95 %. Plus précisément elle atteint 80,2 % pour les hypercorticismes secondaires et elle chute à 61,3 % en cas tumeur surrénalienne. Elle est donc peu satisfaisante [46, 73, 78, 79, 80, 118, 142, 179]. Le nombre de faux négatifs peut être élevé car les tumeurs surrénaliennes sont réfractaires en partie à la stimulation par l'ACTH en raison de la diminution des récepteurs à l'ACTH localisés à la surface des cellules surrénaliennes (Figure n° 20, page 59). La spécificité, par contre, est très satisfaisante car elle varie entre 85 et 100 %. Les faux positifs sont rares.

La spécificité et la sensibilité sont fonctions de la valeur seuil (500 nmol/l) ; si ce seuil diminue, la sensibilité augmente aux dépens de la spécificité. D'après HERIPRET D. [79], pour un seuil de 500 nmol/l, la sensibilité est peu satisfaisante car elle avoisine les 68 % mais la spécificité est excellente avec 100 %. Si le seuil est abaissé à 400 nmol/l, la sensibilité atteint 80 % mais la spécificité chute à 87 %. Ainsi le choix d'un seuil élevé permet d'éviter les faux positifs, donc le diagnostic erroné d'hypercorticisme et surtout le traitement d'un animal sain avec de l'o,p'-DDD, ce qui serait catastrophique pour l'animal. Selon le même auteur, c'est pour cela qu'il faut privilégier la spécificité sur ce test qui est utilisé en routine.

La VPP est bonne car elle avoisine les 70 % et la VPN est meilleure car elle s'élève à 85 %. Les 15 % restants correspondent à des tumeurs surrénaliennes [25]. Ce test utilisé seul n'est donc pas satisfaisant.

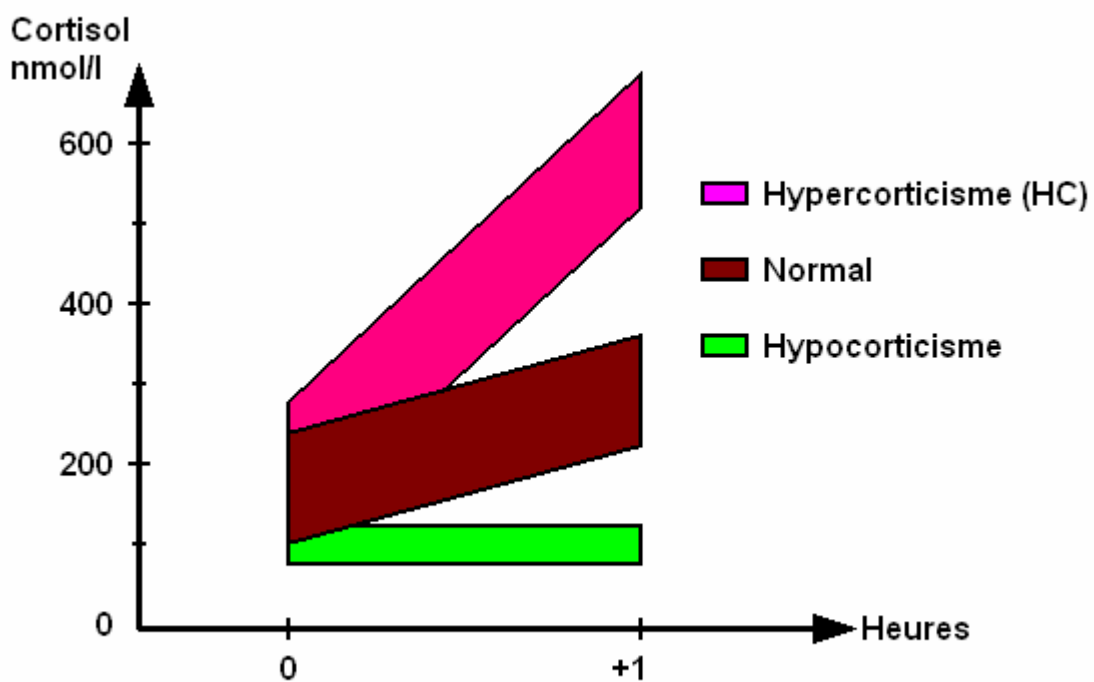
### e- Avantages et inconvénients

Le dosage est facile et rapide à réaliser, peu onéreux, et le test est non toxique pour l'animal. Ce test est le seul à permettre de distinguer les hypercorticismes iatrogènes et spontanés car les animaux souffrant du syndrome de Cushing iatrogène sont en réalité en hypocorticisme [25, 46, 50, 51, 62, 64, 66, 67, 69, 73, 79, 80, 105, 121, 142, 146].

Mais ce test ne permet pas de distinguer une origine surrénalienne d'une origine hypophysaire. De plus, une réponse normale au test n'élimine pas la possibilité d'un syndrome de Cushing. En effet, les hypercorticismes primaires répondent peu voire pas à la stimulation à l'ACTH [22, 45, 50, 55, 62, 64, 66, 73, 78, 80, 92, 94, 99, 105, 118, 121, 139, 143, 179, 186]. Or les hypercorticismes d'origine surrénalienne peuvent évoluer rapidement, notamment s'il s'agit d'un carcinome surrénalien, donc il est crucial de limiter le nombre de faux négatifs. De plus, la spécificité n'étant pas parfaite, il peut exister des faux positifs [66]. Par conséquent, d'autres tests doivent être entrepris pour diagnostiquer un syndrome de Cushing [51, 64].

Enfin, il doit être rappeler qu'il s'agit du test de référence, lors du suivi de traitement, notamment avec l'o,p'-DDD [46].

(Synacthène immédiat ND , 0,25 mg / 12kg)



(Synacthène immédiat ND , 0,25 mg / 12kg)

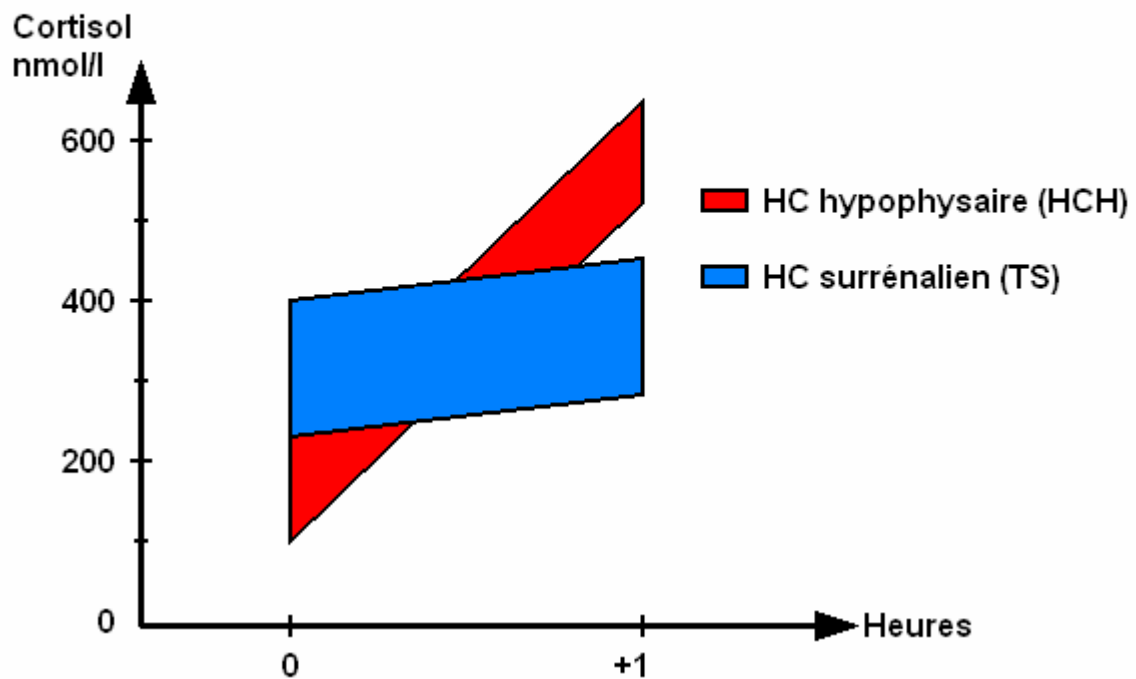


Figure n° 20 : Interprétation du test de stimulation à l'ACTH [64].

## 2- Dosage de la cortisolémie après freinage faible à la dexaméthasone

### a- Principes

Ce test permet d'évaluer la sensibilité de l'axe hypothalamo-hypophysaire à l'effet supprimeur des corticoïdes. Une petite quantité de dexaméthasone, par rétrocontrôle négatif, parvient à freiner la sécrétion d'ACTH hypophysaire, donc, à diminuer la cortisolémie chez un individu sain. En revanche, lors de syndrome de Cushing spontané, cette petite dose ne permettra pas d'inhiber la sécrétion d'ACTH anormale, ni la sécrétion autonome d'une tumeur surrénalienne [50].

### b- Protocoles

On prélève initialement un échantillon de sang sur tube sec ou hépariné afin de déterminer la cortisolémie basale. Puis, on injecte de la dexaméthasone soluble par voie intraveineuse. Enfin, on réalise plusieurs prélèvements sanguins afin de déterminer l'évolution de la cortisolémie, après la stimulation.

Plusieurs protocoles existent quant à la dose de dexaméthasone injectée et au prélèvement des échantillons :

- le protocole Meijer [22, 51, 64, 66, 80, 143]: injection de 0,01 mg/kg de dexaméthasone en IV, puis prélèvement d'échantillons de sang sur tube sec ou hépariné à T0 + 3 heures (T3) et à T0 + 8 heures (T8)
- le protocole de Peterson [22, 105, 143] : injection de 0,015 mg/kg de dexaméthasone en IV, puis prélèvements de sang sur tube sec ou hépariné à T0 + 2 heures (T2), T0 + 4 heures (T4), T0 + 6heures (T6) et T0 + 8 heures (T8).

### c- Interprétation

L'interprétation du test de Meijer est la suivante (Tableau n° 4) [22, 73] :

- si la cortisolémie à T3 est diminuée de plus de 50 % par rapport à la cortisolémie basale (T0) et si elle est inférieure à 15 ng/ml à T8, le chien est sain
- si la cortisolémie à T3 est diminuée de plus de 50 % mais qu'elle est supérieure à 15 ng/ml à T8, le diagnostic est en faveur d'un hypercorticisme hypophyso-dépendant
- si la cortisolémie à T3 est inférieure de moins de 50 % et si elle est supérieure à 15 ng/ml à T8, le résultat est alors compatible avec un hypercorticisme mais l'origine ne peut être définie (primaire ou secondaire)

Cortisol à T0	100 %	100 %	100 %
Cortisol à T0 + 3 h	diminué de plus de 50 %	diminué de plus de 50 %	diminué de moins de 50 %
Cortisol à T0 + 8 h	< 15 ng/ml	> 15 ng/ml	> 15 ng/ml
Diagnostic	normal	hypercorticisme secondaire	hypercorticisme (primaire ou secondaire)

**Tableau n° 4 :** Interprétation du test proposé par Meijer [22].

L'interprétation du test proposé par Peterson est quelque peu différente (Figure n° 21, page 62) [<sup>50, 79, 133</sup>] :

- il y a absence de freinage dans 80 % des hypercorticismes primaires (TS) et 25 % des hypercorticismes secondaires (HCH),
- dans 15 % des TS et 15 % des HCH, on obtient une cortisolémie basale de 100 %, puis une diminution constante sans que la cortisolémie ne diminue de plus de 50 % (toujours supérieure à 40 nmol/ml) même à T8,
- pour 5 % des TS et 25 % des HCH, la cortisolémie basale est de 100 %, puis on note un freinage mais la cortisolémie diminue de moins de 50 % (supérieure à 40 nmol/l) vers T4, puis un échappement avec une cortisolémie à T8 similaire à la cortisolémie basale,
- on note dans 30 % des HCH (et aucun TS) une cortisolémie basale de 100 %, puis un freinage avec une cortisolémie diminuée de plus de 50 % (inférieure à 40 nmol/ml) vers T4 puis un échappement avec, à T8, une cortisolémie comparable à celle à T0,
- le freinage dans 5 % des HCH (et aucun TS) est similaire au freinage chez un chien sain (cortisolémie basale de 100 % puis cortisolémie inférieure à 40 nmol/ml soit moins de 50 % de la cortisolémie basale, même à T8).

Il faut préciser que la valeur seuil utilisée dans ce test est propre aux auteurs. Cette limite dépend énormément des normes du laboratoire d'analyse. Il est donc préférable de raisonner en pourcentage plutôt qu'avec des valeurs absolues.

On note donc que 25 % des hypercorticismes secondaires se comportent comme des hypercorticismes primaires, montrant ainsi un caractère réfractaire au freinage à la dexaméthasone. Cela s'explique par le fait que l'ACTH est sécrétée par la *pars distalis* de l'adénohypophyse mais également par la *pars intermedia* de cette même adénohypophyse. Or seule la *pars distalis* est sous la dépendance de la CRH car étant la seule partie irriguée par le système porte hypothalamo-hypophysaire ; la *pars intermedia* ne possédant pas de connections vasculaires avec l'hypothalamus, elle n'est pas sous la dépendance de la CRH. Par conséquent, la *pars intermedia* est indépendante du rétrocontrôle négatif exercé par la dexaméthasone. Donc si un hypercorticisme secondaire a pour origine une tumeur concernant cette région, il sera réfractaire au freinage à la dexaméthasone [<sup>50, 64, 95, 111</sup>].

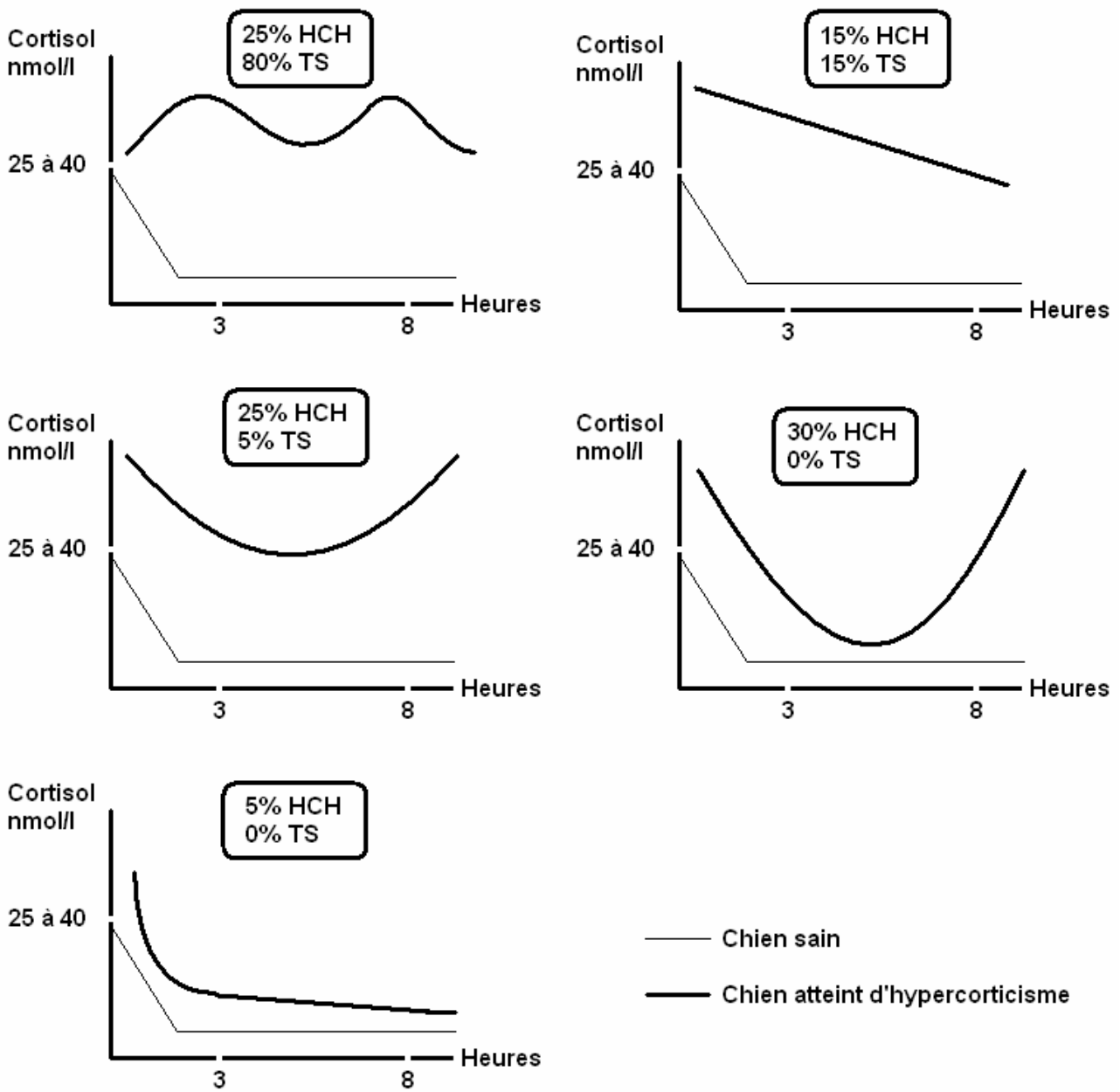
#### d- Valeur diagnostique du test

La sensibilité du test est excellente car elle avoisine les 85-95 %. On note alors peu de faux négatifs. La spécificité est moins satisfaisante car elle varie selon les études entre 44 et 98 %. Le dosage de la cortisolémie après freinage faible à la dexaméthasone est donc le meilleur test pour un diagnostic positif d'hypercorticisme ; son pouvoir diagnostique est le plus élevé des tests actuels [<sup>46, 48, 55, 64, 73, 79, 80, 94, 121, 143, 146, 149, 186</sup>].

La VPN est très élevée car elle est proche de 100 %. Par contre, la VPP avoisine les 59 % et est grandement controversée [<sup>25, 149</sup>].

#### e- Avantages et inconvénients

Ce test est peu onéreux, et grandement disponible (il est facile de se procurer de la dexaméthasone et de nombreux laboratoires d'analyse pratiquent ce dosage). Le test permet de diagnostiquer certains hypercorticismes hypophyso-dépendants, via l'observation d'un échappement [<sup>9, 51, 80, 111, 121</sup>].



**Figure n° 21 :** Interprétation du test de freinage faible à la Dexaméthasone [<sup>133</sup>].

Cependant, il ne permet pas le diagnostic du syndrome de Cushing iatrogène. Par ailleurs, en l'absence de freinage, il n'est pas possible de distinguer un hypercorticisme hypophyso-dépendant d'un hypercorticisme surrénalien. Egalement, il faut administrer la dexaméthasone par voie intraveineuse stricte et son volume est très faible. Par conséquent des erreurs techniques peuvent fausser les résultats. De plus, l'interprétation est difficile si la cortisolémie mesurée à 8 heures est proche de la valeur limite ou si la cortisolémie basale est faible. En outre, le stress stimule la sécrétion d'ACTH et donc de cortisol, qui de ce fait annule le freinage. Ensuite, chaque laboratoire doit définir la valeur seuil en fonction de leurs propres normes, après réalisation de nombreux témoins tant positifs que négatifs. Enfin, le protocole est long, lourd et très contraignant [22, 25, 46, 48, 55, 66, 67, 69, 73, 79, 80, 94, 111, 121, 142, 149, 179].

### 3- Test à la Métyrapone

#### a- Principes

La métyrapone inhibe la biosynthèse du cortisol en bloquant la 11-hydroxylase. On note alors une accumulation du précurseur du cortisol, le 11-désoxycortisol. De plus, la cortisolémie chute, ce qui provoque une stimulation de la sécrétion de l'ACTH et par voie de conséquence la synthèse et l'accumulation du 11-désoxycortisol [50, 55].

#### b- Protocoles

Le protocole est le suivant :

- ingestion de 50 mg de métyrapone à T0 et dosage du 11-désoxycortisol plasmatique
- dosage du 11-désoxycortisol plasmatique à T0 + 8 heures

Cependant, ce test n'est intéressant qu'à la condition où les surrénales soient capables de répondre à l'ACTH. Pour cela, un dosage de la cortisolémie avant et après stimulation au Synacthène<sup>R</sup> doit être réalisé en première intention [165, 167].

#### c- Interprétation

Chez l'homme, ce test permet d'explorer l'intégrité de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien [165, 167, 189] :

- si la réponse est normale, le résultat est compatible avec l'absence d'hypercorticisme
- si la réponse est anormale, on peut distinguer une origine néoplasique (faible réponse) d'une origine hyperplasique (réponse forte)

FELDMAN E.C. [50] a noté que ce test pouvait également permettre un diagnostic étiologique, dans une certaine mesure :

- si on note une diminution de la concentration du cortisol et une augmentation concomitante de celle du 11-désoxycortisol, les résultats sont alors en faveur d'un hypercorticisme secondaire
- si on observe une diminution, à la fois, de la concentration du cortisol et du 11-désoxycortisol, l'hypercorticisme est probablement provoqué par une tumeur surrénalienne

#### d- Avantages et inconvénients

Généralement, ce test ne permet pas distinguer un hypercorticisme primaire d'un hypercorticisme secondaire. De plus il est nécessaire, pour interpréter ce test, que les surrénales puissent répondre à l'ACTH, ce qui est peu souvent le cas pour une tumeur

surrénalienne. Enfin, ce test est bien réalisé en médecine humaine, mais il ne l'est pas en médecine vétérinaire [165].

## **IX- DIAGNOSTIC ETIOLOGIQUE DU SYNDROME DE CUSHING**

### **A- Test endocrinologique statique : dosage de l'ACTHémie**

#### 1- Principes

Le taux plasmatique en ACTH est élevé chez un chien atteint d'hypercorticisme hypophyso-dépendant, car la tumeur ou l'hyperplasie hypophysaire produit en excès de l'ACTH. Par contre, ce taux est très bas en cas d'hypercorticisme primaire, en raison du rétrocontrôle négatif produit par le cortisol en excès sur l'hypophyse [47, 50, 51, 52, 55, 61, 95, 105, 133, 139].

#### 2- Protocoles

Un simple prélèvement de sang suffit donc pour doser le taux plasmatique d'ACTH mais les contraintes techniques sont très sévères. Ainsi, il faut prélever le sang dans un tube en plastique réfrigéré et sur EDTA car l'ACTH peut se fixer sur la paroi en verre du tube. Puis il faut centrifuger l'échantillon de sang à froid grâce à une centrifugeuse réfrigérée, car l'ACTH est instable. Puis il faut congeler le sérum à -20 °C dans les dix minutes suivant le prélèvement. Enfin, on doit faire parvenir l'échantillon au laboratoire sans rompre la chaîne du froid [50].

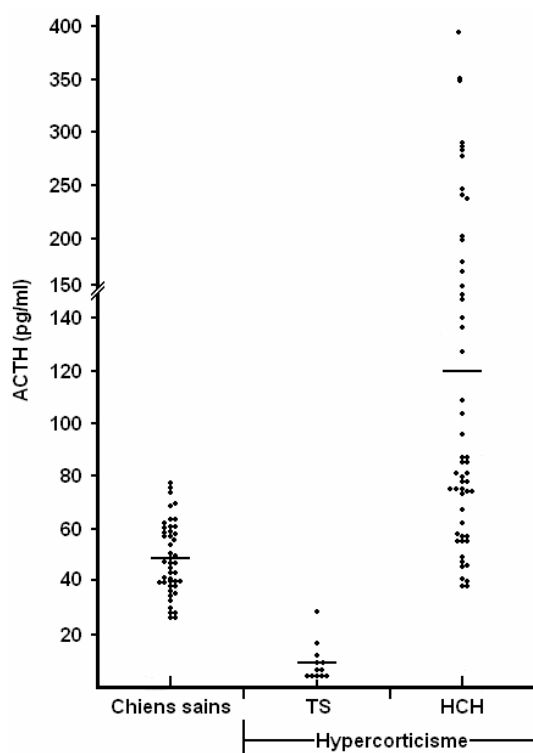
#### 3- Interprétation

Chez un chien sain, l'ACTHémie est comprise entre 20 et 40 pg/ml. De plus, le taux d'ACTH plasmatique de nombreux chiens malades est compris entre ces deux valeurs. Par conséquent, cette zone constitue la zone d'incertitude. Donc l'interprétation est la suivante (Figure n° 22, page 65) [22, 45, 47, 48, 50, 70] :

- Si l'ACTHémie inférieure à 20 pg/ml, le diagnostic d'hypercorticisme primaire est posé.
- Si l'ACTHémie est comprise entre 20 et 40 pg/ml, il est alors impossible de conclure quant à l'étiologie du syndrome de Cushing.
- Si l'ACTHémie est supérieure à 40 pg/ml, il est alors possible de diagnostiquer avec certitude un hypercorticisme d'origine hypophysaire.

#### 4- Valeur diagnostique du test

Selon FORTERRE F. et al. [62] et FELDMAN E.C. [47], ce test permet de distinguer l'hypercorticisme primaire et l'hypercorticisme secondaire dans 90 % des cas de syndrome de Cushing. Cela signifie également que 10 % des chiens atteints d'hypercorticisme ont une ACTHémie dans les valeurs usuelles. Mais d'après FELDMAN E.C. [47], si ce test est réalisé une deuxième fois lors de résultats litigieux, le pouvoir diagnostique du test monte alors à 98 %.



**Figure n° 22 :** Concentrations en ACTH plasmatique endogène chez des chiens sains et des chiens atteints d'hypercorticisme primaire (TS) ou d'hypercorticisme d'origine hypophysaire (HCH) [133].

### 5- Avantages et inconvénients

Il s'agit pratiquement du seul test de laboratoire qui permet de réaliser un diagnostic étiologique fiable ; il permet de distinguer les hypercorticismes primaires et secondaires, de manière satisfaisante. L'avantage de ce test est que l'on peut aisément l'associer à d'autres tests et l'effectuer à T0, tels que le freinage faible à la dexaméthasone. On réalise ainsi à la fois un diagnostic positif et un diagnostic étiologique du syndrome de Cushing [22, 45, 47, 48, 49, 52, 62, 70, 73, 80, 95].

Mais son coût et sa réalisation le réservent à des protocoles expérimentaux. Cependant, il existe des kits en médecine humaine, qui peuvent être utilisés en médecine vétérinaire du fait de la faible différence spécifique de l'ACTH. Par ailleurs, la zone d'incertitude n'étant pas négligeable, il existe de nombreux cas où la valeur de l'ACTHémie se situe dans cette zone. Il est alors impossible de poser un diagnostic de certitude [22, 47, 67, 69, 70, 73, 133, 179].

## **B- Tests endocrinologiques dynamiques**

### 1- Dosage de la cortisolémie après freinage fort à la dexaméthasone

#### a- Principes

Ce test est identique dans son principe que le dosage de la cortisolémie après freinage faible à la dexaméthasone. Cependant, la dose de dexaméthasone utilisée est nettement plus importante (0,1 mg/kg à 1 mg/kg selon les protocoles). Cela permet alors de distinguer les hypercorticismes hypophyso-dépendants des hypercorticismes d'origine surrénalienne. En effet, pour un hypercorticisme secondaire, ces doses permettent d'inhiber la sécrétion

d'ACTH par l'antéhypophyse via le rétrocontrôle négatif exercé par les glucocorticoïdes. Néanmoins, ces doses ne permettent pas de diminuer la cortisolémie lors d'un hypercorticisme primaire, car l'ACTHémie est très faible et les tumeurs surrénaliennes sont autonomes de l'axe hypothalamo-hypophysaire [25, 47, 50, 55, 66, 143, 146].

#### b- Protocoles

Il existe de nombreux protocoles (Tableau n° 5) mais le principe reste le même :

- dosage de la cortisolémie basale à T0 en prélevant un échantillon de sang sur tube sec ou hépariné,
- injection de 0,1 à 1 mg/kg de dexaméthasone soluble par voie intraveineuse,
- prélèvements de sang sur tube sec ou hépariné en vue du dosage du cortisol plasmatique (le nombre varie selon le protocole).

	Dose	Cortisolémie
- Feldman	0,1 mg/kg IV	T0, T0 + 8 h
- Mac Gill	0,1 mg/kg IV	T0, T0 + 2 h
- Meijer	0,1 mg/kg IV	T0, T0 + 3 h, T0 + 8 h
- Kemppainen	0,1 mg/kg IV	T0, T0 + 4 h, T0 + 8 h
- Peterson	0,1 mg/kg IV 1 mg/kg IM	T0, T0 + 2 h, T0 + 4h, T0 + 6 h, T0 + 8 h
-Okin	1 mg/kg IM	T0, T0 + 6 h

**Tableau n° 5 :** Protocoles du test de freinage fort à la dexaméthasone [105].

#### c- Interprétation

Comme l'illustre la Figure n° 23, page 68, plusieurs cas peuvent être observés [50, 55, 105, 133] :

- Si on note un freinage fort correspondant à une diminution de la cortisolémie de plus de 50 % en association avec une valeur inférieure à 40 nmol/l à 8 heures, cela est compatible avec un hypercorticisme hypophyso-dépendant (80 % des hypercorticismes secondaires réagissent ainsi, alors que cela n'est pas noté pour les hypercorticismes primaires).
- 5 % des hypercorticismes d'origine hypophysaire (contre aucun hypercorticisme d'origine surrénalienne) montre un freinage fort à 4 heures (cortisolémie inférieure à 40 nmol/l avec un diminution de plus de 50 %) puis un échappement avec une cortisolémie à T8 comparable à celle à T0.
- 10 % des hypercorticismes secondaires et 20 % des hypercorticismes primaires subissent un freinage insuffisant, c'est-à-dire, une diminution constante de la

cortisolémie qui ne dépasse jamais plus de 50 % et avec une cortisolémie supérieure à 40 nmol/l à T8.

- 80 % des hypercorticismes d'origine surrénalienne et 5 % des hypercorticisme d'origine hypophysaire ne subissent pas de freinage : les cortisolémies à T0, T4 et T8 sont comparables.

Pour résumer, si l'on observe un freinage, le diagnostic d'hypercorticisme secondaire est posé. Mais si l'on ne note pas de freinage, on ne peut pas conclure quant à l'origine du syndrome de Cushing. Il est à noter que, d'après SARFATY et al. [160], l'absence de freinage en cas d'hypercorticisme secondaire serait en faveur d'un macroadénome ou d'un macrocarcinome hypophysaire invasif.

#### d- Valeur diagnostique du test

15 à 20 % des chiens souffrant hypercorticisme hypophysaire manifestent une réponse qui suggère une tumeur surrénalienne [55, 73, 121].

La VPP est très satisfaisante car elle est proche de 100 %, donc ce test est excellent dans le cadre d'un diagnostic positif, voire étiologique [25, 55].

#### e- Avantages et inconvénients

Ce test est peu onéreux et grandement disponible. Il permet de diagnostiquer avec certitude, un hypercorticisme secondaire quand un freinage est observé [25, 47, 48, 50, 55, 121, 186].

Cependant, si aucun freinage n'est noté, on ne peut rien conclure quant à l'origine surrénalienne ou hypophysaire du syndrome de Cushing. En effet, environ 20 % des hypercorticismes secondaires sont réfractaires au freinage fort à la dexaméthasone, en raison de l'atteinte de la *pars intermedia* qui est insensible au rétrocontrôle négatif des corticoïdes. Or les hypercorticismes secondaires représentent 80 à 85 % des hypercorticismes. Par conséquent, le nombre d'hypercorticismes hypophyso-dépendants réfractaires au freinage fort est comparable à celui des hypercorticismes primaires. En d'autres termes, si l'on observe une absence de freinage, la probabilité d'avoir une origine surrénalienne est sensiblement la même que celle d'avoir une origine hypophysaire. En outre, ce test ne permet pas de distinguer les microadénomes des macroadénomes hypophysaires. De plus, il n'existe pas de protocole de référence, ce qui complique l'interprétation des résultats qui sont assez controversés. Enfin, comme pour le dosage de la cortisolémie avant et après freinage faible à la dexaméthasone, le protocole est long, lourd et très contraignant [12, 25, 47, 48, 50, 55, 66, 73, 80, 94, 95, 121, 143].

## 2- Dosage de la cortisolémie après stimulation à l'ACTH et freinage faible à la dexaméthasone

### a- Principes

Ce test consiste à faire successivement un freinage fort à la dexaméthasone (0,1 mg/kg) et une stimulation à l'ACTH. Il devrait permettre en théorie, à la fois, de réaliser le diagnostic positif et le diagnostic étiologique du syndrome de Cushing. Différentes études montrent que l'injection de dexaméthasone ne modifie pas la réponse à la stimulation, à la condition d'injecter l'ACTH dans les quatre heures qui suivent l'injection de dexaméthasone [38, 48, 49, 94, 133].

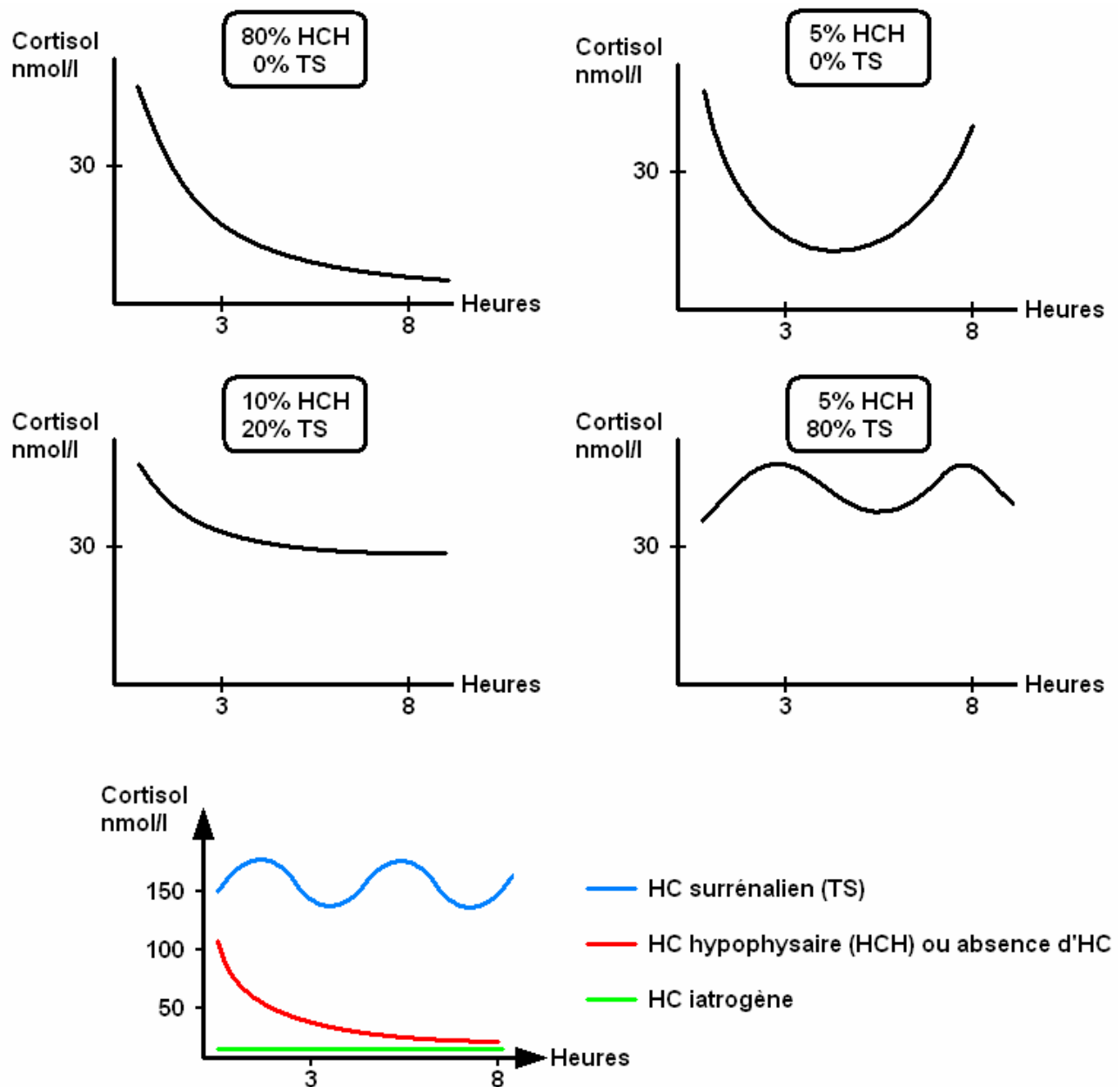


Figure n° 23 : Interprétation du test de freinage fort à la Dexaméthasone [<sup>133</sup>].

## b- Protocoles

Plusieurs protocoles ont été proposés, comme le montre le Tableau n° 6 :

Références	Protocoles		
	T0 : dosage cortisol + inj. DXM	T1 : dosage cortisol + inj. ACTH	T2 : dosage cortisol
Eiler et Olivier, 1980 Lothrop et Olivier, 1984	0,1 mg/kg IM	T1 = T0 + 2 h ACTH 0,5 U/kg IV	T2 = T0 + 3 h
Kemppainen, 1984b	0,1 mg/kg IV	T1 = T0 + 3 h ou T0 + 4 h ACTH gel	T2 = T1 + 2 h
Feldman, 1985	0,1 mg/kg IV	T1 = T0 + 2 h ACTH 0,25 mg/al IM	T2 = T0 + 3 h
Reimers, 1982 Kemppainen, 1984a	0,1 mg/kg IV	T1 = T0 + 3 h ACTH gel 2,2U/kg IM ou IV	T2 = T0 + 4h30
Feldman, 1986	0,1 mg/kg IV	T1 = T0 + 5 h ACTH 0,25 mg/al IM	T2 = T0 + 6 h
Benoit et al, 1987	0,1 mg/kg IV	T1 = T0 + 3 h ACTH 0,25 mg/10kg IM	T2 = T0 + 4h30
Verschueren et Rinjberk, 1987	0,1 mg/kg IV	T1= T0 + 3 h ACTH 0,25 mg/al	T2 = T0 = 4h30
Régnier et al, 1988	0,1 mg/kg IM	T1 = T0 + 2 h ACTH 0,25 mg/al IV	T2 = T0 + 3 h

**Tableau n° 6 :** Protocoles du test combiné de freinage à la dexaméthasone (DXM) et de stimulation à l'ACTH.

## c- Interprétation

Comme l'indique la Figure n° 24, page 71, trois cas de figures peuvent être observés :

- chez un chien sain, la cortisolémie basale est faible, puis on note une forte diminution du cortisol plasmatique lors du freinage et enfin une forte augmentation lors de la stimulation à l'ACTH
- en cas d'hypercorticisme hypophyso-dépendant, la cortisolémie initialement élevée subit une diminution de plus de 50 % lors du freinage puis une importante augmentation lors de la stimulation

- en cas de tumeur surrénalienne, on note initialement que le taux plasmatique du cortisol est élevé mais qu'il ne subit aucune modification lors du freinage pour enfin augmenter de façon très variable lors de la stimulation (absente, normale ou exagérée)

EILER H. et al. [38] mirent en évidence que ce test pouvait également diagnostiquer :

- un hypercorticisme idiopathique, avec une cortisolémie basale élevée, puis un freinage par la dexaméthasone partiel, et enfin une réponse à la stimulation à l'ACTH exagérée
- un hypercorticisme iatrogène induit par des glucocorticoïdes, avec une cortisolémie basale élevée, puis une réponse normale voire diminuée au test de stimulation à l'ACTH
- un hypercorticisme iatrogène induit par la corticotropine, avec une cortisolémie basale élevée, puis une absence de réponse au test de freinage et enfin une réponse modérée au test de stimulation
- un hypocorticisme iatrogène, avec une cortisolémie basale faible, puis une réponse normale voire diminuée aux tests de freinage et de stimulation

#### d- Valeur diagnostique et limite du test

Ce test bien qu'intéressant en théorie, cumule les défauts des deux tests en pratique. Par conséquent, il est inutilisable pour distinguer les hypercorticismes primaires et secondaires (Figures n° 25, page 71). En effet, comme nous l'avons vu précédemment, 15 à 20 % des hypercorticismes hypophyso-dépendants sont réfractaires au freinage. Ils apparaissent donc, dans ce test, comme des hypercorticismes d'origine surrénalienne [22, 48, 49, 50, 121, 143].

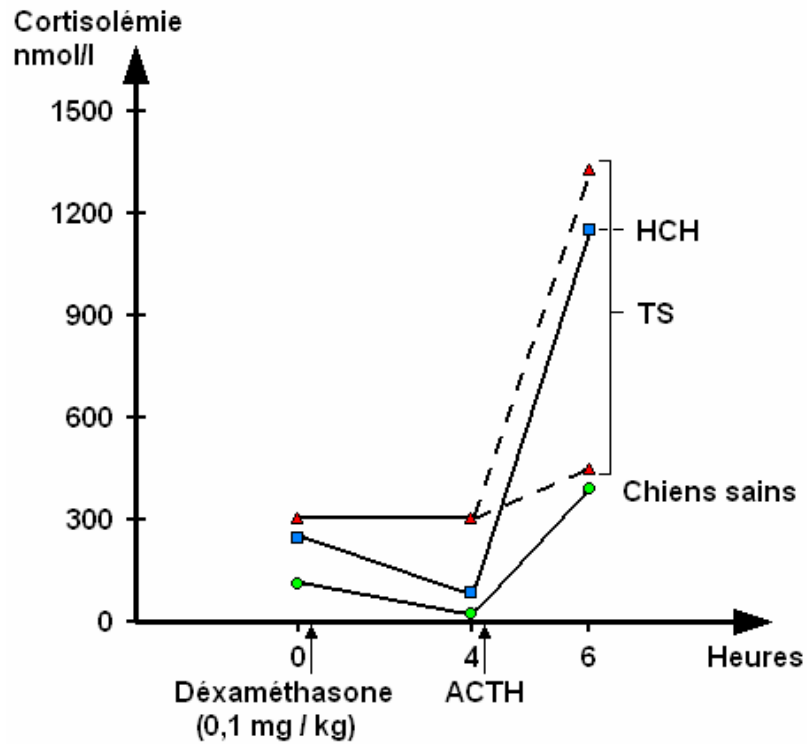
Seule une diminution de plus de 50 % du cortisol plasmatique suivi d'une augmentation exagérée de la cortisolémie peut être diagnostique d'un hypercorticisme secondaire. Mais le test de freinage fort arrive à la même conclusion, tout en étant plus simple.

Finalement, le seul intérêt de ce test semble résider dans le diagnostic positif du syndrome de Cushing. Selon FELDMAN E.C. [48], 85 % des chiens souffrant du syndrome de Cushing présenteraient une anomalie durant ce test, c'est-à-dire, soit une absence de suppression à la dexaméthasone, soit une réponse exagérée à la stimulation à l'ACTH. De plus, le coût du test et le nombre de prélèvements et d'injections nécessaires rendent ce test moins abordable et donc moins intéressant que les autres tests permettant un diagnostic positif.

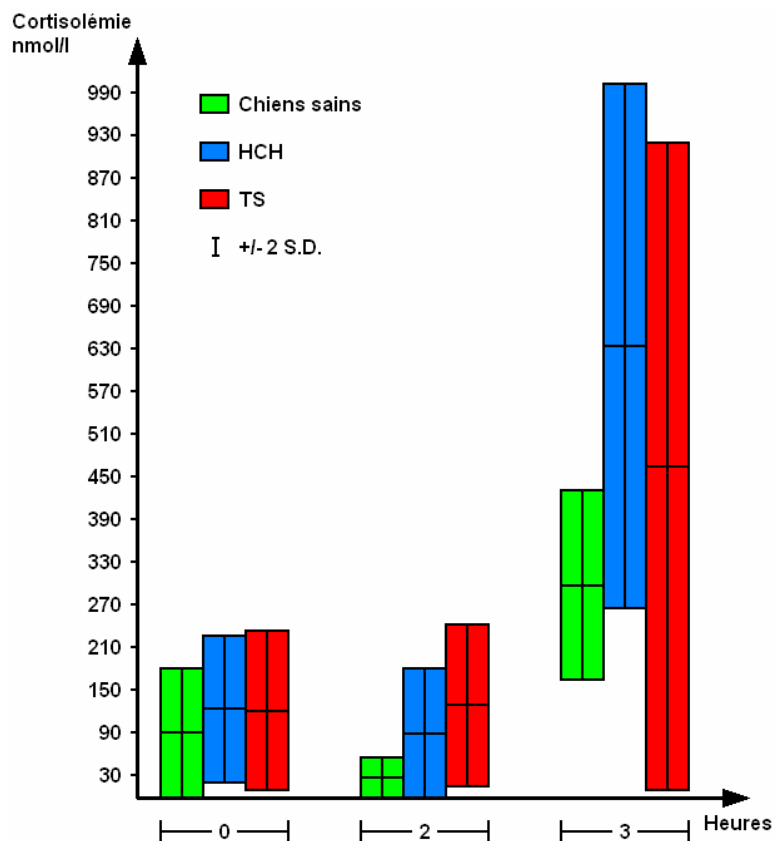
Néanmoins, selon EILER H. et al. [39], ce test pourrait peut-être être intéressant dans une autre optique. Il semblerait que les différents résultats de ce test correspondent à différents stades évolutifs de la maladie, comme l'indique la Figure n° 26 (page 72) :

- le premier stade de la maladie, caractérisé par une suppression partielle à la dexaméthasone (groupe I)
- le deuxième stade de la maladie, caractérisée par une suppression partielle à la dexaméthasone et une réponse exagérée à la stimulation à l'ACTH (groupe II)
- le troisième stade de la maladie, caractérisé par une cortisolémie basale très élevée, une suppression partielle à la dexaméthasone et une réponse exagérée à la stimulation à l'ACTH (groupes III et IV, ce dernier semble être une variante du groupe III)

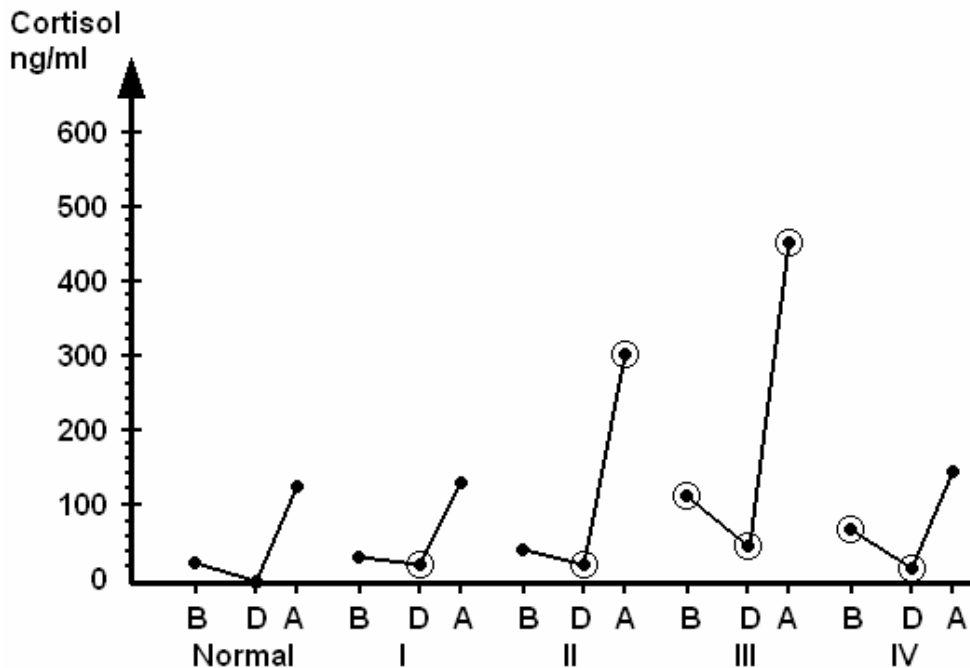
Mais cette interprétation doit être approfondie.



**Figure n° 24 :** Interprétation du test combiné de freinage à la dexaméthasone et de stimulation à l'ACTH [94].



**Figure n° 25 :** Variation de la cortisolémie chez 16 chiens sains, 6 chiens souffrant d'hypercorticisme primaire et 15 chiens souffrant d'hypercorticisme d'origine hypophysaire, suite au test combiné de freinage à la dexaméthasone et de stimulation à l'ACTH [48].



**Figure n° 26 :** Variation du cortisol plasmatique suite au test combiné de freinage à la dexaméthasone et de stimulation à l'ACTH : mise en évidence de 4 réponses anormales (I, II, III et IV) [39].

3- Dosage du rapport cortisol libre urinaire sur créatinine urinaire (RCCU) combiné au test de freinage à la dexaméthasone forte dose  
a- Principes

En combinant la mesure du RCCU au test de freinage à la dexaméthasone forte dose, ce test permet un diagnostic de confirmation et un diagnostic étiologique de la maladie.

b- Protocoles

Les urines doivent être prélevées sur tube sec, à la même heure trois matins de suite. Tous les prélèvements doivent être réalisés chez le propriétaire, afin de limiter le stress. Après le second prélèvement d'urine du matin, l'animal reçoit 0,1 mg/kg de dexaméthasone per os. Cette prescription doit être renouvelée toutes les huit heures jusqu'au troisième prélèvement d'urine [69].

c- Interprétation

L'interprétation du test est la suivante [69] :

- si les deux premiers RCCU sont supérieurs à  $10 \cdot 10^{-6}$ , les résultats sont compatibles avec un hypercorticisme
- si le troisième RCCU est diminué de 50 % ou plus par rapport aux deux précédents, l'origine hypophysaire de l'hypercorticisme est diagnostiquée
- si le troisième RCCU est faiblement modifié, le diagnostic est en faveur soit d'un hypercorticisme surrénalien, soit dans une moindre mesure, d'un hypercorticisme hypophysaire résistant à la dexaméthasone

#### d- Valeurs diagnostiques et limites du test

Le stress intervient très peu puisque l'animal reste chez lui. La sensibilité du test est excellente car elle avoisine les 99 % mais sa spécificité n'atteint que 77 % [69].

Cependant, la qualité du test dépend de nombreux facteurs non contrôlés par le vétérinaire comme l'exactitude de la dose administrée, le respect des horaires, l'habileté du propriétaire à administrer des comprimés, la qualité de l'absorption intestinale et les vomissements éventuels.

### **C- Imagerie médicale**

#### 1- Radiographie

##### a- Principes

La radiographie permet de distinguer cinq types de densité dont l'ordre croissant d'opacité est le suivant : la densité aérienne, la densité graisseuse, la densité liquidienne ou tissulaire, la densité osseuse et la densité métallique.

Si les images radiographiques des manifestations pathologiques et des tissus sains sont de densités radiographiques différentes, il est alors possible de les mettre en évidence grâce à la radiographie.

##### b- Interprétation

Sur les radiographies abdominales, il est possible d'observer [50, 51, 55, 61, 62, 73, 105, 129, 133, 165] :

- un bon contraste péritonéal consécutif à l'accumulation de graisse dans l'abdomen,
- une hépatomégalie (modification de l'axe de l'estomac sur la projection latérale, débordement du bord caudo-ventral du foie caudalement au cercle de l'hypochondre et un arrondissement et un aspect émoussé de ce bord normalement pointu),
- une distension vésicale même après miction,
- un abdomen penduleux (« aspect en tonneau »),
- une calcinose cutanée ou sous-cutanée,
- des calcifications ectopiques (bassin rénal, foie, muqueuse gastrique, branches abdominales de l'aorte, glandes surrénales),
- une ostéopénie,
- une surrénalomégalie.

Sur les radiographies thoraciques, on peut noter [50, 51, 55, 62, 73, 105, 129, 133, 165] :

- une calcification des anneaux trachéaux,
- une minéralisation bronchique,
- une ostéopénie,
- des complications de thrombo-embolie pulmonaire (régions hypovasculaires, infiltrats pulmonaires alvéolaires uniques ou multiples),
- des lésions secondaires cardiaques (cardiomégalie droite, dilatation du tronc pulmonaire),
- des métastases pulmonaires (nodules pulmonaires à contours nets et d'opacité liquidienne homogène).

A l'exception de la calcification des glandes surrénales et de la surrénalomégalie, toutes les autres manifestations radiographiques sont peu spécifiques du syndrome de Cushing [73, 113, 118, 146, 165, 183].

### c- Valeur diagnostique du test

Les glandes normales ou hypertrophiées ne sont habituellement pas visibles à la radiographie.

30 à 50 % des tumeurs surrénaliennes deviennent calcifiées et donc radiographiquement visibles. Egalement, les tumeurs non minéralisées sont difficilement visualisables, excepté, quand elles deviennent de très grande taille (au-delà de 2 cm). Leur densité est alors de type liquidien, localisée en région crânio-médiale des reins. On observe parfois un déplacement latéral du rein ipsilatéral à la masse [55, 62, 80, 113, 129, 140, 143, 146, 161, 183].

### d- Avantages et inconvénients

Cette technique est rapide, grandement disponible et peu onéreuse.

Cependant elle nécessite la plupart du temps une anesthésie générale, qui associée à l'âge avancé des chiens malades, augmente les risques. De plus, sa valeur diagnostique est faible ; on ne visualise au maximum que 50 % des tumeurs surrénaliennes grâce à leur minéralisation et on visualise rarement les hyperplasies surrénaliennes d'origine hypophysaire. De plus, il n'est pas possible de distinguer les adénomes des carcinomes surrénaliens [129, 183].

Elle permet surtout d'observer les manifestations consécutives à l'excès des glucocorticoïdes, telles que les minéralisations dystrophiques, l'ostéopénie et l'hépatomégalie, entre autres. Or ces manifestations sont peu spécifiques. Par conséquent, il n'est pas recommandé de se baser uniquement sur les clichés radiographiques pour établir un diagnostic positif et encore moins un diagnostic étiologique. Il est nécessaire de se baser également sur la clinique et les autres tests [62, 73, 129, 179].

## 2- Echographie

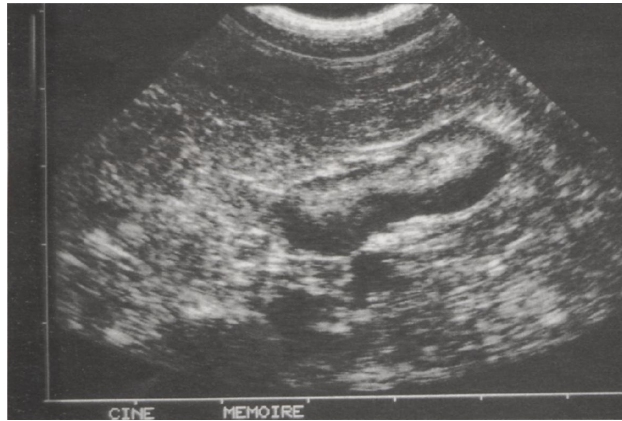
### a- Principes

Cette technique permet d'évaluer la forme, la taille, la structure et les rapports des deux glandes surrénales avec les vaisseaux environnants, notamment le rapport entre la glande droite et la veine cave caudale. On utilise pour cela une sonde de 7,5 MHz pour des petits animaux et une sonde de 5 MHz pour les grands [6, 25, 55, 113].

### b- Interprétation

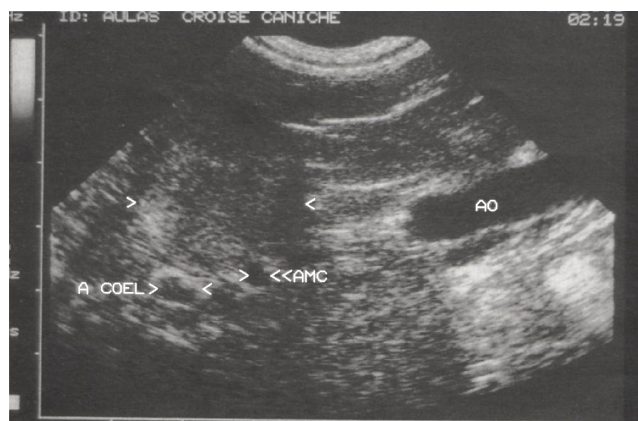
Les glandes surrénales apparaissent comme une zone hypoéchogène oblongue, qu'il ne faut pas confondre avec un vaisseau ; l'utilisation du doppler permet de différencier de façon certaine la glande d'une structure vasculaire. Le parenchyme surrénalien apparaît à l'échographie homogène et moins hétérogène que le tissu rénal adjacent. De plus, la médulla apparaît plus hyperéchogène que le cortex [6, 90, 102]. La taille des glandes surrénales est mesurée à partir du diamètre transversal maximal ; la taille d'une surrénale « normale » dépasse rarement 7,4 mm [51, 113] (d'autres auteurs [67] prennent plutôt 6 mm). Il a donc été décidé d'utiliser cette valeur comme seuil pour le diagnostic d'hypercorticisme.

Si la taille des deux glandes surrénales est normale voire augmentée avec une conservation de l'échostructure et de la forme (Figure n° 27, page 75), l'origine hypophysaire peut être mise en avant [6, 51, 55, 73, 88, 113].



**Figure n° 27 :** Coupe longitudinale de la glande surrénale gauche d'un chien atteint d'hypercorticisme secondaire : on note une augmentation globale de la taille de la glande et une conservation de sa forme et de son échostructure.

Si l'une des deux glandes est hypertrophiée (Figure n° 28) avec ou non atrophie de la glande controlatérale, on peut alors poser comme diagnostic étiologique un hypercorticisme primaire. On peut également observer une ou plusieurs zones hyperéchogènes accompagnées d'une ombre acoustique, traduisant la présence de minéralisations (présentent dans 50 % des tumeurs surrénaliennes). Il faut rappeler que les tumeurs surrénaliennes bilatérales sont rares [6, 51, 55, 73, 88, 113].



**Figure n° 28 :** Adénocarcinome sécrétant surrénalien (entre les flèches > et <) : les repères vasculaires représentés par l'artère coeliaque (A COEL), l'artère mésentérique crâniale (AMC) et l'aorte (AO) sont visibles.

#### c- Valeur diagnostique du test

La glande surrénale droite n'est visible que dans 72 % des cas, contre 96 % des cas pour la glande surrénale gauche. L'opérateur doit impérativement observer les deux glandes, sans quoi, aucune conclusion définitive ne peut être avancée. En effet, si les deux glandes surrénales sont de taille comparable, on peut suggérer un hypercorticisme secondaire, mais si leur taille est nettement différente, cela peut évoquer un hypercorticisme d'origine surrénalienne ; c'est de la comparaison des deux glandes que peut être diagnostiquée l'origine du syndrome de Cushing. Or lors de tumeur surrénalienne, la glande controlatérale est

atrophiée, ce qui la rend difficilement observable par échographie et ce qui diminue donc le pouvoir diagnostique de cette technique [25, 63, 80, 102, 143].

#### d- Avantages et inconvénients

Cette méthode est peu onéreuse, disponible et non invasive. De plus, elle ne nécessite pas d'anesthésie générale et elle permet de réaliser en parallèle un bilan d'extension local. En effet, elle permet de rechercher une invasion vasculaire locale, notamment de la veine cave caudale ou des métastases hépatiques notamment [6, 25, 51, 55, 63, 73, 102, 113, 140, 146, 181].

Son principal intérêt réside dans la possibilité de diagnostiquer les tumeurs surrenaliennes ; elle permet de détecter les tumeurs de trop petite taille pour être visualisables à la radiographie. Il est même parfois possible de distinguer les adénomes des carcinomes surrenaliens ; les adénomes sont constitués de cellules corticales distinctes, bien différenciées et dont l'indice mitotique est faible, alors que les carcinomes sont constitués de cellules moins différenciées, dont l'agencement est irrégulier et dont l'index mitotique est élevé. De plus, généralement les carcinomes envahissent la médulla et la capsule. Mais, l'observation d'une tumeur surrenalienne n'est pas forcément synonyme d'hypercorticisme primaire si la tumeur n'est pas sécrétante (exemple des phéochromocytomes ou des métastases) [73, 140, 181].

Pour l'hypercorticisme secondaire, ce test est moins fiable. En effet, les deux glandes surrénales peuvent être de taille augmentée ou bien normale, conduisant alors à des faux négatifs. De plus, l'échographie ne permet pas d'observer directement l'hypophyse, contrairement à d'autres techniques. Ainsi, elle ne permet pas de distinguer les macroadénomes des microadénomes hypophysaires [25, 102].

De plus, sa valeur diagnostique dépend fortement des qualités du manipulateur et du matériel. Egalement, la glande surrénale droite est parfois difficilement visualisable, ce qui contribue à diminuer la valeur diagnostique de ce test. Enfin, les mesures réalisées par échographie manquent de précision et il existe un chevauchement des valeurs entre la taille des surrénales « saines » et la taille des surrénales « atteintes ». Et surtout, l'échographie ne donne aucune information concernant le fonctionnement d'un organe, c'est-à-dire qu'elle ne peut distinguer une hyperplasie d'origine tumorale primitive (phéochromocytome, neuroblastome, adénome / carcinome), d'une hyperplasie d'origine métastatique ou bien d'une hyperplasie d'origine hémorragique [61, 63, 90, 140, 146]. Par conséquent, le diagnostic étiologique ne doit pas se baser exclusivement sur l'échographie, mais également sur la clinique et les autres tests, biologiques notamment [25, 42, 51, 88, 181].

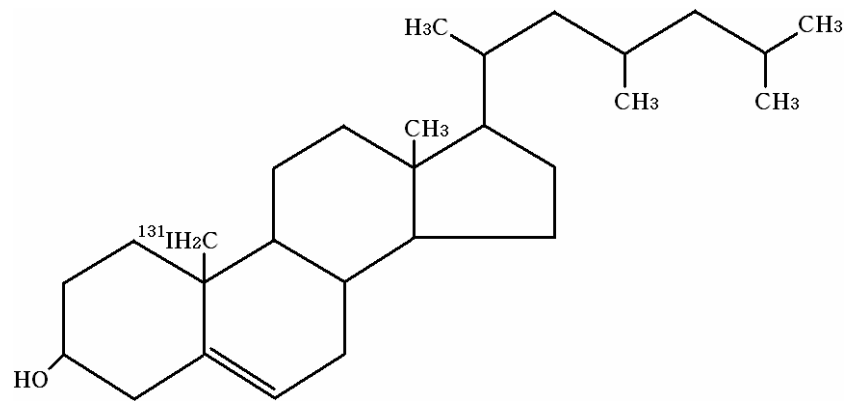
### 3- Scintigraphie

Cette technique est basée sur l'absorption d'un précurseur marqué des corticoïdes. Elle permet une différenciation fiable entre l'hyperplasie bilatérale du cortex surrenalien (du à l'hypercorticisme secondaire) et une tumeur surrenalienne [179]. Mais elle permet également de statuer sur le caractère fonctionnel ou non des tumeurs surrenaliennes.

Un radio-nucléide est principalement employé en scintigraphie surrenalienne pour confirmer une sécrétion anormale de cortisol : le <sup>131</sup>I-6B iodométhylnorcholestérol ou NP-59 (Figure n° 29, page 77). Ce radio-nucléide est lié au lipoprotéines basse densité et est transporté sur leurs sites d'absorption, c'est-à-dire, les récepteurs spécifiques des lipoprotéines basse densité localisés dans la membrane des cellules corticales surrenaliennes. Les surrénales normales ne sont pas visualisées. Une atteinte bilatérale avec syndrome de

Cushing signe un hypercorticisme secondaire ou une tumeur corticale bilatérale, et une atteinte unilatérale signe une tumeur corticale sans possibilité de statuer sur son caractère bénin ou malin.

Il est à noter que la scintigraphie par NP-59 nécessite la prise d'images sur sept jours. Cet inconvénient ajouté aux mesures nécessaires à la radiographie, au coût, à la faible accessibilité pour les vétérinaires a limité le développement de cette technique en médecine vétérinaire.



**Figure n° 29 :** Formule développée du NP-59.

#### 4- Tomodensitométrie ou scanner

##### a- Principes

Il s'agit d'une technique d'imagerie en coupe qui utilise les rayons X. Comme pour la radiographie, il est possible d'utiliser des produits de contraste iodés pour surligner les contours des masses tumorales. Cette technique d'imagerie médicale permet à la fois de visualiser les glandes surrénales et l'encéphale, avec notamment la région hypophysaire [4, 25, 27, 50, 55, 58, 62, 113, 179, 182].

##### b- Interprétation

Les tumeurs hypophysaires sont des masses à contours bien définis, spontanément isodenses à légèrement hyperdenses, avec un rehaussement homogène et intense après injection d'un produit de contraste iodé. Il est possible d'observer une dilatation des ventricules latéraux suite à une obstruction par une masse tumorale, provoquant alors une hydrocéphalie [23, 50, 58, 176, 182].

Concernant les surrénales, l'interprétation est la même que l'échographie [4, 42, 50] :

- suspicion d'hypercorticisme primaire en présence d'une glande surrénale hypertrophiée plus ou moins minéralisée et associée ou non à l'atrophie de la glande controlatérale
- suspicion d'hypercorticisme secondaire en présence d'une hyperplasie des deux glandes surrénales avec conservation de la forme (néanmoins leur taille peut être normale)

### c- Valeur diagnostique du test

Il est impossible de visualiser les microadénomes hypophysaires. Or ceux-ci représentent plus de 50 % des tumeurs hypophysaires. De ce fait, la sensibilité concernant l'hypercorticisme secondaire est médiocre, laissant apparaître de nombreux faux négatifs [113, 114, 182].

En ce qui concerne l'exploration des surrénales, la valeur diagnostique de la tomodensitométrie est supérieure à celle de l'échographie ; la sensibilité est meilleure. Mais bien que la mesure de la taille des glandes surrénales soit plus précise avec cette technique, la tomodensitométrie ne peut mettre en évidence que des masses de taille supérieure à 2 cm. De plus, on observe un chevauchement des valeurs de la taille des glandes normales et des glandes affectées [4, 42, 73, 90, 113, 114, 143, 182, 183].

### d- Avantages et inconvénients

La tomodensitométrie est une technique d'imagerie médicale rapide, précise et non invasive [4, 42, 55, 58, 130].

Son principal intérêt réside dans le fait de pouvoir observer la région hypophysaire, sans superposition ; elle permet d'apporter des informations sur la localisation et la taille de certaines tumeurs hypophysaires, principalement les macroadénomes, ainsi que sur l'œdème péri-tumoral et les structures environnantes [25, 27, 42, 55, 58, 73, 130, 176, 182].

Egalement, cette technique permet d'obtenir des informations sur la taille et la forme des surrénales, la densité de leur parenchyme et leur environnement, afin de réaliser un bilan d'extension local [4, 27, 42, 55, 182].

Cependant, cette technique d'imagerie médicale ne permet pas de visualiser les microadénomes hypophysaires. Egalement, il est impossible de distinguer les adénomes des carcinomes surrénaux. De plus, elle nécessite une anesthésie générale qui est peu recommandée chez les vieux chiens. Enfin, son coût et sa technicité la confinent encore à la médecine humaine [25, 27, 33, 51, 55, 62, 80, 130, 176, 181, 182].

## 5- L'imagerie par résonance magnétique (IRM)

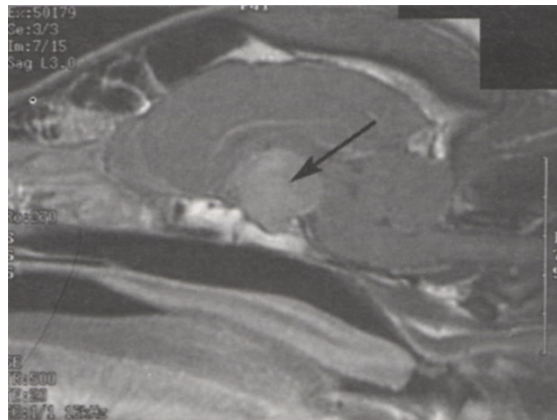
### a- Principes

Il s'agit, comme la tomodensitométrie, d'une technique d'imagerie en coupe. Mais contrairement au scanner qui utilise des rayonnements ionisants, l'IRM utilise des impulsions radiofréquences qui sont transmises dans l'organisme alors que celui-ci est plongé dans un champ magnétique uniforme et intense. Le signal obtenu est aussi un signal radiofréquence et il est alors possible d'obtenir des images dans différentes directions possibles [113].

### b- Interprétation

L'imagerie par résonance magnétique permet uniquement de visualiser les macroadénomes. On note alors une masse circulaire à ovale de plus d'un centimètre de diamètre au niveau de la selle turcique. Cette masse possède souvent un envahissement dorsal et latéral à partir de la selle turcique, comprimant ainsi parfois l'hypothalamus et le troisième ventricule. Pour visualiser également les microadénomes, il est possible d'injecter un produit de contraste : gadolinium-DTPA. On visualise alors un rehaussement intense et homogène. (Figure n° 30, page 79). Toutes les tumeurs hypophysaires présentent ce rehaussement

intense, à l'exception des macroadénomes kystiques qui présentent plutôt un rehaussement minimal.



**Figure n° 30 :** Coupe sagittale du crâne d'un chien atteint d'hypercorticisme d'origine hypophysaire, par IRM et après injection de gadolinium : on note la présence d'un macroadénome hypophysaire indiqué par la flèche (cliché P. Barthez).

L'interprétation de la visualisation des glandes surrénales par IRM est la même que celle du scanner ; le diagnostic étiologique est fonction de la différence de taille entre les deux glandes.

#### c- Valeur diagnostique du test

L'IRM permet de visualiser environ 50 % des tumeurs hypophysaires en cas d'hypercorticisme secondaire. Les microadénomes sont trop petits pour être visualisables. Donc sa sensibilité est comparable à celle du scanner ; de nombreux faux négatifs apparaissent avec cette technique. Mais l'utilisation de produits de contraste, tels le gadolinium, permet d'augmenter nettement la sensibilité de ce test [<sup>51, 113</sup>].

L'IRM peut être également utilisée pour visualiser les glandes surrénales, comme la tomodensitométrie. Il est possible d'obtenir plusieurs coupes de l'abdomen dans différentes directions. Cela permet donc de mieux visualiser les rapports anatomiques ainsi que les métastases et une invasion vasculaire. La sensibilité est comparable voire meilleure que celle du scanner [<sup>113</sup>].

#### d- Avantages et inconvénients

Contrairement à la tomodensitométrie, cette technique d'imagerie médicale permet d'obtenir une image en coupe dans n'importe quelle direction. Sa résolution en contraste dépasse nettement celle du scanner. De plus l'IRM reflète via l'intensité du signal, les propriétés biophysiques et biochimiques des tissus et est donc très sensible à de nombreux processus pathologiques. Egalement, on n'observe pas d'artéfact liés à l'os, ni de radiations ionisantes [<sup>113</sup>].

Néanmoins, l'IRM est une technique d'imagerie très onéreuse et difficilement accessible. De plus les temps d'acquisition sont plus longs qu'avec la tomodensitométrie. Enfin, elle ne permet pas d'observer les microadénomes hypophysaires.

## **X- DEMARCHE DIAGNOSTIQUE**

Il existe donc de nombreux tests permettant un diagnostic positif et étiologique du syndrome de Cushing, certains ayant un pouvoir diagnostique très satisfaisant comme le test de freinage faible à la dexaméthasone, d'autres étant peu onéreux et aisément disponible comme le RCCU. Mais il faut préciser qu'aucune conclusion ne peut être émise si on exclut les commémoratifs et la clinique. Ainsi, la démarche diagnostique se base sur une multitude de données, qu'il faut analyser avec rigueur afin de ne pas se tromper dans le diagnostic.

Il existe ainsi de nombreuses démarches, mais nous nous baserons sur celle du Dr Dan Rosenberg. Ce dernier a en effet présenté des arbres décisionnels facilitant le diagnostic de l'hypercorticisme ainsi que le diagnostic étiologique, soit par imagerie, soit par la biologie.

### **A- Diagnostic positif**

Cette démarche se base avant tout sur la suspicion clinique. Ainsi, selon les commémoratifs, l'épidémiologie, la symptomatologie et les examens de routine, le clinicien peut déjà apprécier la probabilité de faire face à un syndrome de Cushing (Figure n° 31, page 81).

Si ces critères sont évocateurs d'un hypercorticisme, la probabilité d'avoir des faux négatifs est faible. Il convient alors de réaliser des tests très spécifiques afin d'éliminer les faux positifs possibles. En effet, traiter des chiens sains avec de l'o,p'-DDD, serait catastrophique concernant la santé de l'animal et le côté relationnel du praticien. Ainsi, l'utilisation du test de stimulation à l'ACTH est un choix judicieux car sa spécificité est excellente. Si les résultats sont évocateurs d'un hypercorticisme, il est alors conseillé de réaliser d'autres tests permettant le diagnostic étiologique du syndrome de Cushing. Par contre si les résultats ne sont pas en faveur d'un hypercorticisme, il est alors nécessaire de réaliser un autre test spécifique comme le test de freinage faible à la dexaméthasone. En effet, rappelons que le test de stimulation à l'ACTH ne permet pas de diagnostiquer tous les hypercorticismes primaires. Si les résultats du freinage faible sont conformes à un hypercorticisme, on réalise alors un diagnostic étiologique. Dans le cas contraire, on peut exclure un syndrome de Cushing et revoir son diagnostic différentiel [79].

Si les critères ne sont pas évocateurs d'un hypercorticisme, cette fois-ci, il est conseillé de réaliser un diagnostic d'exclusion, afin de distinguer la plupart des animaux sains. Pour cela, on peut mesurer le RCCU dont la fiabilité dans ce type de diagnostic est excellente (VPN proche de 100 %). Ainsi, si le RCCU est inférieur à  $10.10^6$ , on peut alors exclure avec certitude un syndrome de Cushing et revoir son diagnostic différentiel. Par contre, si le RCCU est supérieur à ce seuil, il est alors impossible de conclure. Par conséquent, on réalise soit un test de stimulation à l'ACTH, soit un test de freinage faible à la dexaméthasone [79].

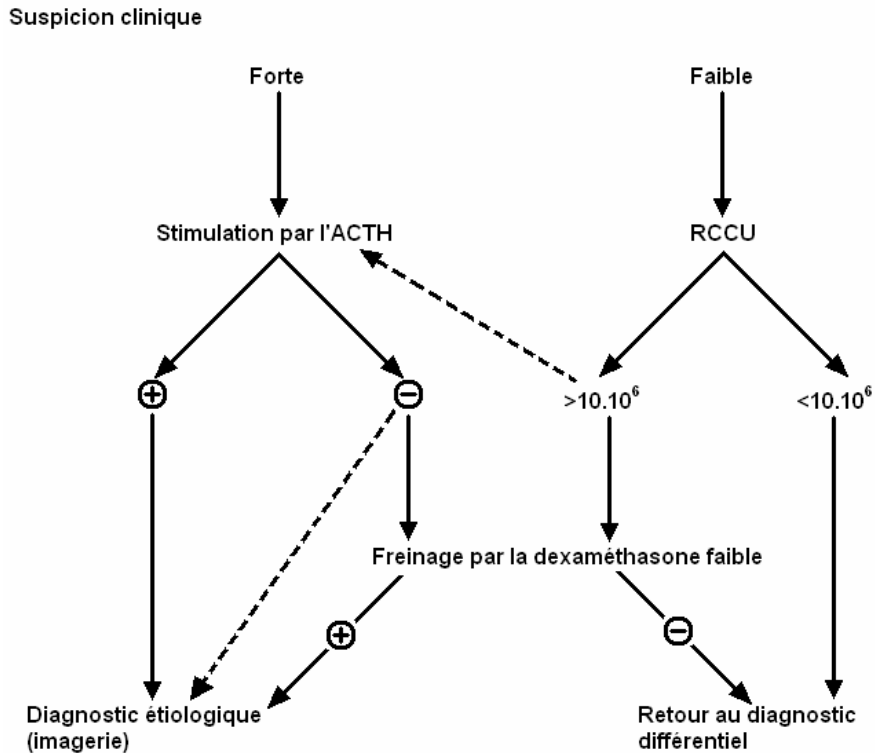


Figure n° 31 : Diagnostic du syndrome de Cushing [25].

## B- Diagnostic étiologique

La deuxième phase de la démarche diagnostique consiste à trouver l'origine hypophysaire ou surrénalienne de l'hypercorticisme. Pour cela et en première intention, il est possible soit d'utiliser des techniques biologiques, soit l'imagerie médicale.

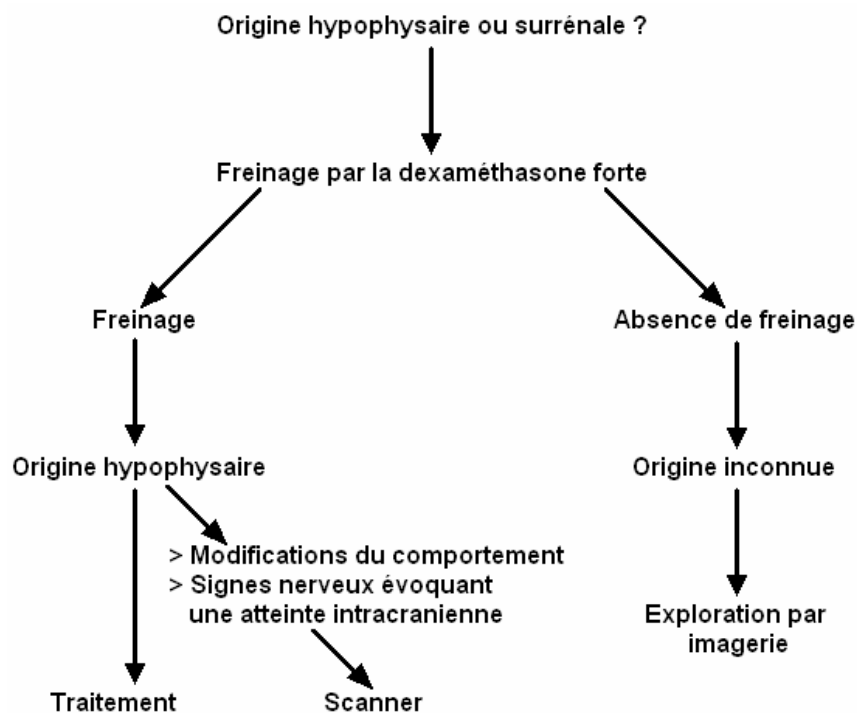
### 1- Techniques biologiques

Le meilleur test biologique permettant de diagnostiquer l'origine du syndrome de Cushing est le dosage de l'ACTHémie. Malheureusement, ce test est très difficile à réaliser et est très onéreux de surcroît. Par conséquent, il lui est préféré le test de freinage fort à la dexaméthasone. Sa valeur diagnostique est moindre mais son rapport fiabilité / technicité est sensiblement équivalent voire meilleur que celui du dosage de l'ACTHémie (Figure n° 32, page 82).

Si on note un freinage lors de ce test, on peut alors diagnostiquer un hypercorticisme secondaire, que l'on peut alors traiter directement. Cependant, certains hypercorticismes hypophyso-dépendants s'accompagnent de troubles nerveux et comportementaux. Il est alors nécessaire de réaliser un scanner afin de diagnostiquer un macroadénome hypophysaire. En théorie, une telle tumeur doit être retirée chirurgicalement par hypophysectomie. Malheureusement en pratique, le coût du scanner et la mortalité après une telle intervention chirurgicale sont tels que les propriétaires préfèrent euthanasier l'animal lorsque ces troubles apparaissent (voir XII-A-1 L'hypophysectomie).

Si on n'observe pas de freinage durant ce test, il est alors impossible de conclure quant à l'origine hypophysaire ou surrénalienne de l'hypercorticisme. En effet, comme il a été mentionné précédemment, en cas d'absence de freinage fort, on a sensiblement la même

probabilité d'avoir un hypercorticisme primaire qu'un hypercorticisme secondaire. Il faut donc utiliser l'imagerie médicale pour diagnostiquer l'origine.



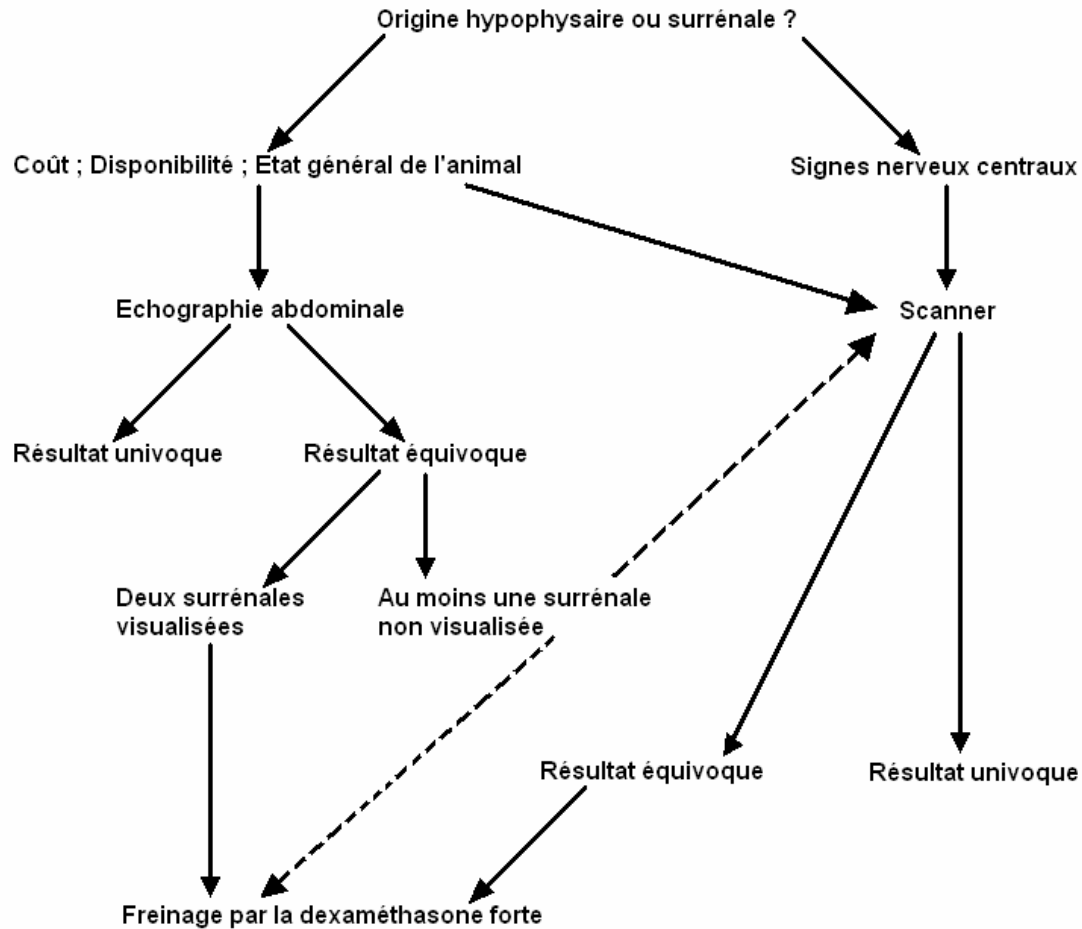
**Figure n° 32 :** Diagnostic étiologique du syndrome de Cushing : exploration par la biologie en première intention [25].

## 2- Techniques d'imagerie médicale

En complément ou en remplacement des techniques biologiques, on peut utiliser l'imagerie médicale pour le diagnostic étiologique (Figure n° 33, page 83).

Si on note la présence de signes nerveux centraux ou si les propriétaires sont motivés financièrement, il est conseillé de réaliser un scanner ou une IRM. La valeur diagnostique de ces deux tests est de loin la meilleure, parmi tous les tests actuellement disponibles. Si le résultat confirme l'étiologie, on traite alors directement l'animal en conséquence. Par contre, si le résultat ne permet pas un tel diagnostic, il est conseillé de réaliser un test de freinage fort à la dexaméthasone.

En cas d'absence de signes nerveux ou si les moyens financiers sont limités, il est alors conseillé de réaliser une échographie abdominale. Certes sa valeur diagnostique est moindre que celle du scanner ou de l'IRM, mais son rapport fiabilité / coût est tout à fait comparable à ces deux techniques. Si les résultats de l'échographie sont univoques, le traitement est alors directement mis en place. Par contre, si l'on n'observe qu'une seule glande surrénale ou si les deux glandes sont de taille comparable et dans les normes, il est alors impossible de conclure et d'autres examens doivent être entrepris tels le test de freinage fort à la dexaméthasone.



**Figure n° 33 :** Diagnostic étiologique du syndrome de Cushing : exploration par l'imagerie en première intention [25].

## **XI- PRONOSTIC**

Le syndrome de Cushing est une pathologie grave et irréversible. Il affecte la plupart des organes et des métabolismes de l'animal. De plus, de nombreuses complications peuvent survenir, assombrissant d'avantage le pronostic vital du chien. La thrombo-embolie, les infections secondaires, le diabète sucré, la pancréatite et l'insuffisance cardiaque représentent la majeure partie de ces complications. Enfin le développement et la nature histologique des tumeurs influent beaucoup sur le pronostic ; les tumeurs bénignes peuvent provoquer des compressions notamment de l'encéphale, et les tumeurs à caractère malin peuvent métastaser et envahir les structures vasculaires environnantes. Il est à noter que le pronostic est plus sombre en cas d'adénocarcinome surrénalien car la maladie évolue plus rapidement ; l'espérance de vie ne dépasse pas quelques semaines. L'âge de l'animal, la gravité des symptômes et la nature des infections modifient également le pronostic vital du chien. L'évolution de la maladie est plus souvent mortelle chez les animaux âgés [92, 98].

La survie d'un animal non traité varie entre un et six mois. Mais le traitement médical des sujets permet une survie moyenne de deux ans chez environ la moitié d'entre eux. Il a même été rapporté dans la littérature des extrêmes allant jusqu'à huit ans. Le traitement chirurgical d'un adénome ou d'un carcinome non métastasé permet une espérance de vie de plusieurs années [143, 165].

## **XII- TRAITEMENT**

### **A- Traitement chirurgical**

#### **1- L'hypophysectomie**

##### **a- Indications**

L'hypophysectomie est le traitement le plus adapté en présence d'hypercorticisme secondaire. Les tumeurs hypophysaires sont directement la cause de l'hypercorticisme et non la conséquence de troubles de l'hypothalamus. De ce fait, ce traitement est curatif et supprime la cause du syndrome de Cushing [55].

##### **b- Technique**

L'abord chirurgical est très délicat en raison des particularités anatomiques de l'hypophyse chez le chien. Mais la meilleure voie d'approche semble être la voie transsphénoïdale. Néanmoins, l'exérèse totale de l'hypophyse est souvent peu aisée du fait de l'extension sus-sellaire du macroadénome hypophysaire et de sa taille [33, 80, 99, 103, 114, 122, 124]. On rappelle que l'hypophysectomie doit être totale sans quoi, le traitement chirurgical n'aura aucun effet, ce qui accroît d'avantage la difficulté de ce traitement.

##### **c- Résultats**

La morbidité et la mortalité per- et post-opératoires et la difficulté technique, limitent grandement sa réalisation [5, 23, 33, 50, 51, 55, 68, 103, 105, 124, 143, 166, 179, 190]. Cette opération conduit souvent au développement d'une hypothyroïdie et/ou d'un diabète insipide central, en raison de l'absence de sécrétion d'ADH et de TSH notamment. On note également une hypernatrémie et une diminution de la production lacrymale. L'animal devra donc recevoir un traitement à vie à base de corticoïdes, d'hormones thyroïdiennes et de vasopressine [55, 92]. Selon FELDMAN E.C. et al. [55], 84 % des patients survivent la première année et 80 %, la deuxième année. Il est à noter que cette intervention chirurgicale est irréalisable chez les chiens brachycéphales en raison de la localisation de l'hypophyse chez ces chiens [165, 179]. Enfin, l'hypophysectomie devient de plus en plus délicate à réaliser avec l'âge de l'animal, car l'hypophyse se fixe, avec l'âge, davantage aux structures environnantes [122].

#### **2- La surrénalectomie**

##### **a- Indications**

##### **➤ *La surrénalectomie unilatérale***

La surrénalectomie unilatérale est le traitement de choix en cas de tumeur surrénalienne ; la morbidité et la mortalité sont très faibles. Cependant, il est nécessaire de réaliser un bilan d'extension minutieux avant toute intervention chirurgicale par le biais d'une radiographie thoracique et d'une échographie abdominale [5, 22, 41, 50, 55, 73, 75, 80, 92, 105, 124, 143, 150, 165].

## ➤ *La surrénalectomie bilatérale*

La surrénalectomie bilatérale peut être pratiquée en cas d'hypercorticisme hypophyso-dépendant dont le traitement par l'o,p'-DDD a échoué ou en cas de tumeurs surrénaliennes bilatérales. Mais la destruction médicale du cortex surrénalien par l'o,p'-DDD est plus fiable et moins délétère ; la morbidité et la mortalité sont moindres [<sup>5, 30, 50, 51, 105, 106, 114, 124, 143, 165, 190</sup>].

### b- Technique

Deux abords chirurgicaux sont possibles : par la ligne blanche ou par les flancs (Figures n° 34, 35, 36 et 37, pages 86 et 87). La première voie d'abord permet de visualiser les deux glandes simultanément et de réaliser un bilan d'extension local. Mais cette technique nécessite une large incision des plans cutané et musculaire. La cicatrisation sera donc d'autant plus longue et difficile. De plus, l'accumulation de graisses péritonéales et la localisation des glandes surrénales rendent cette voie d'abord peu aisée. L'abord paracostal rétropéritonéal (ou par les flancs) permet une approche plus simple des glandes surrénales en raison de leur localisation. La durée de la cicatrisation et les complications sont moindres. Mais seule une glande est visualisable à chaque fois et il n'est pas possible de réaliser un bilan d'extension local, notamment au niveau du foie [<sup>30, 41, 50, 51, 55, 89, 161, 166</sup>].

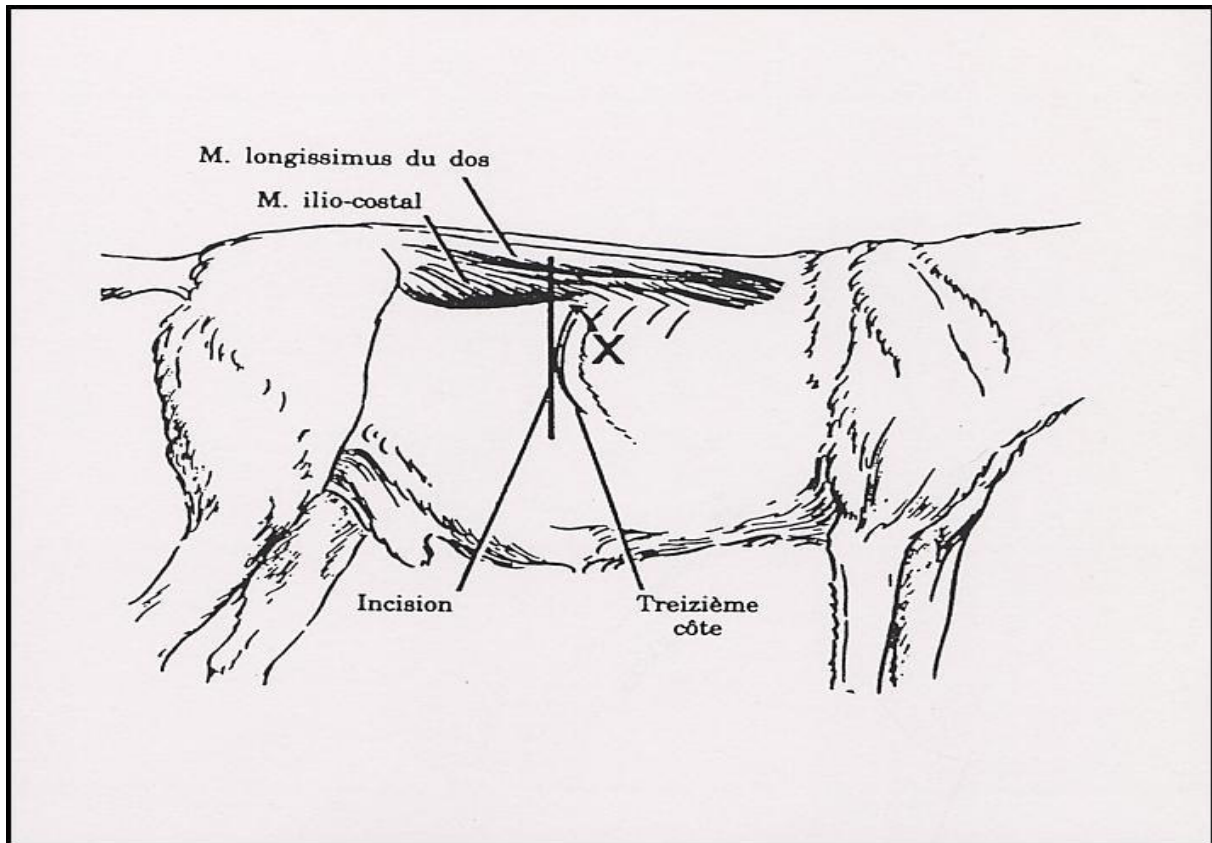
Dans le cadre d'une surrénalectomie unilatérale, un traitement pré-opératoire à base de corticoïdes est nécessaire en raison de l'atrophie de la glande surrénale controlatérale et des risques d'hypocorticisme post-opératoires. On administre donc de la dexaméthasone à 0,04 mg/kg, une solution salée normale en perfusion intraveineuse et de l'acétate de désoxycorticostérone à 0,1 mg/kg par voie intramusculaire. On continuera à administrer des glucocorticoïdes en post-opératoire jusqu'à un retour à un fonctionnement normal de la deuxième glande surrénale. Il est également conseiller d'administrer du kétoconazole quatre à huit semaines avant l'intervention chirurgicale, afin de réduire les complications anesthésiques, chirurgicales et post-opératoires [<sup>18, 22, 50, 51, 55, 80, 92, 105, 138, 143, 161, 166</sup>].

Pour une surrénalectomie bilatérale, un traitement pré-opératoire à base de kétoconazole devra être mis en place afin de diminuer les effets de l'hypercorticisme tels que les problèmes de cicatrisation, notamment [<sup>18, 53, 80, 138</sup>].

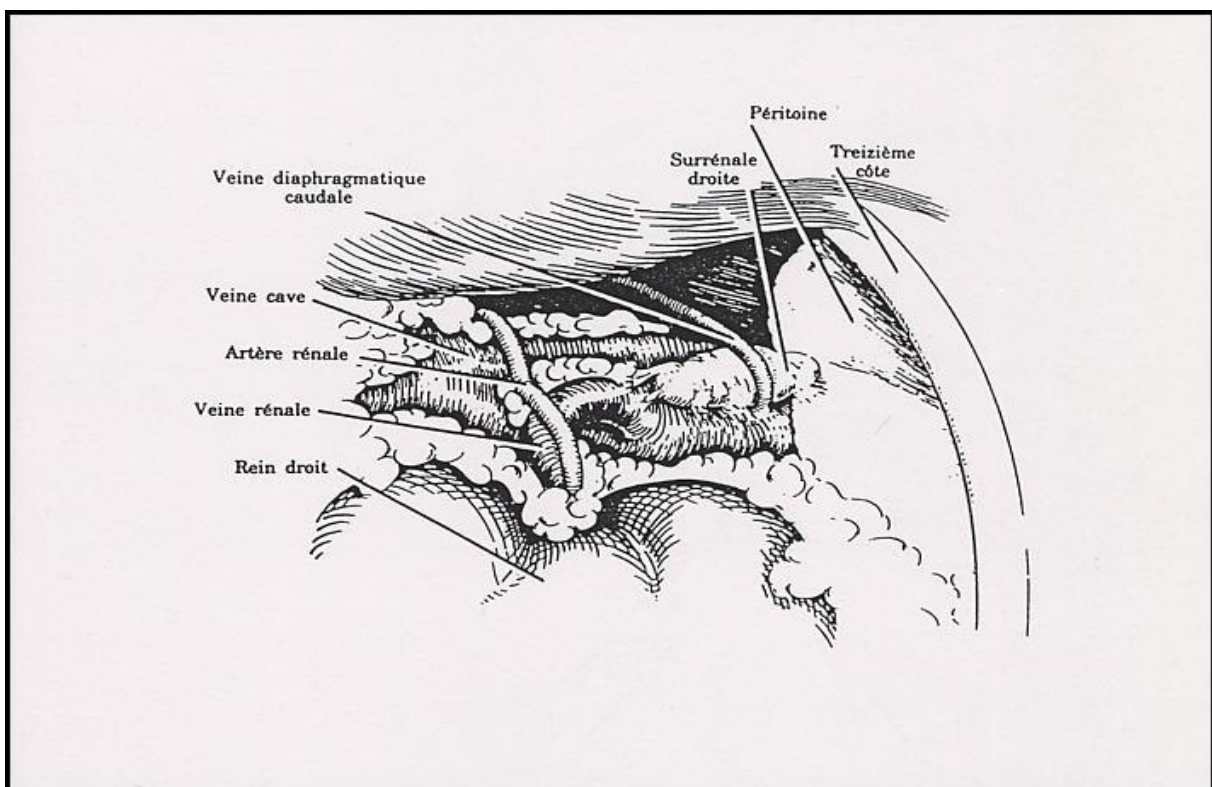
Pendant et après l'intervention, des soins intensifs devront être mis en place et un suivi des électrolytes sériques, de la glycémie et l'urée plasmatique devra être instauré pendant les deux à trois premiers jours [<sup>30, 50, 51, 68, 179</sup>]. En effet, de nombreuses complications peuvent survenir en post-opératoire, comme une thrombo-embolie pulmonaire, une pneumonie, une insuffisance rénale aigue, ou un arrêt cardiaque [<sup>41, 161</sup>].

### c- Résultats

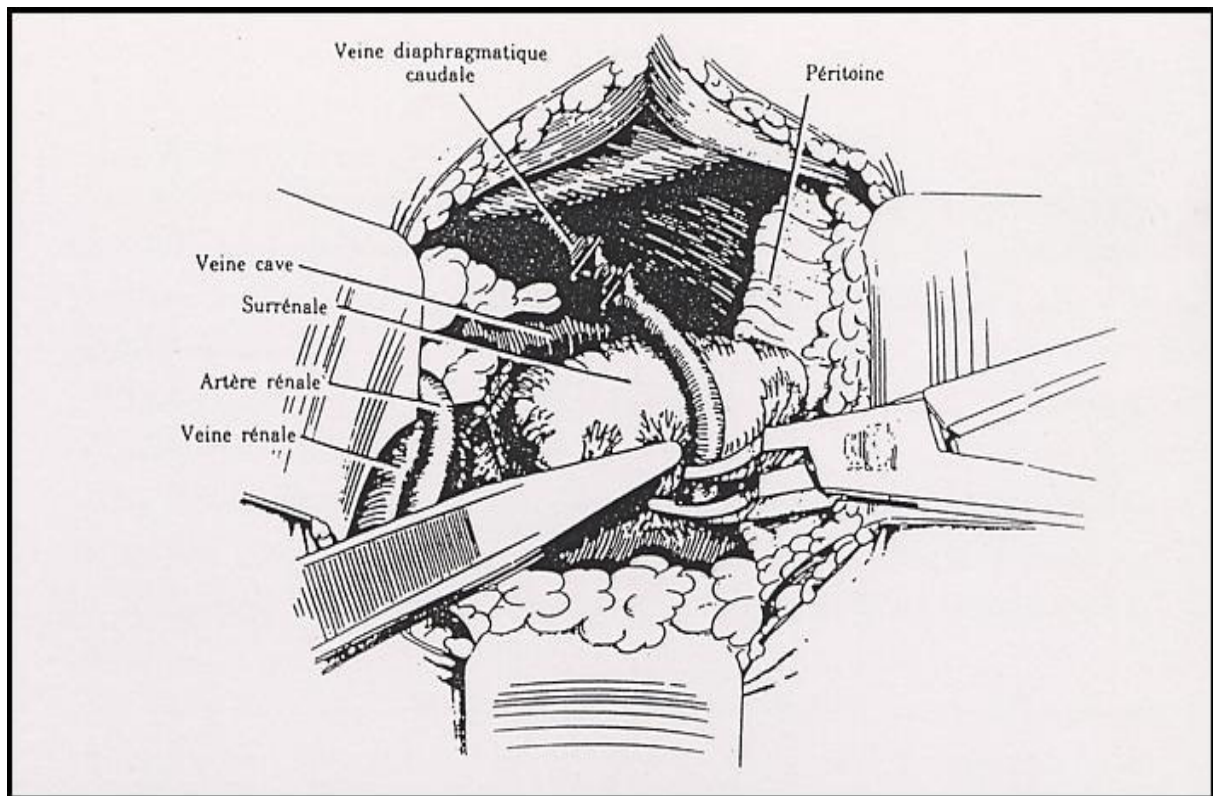
En cas de surrénalectomie bilatérale, un hypocorticisme apparaît rapidement et définitivement. Il sera donc nécessaire de traiter l'animal à vie avec des glucocorticoïdes et des minéralocorticoïdes. La sécrétion d'ACTH se rétablit au bout de trois à quatre semaines pour un adénome surrénalien, et après six à huit semaines pour un carcinome. L'espérance de vie après une surrénalectomie unilatérale serait de quatre ans environs [<sup>5</sup>].



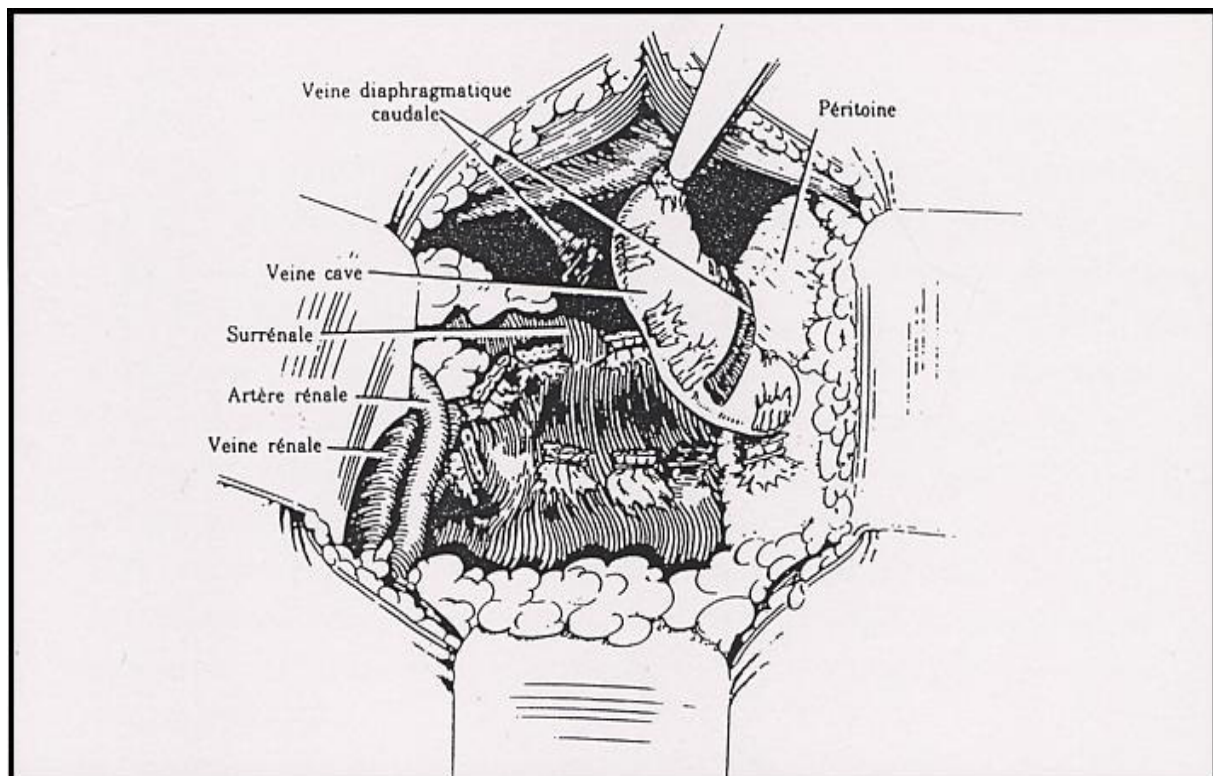
**Figure n° 34 :** Lieu d'incision cutané en vue de l'adrénalectomie (le lieu de pénétration dans l'espace rétropéritonéal est indiqué par le X) [89].



**Figure n° 35 :** Aspect de la surrénale droite pour l'opérateur (les écarteurs et une partie de la graisse ont été omis dans un but de clarté) [89].



**Figure n° 36 :** Application d'un clip sur un pédicule : on divise la veine diaphragmatique caudale entre deux clips (le champs disposé sous les écarteurs a été omis dans un but de clarté) [89].



**Figure n° 37 :** On détache la glande au niveau de son pôle antérieur en éliminant une petite portion du péritoine [89].

## **B- Radiothérapie**

La radiothérapie au cobalt est le meilleur traitement possible en cas de macrocarcinomes hypophysaires visibles via la tomодensitométrie [5, 23, 26, 33, 55, 73, 80, 99, 114, 120, 130, 143]. Il semblerait que ce traitement ne diminue pas la sécrétion d'ACTH. Il semble donc nécessaire d'administrer à l'animal de l'o,p'-DDD ou du kétoconazole durant les séances d'irradiation [5, 18, 26, 33, 138]. Le suivi est réalisé par tomодensitométrie.

MAULDIN G.N. et al. [114] préconise d'utiliser la radiothérapie :

- lors d'hypercorticisme secondaire récidivant même en l'absence de trouble neurologique
- en première intention lors d'hypercorticisme secondaire consécutif à un macroadénome hypophysaire, si seulement les troubles neurologiques sont avancés
- en première intention lors de macroadénomes, mais en l'absence d'hypercorticisme secondaire et de trouble neurologique
- la dose minimale pour traiter les macroadénomes doit être de 50 Gy

DE FORNEL P. [26] a observé que les tumeurs à croissance rapide répondent plus précocement que celles à croissance lente, le taux de mort cellulaire par irradiation étant corrélé au taux de mitoses. En effet, la radiothérapie induit des lésions de l'ADN par ionisation ou production de radicaux libres, conduisant à une mort cellulaire, en phase de multiplication essentiellement. Une sensibilité intrinsèque à l'irradiation, variable d'une tumeur à l'autre, peut également être envisagée. Par ailleurs, dans l'optique de diminuer les effets secondaires, l'auteur préconise de limiter la dose totale à 48 Gy ou de la fractionner par doses de 3 Gy au maximum.

Il n'existe donc pas de technique standardisée chez le chien ; elle doit donc être adaptée à chaque cas.

La radiothérapie permet alors une régression du syndrome de Cushing, de la tumeur et des symptômes neurologiques qui en résultent. Mais, des troubles neurologiques secondaires à la radiothérapie peuvent apparaître un, deux voire trois ans après l'irradiation. Certains auteurs rapportent des effets secondaires liés à ce traitement, tels qu'une surdité partielles ou totale (consécutives à l'irradiation des oreilles interne et moyenne) ou une aggravation des signes neurologiques (suite à l'apparition de lésions cérébrales doses-dépendantes telles qu'une démyélinisation ou un œdème cérébral) [26, 33, 55, 80, 114].

## **C- Traitement médical**

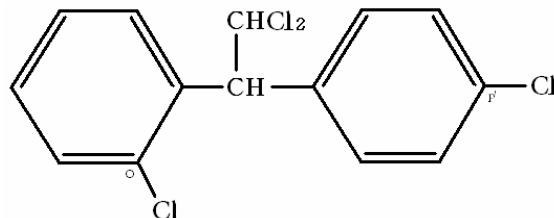
### **1- L'o,p'-DDD**

#### **a- Mécanisme d'action**

L'o,p'-DDD (ou 2,2-bis [2-chlorophényl-4-chlorophényl] -1,1-dichloroéthane) est apparenté au DDT (dichloro-diphényl-trichloroéthane). Il s'agit d'un puissant anticortisolique ; il agit sélectivement sur les zones fasciculée et réticulée du cortex surrénalien en provoquant leur lyse, leur nécrose et leur atrophie. Par contre, la zone glomérulée est plus résistante à l'action cytotoxique de l'o,p'-DDD. La sécrétion d'aldostérone n'est donc généralement pas affectée [22, 50, 51, 55, 68, 92, 106, 124, 132, 133, 143, 162, 163, 165, 184, 190]. Cette molécule constitue donc, le principal traitement médical de l'hypercorticisme hypophyso-dépendant. Néanmoins, il est également possible de traiter les hypercorticismes primaires. Mais en raison d'une résistance au traitement de la part des tumeurs surrénaliennes,

la posologie est nettement plus importante que celle du traitement de l'hypercorticisme secondaire [51, 56, 61, 80, 143, 150, 163].

Le traitement à base d'o,p'-DDD est à privilégier si l'animal est débilité, si des métastases sont observées sur la radiographie thoracique ou abdominale, ou si le propriétaire refuse toute intervention chirurgicale [56, 143].



**Figure n° 38 :** Formule développée de l'o,p'-DDD.

#### b- Conduite à tenir

##### ➤ Précautions

L'o,p'-DDD doit être administré pendant les repas. Le Mitotane<sup>R</sup> doit être mélangé avec de l'huile qui doit alors être versée sur les aliments de l'animal. En raison de sa liposolubilité, cela facilite son absorption [5, 20, 68, 73, 98, 184]. Il est contre-indiqué d'administrer de l'o,p'-DDD à un chien anorexique. Il faut également préciser que cette molécule possède des propriétés carcinogènes. L'administration doit donc être réalisée en gélules fermées et leur manipulation par les propriétaires doit être la plus courte possible [73, 75, 80]. Il faut aussi rappeler aux propriétaires les dangers liés à ce traitement ainsi que l'irréversibilité de la destruction totale du cortex surrénalien si le traitement d'induction est mal maîtrisé ou trop prolongé. Il est nécessaire de leur préciser les effets secondaires d'un tel traitement liés à son hépatotoxicité et sa neurotoxicité. Il est possible aussi d'observer des troubles gastro-intestinaux et des manifestations d'hypocorticisme. On peut enfin observer que l'administration d'o,p'-DDD ne stimule pas la croissance des tumeurs hypophysaires contrairement à son utilisation chez l'homme (syndrome de Nelson).

##### ➤ Traitement d'induction

Le traitement dure de 7 à 10 jours avec une posologie de 25 à 50 mg/kg/jour en deux prises, selon le poids de l'animal. La phase d'induction est arrêtée dès l'observation de la diminution de la consommation journalière d'eau ou de nourriture ou de la disparition de l'éosinopénie [22, 50, 55, 73, 92, 119, 132, 143, 162]. Un test de stimulation à l'ACTH doit alors être réalisé afin de confirmer cette amélioration. Les résultats de ce test doivent être de l'ordre de 100 à 150 nmol/l de cortisolémie en post-stimulation à l'ACTH [50, 55, 68, 73, 119, 143], mais beaucoup de praticiens se contentent de résultats comparables aux normes, c'est-à-dire inférieurs à 500 nmol/l. Si aucune évolution favorable n'est visible, la phase d'induction doit être prolongée pendant cinq à dix jours (15 % des chiens nécessitent cette prolongation). Dans certains cas extrêmes, cette phase peut durer jusqu'à trente voire soixante jours.

Une controverse existe quant à l'administration en parallèle de corticoïdes (prédnisone à 0,15-0,25 mg/kg/jour). Selon certains auteurs, cette supplémentation permettrait de limiter les risques d'hypocorticisme aigu. Mais pour d'autres, ce traitement masquerait le retour aux

normes des paramètres cliniques ainsi que la présence d'un hypocorticisme iatrogène. Il interférerait également avec le test de stimulation à l'ACTH, nécessitant alors une période d'arrêt de un à deux jours [22, 50, 51, 55, 68, 73, 98, 105, 106, 119, 121, 132, 143, 165, 190].

#### ➤ *Traitement d'entretien*

Lorsqu'un retour aux normes est noté après la phase d'induction, la phase d'entretien peut être réalisée. La posologie est alors de 25 à 50 mg/kg/semaine, en deux à trois prises lors des repas. Le traitement est réalisé à vie ou jusqu'à l'apparition d'une rechute (50 % des chiens durant la première année de traitement) ou de manifestations d'hypocorticisme (5 à 10 % des cas) telles que vomissements, anorexie, diarrhées, faiblesse et léthargie [22, 50, 55, 68, 73, 98, 105, 119, 132, 143]. Dans le premier cas, la phase d'induction est remise en place suivie d'une nouvelle phase d'entretien dont la posologie est augmentée de 50 %. Dans le second cas, le traitement est arrêté définitivement et l'administration de glucocorticoïdes et de minéralocorticoïdes est réalisée à vie, en raison de la destruction complète et irréversible du cortex surrénalien [29, 51, 98, 132].

Un suivi doit être réalisé un mois après la phase d'entretien puis tous les trois à six mois, par le biais du test de stimulation à l'ACTH [48, 50, 51, 55, 68, 98, 119, 121]. Cela permet d'adapter la posologie en fonction des résultats. Ainsi certains hypercorticismes secondaires sont stabilisés avec une administration de 50 mg/kg d'o,p'-DDD une fois toutes les deux semaines, alors que d'autres nécessitent une posologie de 100 à 250 mg/kg/semaine. Il faut noter que la rémission de l'alopecie intervient au bout de trois à six mois de traitement. Par contre, on ne note pas de rémission en cas d'ulcère cornéen ou de myopathie [22, 43, 55, 137, 143].

#### ➤ *Absence de réponse au traitement*

Il est possible d'observer une résistance apparente à l'o,p'-DDD, notamment pendant la phase d'induction. Cela peut provenir d'un diagnostic erroné car comme il a été mentionné plus haut, les tumeurs surrénaliennes sont résistantes au Mitotane<sup>R</sup> et de ce fait la posologie du traitement de l'hypercorticisme primaire est jusqu'à dix fois supérieure à celle du traitement de l'hypercorticisme hypophyso-dépendant [55, 75, 92]. L'origine de l'hypercorticisme peut être iatrogène et de ce fait, le traitement n'est pas du tout adapté. Cette résistance apparente peut résulter de l'emploi d'une posologie trop basse (les doses inférieures à 40 mg/kg/jours sont à proscrire) ou d'une phase d'induction trop courte (cette phase peut atteindre quatre à huit semaines pour les petites races). En outre, la prise concomitante de médicaments stimulant le métabolisme hépatique via le cytochrome P450, comme le Gardéal<sup>R</sup>, favorise également le métabolisme de l'o,p'-DDD et diminue donc son efficacité. Enfin cette résistance apparente peut aussi être consécutive à une faible absorption digestive ou une maladie intercurrente telle qu'une affection hépatique ou une insuffisance rénale [20, 50, 51, 55, 56, 68, 98, 119, 121, 162, 184].

#### ➤ *Protocoles*

Il existe différents protocoles pour la traitement par l'o,p'-DDD. Ils visent soit à stabiliser l'animal sans détruire la corticosurrénale, soit à rendre le chien hypocortisolique afin de le traiter à vie avec des glucocorticoïdes [80, 148].

### **Protocole de Feldman**

◆ **Objectif** : stabiliser l'animal sans détruire la corticosurrénale

◆ **Phase d'induction** :

- posologie : 50 mg/kg/jour
- prises : 2
- durée : jusqu'à amélioration de la polyuro-polydipsie, de la polyphagie ou de l'éosinopénie. La durée est généralement comprise entre 8 et 14 jours, mais chez certains chiens, la phase d'induction peut être continuée jusqu'à 20 jours voire 1 mois

Si le test de stimulation à l'ACTH est satisfaisant et si aucun effet secondaire n'a été observé, la phase d'entretien peut débuter.

◆ **Phase d'entretien** :

- posologie : 50 mg/kg/semaine
- prises : 2 à 3
- durée : à vie ou jusqu'à ce qu'il y ait rechute

On réalise un test de stimulation à l'ACTH tous les 3 à 6 mois. Si les résultats indiquent une cortisolémie trop élevée, il est possible d'augmenter la posologie jusqu'à 75 voire 100 mg/kg/semaine et d'administrer l'o,p'-DDD deux fois par semaines.

### **Protocole de White**

◆ **Objectif** : stabiliser l'animal sans détruire la corticosurrénale

◆ **Phase d'induction** :

- chiens de moins de 20 kg :
  - . posologie : 25 mg/kg/jour
  - . prises : 2
  - . durée : 7 jours
- chiens de plus de 20 kg :
  - . posologie : 15 mg/kg/jour
  - . prises : 2
  - . durée : 7 jours

Si le test de stimulation à l'ACTH est satisfaisant et si aucun accident n'a eu lieu, la phase d'entretien peut débuter.

◆ **Phase d'entretien** :

- chiens de moins de 20 kg :
  - . posologie : 25 mg/kg/semaine
  - . prises : 2
  - . durée : à vie ou jusqu'à ce qu'il y ait rechute, mais au minimum 3 semaines
- chiens de plus de 20 kg :
  - . posologie : 15 mg/kg/semaine
  - . prises : 2
  - . durée : à vie ou jusqu'à ce qu'il y ait rechute, mais au minimum 3 semaines

Un suivi thérapeutique est réalisé par le biais d'un test de stimulation à l'ACTH :

- si la cortisolémie est trop basse après stimulation à l'ACTH, la posologie est diminuée de 50 %
- si le cortisol est trop élevé après stimulation ou en cas de récurrence, la posologie est augmentée de 50 %

### **Protocole de Siliart**

◆ **Objectif** : stabiliser l'animal diabétique sans détruire la corticosurrénale

◆ **Phase d'induction** :

- posologie : 25 mg/kg/jour
- prises : 2
- durée : 4 semaines

Si aucun effet secondaire n'est noté et si les résultats du test de stimulation à l'ACTH sont normaux, la phase d'entretien peut débuter.

◆ **Phase d'entretien** :

- posologie : 50 mg/kg/jour
- prises : 1
- durée : à vie ou jusqu'à ce qu'il y ait rechute

On réalise un test de stimulation à l'ACTH après 2 mois de traitement puis tous les 6 à 8 mois.

### **Protocole de Rijnberk**

◆ **Objectif** : rendre le chien hypocortisolique, mais il existe deux protocoles selon l'étiologie de l'hypercorticisme

◆ **Réalisation** :

Pour un hypercorticisme primaire :

- phase d'induction :
  - . posologie : 50 à 75 mg/kg/jour
  - . prises : 2
  - . durée : 10 à 14 jours
- phase d'entretien :
  - . posologie : 50 à 75 mg/kg/semaine
  - . prises : 2 à 3
  - . durée : 3 mois minimum

Pour un hypercorticisme secondaire :

- posologie : 50 à 75 mg/kg/jour (jusqu'à 100 mg/kg/jour)
- prise : 3 à 4
- durée : 25 jours
- supplémentation dès le 3<sup>ème</sup> jour : cortisone à 2 mg/kg/jour BID, fludrocortisone à 0,0125 mg/kg/jour BID, chlorure de sodium à 0,1 mg/kg/jour BID
- suivi : test de stimulation à l'ACTH au 25<sup>ème</sup> jour puis tous les 3 à 6 mois, cortisone à 2 mg/kg/jour BID, fludrocortisone et chlorure de sodium selon la kaliémie et la natrémie

- récidives : recommencer la phase d'induction pendant 25 jours, puis la phase d'entretien à 50 mg/kg/semaine pendant 2 à 6 mois

Les avantages de ce protocole sont les suivants : la rémission du syndrome de Cushing est complète, l'administration précoce de glucocorticoïdes permet de prévenir les effets secondaires consécutifs à la brusque diminution de la cortisolémie (c'est-à-dire la maladie d'Addison) et le traitement du diabète sucré associé chez certains chiens est plus aisé [148, 179].

Par contre, ce traitement nécessite une administration de glucocorticoïdes et de minéralocorticoïdes (ou du moins des glucocorticoïdes possédant également une action minéralocorticoïde) à vie en prévention de l'hypocorticisme résultant de la destruction complète du cortex surrénalien : une crise addisonienne peut se développer à tout moment, entraînant notamment un coma [5, 68, 80, 143, 148].

### c- Effets secondaires et complications

Le principal effet secondaire notable est une intolérance gastro-intestinale, se manifestant par des nausées, des vomissements, de l'anorexie et de la diarrhée [5, 9, 22, 50, 55, 61, 68, 92, 98, 119, 121, 124, 132, 133, 162, 163, 179, 184]. Pour éviter son apparition, il est conseillé d'administrer le traitement lors de repas riches en huile végétale et en fractionnant la dose quotidienne. Il est également possible de diminuer la posologie quotidienne. Mais ces manifestations peuvent être également notées lors d'une crise addisonienne aiguë, qui est une urgence médicale. Il faut donc rapidement diagnostiquer l'origine de ces manifestations, par le biais notamment du dosage de la kaliémie qui est un bon indicateur du déficit en minéralocorticoïdes [5, 29, 30, 50, 68, 92, 98, 119, 121, 132, 143, 162].

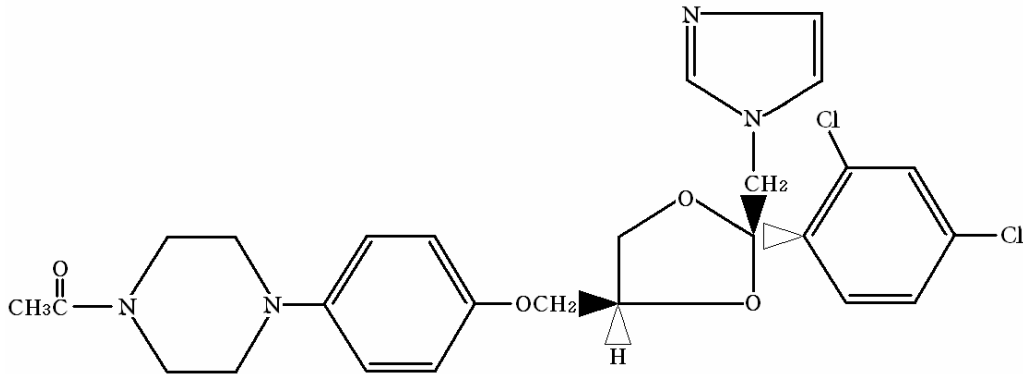
Il faut également noter que l'o,p'-DDD possède une hépatotoxicité ; il provoque une dégénérescence modérée et réversible des hépatocytes et une congestion centrolobulaire. Il est donc conseillé de suivre les paramètres hépatiques, dont notamment les transaminases hépatiques. Enfin, il est possible d'observer des signes de neurotoxicité tels qu'une confusion, une ataxie, une apathie, une cécité et une hypertension intracrânienne. Ces manifestations disparaissent entre 12 et 24 heures après la dernière administration d'o,p'-DDD. Il faut être vigilant du fait que ces signes sont comparables à ceux provoqués par un macroadénome hypophysaire [68, 119, 120, 121, 124, 143, 148, 162, 163, 184].

## 2- Les inhibiteurs de la synthèse des stéroïdes surrénaliens

### a- Le Kétoconazole

#### ➤ *Pharmacologie*

Le kétoconazole est un dérivé imidazolé qui possède une activité antifongique à large spectre. A faible dose, il inhibe la méthylation en C14 du lanostérol en ergostérol. Il interfère ainsi dans la formation des membranes cellulaires, entre autres [53, 139].



**Figure n° 39 :** Formule développée du kétoconazole.

➤ *Mécanisme d'action*

A haute dose, le kétoconazole inhibe la stéroïdogénèse gonadique et surrénalienne par le biais de l'inhibition de trois enzymes au niveau du cytochrome P<sub>450</sub> : la cholestérol-desmolase, la 17-hydroxylase et la 17,20-lyase. Il se fixe également au niveau des récepteurs des glucocorticoïdes, ce qui leur confère une activité antagoniste des glucocorticoïdes [5, 18, 50, 51, 53, 55, 61, 75, 80, 139, 143].

➤ *Conduite à tenir*

L'administration se fait par voie orale. La posologie est de l'ordre de 15 mg/kg par jour. Le traitement doit toujours être administré lors d'un repas riche en lipide et sous forme fractionnée afin de minimiser les effets secondaires. Il faut noter que le traitement est réalisé à vie [53, 80, 139].

Mais différents protocoles existent [139] :

**Protocole de Feldman**

- ◆ phase n° 1 :
  - posologie : 10 mg/kg/jour
  - prises : 2
  - durée : 7 jours
- ◆ phase n° 2 :
  - posologie : 20 mg /kg/jour
  - prises : 2
  - durée : 7 jours
  - suivi : test de stimulation à l'ACTH au 14<sup>ème</sup> jour puis tous les 3 à 4 mois
- ◆ phase n° 3 :
  - posologie n° 3 : si les résultats du test de stimulation à l'ACTH sont satisfaisants, la dose est de 20 mg/kg/jour, sinon la dose est augmentée à 30 mg/kg/jour
  - prises : 2
  - durée : à vie ou jusqu'à ce qu'il y ait rechute

### Protocole de Heripret

- ◆ phase n°1 :
  - posologie : 10 mg/kg/jour
  - prises : 2
  - durée : 7 jours
- ◆ phase n° 2 :
  - posologie : 20 mg/kg/jour
  - prises : 2
  - durée : 7 jours
- ◆ phase n° 3 :
  - posologie : 30 mg/kg/jour
  - prises : 2
  - durée : à vie ou jusqu'à apparition d'effets secondaires

### Protocole de l'E.N.V.N.

- posologie : 30 mg/kg/jour
- prises : 2
- durée : 6 semaines renouvelables
- suivi de la toxicité hépatique : dosage des ALAT, avant le traitement et toutes les 2 semaines
- suivi de l'efficacité thérapeutique : test de stimulation à l'ACTH

#### ➤ *Toxicité et effets secondaires*

Une hépatotoxicité et une intolérance digestive caractérisées par des vomissements, des diarrhées, de l'ictère et de l'anorexie peuvent être observés lors de l'administration du kétoconazole. Dès leur observation, le traitement doit être immédiatement arrêté. Dans de rares cas, le traitement a conduit à la mort par nécrose hépatique, suite à une négligence du suivi du patient. Cependant ces effets secondaires sont rares [5, 18, 50, 51, 53, 61, 68, 73, 75, 80, 138, 139].

Le surdosage de kétoconazole peut entraîner rarement un hypocortisolisme, qui rétrocède après arrêt du traitement [50, 53, 139].

#### ➤ *Avantages et inconvénients*

Les effets du kétoconazole sur le métabolisme des glucocorticoïdes sont réversibles, contrairement à d'autres traitements chirurgicaux et médicaux [18].

Selon HERIPRET D. [80], ce traitement ne doit être envisagé que dans quatre situations :

- avant une adrénalectomie, dans l'optique de stabiliser le patient et de diminuer les effets secondaires de l'hypercorticisme sur la cicatrisation
- pour les chiens souffrant d'hypercorticisme primaire et qui sont débilités, chez qui la chirurgie est une contre-indication
- pour les chiens de très petite taille chez qui la chirurgie est fastidieuse et le coût du traitement au kétoconazole est relativement abordable
- en tant que traitement alternatif chez les chiens présentant de nombreuses récurrences lors du traitement par l'o,p'-DDD

Pour d'autres auteurs [53], le kétoconazole est indiqué à la fois pour traiter l'hypercorticisme secondaire que pour traiter l'hypercorticisme primaire.

Par contre, ce traitement n'est que symptomatique ; la cause de l'hypercorticisme persiste et en cas de macroadénome, malgré l'amélioration clinique, le pronostic est généralement sombre, du fait des risques d'apparition de signes neurologiques. Les effets thérapeutiques du kétoconazole sont strictement sous la dépendance de l'administration du médicament, comme le démontrent les rechutes lors d'espacement de son administration. Ceci confirme que l'effet du kétoconazole n'est que suspensif ; comme tout inhibiteur enzymatique, il n'a pas d'effet persistant après son arrêt [18, 53, 139]. Egalement, ce traitement est très onéreux à long terme. Enfin, il semblerait que le kétoconazole soit moins efficace que l'o,p'-DDD ; un tiers des chiens ne répondent pas à ce traitement [55, 68, 73, 138].

#### b- L'Etomidate

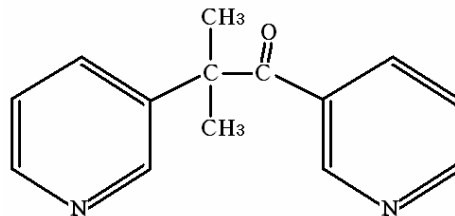
Cette molécule est un dérivé imidazolé comme le kétoconazole. Cet agent préanesthésique inhibe la stéroïdogénèse surrénalienne par le même mécanisme ; il agit au niveau des systèmes enzymatiques à cytochromes P<sub>450</sub>. Son efficacité semble être dix fois plus importante que celle du kétoconazole. Mais sa durée d'action est brève et son administration est exclusivement parentérale [55].

Cette molécule n'est pas utilisée en médecine vétérinaire [55].

#### c- La Métyrapone

La Métyrapone est un inhibiteur de la synthèse des stéroïdes surrénaliens [50, 55, 75].

Cette molécule est utilisée en médecine humaine, pour d'explorer l'intégrité de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien. Elle est également employée dans le traitement pré-opératoire et en complément d'autres traitements du syndrome de Cushing [75]. Très peu de données sont disponibles en médecine vétérinaire car cette molécule n'est pas utilisée pour traiter ce syndrome [5, 50].

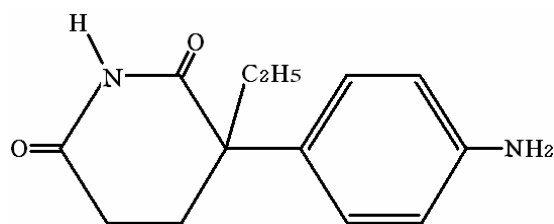


**Figure n° 40** : Formule développée de la Métyrapone.

#### d- L'Aminoglutéthimide

L'aminoglutéthimide est un inhibiteur de la stéroïdogénèse surrénalienne [50, 55, 75, 165]. La posologie employée est de 5 mg/kg/jour.

Son principal avantage est son coût : le traitement est peu onéreux. Cependant, très peu de données sont disponibles [50]. Mais il semblerait qu'elle soit intéressante en cas de multiples récurrences ou d'intolérance au traitement par l'o,p'-DDD.



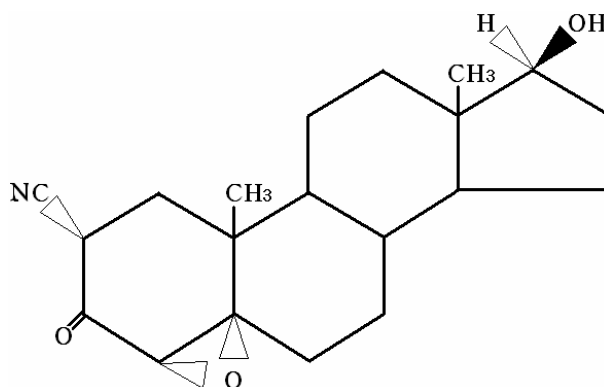
**Figure n° 41 :** Formule développée de l'aminoglutéthimide.

#### e- Le Trilostane

Le trilostane est un inhibiteur compétitif de la 3 $\beta$ -hydroxystéroïde deshydrogénase, qui intervient dans la stéroïdogénèse surrénalienne [50, 51, 55, 75].

Cette molécule peut être utilisée pour traiter l'hypercorticisme à la dose de 3,5 à 6 mg/kg/jour, en une seule prise.

Le trilostane présenterait à la fois les avantages du kétoconazole et de l'o,p'-DDD sans les effets secondaires. De plus, il permettrait de réguler la cortisolémie en présence d'un hypercorticisme primaire. Tout indique donc, que cette molécule est une nouvelle alternative thérapeutique [51].



**Figure n° 42 :** Formule développée du trilostane.

### 3- Les inhibiteurs de la sécrétion hypophysaire d'ACTH

#### a- Le L-Deprényl

Le L-Deprényl ou sélégiline est un inhibiteur sélectif de la mono-amine-oxydase de type B (Figure n° 43, page 98). Il en résulte une augmentation de la concentration de dopamine et donc une augmentation de l'inhibition dopaminergique de la production d'ACTH par la *pars intermedia*. Par conséquent, la sécrétion d'ACTH diminue au niveau de la *pars intermedia* et dans une moindre mesure au niveau de la *pars distalis* par le biais de l'inhibition de la sécrétion de la CRF. Cette molécule semblerait donc efficace pour traiter les tumeurs de la *pars intermedia* qui représentent 20 % des tumeurs hypophysaires [5, 13, 51, 55, 64, 68, 72, 73, 126, 128, 142].

Le protocole est le suivant : 1 à 2 mg/kg/jour en une seule prise le matin, à vie [13, 73, 126]. Si aucune amélioration n'est visible au bout de deux mois, la posologie peut être augmentée à 2 mg/kg/jour en une prise le matin. Si enfin, au bout de deux mois, on ne note aucune amélioration, un traitement par l'o,p'-DDD doit être envisagé. Le suivi est réalisé tous les 2 à 6 mois par un freinage faible à la dexaméthasone.

Selon certains auteurs [73], ce traitement peut être mis en place en première intention lorsque le diagnostic de certitude n'est pas encore posé, que les symptômes sont modérés et permettent d'attendre quatre mois pour contrôler l'efficacité du traitement, ou que les propriétaires ne souhaitent pas de traitement à base d'o,p'-DDD. En effet, l'innocuité de ce traitement est totale, son efficacité est notable dans 20 % des cas d'hypercorticisme secondaire et ses effets bénéfiques sur le comportement du chien sont remarquables [68, 73]. Pour d'autres auteurs [13, 142], la sélégiline serait uniquement indiquée lors d'hypercorticisme secondaire et en aucun cas lors de tumeurs surrenaliennes.

Malheureusement, ce traitement est très onéreux [5, 13].

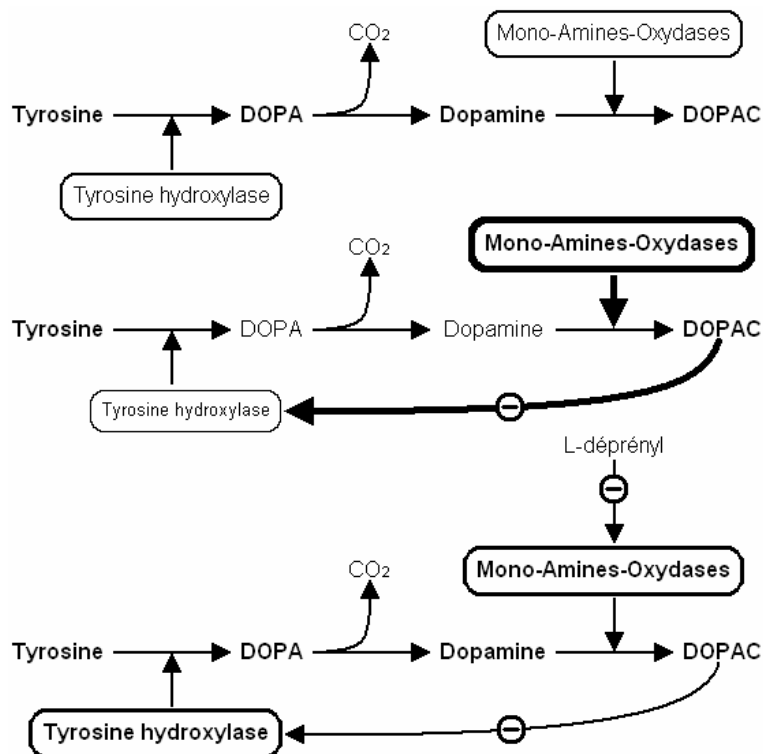


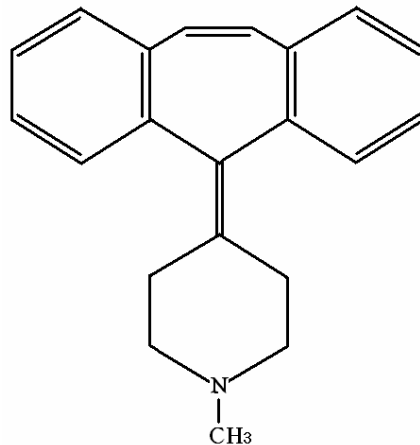
Figure n° 43 : Métabolisme de la dopamine et influence des M.A.O. et du déprényl [64].

#### b- La Cyproheptadine

La cyproheptadine possède une activité antisérotoninergique. Elle inhibe alors directement la sécrétion de CRF et de ce fait la sécrétion hypophysaire d'ACTH [50, 55, 75, 105, 143, 147, 165].

Elle peut être administrée à la dose de 0,3 à 3 mg/kg/jour pour traiter le syndrome de Cushing [50]. Mais son efficacité est discutée car tout comme le L-Deprényl, elle n'agit que sur les tumeurs de la *pars intermedia* qui ne représentent que 20 % des tumeurs hypophysaires.

Par ailleurs, elle présente de nombreux effets secondaires, par le biais de ses activités antihistaminique et anticholinergique. Cette molécule n'est donc pas ou très peu utilisée [5, 50, 55, 75].



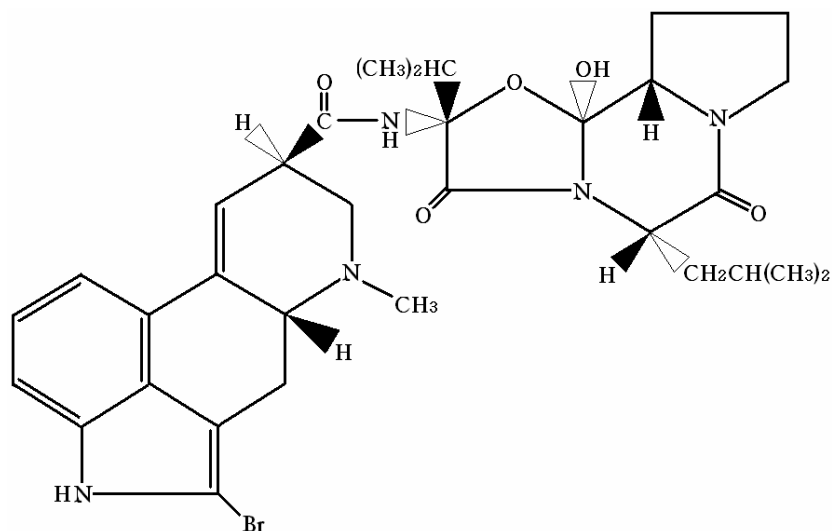
**Figure n° 44 :** Formule développée de la cyproheptadine.

### c- La Bromocriptine

La bromocriptine est un agoniste de la dopamine qui est précurseur de la norépinéphrine, qui inhibe la production de CRF. Elle inhibe donc indirectement la sécrétion hypophysaire d'ACTH [50, 55, 75, 105, 143, 147].

Elle peut être employée dans le traitement de l'hypercorticisme à la posologie de 0,1 mg/kg/jour mais les résultats sont décevants et inconstants [50, 55].

De plus, elle provoque de nombreux effets secondaires, dont des vomissements incoercibles, ce qui limite donc son utilisation [50, 75].



**Figure n° 45 :** Formule développée de la bromocriptine.

### 4- Un inhibiteur compétitif des récepteurs aux glucocorticoïdes : la Mifépristone (RU 486)

Le RU 486 ou Mifépristone est un 19-norstéroïde qui possède une activité antirécepteur de la progestérone. Mais il possède également une activité antirécepteur des glucocorticoïdes. Il inhibe de manière compétitive la fixation du cortisol sur ses récepteurs spécifiques. Il en résulte une inhibition du rétrocontrôle négatif des glucocorticoïdes sur la sécrétion

hypophysaire de l'ACTH ainsi que l'inhibition de leur action sur l'organisme. Cette molécule constitue le meilleur traitement de l'hypercorticisme chez l'homme. Cependant, elle n'est pas utilisée en médecine vétérinaire, mais pourrait le devenir dans l'avenir [<sup>51, 55</sup>].

**DEUXIEME PARTIE :**  
**ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DES PHOSPHATASES**  
**ALCALINES**



## I- GENERALITES

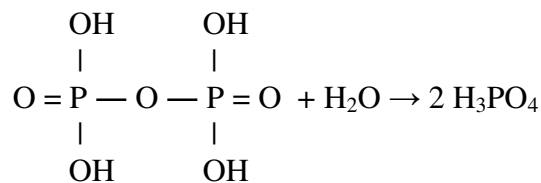
### A- Définitions

Les phosphatases sont des enzymes qui permettent l'hydrolyse de substrat phosphoré naturel, organique ou minéral et libérant ainsi une molécule d'acide orthophosphorique.

### B- Classification

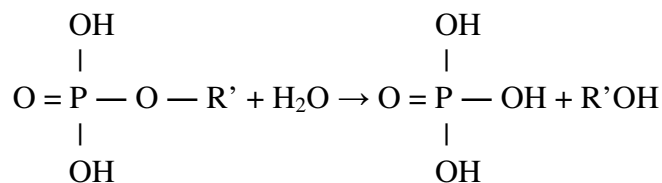
On peut regrouper les phosphatases en deux groupes principaux, selon la classification de ROCHE et al. [151] :

- Les phosphatases qui rompent la liaison anhydride entre deux groupements phosphoriques, qui regroupent :
  - Les pyrophosphatases qui libèrent deux molécules d'acide orthophosphorique à partir de l'acide pyrophosphorique.

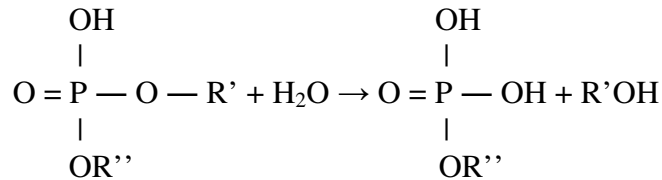


- Les métaphosphatases qui hydrolysent les polymétaphosphates.  
 $(\text{HPO}_3)_n + \text{H}_2\text{O} \rightarrow n \text{H}_3\text{PO}_4$
- Les polyphosphatases spécifiques qui hydrolysent un seul type de liaison dans une structure phosphorique.  
Ex. :  $\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{ADP} + \text{P}$

- Les phosphatases qui rompent la liaison entre l'acide orthophosphorique et un reste organique, ce qui comprend :
  - Les phosphomonoestérases qui hydrolysent les monoesters de l'acide phosphorique et d'un alcool ou d'un phénol.



- Les phosphodiesterases qui hydrolysent des molécules telles que les acides nucléiques et des substances synthétiques comme le diphénylorthophosphate, au niveau de la liaison ester ; il n'y a pas à proprement parler de libération de molécules d'acide phosphorique.



- Les phosphoamidases qui libèrent l'acide phosphorique de sa liaison avec un atome d'azote.  
Ex. : Phosphagène → Créatinine + H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>
- Les acylphosphatases qui libèrent l'acide phosphorique de sa liaison avec un acide organique.

On peut distinguer 4 types de phosphomonoestérases, suivant le pH d'activité [14] :

- Les phosphomonoestérases de type I dont le pH d'activité se situe entre 8,6 et 9,4 et qui correspondent aux phosphatases alcalines.
- Les phosphomonoestérases de type II dont le pH d'activité se situe entre 5 et 5,6 qui correspondent aux phosphatases acides.
- Les phosphomonoestérases de type III dont le pH d'activité se situe entre 3,8 et 4,2.
- Les phosphomonoestérases de type IV dont le pH d'activité se situe entre 4 et 6.

Les phosphatases alcalines et acides sont de phosphomonoestérases dites à spécificité large, ce qui les différencie des phosphatases à spécificité étroite comme la glucose-6-phosphodéshydrogénase, par exemple.

## **II- CARACTERISTIQUES DES PHOSPHATASES ALCALINES**

### **A- Structure des phosphatases alcalines**

#### **1- Structure primaire**

Les phosphatases alcalines sont des métalloenzymes à zinc de nature glycoprotéique, renfermant de l'acide sialique notamment en position terminale [1, 101, 156, 164], de la glucosamine, de la galactosamine, du fucose, du mannose, du glucose et du galactose. Cependant, la composition en ose semble différer selon l'origine des PAL.

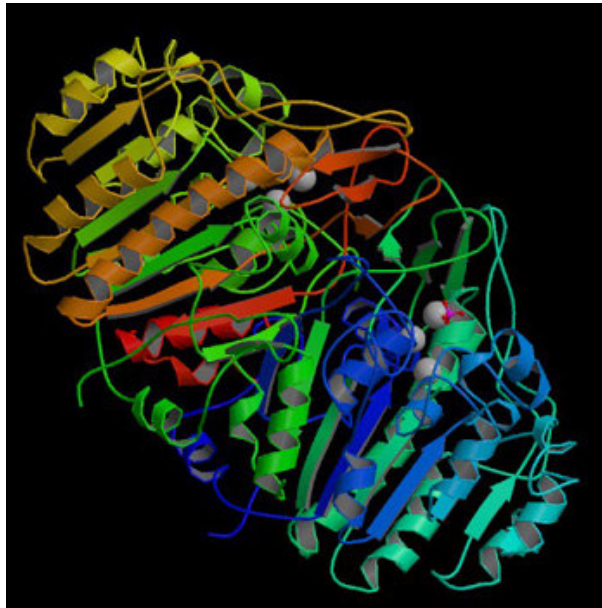
La séquence du centre actif de plusieurs phosphatases alcalines ayant pu être déterminée, il semble probable que toutes les PAL comme de nombreuses autres hydrolases (telles que la trypsine et la chymotrypsine) comportent de la sérine à ce niveau [14, 16].

Enfin, le fonctionnement du site actif et sa composition en acides aminés ont été particulièrement étudié par FISHMAN et GOSH [16, 59] qui ont noté que :

- la fixation du substrat serait sous la dépendance d'une fonction ε aminée d'une lysine.
- une fonction thiol et un ion métallique bivalent interviennent dans le mécanisme catalytique, le zinc étant de loin le plus nécessaire à la réaction.

## 2- Structure secondaire

La Figure n° 46 représente un modèle moléculaire de la phosphatase alcaline.



**Figure n° 46 :** Modèle moléculaire de la phosphatase alcaline.

Les spirales représentées sur la Figure n° 46 sont des hélices  $\alpha$ . Il s'agit d'hélices dextres dont chaque tours est constitué de quatre acides aminés dont les radicaux sont tous situés à l'extérieur de l'hélice et donc facilement accessibles pour des réactions éventuelles. Il est à noter que pour ce motif, les liaisons hydrogène intracaténares s'établissent entre les liaisons peptidiques qui suivent les atomes de carbone tétravalent de rang  $n$  et  $n+3$ .

Les flèches planes représentées sur la Figure n° 46 sont des feuillets plissés  $\beta$ . Ces structures sont constituées de deux ou plusieurs segments de la même chaîne peptidique disposés parallèlement côte à côte et stabilisés par des liaisons hydrogène intracaténares. La configuration spatiale plane des liaisons peptidiques successives forme une figure en feuillet régulièrement plissé dont les plis sont provoqués par les rotations possible au niveau des atomes de carbone tétravalent. Les radicaux des différents acides aminés qui constituent ces feuillets se situent tous de part et d'autre de ces feuillets, ce qui les rend également facilement accessible pour d'éventuelles réactions.

## 3- Structure tertiaire

La structure tertiaire est issue du repli spontané de la totalité de la chaîne peptidique sur elle-même à la suite d'interactions entre certains acides aminés. Ces interactions sont des liaisons faibles intracaténares telles que les liaisons hydrogène (entre un atome électronégatif et un atome d'hydrogène), les liaisons électrostatiques (entre radicaux ionisés de charge opposée), les liaisons hydrophobes (entre les radicaux apolaires) et les liaisons de Van der Waals (entre deux atomes proches). La structure peut être également stabilisée par des liaisons de plus grande énergie telles que des ponts disulfure.

L'importance de cette structure réside dans le fait qu'elle délimite les différents sites actifs de l'enzyme.

#### 4- Structure quaternaire

Les phosphatases alcalines ne sont pas constituées d'une seule chaîne peptidique. En réalité, les PAL sont des dimères constitués de l'association de deux sous-unités identiques, appelées protomères, unis par des liaisons faibles intercaténares et par des ponts disulfure intercaténares. Ses sous-unités auraient une masse molaire de 58 000 D à 84 000 D. De ce fait, les masses molaires des différentes PAL sont comprises entre 140 000 D et 200 000 D [1]. Certains auteurs auraient isolé une forme tétramérique [16].

On peut rappeler que le zinc contenu dans la molécule possède un rôle capital puisqu'il rend le catalyseur actif. En effet, le protomère synthétisé par les ribosomes cytoplasmiques diffuse dans le périplasme entre la membrane cellulaire et la paroi. Puis deux protomères s'associent pour donner un dimère inactif qui en fixant le zinc se transforme en enzyme actif. Chaque dimère contient quatre atomes de zinc. Deux atomes fortement liés à l'enzyme sont nécessaires à la stabilité du dimère, alors que les deux autres plus faiblement liés jouent un rôle important dans la catalyse [180].

### **B- Répartition des phosphatases alcalines**

#### 1- Distribution tissulaire

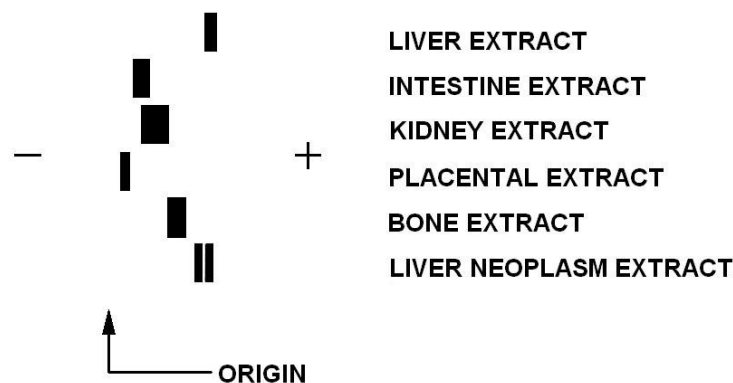
Les phosphatases alcalines sont présentes pratiquement dans tous les tissus de l'organisme mais leur distribution n'est pas homogène [17, 35, 60, 81, 82, 91, 93, 97, 101, 107, 116, 141, 154, 170, 177, 188, 192].

On trouve principalement des PAL dans (Figures n° 47 et 48, pages 106 et 107) :

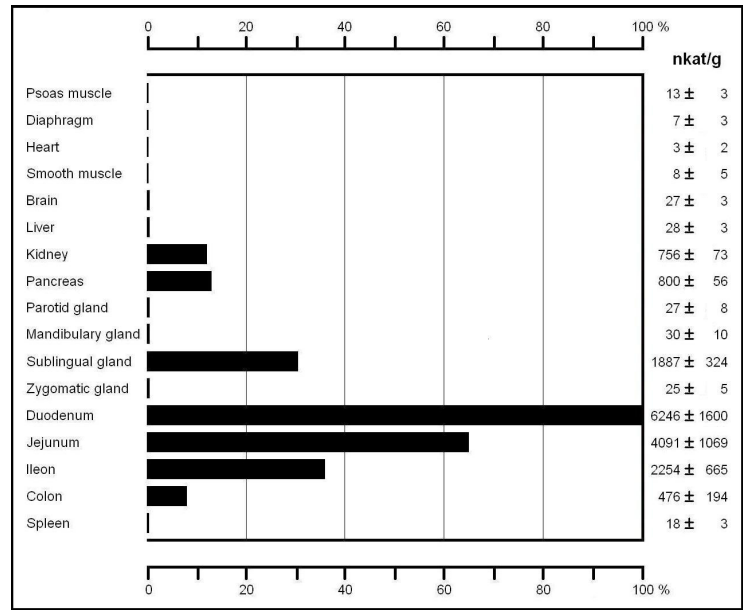
- le foie, dans les cellules des canalicules hépatiques,
- les os, dans les ostéoblastes et les chondrocytes,
- les intestins, dans les cellules de la bordure en brosse de l'épithélium intestinal, plus précisément au niveau du duodénum (puis en quantité moindre dans le jéjunum, l'iléon et le colon),
- les reins, dans les cellules de la bordure en brosse des tubules rénaux,
- le placenta, dans le syncytio du trophoblaste placentaire,
- les éléments figurés du sang, en particulier les leucocytes.

On en trouve en moindre quantité dans le pancréas, les glandes sublinguales, les leucocytes [87, 192] et le liquide séminal [101].

Les phosphatases alcalines sont surtout localisées au niveau de cellules sécrétrices ou capables de réaliser une endocytose [101].



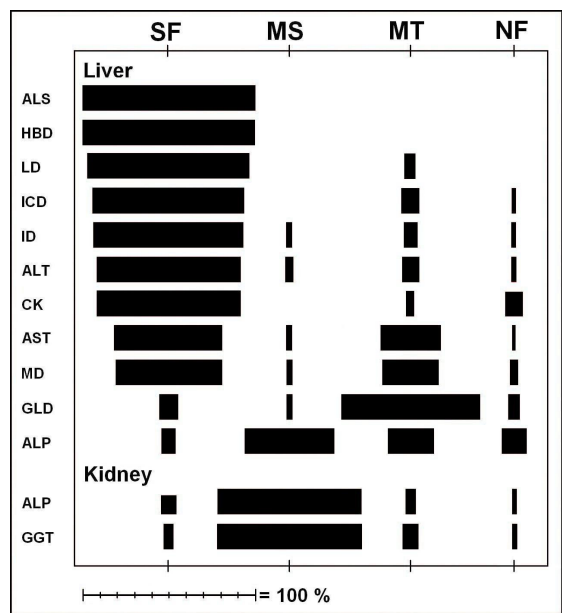
**Figure n° 47:** Electrogramme des PAL extraites du foie, des intestins, des reins, du placenta, des os et de tumeur hépatique [82].



**Figure n° 48 :** Distribution tissulaires des PAL dans l'espèce canine [93].

## 2- Localisation au niveau des cellules

Les PAL ont une localisation intracellulaire. Plus précisément, au niveau cellulaire, les phosphatases alcalines sont localisées dans la membrane cytoplasmique, les microsomes et les mitochondries [1, 2, 16, 81, 91, 93, 101, 173, 192], comme le montre la Figure n° 49. Cette distribution intracellulaire est due au fait qu'elles sont fortement liées aux différentes membranes des cellules telles que la membrane cytoplasmique et les membranes des divers organites cellulaires (appareil de Golgi, lysosome, mitochondrie), grâce à l'action de phosphatidylinositoglycane [101].



**Figure n° 49 :** Localisation intracellulaire des PAL dans l'espèce canine (SF = fraction soluble, MS = fraction microsomale, MT = fraction mitochondriale, NF = fraction nucléaire et débris cellulaire) [93].

## **C- Rôles des phosphatases alcalines**

Les PAL peuvent hydrolyser, transphosphoryler et quelquefois, elles sont douées d'activités pyrophosphatasiques.

Cependant, le rôle des phosphatases alcalines, même s'il semble évident, n'en demeure pas moins assez obscur. Elles interviennent essentiellement dans l'hydrolyse des esters phosphorylés plutôt que dans leur élaboration.

Les PAL sont en relation avec les métabolismes des glucides, des phospholipides et des nucléotides [16, 156]. Par ailleurs, leur localisation cellulaire leur assigne une certaine activité dans le transfert des esters phosphoriques à travers les membranes. Ainsi elles permettent le passage transmembranaire de la phosphoryl-choline en l'hydrolysant en choline qui seule est capable de passer la membrane cellulaire [2, 192].

### **1- Importance des phosphatases alcalines osseuses**

Les PAL d'origine osseuse jouent un rôle dans le processus d'ossification et présentent une activité phosphatasique au niveau des ostéoblastes [16, 44].

### **2- Rôle des phosphatases alcalines au niveau des intestins**

Les phosphatases alcalines intestinales joueraient un rôle dans l'absorption des lipides, du calcium ionisé et de l'eau, c'est-à-dire, leur transport à travers la membrane des entérocytes [16, 158].

Certains auteurs ont mis en évidence leur rôle comme intermédiaire entre la vitamine A et ses effecteurs [16].

### **3- Fonctions des phosphatases alcalines dans le foie**

Selon YOUNG J.J. [192], l'un des rôles de la phosphatase alcaline d'origine hépatique serait de permettre l'excrétion de la choline dans la bile par hydrolyse de la phosphorylcholine. Car toujours selon le même auteur, il semblerait que la choline soit éliminée par excrétion biliaire.

D'après SANECKI R.K. et al. [158], les phosphatases alcalines cortico-induites étant identiques aux phosphatases alcalines d'origine intestinale (voir III-C-1- Le nombre de gènes codant pour les différentes isoenzymes), elles devraient assurer les mêmes fonctions au niveau du foie, autrement dit, le transport membranaire des lipides, du calcium et de l'eau. En effet, ils ont noté que la vitamine D possède des similarités structurales avec les glucocorticoïdes. Or cette vitamine provoque une augmentation des PAL intestinales, alors que les glucocorticoïdes provoquent celle des PAL cortico-induites (voir IV-B-5-b- Les glucocorticoïdes). Ils ont donc émis l'hypothèse que l'élévation du taux basal de corticoïdes provoquerait la production de PAL cortico-induites qui permettraient alors le transport membranaire de calcium ou assureraient les autres fonctions des PAL intestinales.

## **D- Circulation et transport des PAL**

### **1- Les phosphatases alcalines plasmatiques**

#### **a- Isolement et identification**

Le plasma permet le transport des phosphatases alcalines qu'il est possible de différencier via deux techniques :

- la chromatographie
- l'électrophorèse

#### ➤ *La chromatographie*

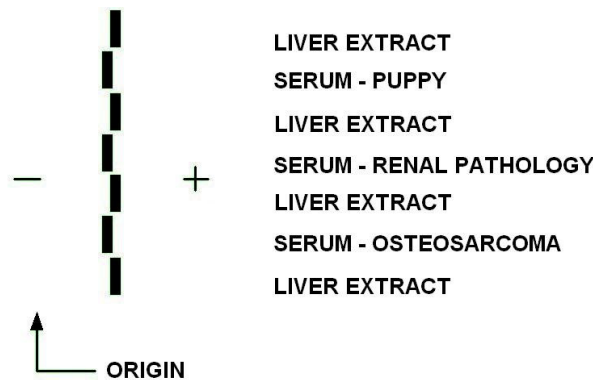
Par chromatographie sur colonne de résine, SAINI et al [155] ont mis en évidence deux pics avec une reproductibilité significative. Par la suite, il a été démontré que ces deux pics correspondaient aux phosphatases alcalines d'origine hépatique et osseuse.

#### ➤ *L'électrophorèse*

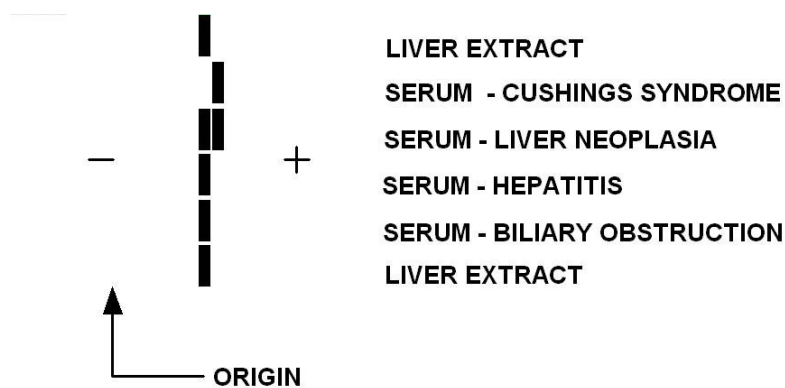
Par colorimétrie et par fluorescence, de nombreux auteurs [1, 17, 33, 81, 82, 83, 86, 91, 101, 107, 172, 188] ont mis en évidence trois zones de migration qui correspondent à :

- une PAL d'origine hépatique qui augmente lors d'hépatite, lors d'obstruction biliaire ou lors d'affection néoplasique primitive ou métastatique du foie (Figure n° 50 et 51, pages 109 et 110).
- une PAL d'origine osseuse dont les caractéristiques diffèrent légèrement de l'isoenzyme extraite de l'os, mais cela serait imputable à la technique d'extraction qui modifierait la molécule (Figure n° 50).
- une PAL induite par les glucocorticoïdes, produite au niveau des canalicules biliaires [107, 158], présente dans le sérum d'animaux atteints du syndrome de Cushing et dont la migration anodale est la plus importante (Figure n° 51, page 110).

HOFFMANN W.E. et al. [81, 82] ont noté une quatrième zone de migration correspondant à une PAL d'origine inconnue dont la migration anodale lors de l'électrophorèse serait plus importante que les autres, et qui serait présente dans le sérum notamment lors de lymphosarcome (Figure n° 51, page 110).



**Figure n° 50** : Electrogramme des PAL sériques provenant de chiots et d'animaux atteints d'ostéosarcome et de pathologie rénale, avec pour marqueurs la PAL hépatique [82].



**Figure n° 51 :** Electrogramme des PAL sériques provenant d'animaux atteints d'hépatite, de syndrome de Cushing, de tumeur hépatique et d'obstruction biliaire, avec pour marqueurs la PAL hépatique [82].

AMACHER et al. [1] auraient observé la présence de cinq phosphatases alcalines dans le sérum de chien :

- une PAL d'origine hépatique
- une PAL d'origine osseuse
- une PAL cortico-induite
- une PAL de type hépatique modifié
- une PAL de type intestinal modifié

Mais ils n'ont pas pu définir l'origine des deux dernières.

#### b- Demi-vie des phosphatases alcalines plasmatiques

Selon HOFFAMNN W.E. et al. [81, 83], l'élimination des PAL injectées par voie intraveineuse est exponentielle mais diffère selon l'origine des PAL. Par conséquent, les phosphatases alcalines se distinguent les unes des autres par leur demi-vie. On peut alors les classer en deux groupes selon leur demi-vie :

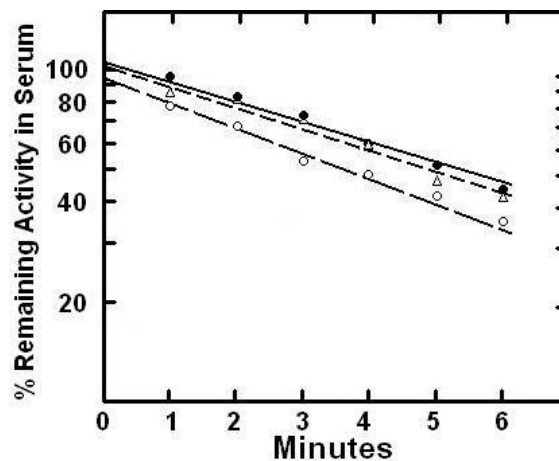
- demi-vie de 3 à 6 minutes (Figure n° 52, page 111), avec les PAL intestinale (demi-vie de 5,8 minutes), placentaire (demi-vie de 5,4 minutes) et rénale (demi-vie de 3,5 minutes).
- demi-vie de 3 jours environs (Figure n° 53, page 111), avec les phosphatases alcalines d'origine hépatique (demi-vie de 66 heures), cortico-induite (demi-vie de 74 heures).

Toujours selon les mêmes auteurs, la demi-vie des PAL serait en relation étroite avec leur charge en acide sialique qui stabiliserait la molécule. En effet, il mirent en évidence que les phosphatases alcalines d'origine hépatique et cortico-induites (les PAL d'origine osseuse n'ont pas été étudiées) migraient d'avantage que les autres PAL vers l'anode lors de l'électrophorèse. Or l'ajout de neuraminidase, molécule capable d'extraire les groupements d'acide sialique, diminuait fortement leur migration anodale. Ils conclurent donc que ces deux phosphatases alcalines présentent une charge en acide sialique plus importante que les autres PAL (PAL osseuses exclues). Enfin, ils notèrent également que l'ajout de neuraminidase diminuait fortement la demi-vie des PAL hépatiques et cortico-induites qui diminuait respectivement à 5,4 minutes et 1,4 minutes (Figure n° 54, page 112).

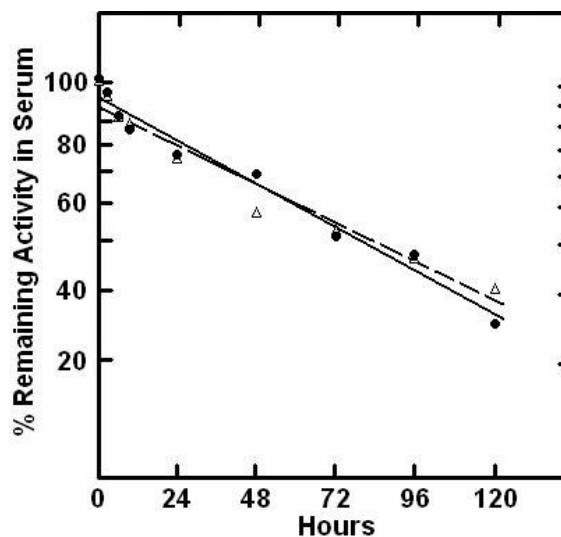
Concernant les phosphatases alcalines d'origine osseuse, leur observation dans le sérum de chiots âgés de moins de six mois et d'animaux souffrant de trouble métabolique osseux,

permet de supposer que leur demi-vie est similaire à celle des PAL cortico-induites et hépatiques, ce qui permet donc de les classer dans le deuxième groupe [83, 101]. De plus, leur migration anodale lors de l'électrophorèse est semblable à celle des PAL d'origine hépatique et cortico-induites, ce qui semble confirmer cette hypothèse [152].

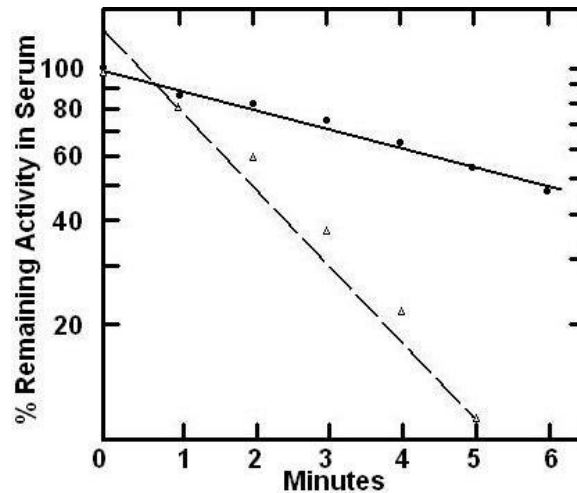
Les PAL intestinale, placentaire et rénale ont donc une demi-vie trop courte pour être détectées dans le sérum des chiens, en raison de leur trop faible charge en acide sialique. Cela explique donc que seules les phosphatases alcalines hépatique, osseuse et cortico-induite peuvent être dosées dans le sérum. Ainsi, les PAL du premier groupe ne présentent aucun intérêt diagnostique, contrairement à celle du deuxième groupe [17, 44, 60, 81, 83, 86, 97, 101, 107, 152, 155, 164, 172, 175, 185, 188].



**Figure n° 52 :** Clearance des PAL d'origine intestinale (●—), rénale (○—) et placentaire (Δ—) injectées par voie intraveineuse [83].



**Figure n° 53 :** Clearance des PAL d'origine hépatique (●—) et cortico-induites (Δ—) injectées par voie intraveineuse [83].



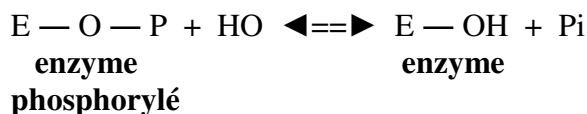
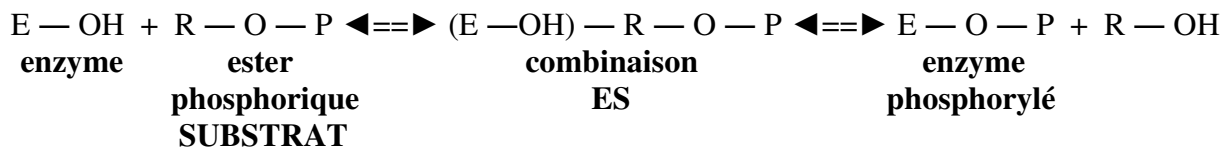
**Figure n° 54** : Clearance des PAL d'origine hépatique (●—) et cortico-induites (Δ-- ) après élimination des groupements d'acide sialique par ajout de neuraminidase [83].

## 2- Le transport lymphatique

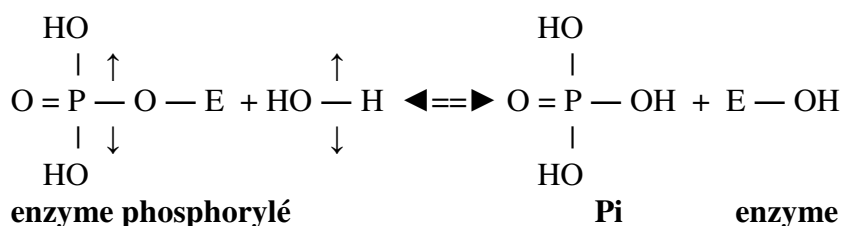
Les phosphatases alcalines gagnent la circulation sanguine via le système lymphatique. La lymphe du canal thoracique intervient d'une manière importante dans le transport et la régulation des PAL [14, 164].

### E- Mode d'action

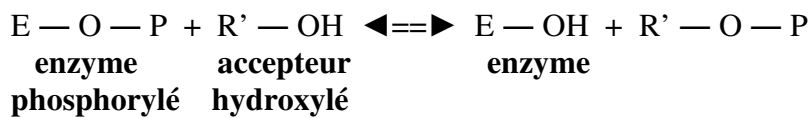
Dans un premier temps la phosphatase alcaline est phosphorylée au niveau de la fonction alcool de la molécule de sérine du site actif par le reste phosphorique du substrat [14, 178] :



La combinaison EOP est très instable ; l'enzyme phosphorylé subit alors une hydrolyse presque immédiate. La rupture s'effectue avec incorporation d'un groupement hydroxyle (provenant d'une molécule d'eau) dans le phosphate libéré (Pi) :



Dans le cas d'une réaction de transphosphorylation, ce n'est plus l'eau qui intervient mais l'accepteur hydroxylé (R' — OH) :



## F- Catabolisme et élimination

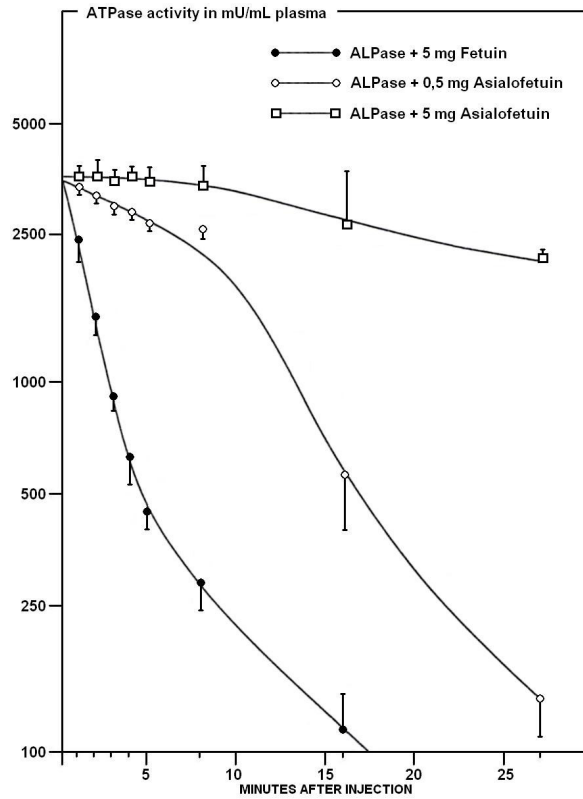
L'excrétion des métabolites issus du catabolisme des phosphatases alcalines est principalement biliaire. L'excrétion urinaire de ces métabolites est très faible.

### 1- Excrétion biliaire

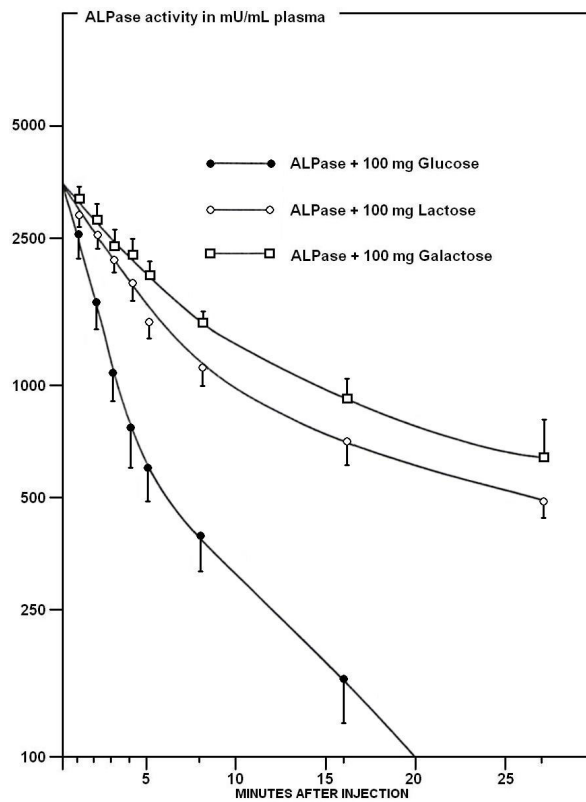
Les phosphatases alcalines sont des asialoglycoprotéines et de nombreux auteurs [<sup>100, 164</sup>] ont mis en évidence que leur catabolisme hépatique fait intervenir des récepteurs spécifiques localisés sur la membrane cellulaire des hépatocytes. Ils notèrent que l'ajout d'asialofétuine, inhibait fortement cette excrétion et augmentait de ce fait la demi-vie des phosphatases alcalines (Figure n° 55, page 114). Ils n'obtinrent pas les mêmes observations avec la fétuine seule (qui ne possède pas de résidus de galactose terminaux), ni avec de l'asialofétuine oxydée (dont les résidus terminaux de galactose sont oxydés). De plus ils observèrent que l'administration de galactose et de lactose, contrairement à celle de glucose, inhibait également cette excrétion (Figure n° 56, page 114). Ils conclurent donc que le catabolisme des phosphatases alcalines débute par leur adsorption au niveau de récepteurs galactose-spécifiques ainsi que par des lectines localisés au niveau de la membrane cytoplasmique des hépatocytes. Il se produit ensuite une endocytose avec formation de vésicules intracellulaires contenant les PAL. Enfin, ces vésicules vont fusionner avec les lysosomes afin de réaliser la dégradation enzymatique des phosphatases alcalines.

SCHOLTENS H.B., et al. [<sup>164</sup>] ont remarqué que la courbe de clearance des PAL sériques est sigmoïde. Selon certains auteurs, cela serait du à la limitation du nombre de récepteurs spécifiques membranaires suite au processus d'endocytose. Pour d'autres, par contre, cela serait expliqué par un modèle à deux compartiments. La première partie de la courbe correspondrait à une absorption rapide des PAL par endocytose. Puis la seconde partie correspondrait à une absorption plus lente consécutive à la fusion des vésicules avec les lysosomes ou avec la membrane cytoplasmique et la réabsorption des PAL par endocytose.

Il est à noter enfin que certaines vésicules intracellulaires migrent directement à travers les cellules des canalicules biliaires pour fusionner avec la membrane cytoplasmique et libérer les PAL directement dans la lumière des canalicules [<sup>164</sup>].



**Figure n° 55 :** Influence de la fétuine et de l'asialofétuine sur l'excrétion biliaire de la phosphatase alcaline d'origine intestinale chez un rat [<sup>164</sup>].



**Figure n° 56 :** Influence du glucose, du lactose et du galactose sur l'excrétion biliaire de la phosphatase alcaline d'origine intestinale chez un rat [<sup>164</sup>].

## 2- Excrétion urinaire

L'excrétion urinaire est très faible par rapport au taux sanguin : environs un dixième à un cinquième du taux des phosphatases alcalines circulantes [14].

Il est notable que le taux urinaire de PAL est variable au cours de la journée mais il est indépendant de la diurèse ; il n'existe pas de corrélation entre l'augmentation du taux sérique et l'élimination urinaire. Dans certains troubles rénaux, il a même été observé une inversion des variations.

### **III- LES DIFFERENTES ISOENZYMES DES PAL**

#### **A- Définitions**

##### 1- Les isoenzymes

Les isoenzymes sont des enzymes qui assurent les mêmes activités enzymatiques mais dont les structures primaire, secondaire, tertiaire et quaternaire ainsi que les propriétés physico-chimiques sont différentes ; elles ne possèdent pas les mêmes enchaînements d'acides aminés, ni la même conformation spatiale et malgré cela elles catalysent les mêmes réactions chimiques [2, 14, 81, 116, 180].

La synthèse de ces enzymes n'est pas codée par le même gène.

##### 2- Les isoformes

Les isoformes sont des enzymes qui ne diffèrent que par leurs modifications post-traductionnelles, telles que la glycosylation entre autres. Elles assurent donc les mêmes fonctions, et leur enchaînement d'acides aminés et leur conformation spatiale sont sensiblement similaires [157, 159, 172, 180].

La synthèse de ces enzymes est codée par le même gène.

#### **B- Méthodes de fractionnement des isoenzymes des phosphatases alcalines**

##### 1- La dénaturation

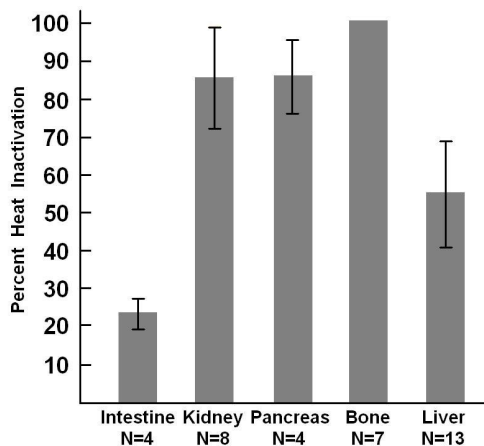
###### a- La dénaturation thermique

La chaleur permet la dénaturation des protéines par désorganisation de la structure tertiaire de la molécule ; l'apport d'énergie thermique permet la rupture des liaisons faibles telles que les liaisons hydrogène, hydrophobes, électrostatiques et de Van der Waals ainsi que les ponts disulfure qui stabilisent l'enzyme et notamment son site actif. Il est alors possible de mesurer le pourcentage d'inactivation de l'enzyme par suivi colorimétrique ou par fluorescence.

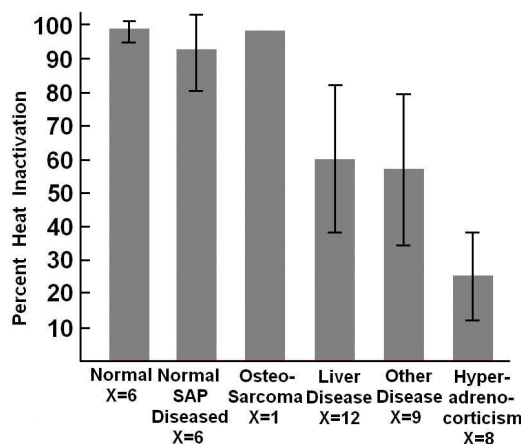
Les Figures n° 57 et 58 (page 116) montrent le comportement des différentes isoenzymes de phosphatase alcaline face à une exposition à une chaleur de 56°C, pendant 30 minutes. Il est alors intéressant de noter que deux catégories de PAL peuvent être mises en évidence [35, 44, 112, 116, 152, 155, 185] :

- les phosphatases alcalines thermolabiles, qui regroupent les PAL d'origine rénale, osseuse, hépatique et pancréatique
- les phosphatases alcalines thermorésistantes constituées des PAL intestinales et cortico-induites

Cette technique présente donc un intérêt dans le diagnostic du syndrome de Cushing via le dosage des phosphatases alcalines cortico-induites, mais sa technicité ne lui permet pas d'être accessible aux praticiens. Par ailleurs, elle n'est d'aucune utilité pour distinguer une atteinte hépatique ou osseuse.



**Figure n° 57 :** Graphe illustrant le pourcentage d'inactivation des PAL tissulaire par la chaleur à 56° C pendant 30 minutes [152].



**Figure n° 58 :** Graphe illustrant le pourcentage d'inactivation des PAL sériques par la chaleur à 56° C pendant 30 minutes [152].

#### b- La dénaturation chimique

Il est également possible de désorganiser la structure tertiaire des protéines par action de produits chimiques qui rompent les liaisons hydrogène, tel que l'urée. En 1968, chez l'homme, HORNE et al [85] ont mis en évidence que l'urée n'inhibait pas de la même manière les différentes phosphatases alcalines. Ils mesurèrent alors le pourcentage d'inhibition des PAL par le lévamisole à 3 mole/L :

- PAL d'origine hépatique : 56 %
- PAL d'origine osseuse : 84 %
- PAL d'origine rénale : 85 %
- PAL d'origine intestinale : 22 %

Tout comme la dénaturation thermique, il est possible de séparer les phosphatases alcalines en deux groupes similaires à ceux obtenus lors de la dénaturation par la chaleur [116] :

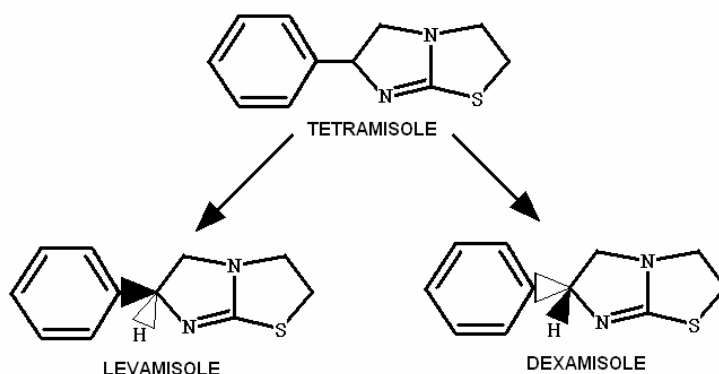
- les PAL fortement inhibées regroupant les PAL rénales, osseuses et hépatiques
- les PAL faiblement inhibées constituées des PAL intestinales

## 2- L'action des inhibiteurs

Il a été rapporté dans la littérature que de nombreuses molécules pouvaient inhiber les phosphatases alcalines, mais deux molécules en particulier ont retenu l'attention des chercheurs et font l'objet de nombreuses études : le lévamisole et la L-Pénylalanine.

### a- Le lévamisole

Le lévamisole est la forme lévogyre du tétramisole qui est un dérivé de l'imidazothiazole (Figure n° 59). Son nom chimique est le 2,3,5,6-tétrahydro-6-phénylimidazo-(2,1-b)thiazole hydrochloride.



**Figure n° 59 :** Structure moléculaire du tétramisole, du lévamisole et du dexamisole.

Cette molécule inhibe les phosphatases alcalines de manière non-compétitive et stéréospécifique [177, 178]. En effet, la forme dextrogyre du lévamisole, autrement dit le dexamisole, ne possède aucune action inhibitrice sur les phosphatases alcalines. Le mécanisme de cette inhibition reposerait, selon VAN BELLE H. [177, 178], sur la formation d'un complexe entre le lévamisole et la phosphatase alcaline qui inhiberait la déphosphorylation de la PAL phosphorylée, la rendant de ce fait non-fonctionnelle. De plus ce mécanisme ne ferait pas intervenir de complexation de l'ion métallique car cette réaction est indépendante de la concentration en  $Mg^{2+}$ .

VAN BELLE H. [177, 178] a également noté des différences concernant l'inhibition des phosphatases alcalines en mesurant le  $K_m$  de la réaction :

- $K_m$  (PAL intestinale) =  $0,172 \times 10^{-3}$  M
- $K_m$  (PAL hépatique) =  $0,097 \times 10^{-3}$  M
- $K_m$  (PAL rénale) =  $0,086 \times 10^{-3}$  M
- $K_m$  (PAL osseuse) =  $0,092 \times 10^{-3}$  M
- $K_m$  (PAL placentaire) =  $0,080 \times 10^{-3}$  M

Il a donc mis en évidence le fait que les phosphatases alcalines d'origine hépatique, rénale, osseuse et placentaire étaient plus sensibles à l'action inhibitrice du lévamisole que les PAL intestinales (Figure n° 60).

Il a réalisé les mêmes observations avec le R 8231, un analogue du lévamisole ; les PAL hépatique, osseuse, rénale et placentaire sont fortement inhibées par cette molécule contrairement aux PAL intestinales (Figure n° 60).

Les études menées par FARLEY J.R. et al. [44] et ITOH H. et al. [86] (Tableau n° 7, page 119) ont abouti aux mêmes conclusions, à savoir que les PAL hépatiques et osseuses étaient plus sensibles à l'action inhibitrice du lévamisole que les phosphatases alcalines intestinales.

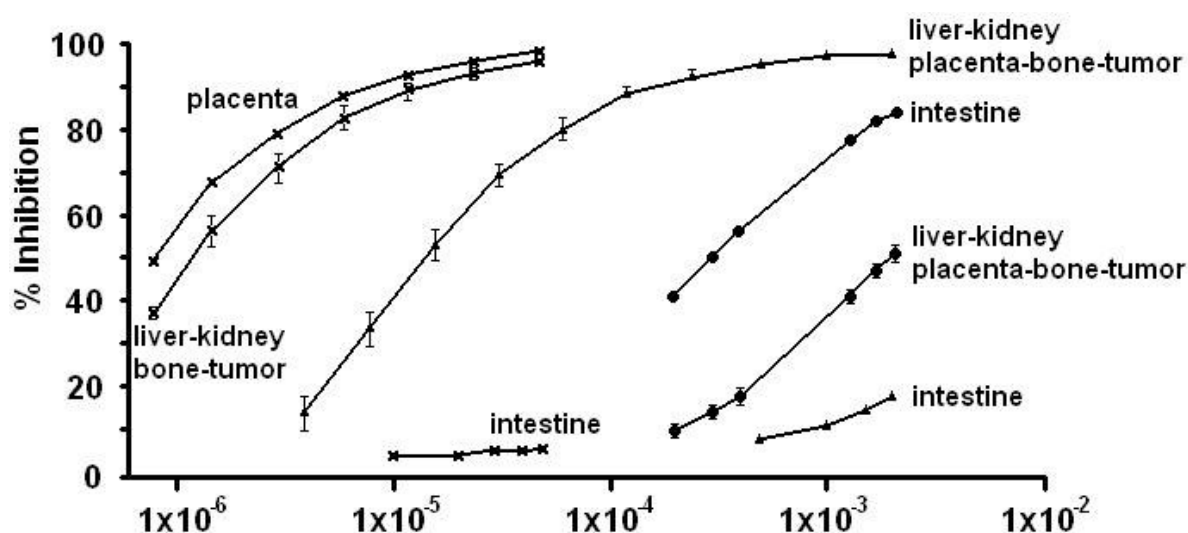


Figure n° 60 : L'inhibition spécifique des phosphatases alcalines par le lévamisole (▲—), L-Phénylalanine (●—) et la R 8231 (x—) [177].

Par ailleurs, selon les études de HOFFMANN W.E. et al. [84], les phosphatases alcalines d'origine hépatique et cortico-induites ne sont pas inhibées de la même manière par le lévamisole (Tableau n° 9, page 121). Comme les PAL intestinales, les PAL cortico-induites sont peu sensibles au lévamisole. Ils observèrent qu'une concentration de 4,2 mM de lévamisole inhibe plus de 98 % des phosphatases alcalines hépatiques et osseuses contre seulement 42 % des PAL cortico-induites.

JANCKILA A.J. et al. [87] ont noté que le lévamisole inhibe également l'activité de la phosphatase alcaline leucocytaire.

Inhibition par le lévamisole	PAL hépatiques	PAL osseuses	PAL intestinales	PAL cortico-induites
HOFFMANN W.E. et al. [ <sup>84</sup> ] : 4,2 mM	98	98		42
ITOH H. et al. [ <sup>86</sup> ] : 4,2 mM	99,1 +/- 1,6	98,5 +/- 2,0	19,4	
SANECKI R.K. et al. [ <sup>158</sup> ] :				
- 10 <sup>-6</sup> M	14		8	0
- 10 <sup>-5</sup> M	43		8	0
- 10 <sup>-4</sup> M	57		8	6
- 10 <sup>-3</sup> M	86		12	6
- 10 <sup>-2</sup> M	95		27	20
- 10 <sup>-1</sup> M	100		62	60

**Tableau n° 7** : Pourcentage d'inhibition des PAL par le lévamisole.

#### b- La L-Phénylalanine

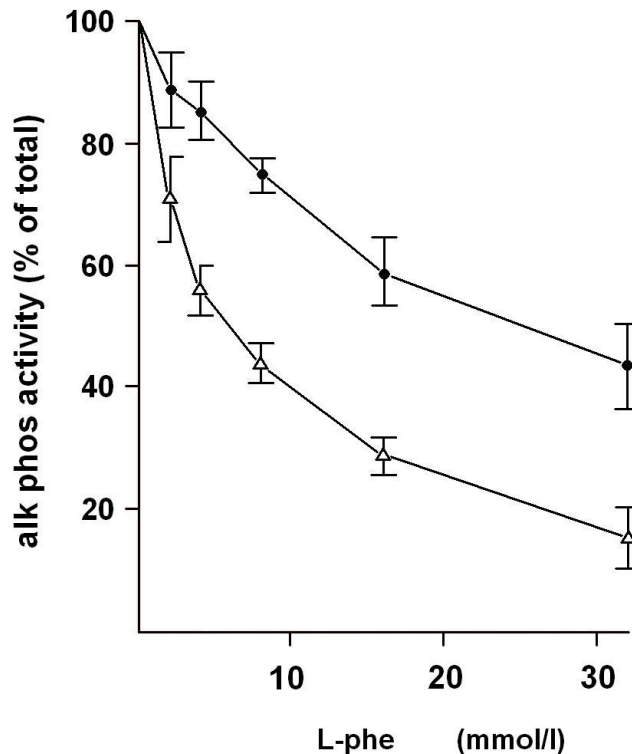
Tout comme le lévamisole, la L-Phénylalanine inhibe les phosphatases alcalines de manière non-compétitive et stéréospécifique. De plus, il semblerait que le mécanisme d'inhibition repose sur la formation d'un complexe entre la phosphatase alcaline et la L-Phénylalanine qui inhiberait alors la déphosphorylation de l'enzyme phosphorylée, la rendant ainsi non-fonctionnelle [<sup>178</sup>]. Cependant, l'affinité de cette molécule vis-à-vis des phosphatases alcalines est différente de celle du lévamisole.

De nombreux auteurs ont ainsi montré que la L-Phénylalanine inhibait d'avantage les PAL d'origine intestinale que les PAL hépatique, osseuse, rénale et placentaire (Figure n° 61, page 120, et Tableaux n° 8 et 9, pages 119 et 121).

ECKERSALL P.D. et al. [<sup>36</sup>] ont aussi noté que la L-Phénylalanine inhibait d'avantage les phosphatases alcalines cortico-induites que les phosphatases alcalines d'origine osseuse et hépatique.

Inhibition par la L-Phénylalanine	PAL sériques	PAL hépatiques	PAL osseuses	PAL rénales	PAL intestinales
FARLEY J.R. et al. [ <sup>44</sup> ] : 10 mM		29	30		69
ITOH H. et al. [ <sup>86</sup> ] : 5 Mm		7,7 +/- 1,6	8,2 +/- 4,7		51,2
MOORE W.E. et al. [ <sup>116</sup> ] : 5 mM	15 +/- 3	18 +/- 3	16 +/- 2	16 +/- 2	76 +/- 3
SAINI K.S. et al. [ <sup>155</sup> ] : 5 mM	8	18	11	10	44

**Tableau n° 8** : Pourcentage d'inhibition des phosphatases alcalines par la L-Phénylalanine.



**Figure n° 61** : L'effet de la L-phenylalanine sur l'activité des PAL plasmatique chez le chien (●— : PAL cortico-induites, Δ— : PAL osseuses et hépatique) [36].

La L-Phénylalanine inhibe donc préférentiellement les PAL cortico-induites et les PAL intestinales de la même manière, ce qui permet de les distinguer des autres phosphatases alcalines.

#### c- Les autres inhibiteurs

Il intéressant d'observer que d'autres molécules possèdent une action inhibitrice sur les phosphatases alcalines, telles que des acides aminés [14, 117] (comme la L-Leucine, la L-Cystéine, la L-Homocystéine, la Glycine, l'Histidine, le Tryptophane et la Glycylglycine), des chélateurs (tels que l'EDTA [117]), la théophylline, le bismuth ou bien l'acide ascorbique. Mais comme l'a noté VAN BELLE H. [177] (Tableau n° 9, page 121), il est possible de regrouper ces inhibiteurs en deux catégories :

- les inhibiteurs non spécifiques, tel que le PCMB (p-chloromercuribenzoate) ou le KCN, qui inhibent toutes les PAL de la même manière
- les inhibiteurs spécifiques, tels que le Béryllium ou l'aminophylline, qui inhibent préférentiellement les phosphatases alcalines d'origine hépatique, osseuse, rénale et placentaire.

Exception faite des inhibiteurs non spécifiques, les PAL intestinales ne possèdent donc pas la même sensibilité d'inhibition que les autres PAL. Or comme il a été noté précédemment, cette inhibition est stéréospécifique, notamment pour le lévamisole. Il est donc possible que les phosphatases alcalines d'origine intestinale soient différentes des PAL hépatique, osseuse, rénale et placentaire d'un point de vue structural, tout en assurant la même fonction.

	<i>Intestine</i>	<i>Liver</i>	<i>Kidney</i>	<i>Bone</i>	<i>Placenta</i>	<i>Tumor</i>	<i>E.Coli</i>
N-Ethylmaleimide	No effect	No effect	No effect	No effect	No effect	No effect	No effect
PCMB	1,73	2,21	1,46	1,92	2,52	1,26	> 10 mM
GSH	0,76	2,08	1,94	2,03	2,56	1,72	1,75
L-Cysteine	0,043	0,042	0,043	0,042	0,046	0,043	0,044
EDTA	0,703	0,596	0,587	0,591	0,593	0,583	15% inhib at 2 mM
KCN	0,73	0,81	0,64	0,65	0,64	0,62	0,63
NaF (2mM)	No effect	No effect	No effect	No effect	No effect	No effect	No effect
Beryllium	0,28.10 <sup>-6</sup> M	0,72.10 <sup>-6</sup> M	0,69.10 <sup>-6</sup> M	0,66.10 <sup>-6</sup> M	0,81.10 <sup>-6</sup> M	0,68.10 <sup>-6</sup> M	ND
Aminophylline	0,201	0,132	0,103	0,123	0,076	0,090	0,550
L-Phenylalanine	2,95	20,9	18,5	19,6	19,1	18,0	No effect at 20 mM
Pi	1,12	6,30	5,40	5,80	6,80	6,00	0,41

**Tableau n° 9** : Valeurs des I<sub>50</sub> (mM) de différents inhibiteurs des phosphatases alcalines [177].

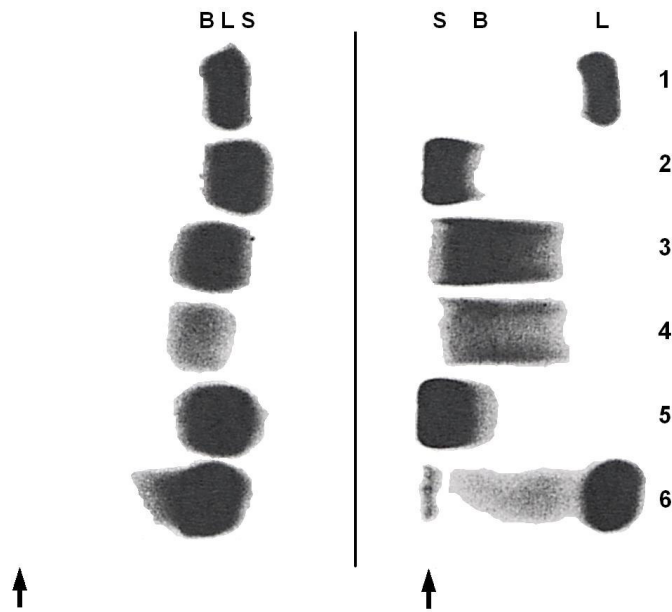
### 3- L'affinité pour les lectines

Les lectines sont des substances d'origine végétale qui se fixent spécifiquement sur des chaînes glycaniques particulières [180]. Ainsi, le Wheat Germ Lectin se fixe préférentiellement sur les chaînes de N-acétylglucosamine [97, 101, 159], alors que le Wheat Germ Agglutinin se lie de préférence avec les résidus d'acide sialique et d'acide N-acétylneuraminique, selon FARLEY J.R. et al. [44]. Toujours d'après les mêmes auteurs, il est intéressant de noter que la Concavaline-A possède, plutôt une grande affinité avec les résidus de  $\alpha$ -D-mannose et de  $\alpha$ -D-glucose.

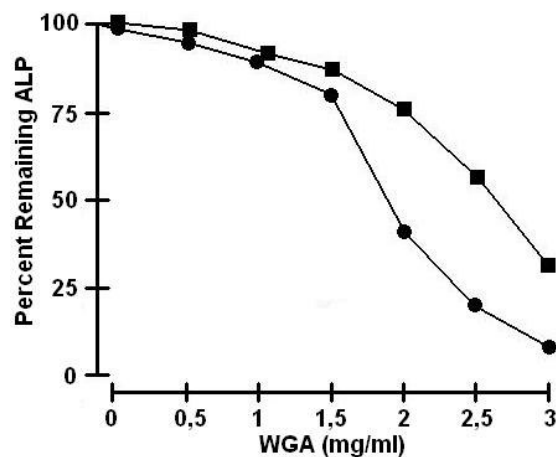
Par conséquent, les lectines, peuvent s'associer à certaines glycoprotéines. Or, de nombreux travaux ont mis en évidence la nature glycoprotéique des phosphatases alcalines dont le contenu glucidique varie selon l'origine des PAL. De nombreux auteurs ont donc utilisé ces lectines pour caractériser leur contenu glucidique.

Ainsi, KIDNEY B.A. et al. [97] notèrent que la migration des phosphatases alcalines d'origine osseuse et cortico-induite est fortement diminuée lors de l'électrophorèse lorsque du Wheat Germ Lectin est ajouté (Figure n° 62, page 122). Ils conclurent donc que la charge en N-acétylglucosamine est plus importante chez les PAL cortico-induites et osseuses que chez les PAL hépatiques.

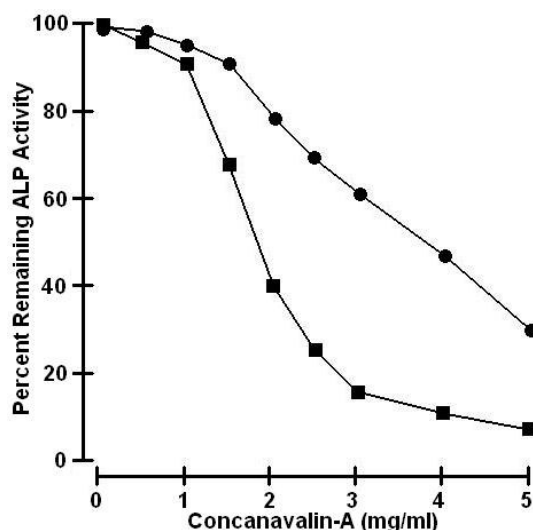
FARLEY J.R. et al. [44] étudièrent l'action inhibitrice du Wheat Germ Agglutinin issue de *Triticum vulgare* et de la Concavaline-A extraite de *Canavalia ensiformis*. Ils notèrent, en premier lieu, que cette inhibition est dose-dépendante. Puis ils notèrent que le WGA et la Concavaline-A n'inhibent pas les différentes phosphatases alcalines de la même manière (Figures n° 63 et 64, pages 122 et 123). D'une part, le WGA inhibe préférentiellement les PAL osseuses puis les PAL cortico-induites et enfin les PAL hépatiques, ce qui met en évidence une différence de composition en acide sialique et en acide acétylneuraminique. D'autre part, la Concavaline-A se fixe en particulier sur les phosphatases alcalines d'origine hépatique, alors que les PAL d'origine osseuse sont moins affectées par cette lectine ; les PAL hépatiques contiennent donc plus de  $\alpha$ -D-mannose et de  $\alpha$ -D-glucose que les PAL cortico-induites et osseuses.



**Figure n° 62** : Séparation des PAL osseuses (B), des PAL hépatiques (L) et des PAL cortico-induites (S) par électrophorèse avec du WGL (droite) et sans WGL (gauche). Les flèches indiquent l'origine de la migration. 1 : hépatite, 2 : Cushing, 3 : ostéosarcome, 4 : chiot, 5 : corticothérapie, 6 : extrait de foie [97].



**Figure n° 63** : Précipitation dose-dépendante des PAL osseuse (●) et hépatique (■) par le WGA. *Note* : la précipitation des PAL intestinales est de 70 %, 58 % et 33 % pour une concentration de WGA respectivement de 2,0 mg/ml, 2,5 mg/ml et 3,0 mg/ml (données non incluses dans le graphe) [76].



**Figure n° 64** : Précipitation dose-dépendante des PAL osseuse (●) et hépatique (■) par la Concanavaline-A. *Note* : la précipitation des PAL intestinales est de 86 %, 83 %, 67 % et 45 % pour une concentration de Concanavaline-A respectivement de 2 mg/ml, 3 mg/ml, 4 mg/ml et 5 mg/ml (données non incluses dans le graphe) [44].

#### 4- L'électrophorèse

Presque tous les supports connus ont été utilisés pour permettre la séparation des différentes phosphatases alcalines. Les auteurs n'ont fait que varier les conditions de migration telles que :

- le support utilisé : gel d'Agar, gel de polyacrylamide, gel d'amidon, gel d'acétate et gel de cellulose,
- la nature du tampon : tampon carbonate, tampon barbital, tampon acide borique, entre autre,
- le temps de migration,
- le voltage.

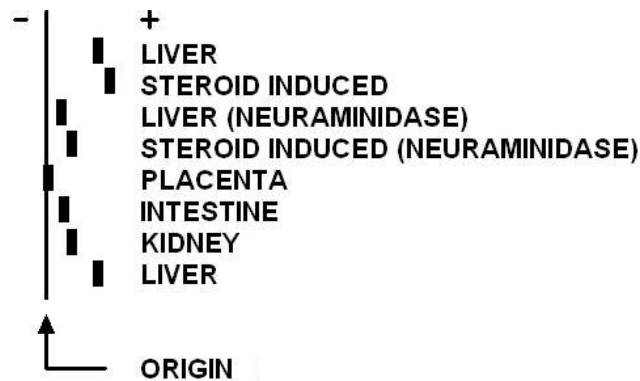
Pour mettre en évidence la migration après électrophorèse, différentes techniques sont employées dont les plus courantes sont la colorimétrie et la fluorimétrie.

Il est intéressant d'observer que la migration électrophorétique dépend de la charge isoélectrique de la molécule.

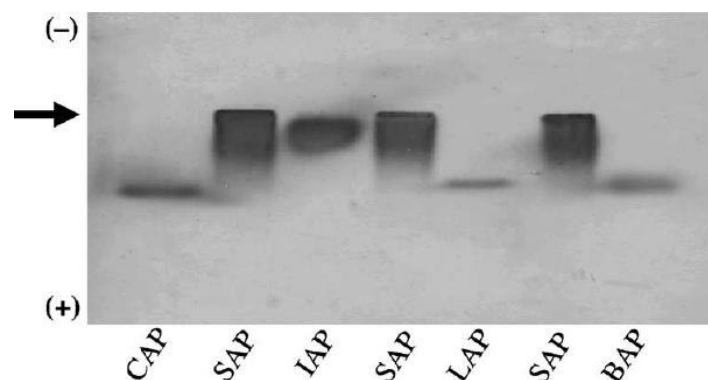
De nombreux auteurs [83, 86, 112, 116, 152, 155, 185] ont mis en évidence une différence de comportement migratoire pour les phosphatases alcalines (Figures n° 65 et 66, page 124). Ils classèrent les PAL selon leur vitesse de migration, de manière croissante :

- les PAL d'origine placentaire migrent le moins loin lors de l'électrophorèse,
- les PAL d'origine séminale,
- les PAL d'origine intestinale,
- les PAL d'origine rénale,
- les PAL d'origine osseuse,
- les PAL d'origine hépatique,
- les PAL cortico-induites sont les plus rapides.

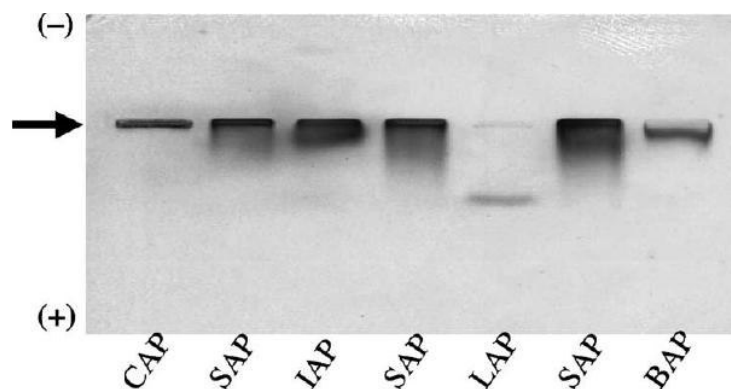
Les phosphatases alcalines diffèrent donc, entre elles, par leur point isoélectrique. Or cette caractéristique dépend de la charge en acide sialique, qui permet une migration anodale plus importante [1, 83, 101, 152, 155, 156, 185]. Les auteurs ont confirmé cette observation en utilisant de la neuraminidase qui ralentit la mobilité électrophorétique, en hydrolysant les acides sialiques. Ils notèrent qu'en ajoutant cette molécule, les PAL développaient le même point isoélectrique et migraient de la même manière (Figures n° 66 et 67).



**Figure n° 65 :** Migration électrophorétique des différentes phosphatases alcalines, avec ajout de neuraminidase lors de la migration des PAL hépatiques et cortico-induites [83].



**Figure n° 66 :** Comportement migratoire des PAL cortico-induites (CAP), séminales (SAP), intestinales (IAP), hépatiques (LAP) et osseuses (BAP) lors de l'électrophorèse [101].



**Figure n° 67 :** Comportement migratoire des PAL cortico-induites (CAP), séminales (SAP), intestinales (IAP), hépatiques (LAP) et osseuses (BAP) après ajout de neuraminidase lors de l'électrophorèse [101].

## 5- La chromatographie

De nombreuses techniques chromatographiques ont été mises en œuvres pour étudier les différentes phosphatases alcalines. Les plus utilisées sont les suivantes [<sup>14, 180</sup>] :

- la chromatographie par échange d'ions
- la chromatographie par gel de filtration utilisée pour isoler ou purifier une phosphatase alcaline en complément de la précédente
- la chromatographie d'affinité : il s'agit d'une technique basée sur les interactions moléculaires spécifiques et réversibles existant entre des substances biologiques actives ; dans le cas des PAL, les substances couplées à la résine peuvent être soit une lectine, soit un inhibiteur comme la L-Phénylalanine.

Ces techniques étant assez contraignantes, elles sont plutôt utilisées en recherche humaine que vétérinaire.

## 6- L'immunologie

L'identification des différentes phosphatases alcalines par des méthodes immunologiques connaît un intérêt croissant.

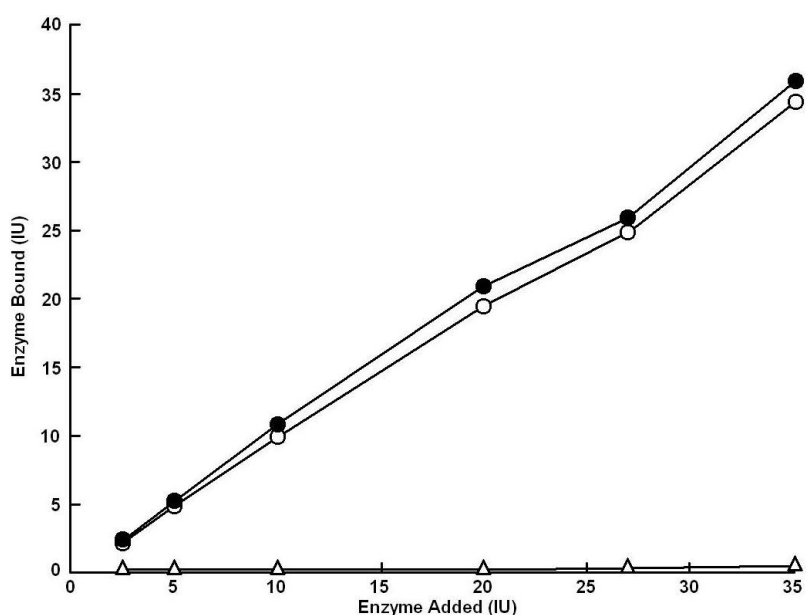
En 1978, SAINI P.K. et al. [<sup>154</sup>] ont mis en évidence une très grande spécificité de l'anticorps anti-PAL intestinale. En effet, ils analysèrent l'action d'anticorps anti-PAL intestinale, hépatique et osseuse sur différentes phosphatases alcalines et ils notèrent que les anticorps anti-PAL intestinale ne se fixent pas sur les PAL hépatique, osseuse, rénale et splénique. De plus, les anticorps anti-PAL hépatique et osseuse ne se fixent pas sur les phosphatases d'origine intestinale. Par contre, ils observèrent des réactions croisées entre les anticorps anti-PAL hépatique et osseuse et les phosphatases alcalines splénique, rénale, hépatique et osseuse (Tableau n° 10).

Enzyme source	N	Mean percentage of activities remaining			Range of percentage of activities remaining		
		Hepatic ALP	Intestinal ALP	Osseous ALP	Hepatic ALP	Intestinal ALP	Osseous ALP
Canine intestinal ALP	12	96	24	95	76 to 110	13 to 46	87 to 102
Canine hepatic ALP	10	13	103	42	10 to 15	100 to	23 to 51
Canine osseous ALP	10	29	106	24	9 to 45	109	9 to 42
Canine renal ALP	10	24	101	14	15 to 47	76 to 131	5 to 28
Canine splenic ALP	8	33	94	32	29 to 40	77 to 127	21 to 46
Calf intestinal ALP	1	86	61	100	...	69 to 104	...
Chicken intestinal ALP	1	103	100	99	...	...	...
<i>Escherichia Coli</i> ALP	1	93	93	117	...	...	...

**Tableau n° 10** : Activité des phosphatases alcalines après ajout d'anticorps anti-PAL intestinale, hépatique et osseuse [<sup>154</sup>].

En 1987, AMACHER D.E. et al. [1] notèrent que les anticorps anti-PAL intestinale présentent une affinité pour les phosphatases alcalines d'origine intestinale et cortico-induites respectivement de 93 % et de 85 %. Par contre, ils ne mirent en évidence aucune affinité entre ces anticorps et les PAL hépatique et osseuse. En 1990, SANECKI R.K. et al. [156] firent les mêmes observations ; des anticorps anti-PAL intestinale monoclonaux pouvaient à la fois se fixer sur des phosphatases alcalines intestinales et cortico-induites mais ils ne pouvaient pas reconnaître les PAL d'origine hépatique.

La même année, HADLEY S.P. et al. [76] mirent au point des anticorps anti-PAL cortico-induites et ils observèrent que ces anticorps se fixaient sur les phosphatases alcalines correspondantes mais par contre, ils ne notèrent aucune réaction entre ces anticorps et les PAL d'origine hépatique (Figure n° 68). Les études de WELLMAN M.L. et al. [185] corroborent ces observations.



**Figure n° 68 :** Mesure de la fixation des anticorps anti-PAL cortico-induites après ajout d'un mélange de PAL hépatiques et cortico-induites (●—), de PAL cortico-induites (○—) et de PAL d'origine hépatique (Δ—) [76].

Donc, il est possible de classer les phosphatases alcalines en deux groupes, selon la spécificité de leur anticorps correspondants :

- les phosphatases alcalines d'origine hépatique, osseuse et rénale (ainsi que splénique et placentaire) dont les anticorps correspondants sont peu spécifiques et peuvent réaliser des réactions croisées avec toutes les PAL exceptées les PAL cortico-induites et intestinales.
- les phosphatases alcalines d'origine intestinale et cortico-induites, dont les anticorps correspondants sont très spécifiques et ne fixent que ces deux PAL.

Il semblerait donc que les phosphatases alcalines intestinales et cortico-induites ne possèdent qu'un seul déterminant antigénique, contrairement aux autres PAL qui sembleraient posséder de nombreux déterminants antigéniques similaires [154].

### C- Les différents types d'isoenzymes de phosphatases alcalines

#### 1- Le nombre de gènes codant pour les différentes isoenzymes

Comme il a été observé dans les paragraphes précédents, il est possible de séparer les phosphatases alcalines en deux groupes distincts :

- les PAL d'origine hépatique, osseuse, rénale, placentaire, séminale et splénique
- les PAL d'origine intestinale et cortico-induites

Les premières diffèrent des secondes par leur contenu en acide sialique, leurs acides aminés et leur composition hydrocarbonée, ce qui permet de les distinguer par migration électrophorétique, par inhibition chimique et par réactivité immunologique [1].

On peut rappeler que VAN BELLE H. [177] avait mis en évidence que ces deux groupes de PAL différaient également par leur spécificité de substrat (Tableau n° 11).

[Substrate] 0,5 mM	Intestine	Liver	Kidney	Bone	Placenta	Tumor
Phenylphosphate	100	100	100	100	100	100
Nitrophenylphosphate	45	89	88	85	90	85
β-Glycerophosphate	25	37	33	33	32	31
AMP	37	42	37	37	39	35
ATP	19	11	6	8	6	5
Thiaminepyrophosphate	28	33	28	30	35	26
P-Threonine	51	38	35	36	35	32
Pyrophosphate	1	10	3	4	4	2

**Tableau n° 11** : Spécificité de substrat des phosphatases alcalines [177].

De nombreux auteurs [1, 44, 76, 84, 101, 117, 159, 172, 185] concluent donc que la synthèse des phosphatases alcalines, dans l'espèce canine, est sous la dépendance de deux gènes. Plus précisément, ces deux gènes codent pour deux isoenzymes de phosphatase alcaline. Puis ces isoenzymes subissent alors des différents processus de glycosylation dans l'organisme afin de devenir des isoformes différentes et spécifiques de chaque organe [101, 141].

Ainsi, les PAL sont sous la dépendance :

- d'un gène codant pour les isoenzymes « non spécifique d'organe », regroupant les isoformes hépatique, osseuse, rénale et placentaire principalement.
- d'un gène codant pour les isoenzymes de type « intestinale », regroupant les isoformes intestinale et cortico-induite.

Il est à noter que le gène codant pour les isoenzymes de type « intestinale » ne s'exprime qu'au niveau de l'intestin pour synthétiser l'isoforme intestinale. Au niveau des autres organes, ce gène est réprimé. Selon certains auteurs [76], l'isoforme cortico-induite serait alors produite au niveau des cellules des canalicules biliaires suite à une dépression de ce gène par les glucocorticoïdes. On peut préciser enfin que cette isoforme est spécifique du chien.

Il est intéressant de noter que la synthèse des phosphatases alcalines chez la plupart des mammifères, excepté l'homme et les grands singes, est sous la dépendance de deux gènes, alors que chez ces derniers, cette synthèse dépend de trois gènes [16, 101, 180, 185].

## 2- Les isoenzymes « non spécifiques d'organe »

Comme le montre le Tableau n° 12 (page 129), les caractéristiques des PAL hépatiques, osseuses, rénales et placentaires, liées à leur structure primaire sont similaires ; leur comportement face au lévamisole, à la chaleur et à leurs anticorps correspondants est identique. Par contre, les caractéristiques liées à leurs modifications post-traductionnelles sont sensiblement différentes, en raison de leur devenir différent dans leur organe spécifique. Ainsi, leur comportement face aux lectines et leur demi-vie diffèrent les unes des autres.

## 3- Les isoenzymes de type « intestinale »

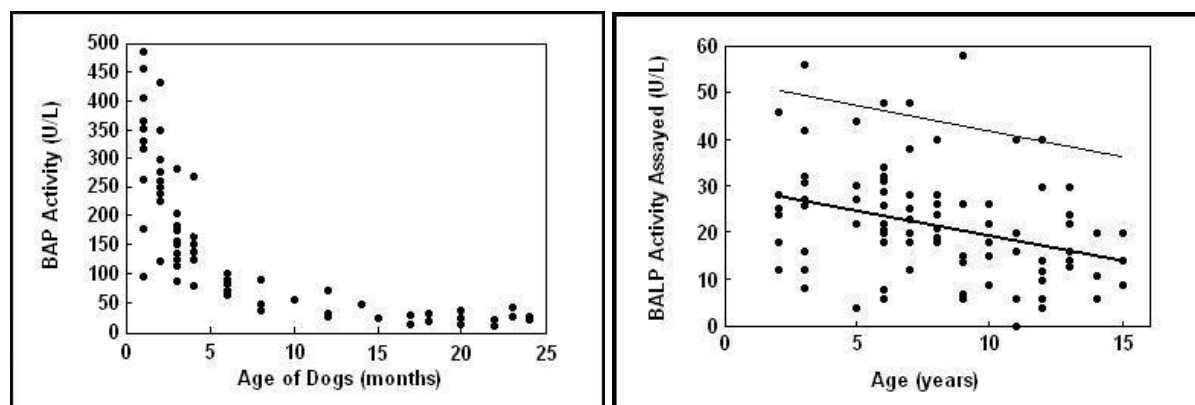
Le Tableau n° 13 (page 130), indique que la structure primaire des PAL d'origine intestinale et cortico-induites est très similaire ; leur composition en acides aminés ne diffère pas de plus de 10 %. De plus, SANECKI R.K. et al. [157] ont mis en évidence le fait que leur séquence d'acides aminés à l'extrémité N-terminale est identique. Cela explique donc leur comportement similaire face à l'inhibition par la L-Phénylalanine et leurs anticorps correspondants. Mais, étant localisées dans des organes spécifiques, elles subissent des processus de glycosylation différents, ce qui explique les différences de demi-vie, de poids et leur comportement divergent face aux lectines.

# IV- LES VARIATIONS QUANTITATIVES DES PAL

## A- Les variations physiologiques

### 1- Chez les chiots

Les phosphatases alcalines sont présentes en grande quantité chez les chiots, surtout lors des cinq premiers mois d'âge [2, 17, 35, 60, 81, 82, 86, 93, 107, 159, 173, 175, 188]. Il s'agit principalement de PAL d'origine osseuse issues de l'intense activité métabolique de l'os en cours de croissance chez le jeune. Puis la quantité de phosphatases alcalines osseuse diminue progressivement avec l'âge alors que les PAL hépatiques et cortico-induites ont tendance à augmenter, comme l'indiquent les Figures n° 69 et le Tableau n° 14, page 131.



**Figure n° 69 :** Activité des PAL osseuses (U/L) dans le sérum de chiens en fonction de l'âge. A droite, la droite en noir représente la régression linéaire entre l'activité des PAL osseuse et l'âge du chien et la droite en gris représente l'intervalle de confiance de 95 % [159].

Caractéristiques	Isoformes			
	Hépatique (LALP)	Osseuse (BALP)	Rénale (KALP)	Placentaire (PALP)
Organe	foie	os	rein	placenta
Localisation	hépatocytes des canalicules biliaires	ostéoblastes et chondrocytes	cellules de la bordure en brosse des tubules rénaux	cellules syncytiales du trophoblaste placentaire
Poids	200 000 D	ND	ND	ND
Demi-vie	66 h.	≈ 70 h.	3,5 min.	5,4 min.
Composition : - acide sialique/acétylneumaminique - α-D-mannose/α-D-glucose	++ +++	++ +	+ -	- -
Point isoélectrique [ <sup>35</sup> ]	4,3	4,0	4,4	-
Inhibition	lévamisole, chaleur, concavinaline, Anticorps : - anti-LALP - anti-BALP - anti-KALP - anti-PALP	lévamisole, chaleur, WGL, WGA, Anticorps : - anti-LALP - anti-BALP - anti-KALP - anti-PALP	lévamisole, chaleur, Anticorps : - anti-LALP - anti-BALP - anti-KALP - anti-PALP	lévamisole, chaleur, Anticorps : - anti-LALP - anti-BALP - anti-KALP - anti-PALP
Intérêt diagnostique	atteinte hépatique	atteinte osseuse	aucun	aucun

**Tableau n° 12** : Caractéristiques des isoenzymes « non-spécifiques d'organe » regroupant les phosphatases alcalines d'origine hépatique, osseuse, rénale et placentaire.

Caractéristiques	Isoformes	
	Intestinale (IALP)	Cortico-induite (CALP)
Organe	intestin grêle	foie
Localisation	cellules de la bordure en brosse de l'intestin	hépatocytes des canalicules biliaires
Poids	158 000 D	168 000 D
Demi-vie	5,8 min.	74 h.
Composition glucidique [ <sup>156</sup> ] :		
- N-acetylglucosamine	24	36
- N-acetylgalactosamine	15	13
- Mannose	24	42 (++)
- Fucose	20	18
- Galactose	25	39
- Acide sialique	2,6 (-)	32 (+++)
Composition en acides aminés :		
- Asp	139,6	135,2
- Thr	109,0	109,7
- Ser	81,8	76,1
- Glu	98,8	96,2
- Pro	37,4	51,0
- Gly	103,4	98,7
- Ala	121,5	141,8
- Val	73,8	73,1
- Met	0	0
- Ile	48,8	45,4
- Leu	105,6	97,4
- Tyr	0	0
- Phe	34,1	32,1
- His	28,4	27,6
- Lys	46,6	43,1
- Arg	65,8	64,2
Point isoélectrique [ <sup>35</sup> ]	3,6 à 4,6	3,5
Inhibition	L-Phénylalanine, Anticorps anti-IALP, Anticorps anti-CALP	L-Phénylalanine, WGL, WGA Anticorps anti-IALP, Anticorps anti-CALP
Intérêt diagnostique	aucun	hypercorticisme spontané ou iatrogène

**Tableau n° 13 :** Caractéristiques des isoenzymes de type « intestinal » regroupant les phosphatases alcalines d'origine intestinale et cortico-induites.

Auteurs	Agés	TALP U/L	BALP U/L	LALP U/L	CALP U/L
ITOH H. et al. [ <sup>86</sup> ]	< 1 an	187 +/- 67	64,7 +/- 9,5	22,2 +/- 11,6	1,5 +/- 2,5
	1 - 7 ans	94 +/- 47	31,1 +/- 12,7	59,3 +/- 15,2	2,5 +/- 4,0
	> 7 ans	97 +/- 44	16,0 +/- 10,3	50,4 +/- 26,2	25,6 +/- 26,3
SYAKALIMA et al. [ <sup>172</sup> ]	< 1 an	152	122	12	18
	1 - 7 ans	49	11,5	27	10,5
	> 7 ans	59	11,5	23,5	24
SYAKALIMA et al. [ <sup>173</sup> ]	6 j – 1 an	175,4 +/- 84,5	167,9 +/- 79,6	2,1 +/- 2,3	20,4 +/- 25,2
	1 - 7 ans	35,9 +/- 18,1	13,5 +/- 6,3	19,2 +/- 15,8	3,9 +/- 11,8
	> 7 ans	74,2 +/- 64,3	19,1 +/- 13,8	38,8 +/- 44,9	19,9 +/- 31,8

**Tableau n° 14 :** Variation des phosphatases alcalines plasmatiques (TALP), osseuses (BALP), hépatiques (LALP) et cortico-induites (CALP) en fonction de l'âge du chien.

## 2- Chez les femelles gestantes

Selon FARLEY J.R. et al. [<sup>44</sup>], malgré leur faible durée de vie, il est possible de doser les phosphatases alcalines d'origine placentaire dans le sérum de chiennes en gestation.

Mais pour LEVEILLE-WEBSTER C.R. [<sup>107</sup>], cette isoforme ne serait notable que chez la chatte en fin de gestation.

### **B- Les variations pathologiques**

#### 1- La cholestase hépatique

Toute pathologie responsable d'une cholestase intrahépatique ou extrahépatique provoque une forte élévation des phosphatases alcalines sériques [<sup>2, 17, 28, 81, 82, 93, 107, 116, 158, 170, 172, 188, 192</sup>]. En effet, l'accumulation des acides biliaires va provoquer la solubilisation des enzymes localisés au niveau de la membrane cytoplasmique des hépatocytes, notamment au niveau des canalicules biliaires. Les phosphatases alcalines d'origine hépatique vont donc être solubilisées et libérées en grande quantité dans le sérum. De plus, les phosphatases alcalines cortico-induites vont également être solubilisées et rejetées dans la circulation sanguine, mais ce phénomène est plus tardif [<sup>82</sup>].

#### a- Processus dégénératifs

Une nécrose aigue des hépatocytes (pathologique, accidentelle, induite par CCl<sub>4</sub>, ...) entraîne une élévation de deux à trois fois la valeur basale de phosphatase alcaline sérique [<sup>2, 17, 81, 107, 188</sup>]. Toutefois, ce processus dégénératif engendre cette augmentation de PAL sans développer de cholestase.

Un autre processus dégénératif peut par contre être responsable d'une cholestase : l'hypertrophie des hépatocytes consécutive à une accumulation de substance, telles que l'amyloïdose ou la lipidose.

#### b- Pathologies métaboliques

Le diabète sucré et l'hypercorticisme spontané ou iatrogène [<sup>2, 35, 36, 60, 93, 116, 121, 125, 156, 175, 188</sup>] provoquent, entre autres, une surcharge hépatique avec accumulation de substance (glycogène, ...) dans les hépatocytes qui s'hypertrophient et dégèrent. Cette hypertrophie

est responsable par la suite d'une cholestase qui va provoquer une forte augmentation des phosphatases alcalines sériques.

ECKERSALL P.D. et al. [35] rapportent également que l'hypothyroïdie provoque une augmentation des phosphatases alcalines.

#### c- Processus néoplasiques

Les processus néoplasiques peuvent provoquer un phénomène de cholestase s'ils affectent les canaux biliaires ou les organes environnants, telles que le pancréas, le duodénum ou la région périportale. Cliniquement, on observe souvent une élévation de l'activité des phosphatases alcalines lors de carcinome pancréatique ou de carcinome des canalicules biliaires [17, 35, 93, 97, 172]. Egalement, on observe souvent une augmentation des PAL lors de lymphome et de lymphosarcome métastatique [2, 77, 82, 97].

#### d- Autres phénomènes obstructifs

D'autres pathologies peuvent provoquer une obstruction des voies biliaires et développer une cholestase. Ainsi, toute inflammation des canaux biliaires peut être susceptible d'engendrer une cholestase, telle qu'une hépatite ou une cholangite [2, 35, 81, 82, 93, 97, 107, 156]. Mais une inflammation des régions avoisinantes peut également provoquer une obstruction des voies biliaires, telle qu'une pancréatite ou une entérite [2, 97, 121, 152].

Enfin, une cholestase peut se développer suite à une obstruction purement mécanique telle qu'une cholélithiase ou un parasitisme des voies biliaires.

### 2- Les affections osseuses

#### a- Lors d'hyperparathyroïdisme secondaire

Cette pathologie, généralement secondaire à une pathologie rénale, provoque une augmentation de la résorption osseuse [2, 81, 82, 83, 188]. L'augmentation affecte principalement l'isoenzyme osseuse.

#### b- Lors de néoplasies osseuses

Lors d'ostéosarcome et d'ostéochondrosarcome, une augmentation des phosphatases alcalines est souvent observée mais toutefois cette élévation n'est pas systématique. De plus, cette augmentation est généralement modérée avec des valeurs oscillant entre une à cinq fois la valeur basale de PAL sérique [2, 17, 77, 81, 82, 91, 97, 107, 152, 159, 172, 188].

Cette élévation résulte de la forte activité métabolique des ostéoblastes tumoraux [81, 107, 116]. Par contre, HOFFMANN W.E. [81] a observé que l'augmentation de l'activité ostéoclastique ne provoquait pas de modification des phosphatases alcalines.

SYAKALIMA M. et al. [172] ont mis en évidence que l'augmentation des phosphatases alcalines était imputable :

- aux PAL osseuses seules lors d'ostéosarcome,
- aux PAL osseuses et hépatiques lors d'ostéochondrosarcome.

### 3- Les affections aiguës

Différentes pathologies évoluant sur un mode aigu peuvent provoquer une forte augmentation des phosphatases alcalines :

- péritonite,
- pyomètre,
- pneumonie,
- abcès.

Ces affections sont responsables d'une toxicité hépatique secondaire par anomalie de fonctionnement de la pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  des hépatocytes. Il se produit alors une hyperhydratation et par voie de conséquence une obstruction biliaire [2, 17, 60, 81, 156]. Les PAL observées sont alors des phosphatases alcalines hépatiques.

### 4- Les tumeurs des autres organes

Certaines tumeurs, autres que celles affectant le foie ou les os, peuvent être à l'origine d'une forte élévation des phosphatases alcalines. Ainsi, de nombreuses observations cliniques ont mis en évidence une augmentation des PAL lors de tumeurs mammaires. Cependant, selon BRUNSON D.B. et al. [17] et KARAYANNOPOULOU M. et al. [91], la cause de cette augmentation résiderait dans l'atteinte du foie ou des os par des métastases. Mais cette élévation pourrait également être imputable aux PAL cortico-induites produites lors du stress chronique provoqué par ces tumeurs mammaires.

Les études de HAMILTON J.M. et al. [77] ont mené à la même conclusion ; les chiens souffrant de tumeur mammaire présentaient des valeurs de PAL trois fois supérieures à la valeur basale. Ils firent la même observation pour d'autres processus néoplasiques tels que des carcinomes et des adénomes.

HAMILTON J.M. et al. [77] et KARAYANNOPOULOU M. et al. [91] notèrent enfin que l'augmentation des phosphatases alcalines était indépendante du type de tumeur et de leur caractère malin.

### 5- Les substances exogènes

#### a- Les inducteurs enzymatiques

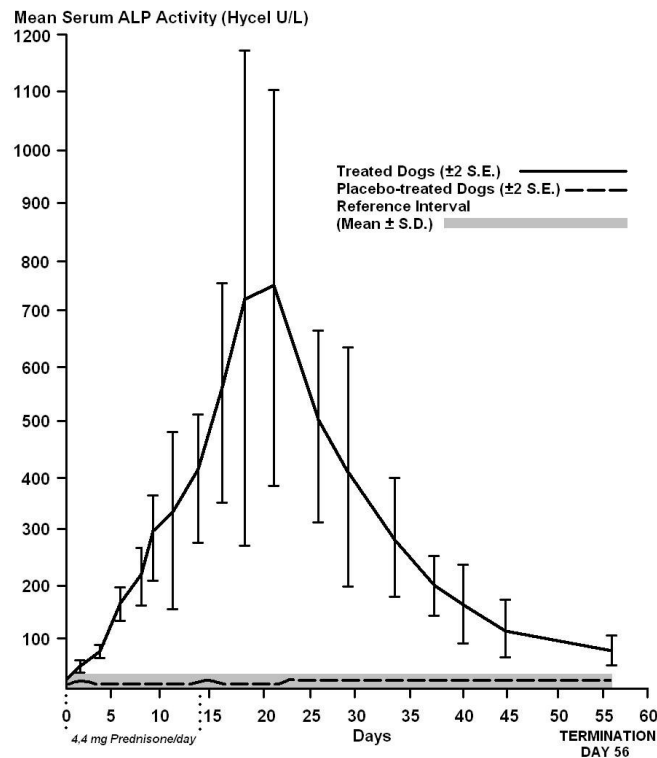
En raison de leur localisation microsomiale, tout inducteur enzymatique provoquera une modification de leur activité et de leur concentration plasmatique. Ainsi les barbituriques, les phénotiazines et la Rifampicine, entre autres stimulent cette induction enzymatique et provoquent une augmentation notable des phosphatases alcalines sériques. Il est à noter que cette augmentation est également observée lors de chimiothérapie anticancéreuse.

Dans la littérature en médecine humaine, il a été rapporté que l'abus d'alcool intervient dans l'élévation des enzymes hépatiques primitivement par un phénomène d'induction enzymatique, d'après SORENSEN S. et al. [170].

#### b- Les glucocorticoïdes

De nombreuses constatations cliniques [3, 31, 33, 35, 76, 81, 82, 84, 107, 125, 156, 172, 177] relatent une augmentation des enzymes hépatiques, dont notamment les phosphatases alcalines, sur des animaux atteints du syndrome de Cushing. Des expérimentations ont par conséquent été

réalisées en vue d'évaluer l'incidence des glucocorticoïdes sur la fonction hépatique et ses principaux marqueurs enzymatiques (Figure n° 70).



**Figure n° 70** : Activité des PAL plasmatiques chez des chiens ayant reçu un placebo pendant 56 jours et chez des chiens ayant développé une dégénérescence hépatique cortico-induite après avoir reçu des injections de corticoïdes pendant 14 jours [3].

De nombreux auteurs [28, 33, 97, 100, 107, 158, 173, 188] mirent en évidence que l'augmentation des phosphatases alcalines lors de corticothérapie était due dans un premier temps à l'isoforme hépatique. Puis après plusieurs mois d'exposition aux glucocorticoïdes, ils observèrent que cette augmentation était alors imputable à l'isoforme cortico-induite. Concernant l'augmentation de l'isoforme hépatique, ils émirent l'hypothèse que l'hypertrophie hépatique serait à l'origine d'une cholestase, c'est-à-dire, une accumulation d'acides biliaires qui provoqueraient alors la solubilisation des PAL hépatiques membranaires.

HOFFMANN W.E. [81] rapporte que l'augmentation des PAL et le temps nécessaire pour induire la production de phosphatases alcalines cortico-induites dépend de la posologie et de la forme des glucocorticoïdes ainsi que de l'animal lui-même.

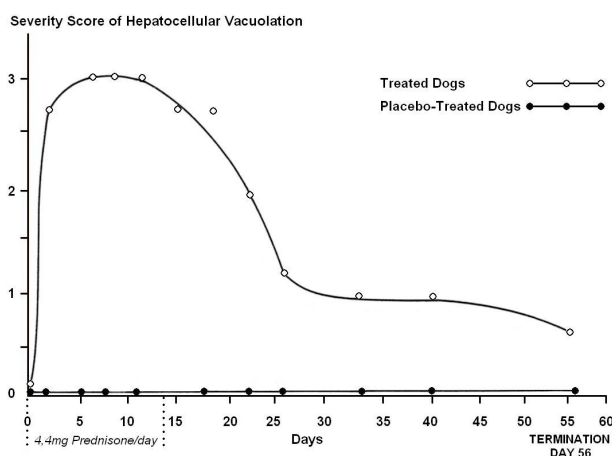
HADLEY S.P. et al. [76] travaillèrent sur l'action des glucocorticoïdes sur les phosphatases alcalines. Mais ils notèrent qu'il leur était impossible de reproduire in vitro l'induction de l'isoforme cortico-induite par les corticoïdes. Ils émirent alors plusieurs hypothèses quant au mécanisme de production de cette isoforme :

- Les conditions expérimentales étaient inappropriées.
- La durée de leur expérience (48 heures) pourrait être insuffisante pour permettre la dépression du gène et la synthèse protéique de l'isoforme cortico-induite.

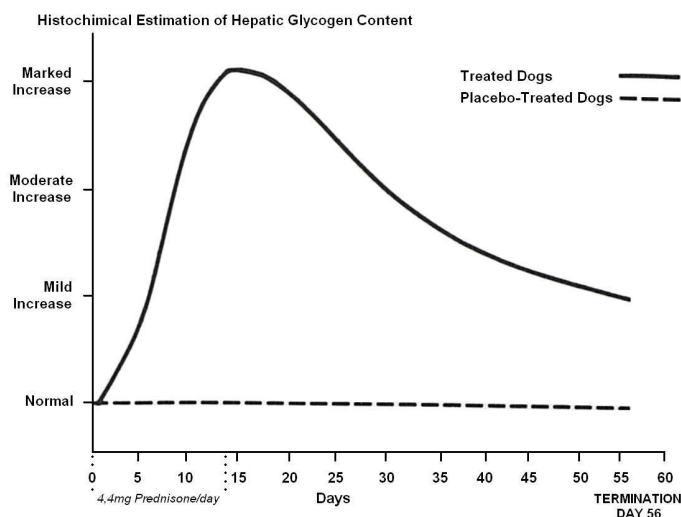
- Les glucocorticoïdes induiraient la formation de médiateurs dans des cellules autres que les hépatocytes et qui seraient les seules à produire l'isoforme cortico-induite. Leur absence dans le milieu de culture expliquerait alors l'échec de l'expérience.
- La formation de l'isoforme cortico-induite résulterait de l'endocytose de l'isoforme intestinale dans les hépatocytes, suivie de sa glycosylation, permettant alors sa conversion en isoforme cortico-induite.

La troisième hypothèse semble d'avantage retenir l'attention de ses auteurs en raison du fait que l'isoforme cortico-induite a déjà été observée dans le sérum de chiens n'ayant pas reçu de corticothérapie ou n'ayant pas développé de syndrome de Cushing. Cette découverte laisserait suggérer l'existence d'autres inducteurs de la forme cortico-induite ou bien celle d'un inducteur primaire et non identifié qui serait produit ou libéré en présence de corticoïdes.

Sur le plan histologique, de nombreux auteurs [3, 76, 97, 100, 107, 158, 173] ont observé des phénomènes de dégénérescence vacuolaire de répartition d'abord diffuse puis centrolobulaire (Figure n° 71). Ils ont également noté des accumulations anormales de glycogène cellulaire d'abord diffuses puis localisées dans les régions périportaires (Figure n° 72, page 136). Il est intéressant de remarquer que cette accumulation est concomitante des injections de corticoïdes et que la quantité de glycogène cellulaire a commencé à diminuer à l'arrêt de ces injections. Au bout des 56 jours qu'a duré l'étude, la nécropsie a révélé des foies pâles, friables et hypertrophiés chez deux des cinq chiens.

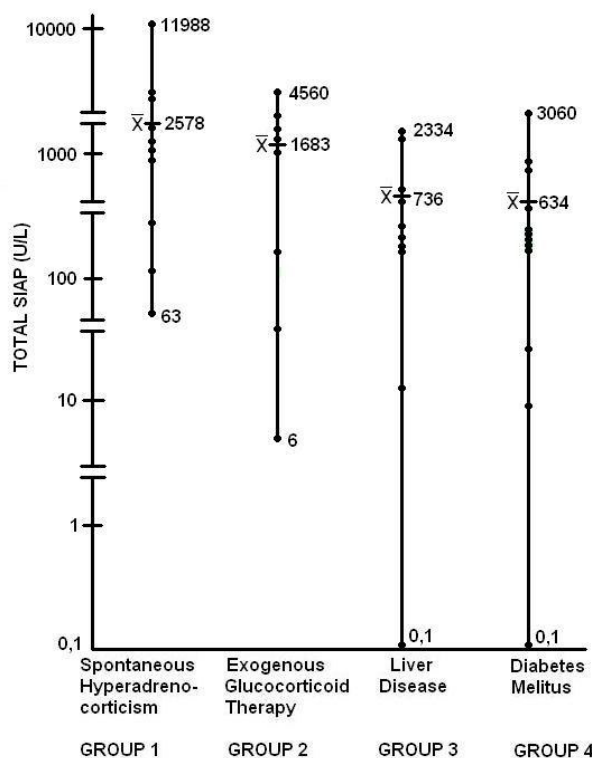


**Figure n° 71** : Importance du phénomène de dégénérescence vacuolaire chez des chiens ayant reçu un placebo pendant 56 jours et chez des chiens ayant développé une dégénérescence hépatique cortico-induite après avoir reçu des injections de corticoïdes pendant 14 jours (0 : moins de 10 % des hépatocytes sont atteints, 1 : 10-30 % des hépatocytes sont atteints, 2 : 30-60 % des hépatocytes sont atteints, 3 : 60-100 % des hépatocytes sont atteints) [3].



**Figure n° 72 :** Composition en glycogène des hépatocytes chez des chiens ayant reçu un placebo pendant 56 jours et chez des chiens ayant développé une dégénérescence hépatique cortico-induite après avoir reçu des injections de corticoïdes pendant 14 jours, (mild increase : 10-50 % d'augmentation du nombre de granules de glycogène, moderate increase : 50-100 % d'augmentation du nombre de granules de glycogène, marked increase : plus de 100 % d'augmentation du nombre de granules de glycogène) [3].

Il est à noter, cependant, que les phosphatases cortico-induites sont également observées et dosées lors de corticothérapie, de diabète sucré et de pathologies hépatiques (Figure n° 73) [121]. Ces pathologies diminuent donc la spécificité de ces phosphatases alcalines.



**Figure n° 73 :** Variations et moyennes des PAL cortico-induites totales lors de syndrome de Cushing, de corticothérapie, de pathologies hépatiques et de diabète sucré [188].

### c- Les anticonvulsivants

Bunch et al [19] ont réalisé une étude statistique sur des chiens qui avaient reçu depuis plus de six mois, soit :

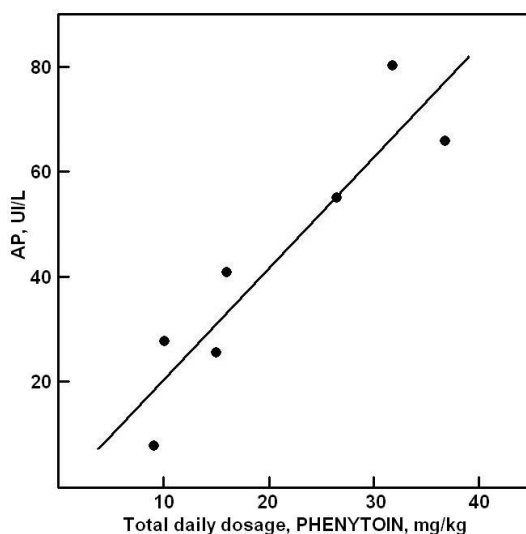
- de la primidone
- de la phénytoïne
- une association médicamenteuse

Ils ont alors noté les résultats suivants :

- taux d'élévation des PAL après traitement à la Primidone : 86 %
- taux d'élévation des PAL après traitement avec une combinaison d'anticonvulsivants : 79 %
- taux d'élévation des PAL après traitement à la Phénytoïne : 43 %

La différence enregistrée pour la phénytoïne s'explique par la diminution d'activité thérapeutique du médicament consécutive à une administration prolongée.

Ils observèrent également qu'il existe une corrélation entre la quantité de phénytoïne administrée et l'activité des phosphatases alcalines (Figure n° 74) : plus la quantité d'anticonvulsivant administré est importante, plus l'activité des PAL augmente.



**Figure n° 74** : Relation entre le dosage de phénytoïne et l'activité des PAL sériques chez 7 chiens, à qui il a été administré de la phénytoïne pendant 6 mois ou plus [19].

Ces résultats concordent avec des observations cliniques courantes.

D'autres études ont été menées sur le phénobarbital et la dilantine et elles aboutirent aux mêmes conclusions ; ces molécules provoquent une augmentation des PAL d'origine hépatique et cortico-induites, par induction enzymatique au niveau des microsomes des hépatocytes [17, 35, 60, 81, 93, 97, 107].

Globalement, on peut conclure qu'il peut y avoir des modifications des paramètres hépatiques chez des chiens recevant des anticonvulsivants sans toutefois avoir des signes cliniques d'atteinte hépatique. Cependant, après un long traitement, le taux d'animaux

présentant une pathologie hépatique chronique (cirrhose) est toutefois plus élevé que chez des individus non traités.

**TROISIEME PARTIE :**  
**ETUDE EXPERIMENTALE DU DIAGNOSTIC ET DU SUIVI**  
**THERAPEUTIQUE DU SYNDROME DE CUSHING**



Comme il a été mentionné dans la partie bibliographique, les glucocorticoïdes sont responsables d'une forte augmentation de l'activité des phosphatases alcalines. Plus précisément, cette augmentation est provoquée par la production de PAL particulières : les phosphatases alcalines cortico-induites.

L'objectif de cette étude est donc de démontrer dans un premier temps, l'intérêt des ces PAL cortico-induites dans le diagnostic de l'hypercorticisme spontané. Puis, dans une deuxième partie, cette étude propose de mettre en évidence la possibilité de suivre le traitement du syndrome de Cushing grâce au dosage de ces phosphatases alcalines cortico-induites.

## **I- MATERIELS ET METHODES**

Cette étude nécessite deux types de population de chiens :

- une population de chiens souffrant d'hypercorticisme, et qui sera nommée population malade
- une population de chiens sains ou souffrant d'une pathologie autre que le syndrome de Cushing, et qui sera nommée population témoin

### **A- Le choix de la population malade**

#### **1- Définition de la population**

L'intérêt de cette population réside dans le fait qu'elle permettra de calculer la sensibilité du test diagnostique. Par conséquent, elle doit être définie rigoureusement.

La population malade est constituée exclusivement de chiens souffrant d'hypercorticisme spontané, et tout animal souffrant d'hypercorticisme iatrogène est exclu de l'étude.

Il a également été décidé que l'origine hypophysaire ou surrénalienne n'était pas un critère de sélection. En effet, de nombreux praticiens ne cherchent pas à diagnostiquer l'étiologie du syndrome de Cushing pour des raisons financières ou matérielles. Ils traitent alors directement l'animal, réalisant de ce fait un diagnostic thérapeutique. Egalement, le très faible nombre de chiens souffrant d'hypercorticisme d'origine surrénalienne dans l'étude, ne permet pas d'interpréter ce critère de manière significative.

Enfin, le traitement médical n'a pas été considéré comme un critère de sélection. En effet, la plupart des animaux malades recevaient un traitement à base d'o,p'-DDD, et de ce fait, les autres traitements médicaux ne peuvent pas être exploités et interprétés significativement en raison du faible effectif de chiens ayant reçu ces traitements.

#### **2- Sélection de la population**

Les chiens malades ont été sélectionnés dans la base de données des services d'Endocrinologie et de Biochimie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon (E.N.V.L.), à partir du 1<sup>er</sup> janvier 2004. Une fois la sélection réalisée, le vétérinaire traitant était contacté afin de :

- permettre la confirmation du diagnostic d'hypercorticisme via l'anamnèse, les commémoratifs, la clinique et les examens complémentaires,

- obtenir de la part des propriétaires, l'autorisation d'exploiter les résultats des dosages réalisés sur leur chien,
- obtenir l'accord des propriétaires pour réaliser un suivi régulier du traitement de leur animal via des dosages gratuits de la cortisolémie basale et de la cortisolémie après stimulation à l'ACTH ainsi que des dosages gratuits des phosphatases alcalines plasmatiques et cortico-induites ; il avait été décidé que les dosages devaient être réalisés chaque mois afin de permettre un suivi fiable.

Il a été décidé de suivre le traitement de l'hypercorticisme au moyen du dosage de la cortisolémie basale et de la cortisolémie après stimulation à l'ACTH en raison de la facilité et de la rapidité de réalisation de ce test. En effet, malgré un manque de sensibilité, ce test constitue le meilleur moyen pour permettre un suivi thérapeutique du syndrome de Cushing. Enfin, on peut remarquer que ces dosages ont été réalisés au service d'Endocrinologie de l'E.N.V.L. grâce au kit Cortisol<sup>®</sup> distribué par DPC<sup>®</sup>.

Le dosage des phosphatases alcalines totales est réalisé au service de Biochimie de l'Ecole grâce au kit Konelab<sup>®</sup>.

Le dosage des PAL cortico-induites est également réalisé par ce service grâce au kit Konelab<sup>®</sup>. Cependant, afin de doser ces phosphatases alcalines particulières, il est nécessaire d'ajouter du lévamisole. Comme il a été mentionné précédemment, le lévamisole inhibe d'avantage les phosphatases alcalines osseuses et hépatiques que les PAL cortico-induites et il a été mis en évidence qu'une concentration de 4,2 mM de lévamisole permettait l'inhibition de 98 % des PAL d'origine osseuse et hépatique contre une inhibition de 42 % des phosphatases alcalines cortico-induites. Ainsi, si l'aliquote contient 4,2 mM de lévamisole, il est possible de conclure que les PAL hépatiques et osseuses ont été complètement inhibées en ignorant les 2 % restant et que les PAL dosées sont alors exclusivement des PAL cortico-induites. Enfin, il doit être précisé que l'étude se basera uniquement sur les valeurs de phosphatases alcalines cortico-induites après inhibition au lévamisole ; ces valeurs ne représenteront pas exactement l'activité totale de ces PAL mais une fraction de 52 % de cette activité.

La collecte de données a été arrêtée le 30 juin 2005.

### 3- La population malade

Seuls les chiens dont le diagnostic d'hypercorticisme était posé ont pu être inclus dans l'étude. De plus, n'ont été inclus que les animaux présentant au moins un dosage de suivi de la cortisolémie. Les chiens n'ayant qu'un seul dosage, c'est-à-dire celui du diagnostic de suspicion et n'ayant pas subi d'autre examen complémentaire, n'ont pas pu être inclus dans l'étude en raison du manque de fiabilité du test de stimulation à l'ACTH responsable d'un certain nombre de faux positifs. Une exception a été faite concernant trois chiens ; un seul dosage a été réalisé mais un diagnostic étiologique par échographie a été entrepris et a mis en évidence une tumeur surrénalienne pour deux d'entre eux et une hyperplasie bilatérale des glandes surrénales chez l'autre.

La population malade est donc constituée de 64 chiens, dont l'hypercorticisme été diagnostiqué cliniquement, par des examens complémentaires et par un traitement médical.

Le Tableau n° 15 (pages 144 à 149) regroupe la date de réception des échantillons et leurs dosages pour les différents chiens de l'étude (dates : dates de réalisation des dosages, FB : cortisolémie basale, FS : cortisolémie après stimulation à l'ACTH, PAL + léva : activité des PAL après inhibition par le lévamisole).

#### 4- Les limites du suivi

##### a- Les limites liées aux propriétaires

L'une des limites de l'étude a été la régularité du suivi. Initialement, les dosages devaient être réalisés mensuellement, mais cette fréquence était rarement respectée. En effet, des raisons techniques pouvaient limiter le nombre de visites. Ainsi la contention et la garde de vieux chiens ou d'animaux stressés pour réaliser le test de stimulation pouvaient inciter les propriétaires et les praticiens à limiter le nombre de prises de sang pour le suivi. Egalement, des raisons financières pouvaient expliquer cette irrégularité. Ainsi, malgré la prise en charge du coût des dosages de la cortisolémie avant et après stimulation à l'ACTH et des dosages des phosphatases alcalines totales et cortico-induites, des propriétaires ont espacé les visites de plusieurs mois, notamment en raison de la facturation de la consultation, de l'injection de Synacthène® et de l'envoi des prélèvements par certains praticiens.

Par ailleurs, de nombreux suivis n'ont pas pu être exploités en raison de leur arrêt précoce suite à l'arrêt du traitement ou de la mort de l'animal. En effet, il doit être rappelé que le traitement médical de l'hypercorticisme est onéreux, d'autant plus si l'animal est d'un grand gabarit car la dose administrée au chien est fonction de son poids. Par ailleurs, de nombreux effets secondaires peuvent survenir lors du traitement, notamment si celui-ci est mal géré. Ainsi, si une crise Addisonnienne se manifeste, le traitement doit être immédiatement interrompu en vue de réaliser une corticothérapie. Enfin, il doit être rappelé que le syndrome de Cushing est une pathologie mortelle, même en cas de traitement.

##### b- Les limites liées aux praticiens

Le test de stimulation à l'ACTH est relativement standardisé. Il existe deux voies d'injection de l'ACTH, dont dépend le délai d'attente et la dose injectable est définie en fonction du poids de l'animal. Cependant, des erreurs de manipulation peuvent se produire telles que le non respect du délai d'attente ou l'injection de la mauvaise quantité d'ACTH. Or ces erreurs peuvent interférer avec les résultats des dosages, et en raison de l'impossibilité de les détecter, le suivi thérapeutique s'en trouve biaisé.

Egalement, il est arrivé que des praticiens n'envoient qu'un seul échantillon de sang, sans donner aucune indication, rendant de ce fait le dosage impossible et le suivi moins fiable.

##### c- Les limites liées au dosage

Certains dosages étaient difficilement réalisables et interprétables en raison de la faible quantité de sang prélevé. En effet, la quantité minimale de sang pour permettre à l'automate de réaliser un dosage est de 0,2 ml. Pour une quantité moindre, l'automate est incapable de prélever l'échantillon et il est alors nécessaire de le diluer pour l'exploiter. Or il faut rappeler que la dilution diminue la fiabilité du dosage.

Cas	Dates	FB (nmol/l)	FS (nmol/l)	PAL (UI/l)	PAL + léva (UI/l)
1	27/05/2005	174	271	1761	1010
	22/04/2005	165	178	2396	1574
	25/03/2005	224	293	1885	1070
	14/01/2005	206	316	1082	621
	15/11/2004	165	171	1394	881
	11/10/2004	193	262	1525	1040
	27/08/2004	98	218	1597	875
	24/06/2004	148	224	2067	1127
	10/06/2004	289	470	3202	2129
	17/05/2004	234	600	1171	732
2	25/03/2005	99	399	1086	453
	17/01/2005	109	454	764	298
	10/11/2004	85	119	1723	815
	19/10/2004	193	975	1468	706
	29/06/2004	102	571	1096	457
	24/03/2004	30	60	4364	2216
	15/03/2004	33	35	6246	3121
	16/02/2004	104	/	825	391
	02/02/2004	118	986	650	439
3	15/06/2005	11	538	1945	780
	11/05/2005	147	687	1995	1007
	13/04/2005	115	676	2435	1349
	15/03/2005	98	613	1761	1015
	16/02/2005	78	665	1991	1319
	23/11/2004	109	646	1682	987
	23/09/2004	110	463	1657	891
	18/08/2004	135	888	238	136
	16/06/2004	35	739	1781	1177
4	10/02/2005	60	125	593	418
	12/11/2004	82	228	358	239
	29/07/2004	64	141	430	226
	17/05/2004	68	201	1040	746
	03/05/2004	155	324	655	452
	12/03/2004	68	90	392	299
	18/02/2004	13	20	2638	1919
	26/01/2004	184	578	1263	880
5	13/07/2004	85	1072	3311	1703
	04/06/2004	80	909	404	222
	05/05/2004	129	708	1327	646
	30/03/2004	108	1030	9386	4491
	23/02/2004	81	404	876	354
	30/01/2004	49	909	976	483
	17/12/2003	599	1019	773	469

**Tableau n° 15 :** Suivi de la cortisolémie avant et après stimulation à l'ACTH, des PAL et des PAL cortico-induites chez les chiens de l'étude.

Cas	Dates	FB (nmol/l)	FS (nmol/l)	PAL (UI/l)	PAL + léva (UI/l)
6	26/04/2005	183	546	4132	2260
	09/02/2005	170	628	3993	2071
	21/09/2004	205	627	3292	1526
	13/07/2004	193	823	2835	1626
	22/04/2004	397	666	1833	856
	12/03/2004	87	758	1087	611
	28/01/2004	188	570	776	407
7	22/10/2004	85	466	9483	6568
	13/09/2004	53	404	7580	4437
	28/07/2004	31	215	1974	1499
	04/06/2004	/	278	7898	5376
	16/03/2004	39	532	24275	16858
	10/02/2004	46	374	4802	2721
	22/01/2004	191	933	111	91
8	15/10/2004	19	22	331	197
	30/08/2004	18	18	526	299
	13/07/2004	59	101	6264	4607
	04/06/2004	76	269	14144	11770
	05/05/2004	139	936	12670	9332
	13/04/2004	130	693	7597	5216
	19/03/2004	150	860	2657	1095
9	18/03/2005	155	720	8608	5634
	04/02/2005	139	1163	12202	8130
	14/12/2004	731	924	1112	728
	01/12/2004	99	847	11779	6895
	09/07/2004	121	253	6359	4014
	24/05/2004	133	503	4661	2349
	16/04/2004	249	1009	2445	1377
10	13/05/2005	38	123	2014	1123
	08/03/2005	26	47	772	342
	30/12/2004	<5	<5	9920	6473
	28/09/2004	95	376	912	26
	24/06/2004	28	66	7289	5063
	27/04/2004	138	808	82176	50493
	20/04/2004	48	406	6552	4401
11	17/05/2005	145	398	292	145
	14/03/2005	21	/	134	63
	03/03/2005	86	/	127	54
	16/02/2005	95	921	141	59
	09/12/2004	129	1400	4387	2276
	15/11/2004	142	/	3302	1400
	30/09/2004	218	1793	1604	641

**Tableau n° 15 (suite) :** Suivi de la cortisolémie avant et après stimulation à l'ACTH, des PAL et des PAL cortico-induites chez les chiens de l'étude.

Cas	Dates	FB (nmol/l)	FS (nmol/l)	PAL (UI/l)	PAL + léva (UI/l)
12	16/03/2005	146	319	2731	634
	01/02/2005	189	657	2872	922
	30/09/2004	137	377	918	409
	28/06/2004	20	22	1387	657
	24/05/2004	63	/	1279	464
	26/04/2004	138	673	1169	222
13	29/11/2004	45	196	1303	937
	09/09/2004	377	501	1668	1137
	21/07/2004	179	456	1772	1151
	09/06/2004	246	428	1210	971
	11/05/2004	309	/	1071	813
	29/04/2004	468	533	1077	744
14	29/04/2005	97	356	324	165
	25/03/2005	101	319	383	196
	28/01/2005	39	93	307	173
	28/12/2004	53	480	287	164
	10/11/2004	29	668	276	168
	04/10/2004	29	526	247	145
15	12/04/2005	97	289	149	85
	03/03/2005	76	309	191	103
	11/01/2005	117	252	1475	789
	04/01/2005	84	213	936	569
	09/12/2004	206	826	280	157
	13/10/2004	128	678	143	76
16	12/10/2004	17	65	760	509
	05/07/2004	122	140	1007	694
	05/04/2004	120	151	751	594
	25/02/2004	167	/	1006	736
	09/02/2004	275	364	677	502
17	15/04/2005	96	248	125	21
	12/11/2004	243	441	187	76
	19/07/2004	148	304	157	34
	14/04/2004	158	/	167	85
	19/03/2004	216	524	167	33
18	26/11/2004	63	631	189	84
	13/10/2004	115	359	327	183
	13/09/2004	104	305	444	225
	05/08/2004	58	/	356	180
	22/07/2004	97	528	113	40
19	07/03/2005	120	388	356	167
	25/01/2005	80	500	227	97
	10/11/2004	68	362	615	397
	05/10/2004	103	284	389	185
	31/08/2004	45	548	152	64

**Tableau n° 15 (suite) :** Suivi de la cortisolémie avant et après stimulation à l'ACTH, des PAL et des PAL cortico-induites chez les chiens de l'étude.

Cas	Dates	FB (nmol/l)	FS (nmol/l)	PAL (UI/l)	PAL + léva (UI/l)
19	07/03/2005	120	388	356	167
	25/01/2005	80	500	227	97
	10/11/2004	68	362	615	397
	05/10/2004	103	284	389	185
	31/08/2004	45	548	152	64
20	02/05/2005	577	1256	3927	871
	15/04/2005	147	1234	2565	569
	18/03/2005	160	264	3263	705
	28/02/2005	357	1062	3230	796
	24/01/2005	113	1400	1954	591
21	02/06/2005	418	451	2492	260
	17/01/2005	208	828	196	261
	14/12/2004	117	410	777	262
	02/12/2004	208	828	196	5
22	22/01/2005	22	226	1146	640
	24/12/2004	18	221	1222	836
	04/11/2004	35	259	2058	1389
	19/10/2004	135	918	637	430
23	10/02/2005	108	1145	9550	6719
	08/11/2004	56	943	13124	8924
	04/10/2004	122	621	18179	13324
	30/08/2004	145	893	10484	7176
24	11/01/2005	122	502	1826	832
	15/09/2004	167	320	1343	580
	23/07/2004	41	72	824	347
	15/06/2004	116	735	1449	519
25	30/08/2004	45	246	789	312
	30/04/2004	109	222	3209	1810
	11/02/2004	199	/	219	104
	28/01/2004	89	633	381	221
26	12/07/2004	246	1162	410	247
	03/02/2004	102	248	1029	922
	14/01/2004	205	/	10075	7084
	07/01/2004	275	1302	1176	832
27	13/05/2005	45	209	246	37
	07/01/2005	33	182	158	65
	29/11/2004	48	166	645	432
	25/08/2004	245	518	459	249
28	20/12/2004	92	727	1139	679
	19/11/2004	59	600	999	540
	04/02/2004	139	/	3628	2557
	28/01/2004	201	1078	1525	800
29	20/07/2004	27	32	522	270
	01/07/2004	106	127	2070	1250
	07/06/2004	94	/	1197	804
	26/05/2004	112	672	1106	726

**Tableau n° 15 (suite) :** Suivi de la cortisolémie avant et après stimulation à l'ACTH, des PAL et des PAL cortico-induites chez les chiens de l'étude.

Cas	Dates	FB (nmol/l)	FS (nmol/l)	PAL (UI/l)	PAL + léva (UI/l)
30	11/10/2004	153	612	1854	1053
	30/07/2004	152	272	3800	2519
	25/06/2004	117	667	1792	1199
	26/04/2004	274	737	841	336
31	21/02/2005	<5	<5	109	83
	17/02/2005	106	222	131	79
	27/09/2004	149	533	748	442
32	17/01/2005	69	197	220	90
	24/11/2004	<5	<5	2714	1965
	10/05/2004	105	594	269	164
33	11/02/2005	100	537	3989	2330
	01/02/2005	200	692	2231	671
	13/01/2005	190	1076	1290	407
34	10/11/2004	112	1039	1306	903
	26/08/2004	81	/	515	316
	16/08/2004	89	625	437	292
35	21/04/2005	37	69	290	211
	08/03/2005	23	27	1738	1014
	26/11/2004	114	706	1435	787
36	17/02/2005	76	460	104	56
	21/10/2004	61	202	2515	1594
	04/10/2004	70	575	812	442
37	07/07/2004	<5	<5	469	280
	04/06/2004	45	194	739	494
	08/03/2004	167	465	612	329
38	21/04/2005	108	353	1044	705
	02/11/2004	51	552	1679	893
	24/09/2004	109	585	706	421
39	06/05/2004	73	938	18637	13358
	24/03/2004	140	717	388955	313127
	01/03/2004	488	584	24250	17465
40	29/07/2004	111	496	2646	933
	05/07/2004	85	503	4871	2326
	18/06/2004	84	521	1817	1010
41	15/10/2004	56	95	244	91
	03/06/2004	153	228	568	223
	16/02/2004	147	596	697	263
42	22/03/2004	220	651	99606	78914
	19/02/2004	237	/	7225	4886
	02/02/2004	158	764	5820	4042
43	12/05/2004	126	154	123	91
	09/04/2004	207	1433	901	286
	23/03/2004	196	1197	965	285

**Tableau n° 15 (suite) :** Suivi de la cortisolémie avant et après stimulation à l'ACTH, des PAL et des PAL cortico-induites chez les chiens de l'étude.

Cas	Dates	FB (nmol/l)	FS (nmol/l)	PAL (UI/l)	PAL+léva (UI/l)
44	29/09/2004	<5	<5	3896	2283
	20/09/2004	69	/	4025	2237
	09/09/2004	95	451	3383	1922
45	06/05/2004	455	806	4551	3106
	02/04/2004	210	667	43349	34098
	25/02/2004	146	752	5906	3922
46	25/03/2005	78	172	2563	1458
	14/01/2005	114	936	1691	925
47	07/03/2005	32	57	555	93
	27/01/2005	51	716	248	43
48	17/01/2005	92	653	3695	765
	02/12/2004	49	755	2130	523
49	29/04/2005	39	223	3355	2449
	09/12/2004	296	1092	10048	4375
50	06/01/2005	54	62	8346	5882
	25/11/2004	68	713	1918	1341
51	23/06/2004	130	552	252	82
	02/03/2004	231	513	100	50
52	28/04/2005	56	177	6165	4371
	06/10/2004	54	221	3921	2510
53	29/11/2004	36	51	298	105
	18/10/2004	57	548	571	277
54	25/01/2005	25	193	1067	659
	15/10/2004	64	660	2728	1561
55	24/12/2004	192	1067	1754	533
	15/10/2004	126	708	1849	1215
56	19/01/2005	26	91	3776	2312
	13/12/2004	128	1105	799	484
57	08/06/2004	67	92	529	185
	12/05/2004	59	948	240	127
58	03/06/2004	10	13	735	282
	29/04/2004	86	601	487	161
59	08/06/2004	8	8	91	71
	12/05/2004	174	529	742	163
60	09/08/2004	81	236	1160	513
	12/07/2004	94	1005	815	323
61	03/06/2004	89	377	1510	1067
	17/05/2004	51	278	1241	815
62	27/01/2005	131	1157	1217	729
63	15/10/2004	94	1086	4520	2837
64	21/03/2005	211	/	2538	1580

**Tableau n° 15 (suite) :** Suivi de la cortisolémie avant et après stimulation à l'ACTH, des PAL et des PAL cortico-induites chez les chiens de l'étude.

Egalement, la qualité médiocre d'un certain nombre d'échantillons rendait leur dosage moins fiable. Ainsi, un dépôt de fibrine pouvait se former et diminuer la quantité de matériel à doser, ce qui nécessitait alors de réaliser une dilution.

Il est à noter qu'un petit nombre de résultats étaient ininterprétables. Certaines cortisolémies étaient trop basses pour être mesurées ; l'automate ne pouvait alors qu'indiquer « < 5 nmol/l ». Egalement, pour quelques dosages de phosphatases alcalines, la valeur était tellement élevée que l'automate était incapable de la mesurer ; une dilution de l'échantillon devait être alors réalisée.

Enfin, comme il a été mentionné précédemment, une concentration de 4,2 mM de lévamisole permet d'inhiber 98 % des PAL d'origine hépatique et osseuse. Cela permet donc d'ignorer les 2 % restants et de considérer que les phosphatases alcalines dosées sont exclusivement des PAL cortico-induites. Cependant, si l'activité plasmatique des PAL hépatiques ou osseuses est très élevée, il ne sera pas possible d'ignorer la fraction non inhibée lors de l'ajout de lévamisole. De ce fait, l'approximation initiale risque de biaiser les résultats. Cependant, de nombreuses études ont été menées en réalisant cette approximation telles que celle de FONTAINE J. et al. [60] et de HOFFMANN W.E. et al. [84], et ont donné des résultats exploitables et significatifs.

## **B- Le choix de la population témoin**

### **1- Définition de la population**

Tout comme la population malade, cette population doit être définie rigoureusement, car elle permet de calculer la spécificité du test diagnostique.

Cette population est constituée de chiens sains ou souffrant d'une pathologie autre que l'hypercorticisme spontané. Tout animal souffrant d'hypercorticisme iatrogène ou ayant reçu une ou plusieurs administrations de corticoïdes a été exclu de l'étude. En effet, cette dernière cherche à mettre en évidence l'action des glucocorticoïdes endogènes sur l'activité des phosphatases alcalines cortico-induites. Or l'administration de corticoïdes exogènes fausserait les résultats et l'inclusion d'animaux ayant reçu une corticothérapie dans la population témoin biaiserait cette population.

### **2- Sélection de la population**

A partir du 1<sup>er</sup> janvier 2004, il a été demandé au service de Biochimie de l'E.N.V.L. de doser systématiquement l'activité des phosphatases alcalines cortico-induites lorsqu'un dosage des PAL était demandé par les cliniques de l'Ecole. Les animaux témoins ont alors été sélectionnés dans la base de données de ce service.

Le dosage de l'activité des PAL plasmatiques et des phosphatases alcalines cortico-induites était réalisé suivant le même protocole que le dosage de l'activité des PAL pour les animaux malades.

Enfin, le logiciel informatique Clovis<sup>®</sup> utilisé conjointement par le service de Biochimie et les cliniques de l'Ecole, permettait d'inclure ou d'exclure les cas en fonction de leurs commémoratifs et de leur diagnostic. Ainsi comme il a été précisé précédemment, tout animal suspect d'hypercorticisme spontané était exclu de l'étude, ainsi que tout animal ayant reçu une ou plusieurs administrations de corticoïdes. Cependant, ce dernier cas pouvait poser

problème. En effet, les commémoratifs décrits sur le logiciel Clovis<sup>®</sup> ne permettaient pas de connaître avec précision la molécule administrée, ni sa dose, ni sa voie d'administration, ni sa forme galénique. Or la durée d'action des corticoïdes dépend de ces paramètres. Il a alors été décidé, de manière arbitraire, que seuls les chiens n'ayant pas reçu de corticoïdes pendant une période de deux mois précédant le dosage des PAL, pouvaient être inclus dans l'étude en tant qu'animaux témoins. Les chiens ayant reçu des corticoïdes à courte et moyenne durée d'action avant cette période de deux mois, pouvaient être inclus dans l'étude car il pouvait être estimé que les corticoïdes avaient été complètement éliminés au moment du dosage de l'activité des phosphatases alcalines. Cependant, cette période ne permettait pas d'exclure les chiens ayant reçu des corticoïdes à longue durée d'action. Ce manque d'information concernant les commémoratifs des chiens témoins pouvait donc biaiser les résultats de l'étude.

La collecte de donnée a été arrêtée le 30 juin 2005.

### 3- La population témoin

La population témoin est donc composée de 123 chiens sains ou souffrant d'une pathologie autre que l'hypercorticisme, comme l'indique leur diagnostic noté dans le Tableau n° 16 (pages 152 à 155). Ce tableau regroupe également les dosages biochimiques réalisés sur ces différents chiens.

## **II- LE DIAGNOSTIC DU SYNDROME DE CUSHING**

### **A- Répartition des populations**

Les Figures n° 75 et 76 (pages 156) montrent que la distribution des populations malade et témoin suit une distribution normale. De plus, on peut remarquer que la répartition de ces deux populations est différente et qu'il semble possible de les distinguer en utilisant un seuil dont le logarithme est compris entre 2 et 2,4, ce qui correspond à un seuil compris entre 100 UI/L et 160 UI/L.

Deux tests diagnostiques peuvent alors être réalisés à partir des populations malade et témoin :

- un test diagnostique à un seuil (ou à deux catégories) : soit l'animal testé est malade, soit il est sain,
- un test diagnostique à deux seuils (ou à trois catégories) : soit l'animal testé est malade, soit il est sain, soit le résultat est douteux et ne peut permettre de poser un diagnostic

### **B- Test diagnostique à un seuil**

#### 1- Définition des caractéristiques du test

- a- Les caractéristiques intrinsèques du test

La sensibilité (Se) d'un test représente son aptitude à fournir une réponse positive chez un individu malade.

La spécificité (Sp) d'un test représente son aptitude à fournir une réponse négative chez un animal sain

N°	Urée mmol/l	Créatinine µmol/l	Glucose mmol/l	Protéines g/l	Calcémie mmol/l	Triglycérides mmol/l	Cholestérol mmol/l	Acides biliaires µmol/l	Albumine g/l	ALAT UI/l	PAL UI/l	PAL+Léva UI/l	Diagnostics
Unités	[2-7]	[0-135]	[3,5-6,5]	[50-72]	[2,3-2,9]		[3,5-7,2]	[0-30]	[27-38]	[5-80]	[0-200]	UI/l	
Normes	[2-7]	[0-135]	[3,5-6,5]	[50-72]	[2,3-2,9]		[3,5-7,2]	[0-30]	[27-38]	[5-80]	[0-200]	UI/l	
1	7,5									36	297	114	glaucome
2	3,7	88								18	51	1	tumeur palpébrale
3	82,6	1014								111	558	25	insuffisance rénale aigue
4	14,2	108				8,59	6,8			38	304	1	myosite
5	4,2	74								30	213	6	crises psychomotrices
6	3,9	90								15	85	1	défarfrage
7	10,1	117								47	203	30	dépression du vieux chien
8	5	100								27	69	13	rupture du LCC
9	7,3	59								37	124	10	hernie périnéale
10	11,1	94								23	629	14	pyomètre
11	6,6	88								42	308	10	gastrite aigue
12	3,3	88								62	476	55	schwannome
13	4,9									43	43	2	tumeur mammaire
14	3,6	79	6,84	65	2,71	0,72	6,14	3		112	72	4	crises convulsives
15	3,4	51	7,57							37	289	23	parvirose
16	7,1	76								31	423	57	tumeur mammaire
17	4,1	78								32	118	31	uvéite et masse intraoculaire
18	6,8	64		62					24	63	402	47	gastro-entérite
19	1,6	79								196	313	99	insuffisance hépatique
20	6,9									33	73	21	tumeur mammaire
21	4,7									78	463	46	polyglobulie et épilepsie
22	2,9	50								531	5865	113	leptospirose
23	4,1	82								37	98	6	epistaxis
24	6,4	108								106	609	351	fistule au niveau de la face ventrale du cou
25	1,6	71		75	2,62		6,98	1		43	69	24	pyodermite
26	4,6	94								28	252	93	tumeur mammaire
27	11,6	84								217	256	47	otite chronique
28	8,1	65								45	159	3	retrait de points
29	3,3	71								26	226	74	cataracte nucléocorticale
30										1395	5492	42	mucocoele de la vésicule biliaire

Tableau n° 16 : Bilan biochimique et diagnostic des chiens de la population témoin.

N°	Urée mmol/l	Créatinine µmol/l	Glucose mmol/l	Protéines g/l	Calcémie mmol/l	Triglycérides mmol/l	Cholestérol mmol/l	Acides biliaires µmol/l	Albumine g/l	ALAT UI/l	PAL UI/l	PAL+Léva UI/l	Diagnostics
Normes	[2-7]	[0-135]	[3,5-6,5]	[50-72]	[2,3-2,9]		[3,5-7,2]	[0-30]	[27-38]	[5-80]	[0-200]		
31	4,9	64								148	508	70	cataracte bilatérale
32	2,3	55								10	93	4	pyomètre
33	5,2	77				9,6				864	2317	383	cholécystite
34	19,6	236	7,72							164	4650	704	cholécystite et pancréatite
35										267		45	ostéopathie
36	4,3	79				11,06	12,99			11	485	197	tumeur mammaire
37	7	86	6,3				5,81			86	182	48	hernie discale
38	4,7	81								27	97	49	rupture du LCC
39	2,9	60								34	268	123	entorse du genou
40	6									15	71	7	castration
41	10,3	85	6,53							36	467	331	suivi de circumalanome
42	7,7	72								81	55	1	tumeur mammaire
43	9,1	75	5,98							45	453	66	suivi
44	4,5	91								20	49	3	gingivite et luxation de la rotule
45	9,4	147								50	155	13	hernie périméale
46	2,1	68								23	184	12	tumeur vaginale
47	6,6	111	5,67							27	76	23	hypothyroïdie
48	4,2	102	6,05							41	80	12	kystes prostatiques
49	4,5	98	4,36							31	49	11	hernie périméale
50	5,5	70					5,35			95	198	20	fibrose pulmonaire idiopathique
51	7,5	97								108	81	1	rupture du LCC et luxation de la rotule
52	5,3	103								59	139	10	problème nasal
53	4,7	68								19	85	3	tumeur mammaire
54	3,7	71	6,7							29	65	5	fracture de la machoire
55	6,8	64								95	178	97	tumeur vaginale
56	4,2	70								32	58	30	rupture du LCC
57	5	71								63	940	33	entorse du genou
58	4,1	56								176	134004	807	sarcome
59	4,8	81	5,35							37	416	94	tumeur osseuse

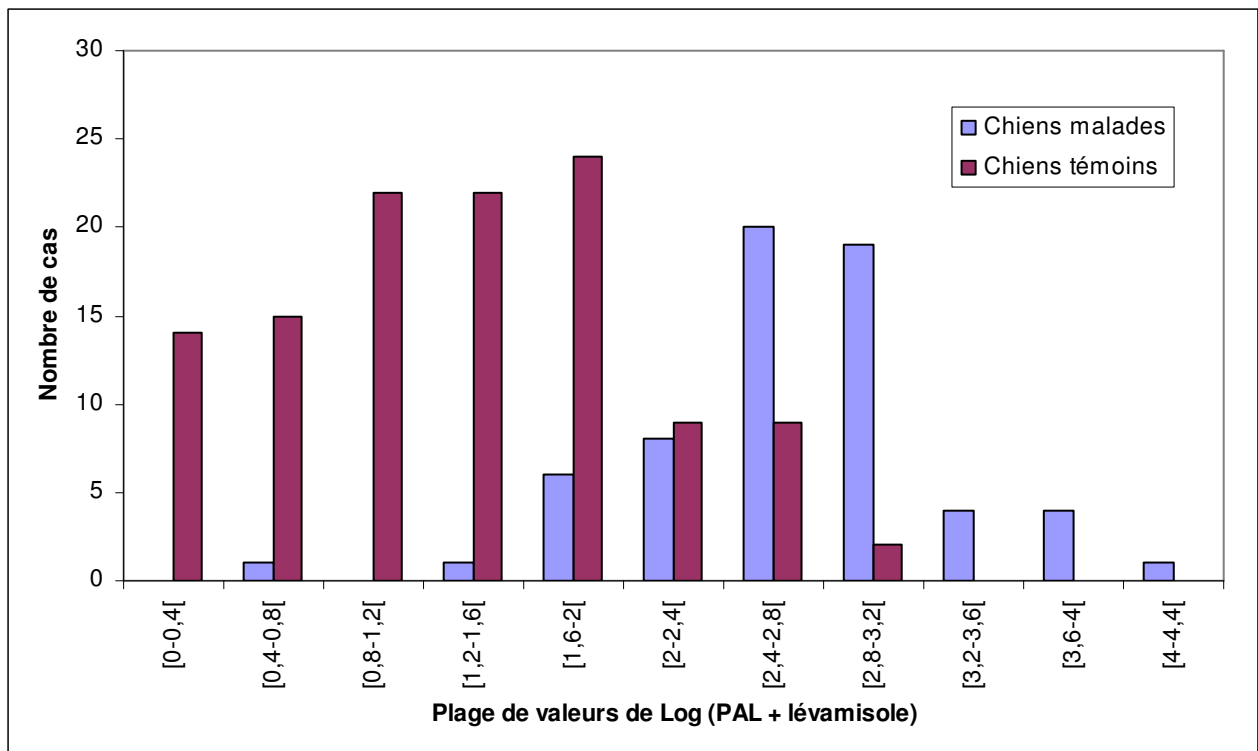
Tableau n° 16 (suite) : Bilan biochimique et diagnostic des chiens de la population témoin.

N°	Urée mmol/l	Créatinine µmol/l	Glucose mmol/l	Protéines g/l	Calcémie mmol/l	Triglycérides mmol/l	Cholestérol mmol/l	Acides biliaires µmol/l	Albumine g/l	ALAT U/l	PAL U/l	PAL+Léva U/l	Diagnostics
Unités													
Normes	[2-7]	[0-135]	[3,5-6,5]	[50-72]	[2,3-2,9]		[3,5-7,2]	[0-30]	[27-38]	[5-80]	[0-200]		
60	5,3	96								33	101	9	trouble digestif
61	4,9	101								28	109	6	tumeur mammaire
62	24,6	131	3,61							23	298	49	tumeur pulmonaire et insuffisance cardiaque
63	5,3	69								24	785	335	tumeur mammaire
64	3,4	77								49	1008	586	nécrose de la tête et du col du fémur
65	18,1	73								45	45	3	calculs vésicaux
66	5,3	77								19	65	11	ovariectomie
67	5,9	96		79						17	432	149	pyomètre
68	6,6	71								85	93	45	tumeur mammaire
69	14,1	90								38	59	7	hernie périnéale
70	3,9	68	5,33				10,6				242	25	alopécie d'origine inconnue
71	7	96								79	96	7	alopécie d'origine inconnue
72	7,7	88								37	91	6	détartrage
73	5,2	89	5,16		2,36					363	1668	17	bilan de santé
74	4,4	53	8,15							57	128	19	tumeur mammaire
75	5,4	80								37	72	24	papillome
76	3,5	63								32	89	15	tumeur buccale
77	23,9	249			3,09					36	227	2	insuffisance rénale et mégaoesophage
78	5,1	64	6,1	54						127	246	11	gastro-entérite
79	5,4	71								36	57	2	détartrage
80	1,9	61								36	176	9	tumeur mammaire
81	2,8	59	5,54							12	196	4	corps étranger gastrique/duodénal
82	4,2	79								57	170	71	gingivite sévère
83	12,7	96								42	116	2	corps étranger intestinal
84	7,4	66								26	60	1	détartrage
85	6,7	74								41	490	31	douleur d'origine inconnue
86	3	106	4,88			1,35	9,8			31	343	1	syndrome vestibulaire périphérique
87	13,7	115	7,25							26	165	53	infection du tractus urinaire
88	2,7	85								64	109	31	malabsorption chronique

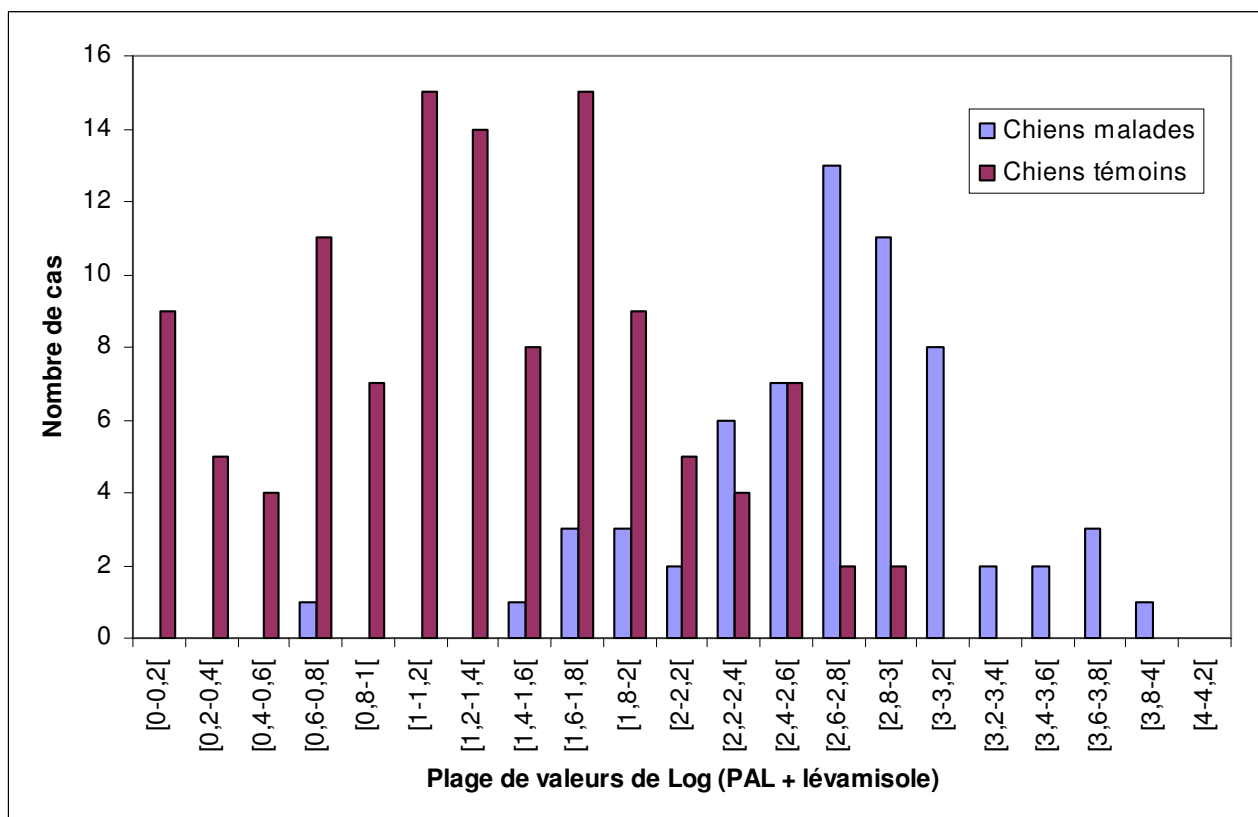
Tableau n° X (suite) : Bilan biochimique et diagnostic des chiens de la population témoin.

N°	Urée mmol/l	Créatinine µmol/l	Glucose mmol/l	Protéines g/l	Calcémie mmol/l	Triglycérides mmol/l	Cholestérol mmol/l	Acides biliaires µmol/l	Albumine g/l	ALAT U/l	PAL U/l	PAL+Léva U/l	Diagnostics
Unités													
Normes	[2-7]	[0-135]	[3,5-6,5]	[50-72]	[2,3-2,9]		[3,5-7,2]	[0-30]	[27-38]	[5-80]	[0-200]		
89	4,5	109							98	164	4	4	castration
90	2,9	83							35	105	16	16	tumeurs des cavités nasales
91	6,3	102							51	79	10	10	lombalgie d'origine inconnue
92	6,5	81							40	59	1	1	épanchement abdominal cardiogénique
93	5,5	75							193	1068	454	454	tumeur mammaire
94	9,5	81	5,16						38	152	24	24	hyperthermie d'origine inconnue
95	12,3	69							38	639	58	58	plaie du jarret droit
96	12,2	111	5,63						62	455	314	314	tumeur testiculaire et castration
97	2,7	79							229	848	370	370	tumeur médiastinale
98	11,1	78							92	579	378	378	tumeur intrathoracique
99	3,2	80							222	427	249	249	tumeur mammaire
100	4,1	141							66	247	4	4	suivi d'anémie sévère
101	5,3	85		69					44	89	10	10	arthrose
102	5,7	67							29	191	76	76	adénome palpébral
103	3,5	72							30	132	23	23	ovario-hystérectomie
104	6,2	68							171	136	51	51	détartrage
105	46,3	2382	5,84	71					76	21	1	1	insuffisance rénale chronique
106	32,1	136	7,68						48	295	36	36	piroplasmose et tumeur des cavités nasales
107	3,3	80							39	63	4	4	détartrage
108	4,9	76	6,64						27	86	2	2	incontinence urinaire
109	7,7	82							55	245	163	163	kystes prostatiques
110	9	74	6,73						40	114	9	9	suivi
111	7,3	56							30	611	35	35	anémie hémolytique auto-immune
112	6,2	79	7,65	68					42	55	7	7	tumeur palpébrale
113	4,2	79							134	420	137	137	trouble oculaire
114	4	82							43	207	44	44	otite supurée et prociidence de la 3e paupière
115	3,8	66							23	453	244	244	suivi
116	5,4	102							62	124	25	25	bilan de santé
117	5,9	98							47	208	11	11	diarrhée hémorragique d'origine parasitaire

Tableau n° X (suite) : Bilan biochimique et diagnostic des chiens de la population témoin.



**Figure n° 75 :** Distribution de la population malade et de la population étudiée en fonction de Log (PAL + lévamisole) (PAL + lévamisole = activité des PAL cortico-induites résiduelles après inhibition par le lévamisole).



**Figure n° 76 :** Distribution de la population malade et de la population étudiée en fonction de Log (PAL + lévamisole).

Il est possible de calculer les caractéristiques intrinsèques d'un test en réalisant le tableau suivant :

	Animaux malades	Animaux sains
Test positif	A	B
Test négatif	C	D

Il est à noter que :

- A représente les vrais positifs
- B représente les faux positifs
- C représente les faux négatifs
- D représente les vrais négatifs

Le calcul de la sensibilité est réalisé grâce à la formule suivante :

$$Se = A / (A+C)$$

La spécificité est calculée grâce à une autre formule :

$$Sp = D / (B+D)$$

Ces deux valeurs intrinsèques seront utilisées afin de définir le meilleur seuil permettant la distinction entre les animaux malades et les animaux témoins.

#### b- Les caractéristiques extrinsèques du test

La valeur prédictive positive (VPP) d'un test est la proportion de vrais positifs parmi l'ensemble des réponses positives de ce test.

La valeur prédictive négative (VPN) d'un test est la proportion de vrais négatifs parmi l'ensemble des réponses négatives de ce test.

Le calcul des valeurs extrinsèques d'un test est réalisable grâce au tableau précédent.

Le calcul de la valeur prédictive positive est possible grâce à la formule :

$$VPP = A / (A+B)$$

La valeur prédictive négative peut être calculée au moyen de la formule suivante :

$$VPN = D / (C+D)$$

Ces deux valeurs extrinsèques seront utilisées dans l'optique de caractériser la puissance diagnostique du test et de permettre ainsi de juger de son utilité.

## 2- Calcul du seuil

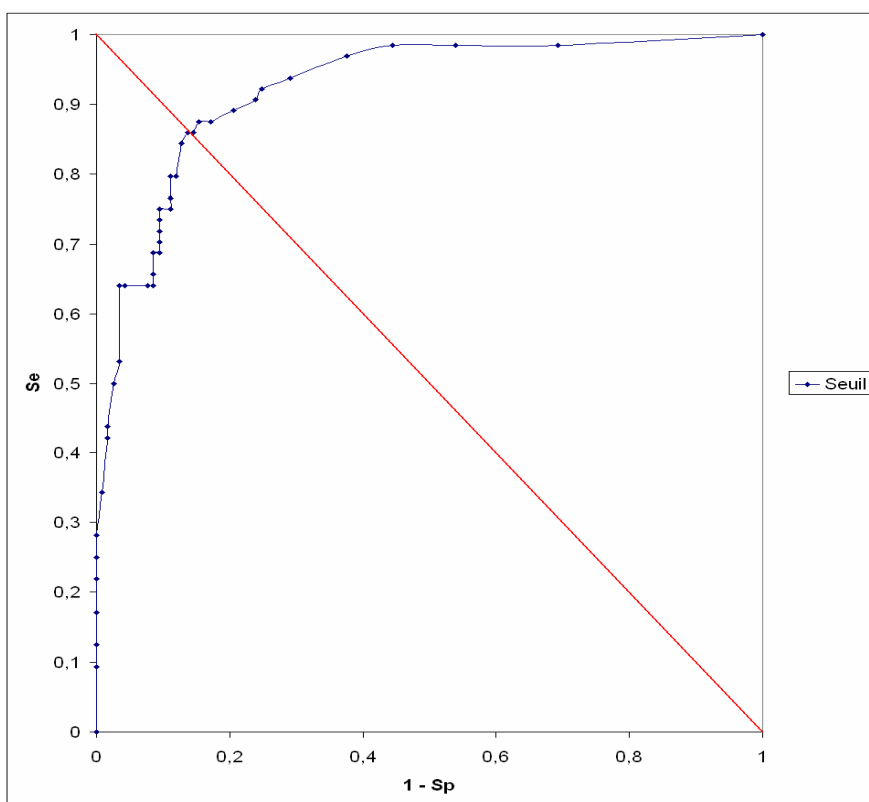
Le seuil permettant d'obtenir la plus grande puissance diagnostique correspond au seuil qui présente le meilleur rapport entre la sensibilité et la spécificité. Pour le mesurer, il est nécessaire de calculer, dans un premier temps, les valeurs intrinsèques du test pour chaque seuil, comme le montre le Tableau n° 17.

Seuils	Sensibilité	Spécificité	Seuils	Sensibilité	Spécificité
0	1	0	270	0,734375	0,90598291
10	0,984375	0,30769231	280	0,71875	0,90598291
20	0,984375	0,46153846	290	0,703125	0,90598291
30	0,984375	0,55555556	300	0,6875	0,90598291
40	0,96875	0,62393162	310	0,6875	0,90598291
50	0,9375	0,70940171	320	0,6875	0,91452991
60	0,921875	0,75213675	330	0,65625	0,91452991
70	0,90625	0,76068376	340	0,640625	0,91452991
80	0,890625	0,79487179	350	0,640625	0,91452991
90	0,890625	0,79487179	360	0,640625	0,92307692
100	0,875	0,82905983	370	0,640625	0,92307692
110	0,875	0,82905983	380	0,640625	0,95726496
120	0,875	0,84615385	390	0,640625	0,96581197
130	0,859375	0,85470085	400	0,640625	0,96581197
140	0,859375	0,86324786	450	0,53125	0,96581197
150	0,84375	0,87179487	500	0,5	0,97435897
160	0,84375	0,87179487	600	0,4375	0,98290598
170	0,796875	0,88034188	700	0,421875	0,98290598
180	0,796875	0,88034188	800	0,34375	0,99145299
190	0,796875	0,88034188	900	0,28125	1
200	0,796875	0,88888889	1000	0,25	1
210	0,796875	0,88888889	1200	0,21875	1
220	0,796875	0,88888889	1500	0,171875	1
230	0,765625	0,88888889	2000	0,125	1
240	0,75	0,88888889	2500	0,125	1
250	0,75	0,90598291	3000	0,09375	1
260	0,75	0,90598291	20000	0	1

**Tableau n° 17 :** Variation de la sensibilité et de la spécificité du dosage des PAL après inhibition par le lévamisole en fonction des différents seuils.

Dans un deuxième temps, il est nécessaire de réaliser une courbe ROC qui permettra de mesurer le meilleur seuil diagnostique (Figure n° 77, page 159). Pour cela, il suffit de noter le seuil correspondant à l'intersection entre la courbe ROC et la droite d'équation  $y = 1 - x$ .

Le test présente donc la meilleure puissance diagnostique pour un seuil de 140 UI/L, avec une sensibilité de 85,9 % et une spécificité de 86,3 %. Le test permet donc de poser un diagnostic de certitude dans 85 % des cas environ, mais il est incapable de distinguer les 14,1 % de faux négatifs, ainsi que les 13,7 % de faux positifs.



**Figure n° 77 :** Courbe ROC des différents seuils de dosage de PAL après inhibition par le lévamisole.

### 3- Efficacité diagnostique

Dans une première partie, il serait intéressant de vérifier si le dosage des phosphatases alcalines cortico-induites est plus fiable que le dosage des PAL totales pour diagnostiquer un hypercorticisme. En effet, comme il a été mentionné précédemment, le dosage des phosphatases alcalines plasmatiques ne peut être utilisé pour un tel diagnostic en raison de sa très faible spécificité. Par contre, les PAL cortico-induites semblent être beaucoup plus spécifiques du syndrome de Cushing.

Dans une deuxième partie, l'efficacité diagnostique de ce test pourrait être directement analysée en interprétant les valeurs prédictives positive et négative de ce test. Cependant, ces valeurs extrinsèques dépendent de la prévalence de l'hypercorticisme dans la population canine française. Or cette prévalence n'est pas connue. Néanmoins, il est possible de raisonner avec une prévalence relative. Cette notion correspond alors à la probabilité estimée par le praticien de diagnostiquer un hypercorticisme chez un animal, en fonction de son anamnèse, de ses commémoratifs, de son examen clinique et des examens complémentaires réalisés.

#### a- Dosage des PAL totales

Pour vérifier si le dosage des phosphatases alcalines cortico-induites est plus fiable que celui des PAL plasmatiques dans le diagnostic du syndrome de Cushing, il est nécessaire de calculer la sensibilité et la spécificité pour chaque seuil de dosage des PAL totales (Tableau n° 18, page 160) afin de pouvoir réaliser une courbe ROC.

Seuils	Sensibilité	Spécificité
0	1	0
10	1	0
20	1	0
30	1	0,00854701
40	1	0,00854701
50	1	0,04273504
60	1	0,1025641
70	1	0,15384615
80	1	0,20512821
90	1	0,27350427
100	1	0,31623932
110	0,984375	0,35042735
120	0,953125	0,37606838
130	0,953125	0,4017094
140	0,953125	0,42735043
150	0,9375	0,42735043
160	0,921875	0,45299145
170	0,90625	0,47008547
180	0,90625	0,4957265
190	0,90625	0,51282051
200	0,890625	0,53846154
210	0,890625	0,56410256
220	0,890625	0,57264957
230	0,890625	0,58974359
240	0,890625	0,58974359
250	0,84375	0,62393162
260	0,84375	0,65811966

Seuils	Sensibilité	Spécificité
270	0,828125	0,65811966
280	0,828125	0,65811966
290	0,828125	0,66666667
300	0,828125	0,69230769
310	0,828125	0,70940171
320	0,828125	0,71794872
330	0,828125	0,71794872
340	0,828125	0,71794872
350	0,828125	0,72649573
360	0,828125	0,72649573
370	0,828125	0,72649573
380	0,828125	0,72649573
390	0,828125	0,72649573
400	0,8125	0,72649573
450	0,796875	0,77777778
500	0,765625	0,85470085
600	0,75	0,87179487
700	0,671875	0,90598291
800	0,578125	0,91452991
900	0,53125	0,92307692
1000	0,515625	0,93162393
1200	0,4375	0,94871795
1500	0,34375	0,94871795
2000	0,1875	0,95726496
2500	0,1875	0,96581197
3000	0,140625	0,96581197
20000	0,015625	1

**Tableau n° 18 :** Variation de la sensibilité et de la spécificité du dosage des PAL totales en fonction des différents seuils.

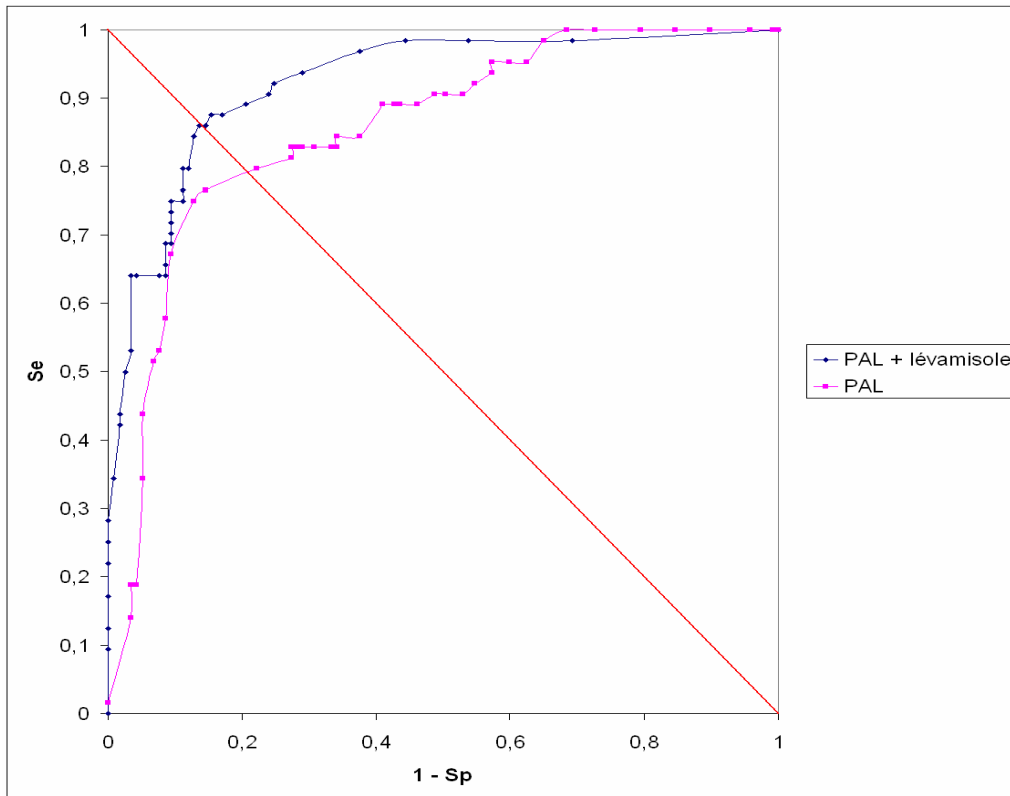
La Figure n° 78 (page 161) représente les courbes ROC pour les tests diagnostiques se basant sur le dosage des PAL totales et sur le dosage des phosphatases alcalines cortico-induites. Il est alors notable que les valeurs intrinsèques du test utilisant le dosage des PAL plasmatiques sont inférieures à celles du test se basant sur le dosage des phosphatases alcalines cortico-induites. Egalement, on peut remarquer que le seuil de dosage des PAL totales permettant la meilleure puissance diagnostique est peu exploitable car il s'élève à 450 UI/L. Enfin, il doit être précisé que ce seuil est peu fiable car il présente une sensibilité et une spécificité peu acceptables, respectivement de 79,7 % et de 77,8 %.

b- Variation des valeurs prédictives positive et négative

Le calcul des valeurs prédictives positive et négative dépendent de la prévalence comme le montrent les deux formules suivantes :

$$VPP = (p * Se) / [p * Se + (1 - p) * (1 - Sp)]$$

$$VPN = [(1 - p) * Sp] / [(1 - p) * Sp + p * (1 - Se)]$$

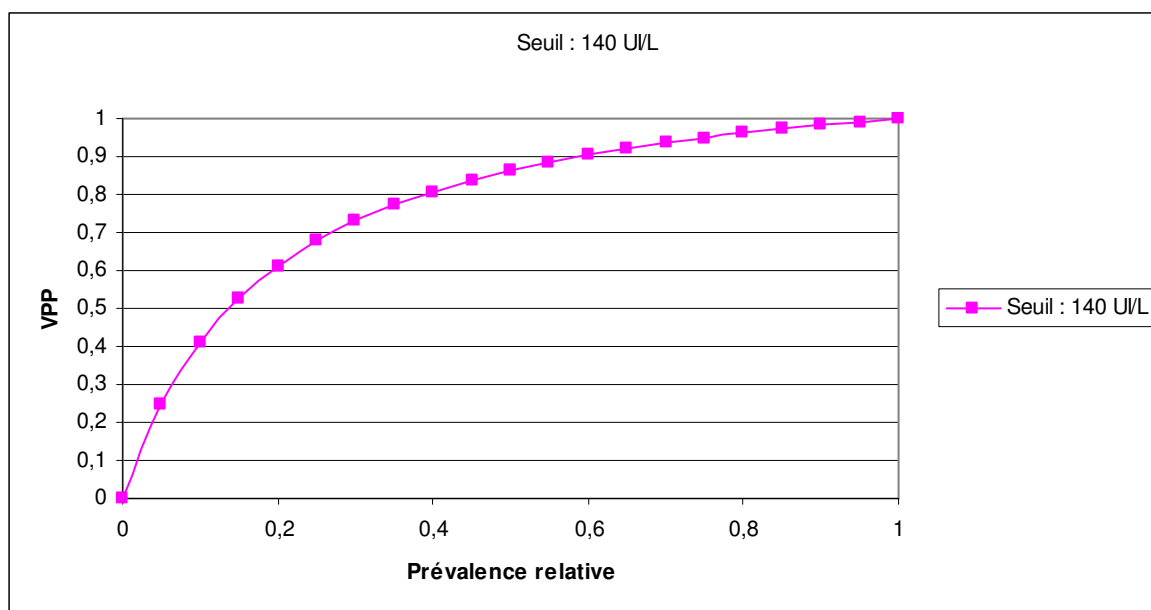


**Figure n° 78 :** Comparaison des courbes ROC des différents seuils de dosage des PAL totales et des PAL après inhibition par le lévamisole.

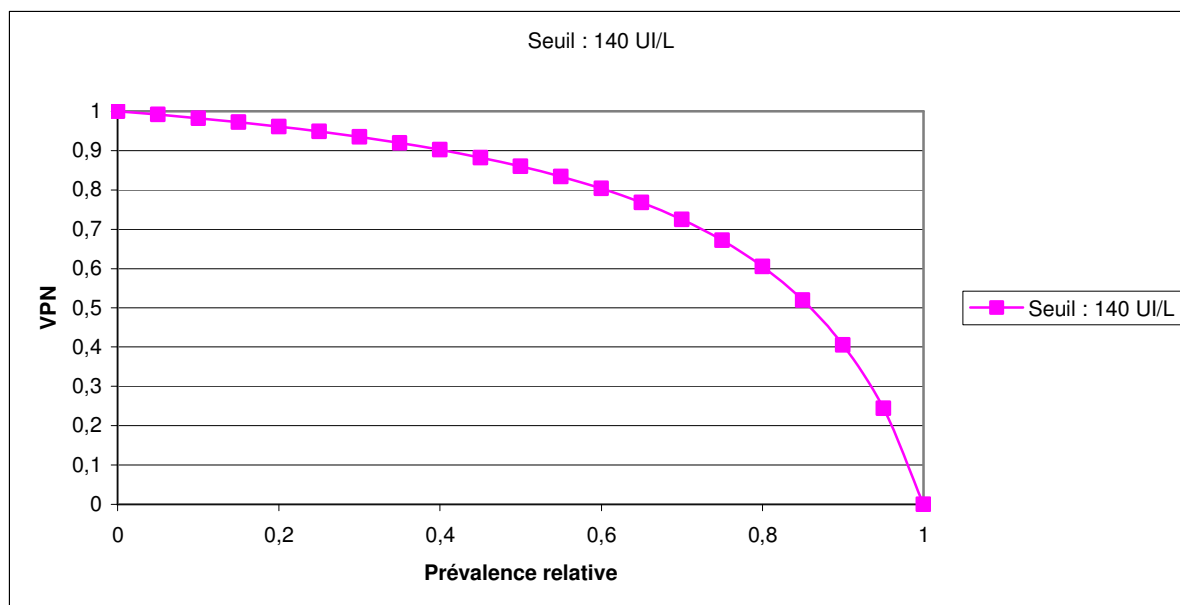
avec VPP : valeur prédictive positive  
 VPN : valeur prédictive négative  
 p : prévalence  
 Se : sensibilité  
 Sp : spécificité

Or la prévalence de l'hypercorticisme dans la population canine française n'est pas connue. Et il est à noter qu'il n'est pas utile de raisonner avec cette prévalence absolue pour estimer l'efficacité de ce test. En effet, ce test est destiné à être utilisé sur des chiens suspects d'hypercorticisme et non sur des chiens tout venant ; il en est de même avec tous les examens complémentaires. Par conséquent, il est possible d'utiliser la notion de prévalence relative décrite précédemment, qui se base sur l'anamnèse, les commémoratifs, l'examen clinique et les examens complémentaires. Il faut préciser que seuls les trois premiers critères peuvent être pris en considération car ce test est destiné à être réalisé en première intention en raison de son faible coût et de sa faible technicité.

La notion de prévalence relative est donc une notion subjective, ce qui la rend plus abordable que la notion de prévalence absolue ; il suffit au praticien d'estimer la suspicion d'hypercorticisme (Figures n° 79 et 80, pages 162 et 163).



**Figure n° 79 :** Variation de la valeur prédictive positive (VPP) en fonction de la prévalence relative pour le seuil de 140 UI/L de PAL après inhibition par le lévamisole.



**Figure n° 80 :** Variation de la valeur prédictive négative (VPN) en fonction de la prévalence relative pour le seuil de 140 UI/L de PAL après inhibition par le lévamisole.

Ainsi, un caniche âgé présentant une alopecie, une polyuro-polydipsie, une ptose abdominale et une polyphagie sera fortement suspect d'hypercorticisme et la prévalence relative sera alors supérieure à 75 %. Pour une telle prévalence, la VPP du test dépasse les 95 % soit un gain diagnostique de 20 points. Par contre, la VPN n'est que de 67 %, mais face à une forte suspicion de syndrome de Cushing, le praticien recherche d'avantage à diagnostiquer cette pathologie que de l'exclure.

Egalement, cette suspicion sera moins importante chez un animal d'une autre race et ne manifestant que trois des quatre symptômes majeurs cités plus haut ; la prévalence relative avoisinera alors les 50 %. Malgré cette incertitude, les valeurs prédictive positive et négative avoisinent 86 %, soit un gain diagnostique de 36 points.

Enfin, la prévalence relative sera faible chez un animal présentant deux voire un des quatre symptômes majeurs. Celle-ci ne dépassera alors pas 25 %. Dans ce cas, le praticien cherchera plutôt à exclure le diagnostic d'hypercorticisme. Or pour une telle prévalence relative, la valeur prédictive négative dépasse 95 %, soit un gain diagnostique de 20 points. Il est à noter qu'alors la VPP est inférieure à 68 %.

### **C- Test diagnostique à deux seuils**

#### **1- Définitions des seuils**

##### **a- Diagnostic de certitude**

Le seuil de diagnostic de certitude doit permettre au test de considérer comme malade tout animal dont le dosage des phosphatases alcalines après inhibition par le lévamisole, est supérieur à ce seuil. De ce fait, ce seuil doit limiter au maximum le nombre de faux positifs. Pour cela, il faut choisir le seuil présentant la plus grande spécificité. Or comme l'indique le Tableau n° 17 (page 158), la spécificité du test atteint 100 % pour un seuil de 900 UI/L, ce qui n'est pas exploitable.

Il a alors été décidé de manière arbitraire, que ce seuil devait présenter une spécificité de 95 %, afin de pouvoir tolérer 5 % de faux positifs. Le Tableau n° 17 montre que le seuil correspondant est alors de 380 UI/L.

#### b- Diagnostic d'exclusion

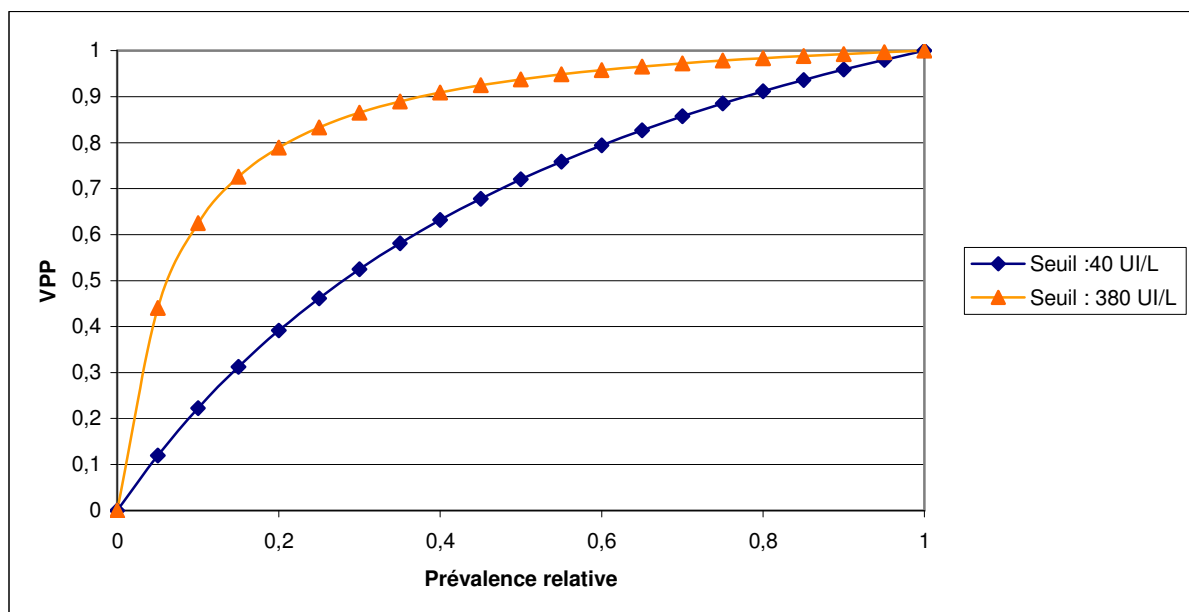
Le seuil de diagnostic d'exclusion doit permettre au test de considérer comme sain tout animal dont le dosage des PAL cortico-induites est inférieur à ce seuil. L'objectif de ce seuil est également de limiter au maximum le nombre de faux négatifs, et donc de ce fait de favoriser la sensibilité du test. Mais comme pour le diagnostic de certitude, le seuil correspondant à une sensibilité de 100 % n'est pas exploitable car il est de 0 UI/L, comme l'indique le Tableau n° 17 (page 158).

Estimant qu'un taux de 5 % de faux négatifs était tolérable, il a été décidé que ce seuil devait présenter une sensibilité de 95 %. Comme l'indique le Tableau n° 17, cette sensibilité est atteinte pour un seuil de 40 UI/L.

### 2- Efficacité diagnostique

#### a- Efficacité du seuil de diagnostic de certitude : variation de la valeur prédictive positive

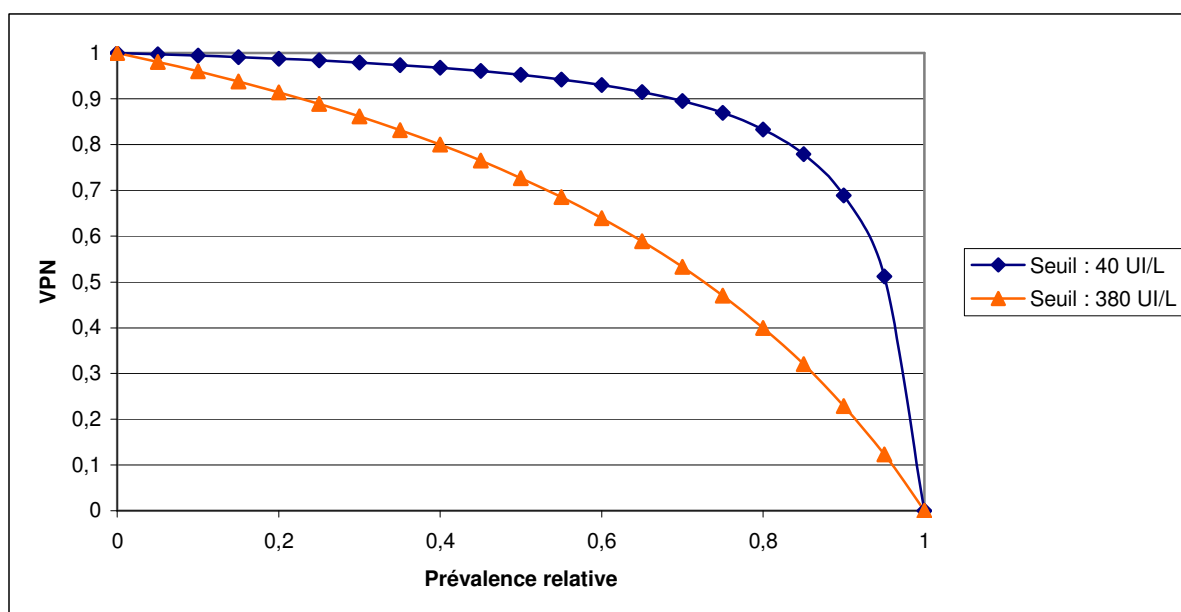
Le diagnostic de certitude n'est utilisé par le praticien qu'en cas de suspicion modérée ou forte d'hypercorticisme ; en aucun cas, ce genre de test est utilisé lors de faible suspicion [25]. Il est donc raisonnable d'estimer que la prévalence relative correspondante est supérieure à 50 %. Le seuil de 380 UI/L permet alors de réaliser un diagnostic de certitude avec une valeur prédictive positive supérieure à 95 % (Figure n° 81). En d'autres termes, chez un animal suspect d'hypercorticisme, si le dosage des phosphatases alcalines après inhibition par le lévamisole, est supérieur à 380 UI/L, le diagnostic d'hypercorticisme est posé avec un risque d'erreur inférieur à 5 %.



**Figure n° 81 :** Variation de la valeur prédictive positive (VPP) en fonction de la prévalence relative pour les seuils de 40 UI/L et 380 UI/L de PAL après inhibition par le lévamisole.

## b- Efficacité du seuil de diagnostic d'exclusion : variation de la valeur prédictive négative

Contrairement au diagnostic de certitude, le diagnostic d'exclusion est à réaliser quand la suspicion d'hypercorticisme est faible [25]. Dans ce cas, la prévalence relative peut être considérée comme étant inférieure à 50 %. Le seuil de 40 UI/L permet alors au test de poser un diagnostic d'exclusion avec une valeur prédictive négative supérieure à 95 % (Figure n° 82). Ainsi, si le dosage des PAL après inhibition par le lévamisole est inférieur à 40 UI/L chez un chien présentant peu de symptômes, peu de signes anamnestiques et peu de commémoratifs en rapport avec l'hypercorticisme, il est possible d'exclure ce diagnostic avec 5 % de risque d'erreur.



**Figure n° 82 :** Variation de la valeur prédictive négative (VPN) en fonction de la prévalence relative pour les seuils de 40 UI/L et 380 UI/L de PAL après inhibition par le lévamisole.

## D- Discussion

### 1- Répartition des populations

Les populations malade et témoin suivent une distribution normale. De plus, ces deux populations ne possèdent pas la même répartition ; elles sont donc distinctes. Il est donc possible de les différencier au moyen d'un seuil compris entre 100 UI/l et 160 UI/l. Cependant, il est notable que la distribution des populations malade et témoin se chevauche de manière non négligeable entre 25 UI/l (ou  $10^{1,4}$  UI/l) et 1000 UI/l (ou  $10^3$  UI/l). De ce fait, les caractéristiques intrinsèques et extrinsèques du test ne seront pas excellentes.

### 2- Test diagnostique à un seuil

#### a- Calcul du seuil

Le seuil permettant de réaliser un diagnostic est de 140 UI/L. Le test présente alors une sensibilité et une spécificité respectivement de 85,9 % et de 86,3 %. Cela signifie donc que ce test ne peut pas mettre en évidence les 14,1 % de faux négatifs, ainsi que les 13,7 % de faux

positifs. Ce test ne peut donc pas être utilisé seul pour réaliser le diagnostic du syndrome de Cushing.

#### b- Efficacité diagnostique

Néanmoins, ce test est plus fiable que le dosage des phosphatases alcalines totales car comme il a été observé, les valeurs intrinsèques de ce dosage sont inférieures à celles du dosage des PAL cortico-induites. Or le dosage des phosphatases alcalines cortico-induites est aussi facile et rapide à réaliser que le dosage des PAL plasmatiques ; la grande majorité des praticiens sont capables de réaliser le dosage de ces dernières. Egalement, on peut rappeler que ce dosage est peu onéreux. Par conséquent, il est grandement conseillé de réaliser ce test en première intention, lors de suspicion d'hypercorticisme.

En outre, malgré les valeurs intrinsèques modérées de ce test, celui-ci présente un intérêt non négligeable en cas de faible ou de forte suspicion d'hypercorticisme. En effet, en cas de forte suspicion de syndrome de Cushing, il est concevable d'estimer que la prévalence relative est supérieure à 75 %. Or pour une telle prévalence, la valeur prédictive positive dépasse 95 %. Ce qui est tout à fait satisfaisant. Il est même intéressant de noter que pour une prévalence relative dépassant 60 %, cette VPP est supérieure à 90 %, ce qui est loin d'être négligeable. En d'autres termes, face à un chien suspect d'hypercorticisme, ce test permet de poser un diagnostic positif dans plus de 90 % des cas.

Egalement, face à une faible suspicion de syndrome de Cushing, il est possible d'estimer que la prévalence relative ne dépasse pas 25 %, ce qui permet alors de calculer une valeur prédictive négative supérieure à 95 %. Cela confère donc à ce test un intérêt diagnostique intéressant. Il est même possible de noter que pour une prévalence relative inférieure à 40 %, la VPN dépasse 90 %. Cela signifie que la marge d'erreur lors de la réalisation du diagnostic d'exclusion est inférieure à 10 %.

Ce test à un seuil présente donc une fiabilité diagnostique supérieure à 90 % lors de suspicion faible ou forte de syndrome de Cushing. Sa simplicité et sa rapidité de réalisation, ainsi que son faible coût devraient donc conduire les praticiens à le réaliser en première intention afin d'exclure ou de confirmer leur hypothèse d'hypercorticisme. Bien évidemment, tout comme les autres tests diagnostiques, il est fortement déconseillé de se baser uniquement sur ce test pour réaliser un diagnostic de certitude. Cependant, il est aisément compréhensible que l'emploi de ce test puisse poser un certain nombre de problèmes. Ainsi, malgré des valeurs prédictives satisfaisantes, la marge d'erreur peut atteindre 10 %, ce qui n'est pas négligeable. Mais comme il a été précisé plus haut, l'emploi d'autres tests diagnostiques peut pallier ce défaut. Egalement, la notion de prévalence relative peut poser problèmes à certains praticiens. En effet, ce paramètre est grandement subjectif, ce qui le rend délicat à manier : comment estimer qu'elle dépasse 75 % pour un chien contre 60 % pour un autre ? C'est pour cela qu'élaborer un test se basant sur un seuil de 50 % de prévalence relative serait plus judicieux. Cependant, il est à noter qu'un grand nombre de praticiens réalisent des examens complémentaires en se basant sur une probabilité estimée de la pathologie recherchée.

#### c- Comparaison avec la littérature

MAHAFFEY E.A. et al. [112] ont mesuré l'activité des différentes isoenzymes des phosphatases alcalines grâce à différentes techniques dont l'inhibition par le lévamisole. Ils notèrent que pour neuf échantillons sur 28, l'activité résiduelle des PAL cortico-induites dépassait 58 %, avec un échantillon où l'inhibition de ces PAL n'avait été que de 6 %. Ils

conclurent donc que le pourcentage d'inhibition des phosphatases alcalines par le lévamisole dépend des conditions expérimentales. De ce fait, malgré une grande variabilité, il semble préférable de raisonner avec l'activité résiduelle des PAL cortico-induites plutôt qu'avec des pourcentages d'inhibition.

Dans une étude récente, WILSON S.M. et al. [188] tentèrent de réaliser un test diagnostique de l'hypercorticisme grâce au dosage des phosphatases alcalines cortico-induites avec la même technique. Cependant, ils notèrent que le seuil diagnostique était de 19 UI/l et que la sensibilité avoisinait 95 % contre 18 % pour la spécificité et ils ont donc conclu qu'il n'était pas possible de poser un tel diagnostic en utilisant ce test.

SOLTER P.F. et al. [169] réalisèrent une étude similaire et notèrent qu'il était préférable d'exploiter l'activité résiduelle des PAL cortico-induites plutôt que le pourcentage d'inhibition. De plus ils observèrent qu'avec un seuil diagnostique de 90 UI/l, le test présentait une sensibilité excellente de 100 % mais une spécificité moindre de 88,8 %. Cependant, malgré une valeur prédictive positive de 100 %, le test ne pouvait être utilisé pour réaliser un diagnostic de syndrome de Cushing en raison d'une valeur prédictive négative exécrable de 21,43 %.

FONTAINE J. et al. [60] essayèrent également de mettre au point un test diagnostique de l'hypercorticisme via le dosage des phosphatases alcalines cortico-induites. Cependant, ils préférèrent exploiter les pourcentage d'inhibition et notèrent qu'un seuil de 25 % d'inhibition conférait au test une sensibilité de 96 % et une spécificité de 76 %. Mais ils conclurent que le stress présent dans toutes maladies chroniques ou aiguës provoquait une augmentation des PAL cortico-induite, rendant ainsi ce test impossible à interpréter.

Tous ces auteurs ont donc conclu qu'il n'était pas possible de réaliser un test diagnostique en réalisant le dosage des phosphatases alcalines, notamment en raison de la très faible valeur prédictive positive du test. Cependant, leurs populations témoins n'étaient pas assez représentatives pour calculer les valeurs prédictives. De plus, le seuil de 19 UI/l pour WILSON S.M. et al. [188] est extrêmement faible et explique la très médiocre spécificité de leur test.

### 3- Test diagnostique à deux seuils

#### a- Définitions des seuils

Ce test est constitué d'un seuil d'exclusion et d'un seuil de diagnostic positif qui permettent de définir trois catégories de chiens : les chiens sains, les chiens malades et les chiens douteux. Les seuils permettant un diagnostic d'exclusion avec une sensibilité de 95 % et un diagnostic positif avec une spécificité de 95 % sont alors respectivement de 40 UI/l et de 380 UI/l. Il a été décidé qu'il était possible de négliger 5 % de faux positifs ainsi que 5 % de faux négatifs afin de définir ces seuils.

#### b- Efficacité diagnostique

Cependant, comme pour le test diagnostique à un seuil, il est nécessaire d'utiliser la prévalence relative pour interpréter ce test. Ainsi, face à une suspicion d'hypercorticisme, le praticien cherchera à réaliser un diagnostic positif du syndrome de Cushing, et donc il devra utiliser le seuil de 380 UI/l pour interpréter le dosage des PAL cortico-induites. Or pour une prévalence relative supérieure à 50 %, ce seuil confère au test une valeur prédictive positive

de plus de 95 %, soit une erreur diagnostique de moins de 5 %, ce qui peut être considéré comme négligeable.

En revanche si la suspicion clinique d'hypercorticisme est faible, le praticien cherchera plus à exclure cette hypothèse qu'à la confirmer. De ce fait, il devra utiliser le seuil de 40 UI/l pour exploiter le dosage des phosphatases alcalines après inhibition par le lévamisole. Or une prévalence relative inférieure à 50 % permet au test de présenter une valeur prédictive négative de plus de 95 %. Ainsi le test présente moins de 5 % de risque d'exclure un chien malade.

En d'autres termes, si le dosage des phosphatases alcalines après inhibition par le lévamisole est inférieur à 40 UI/l, le chien peut être considéré comme étant sain avec une probabilité de 95 %. Si ce dosage est supérieur à 380 UI/l, le diagnostic d'hypercorticisme peut être posé avec une certitude de 95 %. Mais si ce dosage est compris entre ces deux seuils, il ne pourra pas être possible de conclure. Le praticien devra réaliser un nouveau dosage des phosphatases alcalines cortico-induites ou bien réaliser d'autres examens complémentaires. Néanmoins, malgré cette zone d'incertitude, ce test est plus fiable et plus facilement exploitable que le test diagnostique à un seuil car l'approche de la prévalence relative est simplifiée : celle-ci peut être considérée comme étant inférieure à 50 % pour une faible suspicion et supérieure à 50 % pour une forte suspicion d'hypercorticisme. Enfin, tout comme le test diagnostique à un seuil, ce test doit être réalisé en première intention en raison de sa faible technicité, de son faible coût et de sa grande disponibilité.

#### 4- Choix du test

Ainsi donc, deux tests se basant sur le dosage des phosphatases alcalines cortico-induites peuvent être utilisés afin de diagnostiquer le syndrome de Cushing. Il ne restera donc au praticien qu'à choisir celui qui lui conviendra le mieux.

L'avantage du test à un seuil réside dans le fait que ce test ne présente pas de zone d'incertitude, il est donc plus facilement interprétable. Cependant, sa sensibilité et sa spécificité ne sont pas excellentes et la marge d'erreur de ce test n'est pas négligeable. De plus, ce test semble plus subjectif que le test à deux seuils, ce qui peut poser problème aux praticiens.

Par contre le test diagnostique à deux seuils est plus fiable et il permet une meilleure compréhension et une meilleure manipulation de la prévalence relative. Néanmoins, si le dosage de l'activité résiduelle des PAL cortico-induites après inhibition par le lévamisole est comprise entre 40 UI/l et 380 UI/l, le praticien sera dans l'incapacité de poser un diagnostic de certitude et il devra soit renouveler ultérieurement ce dosage, soit réaliser de nouveaux examens complémentaires.

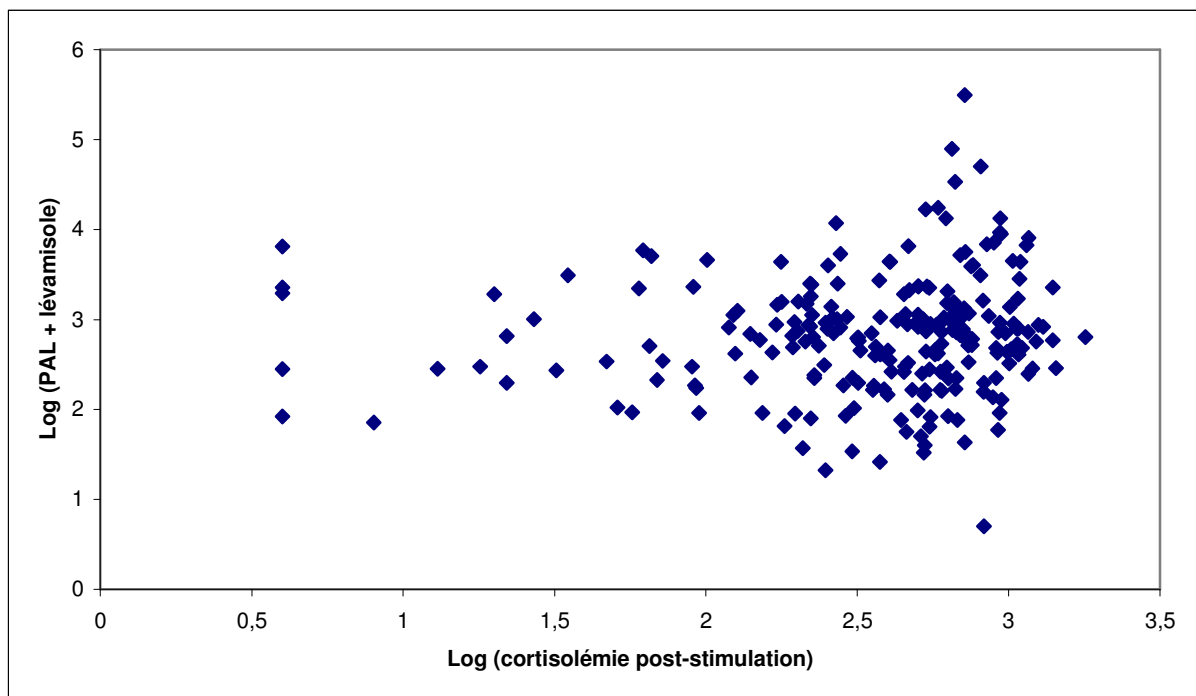
Cependant, malgré la zone d'incertitude de l'un et de la fiabilité modérée de l'autre, le praticien a tout intérêt de réaliser en première intention, l'un des deux tests en raison de leur faible coût et de leur faible technicité. En effet, le praticien ne peut pas se baser uniquement sur un seul examen de laboratoire pour poser un diagnostic. Ainsi, en cas de résultats significatifs, le praticien sera amené à mieux choisir les examens complémentaires, et en cas d'incertitude, le budget alloué aux examens complémentaires ne sera que faiblement augmenté par l'échec de ce test.

### **III- LE SUIVI THERAPEUTIQUE DU SYNDROME DE CUSHING**

#### **A- Corrélation entre les PAL cortico-induites et la cortisolémie après stimulation à l'ACTH**

Dans la partie précédente, il a été démontré qu'il était possible de mettre au point un test diagnostique du syndrome de Cushing grâce au dosage de l'activité des phosphatases alcalines cortico-induites, en raison du fait que ces PAL particulières étaient produites lors de l'hypercorticisme.

Pour savoir si le dosage de ces PAL peut également permettre le suivi du traitement du syndrome de Cushing, il est nécessaire de vérifier s'il existe une corrélation entre le dosage de ces phosphatases alcalines et le dosage de la cortisolémie après stimulation à l'ACTH. Pour une meilleure interprétation, il est préférable d'utiliser le logarithme de chaque valeur, en raison de leur très grande variabilité. La Figure n° 83 montre la distribution de ces dosages et met en évidence l'absence de corrélation entre ces deux paramètres.



**Figure n° 83 :** Corrélation entre Log (cortisolémie post-stimulation) et Log (PAL + lévamisole).

Cependant, on peut observer que cette absence de corrélation entre le dosage des PAL cortico-induites et celui de la cortisolémie post-stimulation n'a été mise en évidence que pour des dosages réalisés au même instant. La Figure n° 83 ne permet donc pas de montrer un éventuel délai entre les variations de ces deux paramètres. Or une corrélation entre ces deux dosages pourrait être mise en évidence si les variations de la cortisolémie après stimulation à l'ACTH et des phosphatases alcalines cortico-induites sont similaires mais séparées dans le temps. Cependant, si un délai peut être mis en évidence, il est nécessaire alors de le quantifier. En effet, si le délai est de suffisamment courte durée, le dosage des PAL cortico-induites peut être utilisé pour permettre un suivi thérapeutique, mais dans le cas contraire, le dosage devient inutile pour un tel suivi.

## **B- Description des courbes de suivi**

En raison de la grande variabilité des valeurs de phosphatases alcalines cortico-induites et de cortisolémie post-stimulation, il est préférable d'exploiter le logarithme de ces paramètres.

Il est à noter également qu'une sélection doit être réalisée au sein de la population malade. En effet, concernant les dosages de cortisolémie pour le suivi thérapeutique, de nombreux praticiens se contentent d'une cortisolémie après stimulation à l'ACTH dans les normes, c'est-à-dire, inférieure à 550 nmol/l (normes du service d'Endocrinologie de l'E.N.V.L.). Or le seuil de normalité pour un chien souffrant d'hypercorticisme doit être au maximum de 200 nmol/l, car cet animal est beaucoup plus sensible aux glucocorticoïdes qu'un chien sain. De ce fait, le suivi de ce chien est mal géré et celui-ci présente une probabilité de récurrence plus importante.

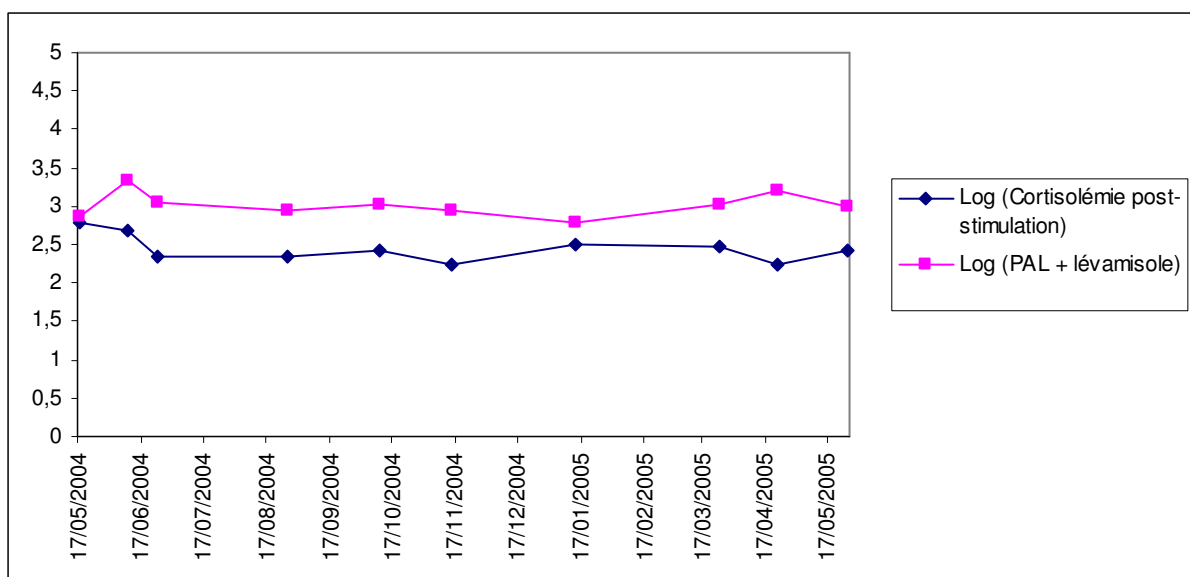
Il a donc été décidé d'exploiter les chiens malades dont le suivi thérapeutique comprend au moins trois dosages de cortisolémie après stimulation à l'ACTH, et dont au moins deux dosages sont inférieurs à 200 UI/L. Les animaux sélectionnés sont donc les chiens n° 1, n° 2, n° 4, n° 8, n° 10, n° 16 et n° 27.

### ➤ Chien n° 1

La cortisolémie post-stimulation chute à partir du premier dosage alors que l'activité des PAL cortico-induites ne diminue que 3 semaines plus tard.

Puis la cortisolémie se stabilise pendant 4 mois et demi, jusqu'au 15 novembre 2004, date à laquelle, ce paramètre augmente à nouveau. En parallèle, l'activité des phosphatases alcalines se stabilise également pendant 5,5 mois, puis croît à partir du 14 janvier 2005, soit 2 mois après l'augmentation de la cortisolémie.

Enfin, on peut observer une diminution de la cortisolémie post-stimulation à partir du 23 mars 2005 qui s'accompagne de celle des PAL cortico-induites le 22 avril 2005, soit 1 mois après.



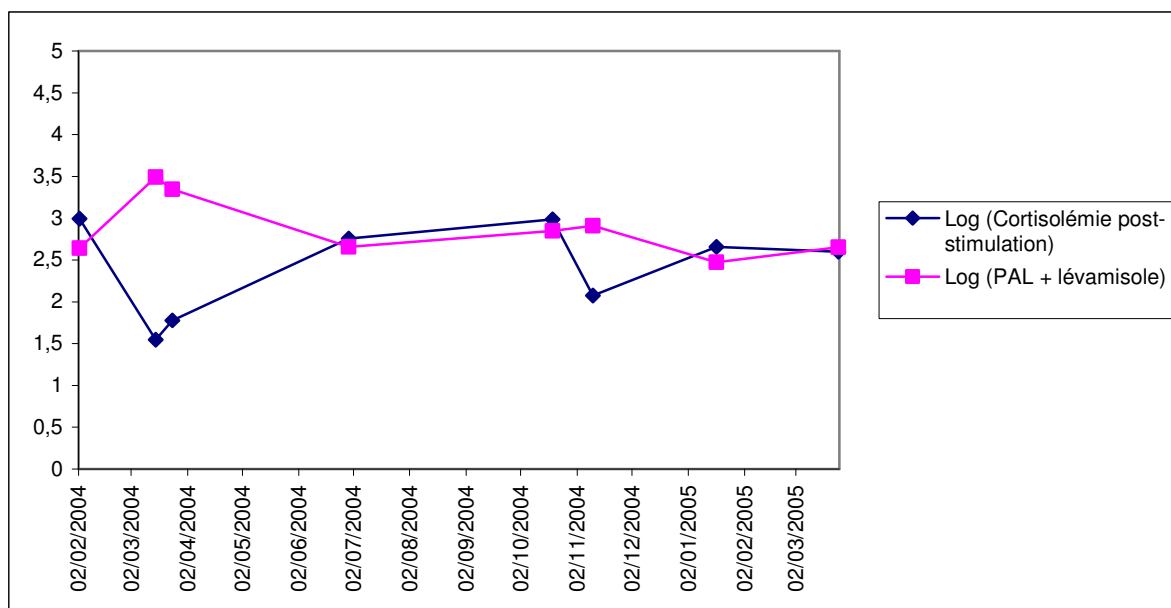
**Figure n° 84 :** Evolution des PAL cortico-induites et de la cortisolémie post-stimulation chez le chien n° 1.

➤ Chien n° 2

La diminution de la cortisolémie post-stimulation débute dès le premier dosage, c'est-à-dire le 02 février 2004. Par contre, l'activité des PAL cortico-induite ne diminue que 1 mois et demi après, soit le 15 mars 2004.

Il est possible d'observer une augmentation de la cortisolémie dès le 15 mars 2004, soit 3 mois et demi avant celle des PAL cortico-induites. Cependant, la fréquence des dosages du suivi étant faible durant cette période, cette observation ne peut être précise.

Enfin, on observe une nouvelle diminution de ces deux paramètres à 3 semaines d'intervalle suivie d'une augmentation dont l'intervalle est supérieur à 2 mois ; les variations de la cortisolémie précèdent toujours celle des PAL cortico-induites.



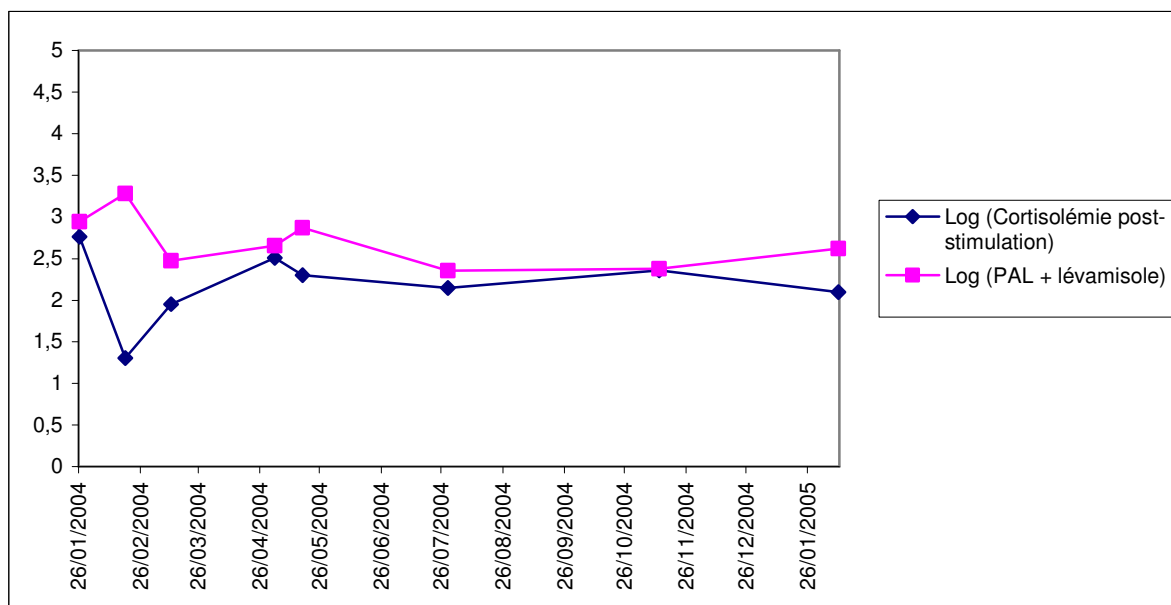
**Figure n° 85 :** Evolution des PAL cortico-induites et de la cortisolémie post-stimulation chez le chien n° 2.

➤ Chien n° 4

La cortisolémie après stimulation à l'ACTH chute dès le premier dosage le 26 janvier 2004. Cette diminution est suivie de celle de l'activité des phosphatases alcalines cortico-induites le 3 semaines plus tard, le 18 février 2004.

On note également un intervalle de 3 semaines entre le début de l'augmentation de la cortisolémie et celui de l'augmentation des PAL. Puis ces paramètres chutent à nouveau, respectivement le 03 mai 2004 et le 17 mai 2004. L'activité des phosphatases alcalines cortico-induites diminue donc 2 semaines après le début de la diminution de la cortisolémie post-stimulation.

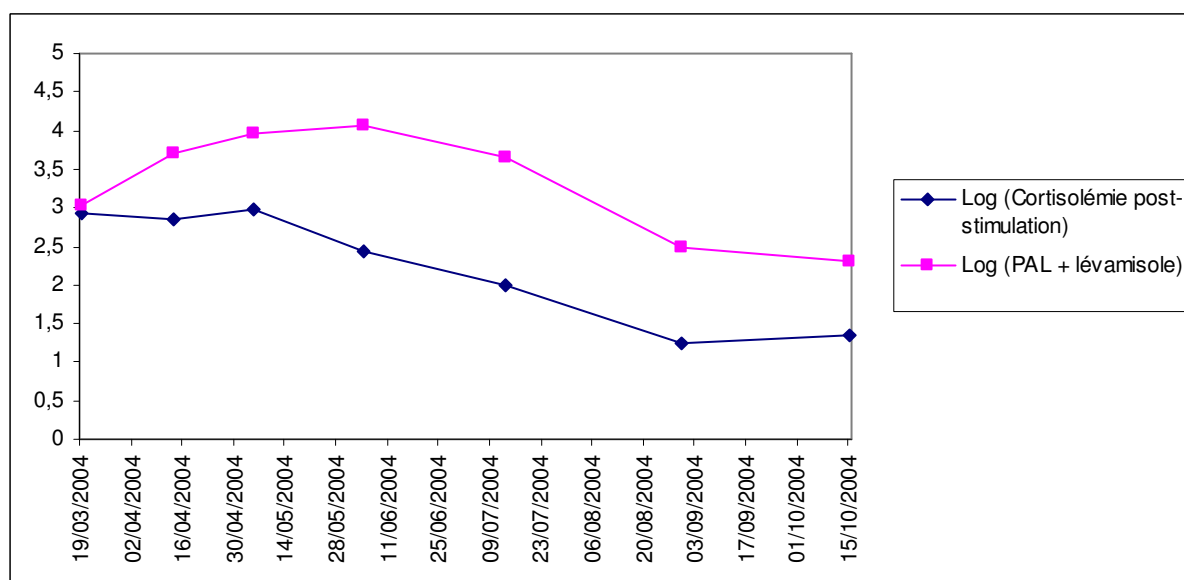
Enfin, on peut observer qu'une nouvelle augmentation intéresse ces deux paramètres avec un intervalle de 3,5 mois.



**Figure n° 86 :** Evolution des PAL cortico-induites et de la cortisolémie post-stimulation chez le chien n° 4.

➤ Chien n° 8

La cortisolémie après stimulation à l'ACTH ne chute qu'à partir du troisième dosage, le 05 mai 2004, puis elle se stabilise après le 30 août 2004. Par contre, l'activité des PAL cortico-induites ne diminue qu'à partir du 04 juin 2004, soit 1 mois après le début de la diminution de la cortisolémie.



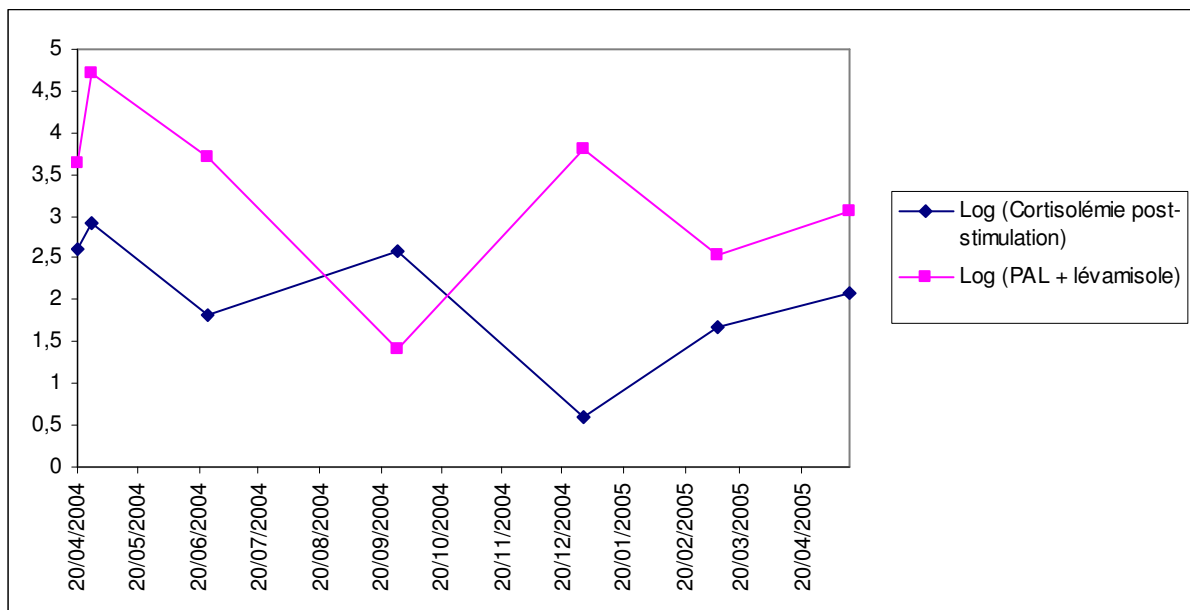
**Figure n° 87 :** Evolution des PAL cortico-induites et de la cortisolémie post-stimulation chez le chien n° 8.

➤ Chien n° 10

La cortisolémie post-stimulation et l'activité des PAL cortico-induites évoluent de manière similaire jusqu'au 26 juin 2004, date à laquelle on peut noter une augmentation de la cortisolémie qui s'accompagne 3 mois plus tard de celle des phosphatases alcalines, le 28 septembre 2004. Puis les variations de ces deux paramètres alternent avec un délai de 3 mois :

- la diminution des PAL suit celle de la cortisolémie avec un intervalle de 3 mois
- l'augmentation de la cortisolémie et des PAL est observée avec un intervalle de 3 mois

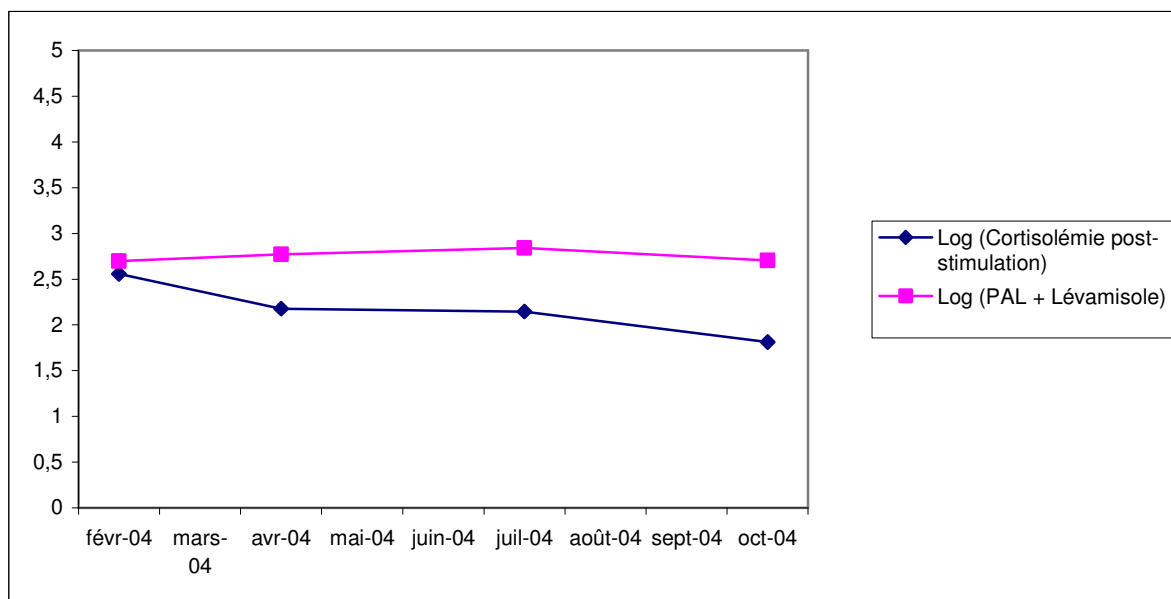
Cependant, la fréquence des dosages du suivi thérapeutique est de 3 mois, ce qui ne permet pas d'être plus précis quant à ces observations.



**Figure n° 88 :** Evolution des PAL cortico-induites et de la cortisolémie post-stimulation chez le chien n° 10.

➤ Chien n° 16

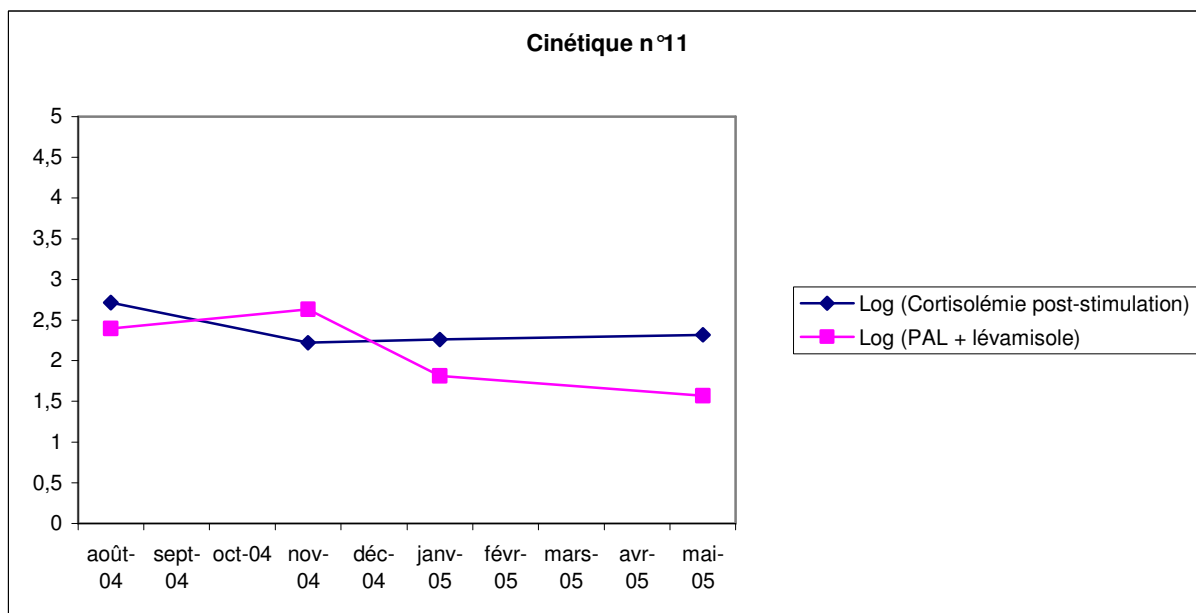
On peut observer que la cortisolémie après stimulation à l'ACTH chute après le premier dosage, le 09 février 2004. Cette diminution s'accompagne de celle de l'activité des phosphatases alcalines cortico-induites 5 mois plus tard, le 05 juillet 2004. Néanmoins, les dosages du suivi thérapeutique sont réalisés de manière irrégulière et peu fréquente, ce qui limite grandement la précision de ces observations.



**Figure n° 89 :** Evolution des PAL cortico-induites et de la cortisolémie post-stimulation chez le chien n° 16.

➤ Chien n° 27

La diminution de la cortisolémie post-stimulation débute dès le premier dosage, le 25 août 2004, et s'accompagne de celle de l'activité de phosphatases alcalines 3 mois plus tard, le 29 novembre 2004. Cependant, la fréquence des dosages du suivi thérapeutique durant cette période est faible et rend donc ces observations peu précises.



**Figure n° 90 :** Evolution des PAL cortico-induites et de la cortisolémie post-stimulation chez le chien n° 27.

## **C- Discussion**

### **1- Corrélation entre les PAL cortico-induites et la cortisolémie après stimulation à l'ACTH**

Comme l'indique la Figure n° 83 (page 169), il n'existe pas de corrélation entre l'activité des phosphatases alcalines cortico-induites et la cortisolémie après stimulation à l'ACTH. Ainsi, les corticoïdes ne semblent pas provoquer immédiatement la production de phosphatases alcalines cortico-induites. En effet, expérimentalement, il a été démontré que les PAL produites lors d'hépatopathies stéroïdiennes induites par des injections de corticoïdes exogènes, étaient des phosphatases alcalines d'origine hépatique dans un premier temps, puis des PAL cortico-induites par la suite. Ainsi, il semble exister un délai entre l'augmentation de la cortisolémie et l'augmentation de l'activité des PAL cortico-induites. Cependant, rien ne semble indiquer s'il existe un délai similaire lors de la chute de ces deux paramètres. Il est donc nécessaire de décrire et de comparer les courbes de suivi des chiens sélectionnés.

### **2- Description des courbes de suivi**

Comme il a été précisé précédemment, le seuil de normalité de la cortisolémie post-stimulation lors du suivi thérapeutique d'un chien souffrant d'hypercorticisme est de 200 nmol/l en raison de la sensibilité accrue de ce chien aux corticoïdes. Ainsi, un traitement correctement entrepris et maîtrisé ne devrait comporter aucun dosage supérieur à ce seuil. Or cela est rarement pratiqué en réalité et de ce fait le suivi thérapeutique des 7 chiens sélectionnés comporte des dosages dépassant ce seuil. Par conséquent, les courbes de suivi s'en trouvent biaisées. De plus, ce biais est accentué par le fait que le délai entre les dosages n'a pas été respecté pour tous les chiens : certains délais sont trop importants pour permettre d'exploiter significativement les courbes.

Cependant, malgré ces biais, certaines tendances peuvent être notées. Ainsi la cortisolémie post-stimulation chute chez tous les animaux dès que le traitement est instauré excepté les chiens n° 8 et n° 10 chez qui cette diminution apparaît respectivement au bout de 6 et 1 semaines. Cependant, cette diminution ne s'accompagne pas en parallèle, d'une chute de l'activité des phosphatases alcalines cortico-induites (exception faite du chien n° 10). Au contraire, il est possible d'observer que cette activité croît dans un premier temps, puis qu'elle chute entre 3 et 6 semaines plus tard pour les chiens n° 1, 2, 4 et 8. Concernant, les chiens n° 16 et 27, le délai est respectivement de 20 et 12 semaines. Néanmoins le suivi thérapeutique de ces deux chiens ne comporte que 4 dosages dont la régularité est peu satisfaisante. Il est à noter également, que la cortisolémie post-stimulation varie lors du traitement de la plupart des chiens sélectionnés et il est alors possible de noter de nouvelle chute de cette cortisolémie qui s'accompagne de celle de l'activité des phosphatases alcalines cortico-induites seulement 2 à 4 semaines après (chiens n° 1, 2 et 4). Un délai de 12 semaines est observé uniquement chez le chien n° 10. Il semblerait donc qu'il existe un délai de 2 à 6 semaines entre la chute de la cortisolémie après stimulation à l'ACTH et celle de l'activité des PAL cortico-induites. Cependant, les résultats des chiens n° 16 et 27 ne sont pas en accord avec cette observation.

Egalement, il est possible d'observer un délai entre l'augmentation de la cortisolémie post-stimulation et l'activité des phosphatases alcalines cortico-induites. Ainsi pour les chiens n° 1, 2, 4 et 10, on peut noter plusieurs augmentations de ces deux paramètres avec à chaque fois un délai compris entre 8 et 14 semaines (exception faite pour le chien n° 4). Ceci est en accord avec les observations expérimentales qui mettaient en évidence un délai de plusieurs mois entre l'injection de corticoïdes et la production des PAL cortico-induites.

Ainsi, la cortisolémie après stimulation à l'ACTH et l'activité des phosphatases alcalines cortico-induites semblent se comporter de façon similaire avec un délai notable dans leurs variations. Or ce délai pose problèmes pour permettre un suivi thérapeutique du syndrome de Cushing.

A supposer que la cortisolémie post-stimulation se stabilise et se normalise chez un animal dont le traitement est correctement maîtrisé, alors le délai entre la chute de ces deux paramètres devient moins problématique. En effet, une fois la cortisolémie post-stimulation stabilisée, l'activité des PAL cortico-induites se stabilise également après quelques semaines et le dosage de ces PAL donnera alors des informations sur la cortisolémie et donc sur l'état d'hypercorticisme de l'animal. Cependant, tous les animaux de cette étude présentaient des dosages de cortisolémie après stimulation à l'ACTH supérieurs à 200 nmol/l, témoignant une maîtrise insuffisante du traitement. On peut rappeler également que la plupart des praticiens se base uniquement sur la clinique pour conduire le traitement et se contente de dosages inférieurs à 500 nmol/l. Par conséquent, la cortisolémie post-stimulation chez ces chiens ne peut pas se stabiliser lors du traitement et de ce fait, l'activité des PAL ne peut pas se stabiliser également. Le délai entre les diminutions de ces deux paramètres devient donc problématique dans ces conditions, pour permettre un suivi thérapeutique de l'hypercorticisme.

Egalement, le délai entre les augmentations des phosphatases alcalines cortico-induites et la cortisolémie post-stimulation rend les dosages de ces PAL difficilement interprétables pour le suivi du traitement du syndrome de Cushing. En effet, comme il a été précisé précédemment, la cortisolémie subit de nombreuses variations lors des traitements insuffisamment maîtrisés, et de ce fait, l'activité des phosphatases alcalines varie en conséquence. Or l'augmentation des PAL suit de plusieurs semaines celle de la cortisolémie post-stimulation qui peut ainsi indiquer une récurrence du syndrome de Cushing. Il est donc impossible d'estimer les augmentations de la cortisolémie avec le dosage des PAL cortico-induites.

Ainsi, le délai entre les variations des PAL cortico-induites et de la cortisolémie après stimulation à l'ACTH est trop important pour permettre une estimation de l'état d'hypercorticisme uniquement par le dosage des ces PAL. Par conséquent, le dosage des phosphatases alcalines cortico-induites après inhibition par le lévamisole, ne peut en aucun cas permettre le suivi thérapeutique de l'hypercorticisme.

## **CONCLUSION**

Notre travail montre la possibilité de réaliser un test diagnostique du syndrome de Cushing par le biais du dosage de l'activité des phosphatases alcalines cortico-induites, après inhibition par le lévamisole. Plus précisément, deux tests peuvent être utilisés par les praticiens : un test diagnostique à un seuil, aisément interprétable mais dont la fiabilité est critiquable, et un test diagnostique à deux seuils, beaucoup plus fiable que le précédent mais présentant une zone d'incertitude ne permettant pas d'établir de diagnostic. Cependant, malgré les lacunes de chacun de ces tests, il peut être conseillé aux praticiens de réaliser l'un des deux tests en première intention, en raison du faible coût du dosage et de sa faible technicité. De plus, la commercialisation d'un kit médical contenant une concentration de lévamisole optimale et adaptée aux automates des praticiens, augmenterait énormément la disponibilité de ce test.

Néanmoins, il semblerait que le dosage de l'activité des PAL cortico-induites ne permette pas le suivi thérapeutique de l'hypercorticisme. En effet, il a été observé un délai entre les variations de l'activité de ces phosphatases alcalines et la cortisolémie après stimulation à l'ACTH, seul témoin de l'évolution du syndrome de Cushing. De plus, ce délai semble être d'assez longue durée ; les phosphatases alcalines cortico-induites témoignent de l'état de l'hypercorticisme avec un retard de plusieurs semaines. Or seul un paramètre évoluant conjointement avec la maladie peut être utilisé pour suivre son évolution.

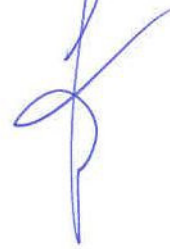
Par ailleurs, il a été mis en évidence la difficulté de collecter les données avec précision, ainsi que de les interpréter. Cela a contribué en partie à biaiser les résultats de cette étude, diminuant de ce fait la fiabilité du premier test, augmentant la zone d'incertitude du second et rendant le suivi de nombreux chiens non significatifs.

Enfin, nous avons vu que le cortisolémie après stimulation à l'ACTH ainsi que l'activité des PAL cortico-induites subissaient de nombreuses variations durant le traitement des animaux malades. Il serait intéressant de vérifier si ces observations ne sont pas liées à une maîtrise insuffisante du traitement. En effet, lors de la réalisation du test de stimulation à l'ACTH, nombre de praticiens considèrent le seuil diagnostique comme le seuil de normalité lors du suivi thérapeutique. Or les animaux malades sont plus sensibles à l'action des corticoïdes que les chiens sains, et par conséquent, ce seuil de normalité doit être considéré comme inférieur au seuil diagnostique. Une étude plus approfondie sur ce sujet permettrait alors de définir correctement ce seuil et ainsi vérifier s'il permet une maîtrise suffisante du traitement via la mesure des variations de la cortisolémie post-stimulation et de l'incidence des récives.

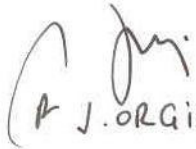
**Le Professeur responsable  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon  
Lyon**



**Vu : Le Directeur  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de**



**Le Président de la thèse**



**A. J. ORGIAZZI**

**Vu et permis d'imprimer**

**Lyon, le**

**2 OCT. 2005**

**Pour le Président de l'Université,  
Le Président du Comité de Coordination des Etudes Médicales,  
Professeur D. VITAL-DURAND**



## **BIBLIOGRAPHIE**

- 1. AMACHER D.E., SMITH D.J., MARTZ L.K. and HOFFMANN W.E.,** Characterization of alkaline phosphatase in canine serum, *Enzyme*, 1987, 37 (3), 141-149.
- 2. ANSEMI GABEUR M.C.,** Intérêt comparatif des phosphatases alcalines et de la gamma glutamyl transférase dans le diagnostic des affections hépatiques chez le chien et le chat, Thèse de Doctorat Vétérinaire (Alfort), 1987.
- 3. BADYLAK S.F. and VAN VLEET J.F.,** Sequential morphologic and clinicopathologic alteration in dogs with experimentally induced glucocorticoid hépatopathie, *Am. J. Vet. Res.*, 1981, 42 (8), 1310-1318.
- 4. BAILEY M.Q.,** Use of a X-ray-computed tomography as an aid in localization of adrenal masses in the dog, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1986, 188, 1046-1049.
- 5. BARLERIN L.,** Le syndrome de Cushing chez le chien : quelle traitement pour quelle cause ?, *L'Action Vétérinaire*, 1997, 1413, 16-20.
- 6. BARTHEZ P.,** Echographie abdominale chez les carnivores domestiques, *Le Point Vétérinaire*, 1991, 23 (135), 21-31.
- 7. BAULIEU E.E. and KELLY P.A.,** ACTH and related peptides, *Hormones from molecules to disease*, 1990, 229-245.
- 8. BAULIEU E.E. and KELLY P.A.,** The hypothalamus-pituitary system : an anatomical overview, *Hormones from molecules to disease*, 1990, 175-180.
- 9. BERTHAUT N.,** Un cas de tumeur surrénalienne, *L'Action Vétérinaire*, 1991, Avril, 1165, 16-17.
- 10. BETHUNE J.E.,** Steroid biochemistry, *The adrenal cortex*, 1974, 15-28.
- 11. BETHUNE J.E.,** Physiology and pharmacology of adrenaocortical steroids, *The adrenal cortex*, 1974, 29-40.
- 12. BOUJON E., RITZ V., ROSSI G.L. and BESTETTI G.E.,** A clinicopathological study of canine Cushing's disease caused by a pituitary carcinoma, *Journal of Comparative Pathology*, 1991, 105 (3), 353-365.
- 13. BOURDIN M.,** Endocrinologie et troubles du comportement, *Le Point Vétérinaire*, 2000, 31 (spécial), 169-176.
- 14. BRANDON J.-J.,** Séparation électrophorétique sur acétate de cellulose et gel de polyacrylamide des isoenzymes de la phosphatase alcaline sérique - Intérêt dans les affections hépatiques, Thèse de Doctorat Médical, 1972.

- 15. BRAUND K.G., DILLON A.R., MIKEAL R.L and AUGUST J.R.,** Subclinical myopathy associated with hyperadrenocorticism in the dog, *Veterinary Pathology*, 1980, 17 (2), 134-148.
- 16. BRUN M.,** Un marqueur biologique capital pour le diagnostic des métastases cancéreuses hépatiques : la fraction alpha 1 des phosphatases alcalines, à propos de 505 observations, Thèse de Doctorat Médical, 1984.
- 17. BRUNSON D.D., STEVENS J. B. and MAC GRATH C.J.,** Preoperative liver screen selection : a comparison of serum glutamic pyruvic transaminase and serum alkaline phosphatase, *J. Am. An. Hosp. Assoc.*, 1980, 16, 209-214.
- 18. BRUYETTE D.S. and FELDMAN E.C.,** Ketoconazole and its use in the management of canine Cushing's disease, *Compendium on Continuing Education For The Practicing Veterinarian*, 1988, 10 (12), 1379-1386.
- 19. BUNCH S.E., BALDWIN B.H. and HORNBUCKLE W.E.,** Compromised hepatic function in dogs treated with anticonvulsivant drug, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1984, 184 (4), 444-448.
- 20. CANU B., DE FORNEL P., HERIPRET D. et ROSENBERG D.,** Résistance à l'induction par le mitotane d'une maladie de Cushing, liée à un mode d'administration inadapté, *Prat. Med. Chir. Anim. Cie*, 2002, 37, 215-218.
- 21. CARLOTTI D., LEGEAY Y. et AUDRY A.,** Syndrome de Cushing spontané et d'origine iatrogène chez le chien : clinique et étiopathogénie, *Le Point Vétérinaire*, 1986 Déc-1987 Jan, 18, 671-684.
- 22. CARLOTTI D., LEGEAY Y. et AUDRY A.,** Syndrome de Cushing spontané et d'origine iatrogène chez le chien : diagnostic et traitement, *Le Point Vétérinaire*, 1988, 20 (11), 5-14.
- 23. CAUZINILLE L.,** Problèmes neurologiques associés au syndrome de Cushing en médecine vétérinaire, *Prat. Med. Chir. Anim. Cie*, 1992, 27 (5), 713-719.
- 24. CHAPPELLIER P.,** Contribution à l'étude de l'interprétation de l'hémogramme en gériatrie canine, Thèse de Doctorat Vétérinaire (Nantes), 2002.
- 25. DEAN E.,** Le syndrome de Cushing chez le chien, *L'Action Vétérinaire*, 2001, 1550, 19-23.
- 26. DE FORNEL P.,** Effets de la radiothérapie sur les macroadénomeshypophysaires corticotropes du chien, Thèse de Doctorat Vétérinaire (Lyon), 2004.
- 27. DELISLE F.,** La tomодensitométrie en médecine vétérinaire, *Le Point Vétérinaire*, 1993, 25, 192-199.
- 28. DE NOVO R. C. and PRASSE K.W.,** Comparison of serum biochemical and hepatic fonctionnal alterations in dogs treated with corticosteroids and hepatic duct ligation, *Am. J. Vet. Res.*, 1983, 44 (9), 1703-1709.

- 29. DESCARSIN V.**, Evaluation du traitement de l'hypercorticisme du chien par l'o,p'-DDD (étude a posteriori de 145 cas), Thèse de Doctorat Vétérinaire (Nantes), 1993.
- 30. DISS N., KEROACK S. et TRONCY E.**, Particularités anesthésiques et chirurgicales de l'animal atteint d'un hypercorticisme, *Le Point Vétérinaire*, 2000, 31 (spécial), 199-201.
- 31. DORNER J.L., HOFFMANN W.E. and LONG G.B.**, Corticosteroid induction of an isoenzyme of alkaline phosphatase in the dog, *Am. J. Vet. Res.*, 1974, 35 (11), 1457-1458.
- 32. DOW S.W., OLSON P.N., ROSYCHUK R.A. and WITHROW S.J.**, Perianal adenomas and hypertestosteronemia in a spayed bitch with pituitary dependent hyperadrénocorticisme, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1988, 192 (10), 1439-1441.
- 33. DOW S.W., LECOUTEUR R.A., ROSYCHUK R.A.W., POWERS B.E., KEMPPAINEN R.J. and GILLETTE E.L.**, Response of dogs with functional pituitary macroadenomas and macrocarcinomas to radiation, *J. Small An. Pract.*, 1990, 31, 287-294.
- 34. DUNCAN I.D., GRIFFITHS I.R. and NASH A.S.**, Myotonia in a canine Cushing's disease, *Vet. Record*, 1977 Jan, 100, 30-31.
- 35. ECKERSALL P.D. and NASH A.S.**, Isoenzymes of canine plasma alkaline phosphatase : an investigation using isoelectric focusing and related to diagnosis, *Res. Vet. Sci.*, 1983, 34, 310-314.
- 36. ECKERSALL P.D., NASH A.S., MARSHALL G.M. and DOUGLAS T.A.**, The measurement of canine steroid-induced alkaline phosphatase by L-phenylalanine inhibition, *J. Small An. Pract.*, 1986, 27, 411-418.
- 37. EIGENMANN J.E.**, Pituitary-hypothalamic diseases, *Ettinger S.J.*, 1989, 2, 1579-1609.
- 38. EILER H. and OLIVER J.**, Combined dexamethasone suppression and cosytropin (synthetic ACTH) stimulation test in the dog : new approach to testing of adrenal gland function, *Am. J. Vet. Res.*, 1980, 41 (8), 1243-1245.
- 39. EILER H., OLIVER J. and LEGENDRE A.M.**, Stages of hyperadrenocorticism : response of hyperadrenocorticoid dogs to the combined dexamethasone suppression/ACTH stimulation test, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1984, 185 (3), 289-294.
- 40. EL ETREBY M.F., MULLER-PEDDINGHAUS R., BHARGAVA A.S. and TRAUTWEIN G.**, Fonctionnal morphology of spontaneous hyperplastic and neoplastic lesions in the canine pituitary gland, *Vet. Path.*, 1980, 17 (2), 109-122.
- 41. EMMS S.G., JOHNSTON D.E, EIGENMANN J.E. and GOLDSCHMIDT M.H.**, Adrenalectomy in the management of canine hyperadrénocorticisme, *J. Am. An. Hosp. Assoc.*, 1987, 23, 557-564.
- 42. EMMS S.G., WORTMAN J.A., JOHNSTON D.E. and GOLDSCHMIDT M.H.**, Evaluation of canine hyperadrenocorticism, using computed tomography, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1986, 189, 432-439.

- 43. ESCRIOU C.**, Manifestations neurologiques des dysendocrinies, *Le Point Vétérinaire*, 2000, 31 (spécial), 161-167.
- 44. FARLEY J.R., HALL S.L., RITCHIE C., HERRING S., ORCUTT C. and MILLER B.E.**, Quantification of skeletal alkaline phosphatase isoenzyme activity in canine serum, *J. Bone Miner. Res.*, 1992 Jul, 7 (7), 779-792.
- 45. FELDMAN E.C.**, Effect of fonctionnal adrenocortical tumors on plasma cortisol and corticotropin concentration in dogs, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1981, 178 (8), 823-826.
- 46. FELDMAN E.C.**, Comparison of ACTH response and dexamethasone suppression as screening tests in canine hyperadrénocorticism, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1983, 182 (5), 506-510.
- 47. FELDMAN E.C.**, Distinguishing dogs with fonctionning adrenocortical tumors from dogs with pituitary-dependent hyperadrénocorticism, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1983, 183, 195-200.
- 48. FELDMAN E.C.**, Evaluation of a combined dexamethasone suppression/ACTH stimulation test in dogs with hyperadrénocorticism, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1985, 187, 49-53.
- 49. FELDMAN E.C.**, Evaluation of a six-hour combined dexamethasone suppression/ACTH stimulation test in dogs with hyperadrénocorticism, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1986, 189, 1562-1566.
- 50. FELDMAN E.C.**, Adrenal gland diseases, *Ettinger S.J. (3rd Edition)*, 1989, 2, 1721-1774.
- 51. FELDMAN E.C.**, Hyperadrenocorticism, *Ettinger S.J. (5th Edition)*, 1989, 2, 1460-1488.
- 52. FELDMAN E.C., BOHANNON N.V. and TYRELL J.B.**, Plasma adrenocorticotropin levels in normal dogs, *Am. J. Vet. Res.*, 1977, 38, 1643-1645.
- 53. FELDMAN E.C., BRUYETTE D.S., NELSON R.W. and FARVER T.B.**, Plasma cortisol response to ketoconazole administration in dogs with hyperadrénocorticism, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1990, 197, 71-77.
- 54. FELDMAN E.C. and MACK R.E.**, Urine cortisol : creatinine ratio as a screening test for hyperadrenocorticism in dogs, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1992, 200, 1637-1641.
- 55. FELDMAN E.C. and NELSON R.W.**, Canine hyperadrenocorticism (Cushing's syndrome), *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction (3rd Edition)*, 253-367.
- 56. FELDMAN E.C., NELSON R.W., FELDMAN M.S. and FARVER T.B.**, Comparison of mitotane treatment for adrenal tumor versus pituitary-dependent hyperadrenocorticism in dogs, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1992, 200, 1642-1647.
- 57. FELDMAN B.F., RASEDEE A. and FELDMAN E.C.**, Haemostatic abnormalities in canine Cushing's syndrome, *Res. Vet. Sci.*, 1986, 41 (2), 228-230.

- 58. FIKE J.R., LECOUTEUR R.A., CANN C.E. and PFULGFELDER C.H.,** Computerized tomography of brain tumors of the rostral and middle fossas in the dog, *Am. J. Vet. Res.*, 1981, 42 (2), 275-281.
- 59. FISHMAN W. and GHOSH N.K.,** Isoenzymes of human alkaline phosphatases, *Adv. Clin. Chem.*, 1967, 10, 225.
- 60. FONTAINE J., GILBERT S. et DHEEDENE J.,** Quantification automatisée de l'isoenzyme phosphatase alcaline cortico-induite chez le chien : contribution au diagnostic de l'hypercorticisme, *Prat. Med. Chir. Anim. Cie*, 1996, 31 (5), 445-449.
- 61. FORD S.L., FELDMAN E.C. and NELSON R.W.,** Hyperadrenocorticism caused by bilateral adrenocortical neoplasia in dogs : four cases (1983-1988), *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1993, 202, 789-792.
- 62. FORTERRE F., DIQUELOU A. et DELVERDIER M.,** Hypercorticisme spontané par tumeur surrénalienne chez le chien : méthodologie diagnostique, *Revue de Médecine Vétérinaire*, 1992, 143 (3), 245-249.
- 63. FOVEZ S.,** Echographie des glandes surrénales chez les carnivores domestiques : étude bibliographique, Thèse de Doctorat Vétérinaire (Nantes), 2003.
- 64. GAULTIER E.,** Activité hypophysaire et troubles du comportement chez le chien, *L'Action Vétérinaire*, 1995, 1315, 16-23.
- 65. GOY-THOLLOT I.,** Anatomie et physiologie des glandes surrénales, *Le Point Vétérinaire*, 2000, 31 (spécial), 63-64.
- 66. GOY-THOLLOT I.,** Tests diagnostiques de l'hypercorticisme chez le chien, *Le Point Vétérinaire*, 2000, 31 (spécial), 65-67.
- 67. GOY-THOLLOT I. et CADORE J.L.,** Hypercorticisme chez le chien : mise au point sur la valeur et l'utilisation des outils diagnostiques, *Le Point Vétérinaire*, 2000, 31 (spécial), 47-53.
- 68. GOY-THOLLOT I. et CADORE J.L.,** Hypercorticisme chez le chien : mise au point sur la thérapeutique, suivi, complications, *Le Point Vétérinaire*, 2000, 31 (spécial), 55-62.
- 69. GOY-THOLLOT I. et GARNIER F.,** Exploration fonctionnelle des surrénales, *Encyclopédie Vétérinaire, Biologie clinique*, 2003, 1300, 1-8.
- 70. GREE J.F.,** Intérêt du dosage de l'ACTH dans le diagnostic étiologique du syndrome de Cushing spontané chez le chien, Thèse de Doctorat Vétérinaire (Alfort), 1992.
- 71. GREENE C.E., LORENZ M.D, MUNNELL J.F., PRASSE K.W., WHITE N.A and BOWEN J.M.,** Myopathy associated with hyperadrenocorticism in dog, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1979, 174 (12), 1310-1315.
- 72. GROUX D. et HERIPRET D.,** L'hypercorticisme chez le chien ( I ), *L'Action Vétérinaire*, 2002, 1599, 19-25.

- 73. GROUX D. et HERIPRET D.**, L'hypercorticisme chez le chien ( II ), L'Action Vétérinaire, 2002, 1600, 17-24.
- 74. GRIFFITHS I.R. and DUNCAN I.D.**, Myotonia in the dog : a report of four cases, Vet. Record, 1973 (18 Aug), 93, 184-188.
- 75. GRUFFYDD-JONES T.J.**, Medical management of Cushing's syndrome in dogs, Vet. Record, 1989, 124 (13), 317-318.
- 76. HADLEY S.P., HOFFMANN W.E., KUHLENSCHMIDT M.S., SANECKI R.K. and DORNER J.L.**, Effect of glucocorticoids on alkaline phosphatase, alanine aminotransferase, and gamma-glutamyltransferase in cultured dog hepatocytes, Enzyme, 1990, 43 (2), 89-98.
- 77. HAMILTON J.M., PATH M.R.C. and WHRIGHT J.**, Alkaline phosphatase levels in canine mammary neoplasia, Vet. Record, 1977, 13, 237-241.
- 78. HERIPRET D.**, Alopécie symétrique canine : que faire lorsque les explorations thyroïdienne et surrénalienne ne révèlent rien d'anormal ?, Le Point Vétérinaire, 2000, 31 (spécial), 143-150.
- 79. HERIPRET D.**, Etudes des différents tests diagnostiques de l'hypercorticisme spontané du chien, Prat. Med. Chir. Anim. Cie, 1995, 30 (suppl. 2), 309-317.
- 80. HERIPRET D.**, Hypercorticisme chez le chien, Waltham Int. Focus, 1997, 7 (2), 2-8.
- 81. HOFFMANN W.E.**, Diagnostic value of canine serum alkaline phosphatase by cellulose acetate electrophoresis, J. Am. An. Hosp. Assoc., 1977, 13, 237-241.
- 82. HOFFMANN W.E. and DORNER J.L.**, Separation of isoenzyme of canine alkaline phosphatase by cellulose acetate electrophoresis, J. Am. An. Hosp. Assoc., 1975, 11, 283-285.
- 83. HOFFMANN W.E. and DORNER J.L.**, Disappearance rates of intravenously injected canine alkaline phosphatase isoenzymes, Am. J. Vet. Res., 1977, 38 (10), 1553-1556.
- 84. HOFFMANN W.E., SANECKI R.K. and DORNER J.L.**, A technique for automated quantification of canine glucocorticoid-induced isoenzyme of alkaline phosphatase, Vet. Clin. Pathol., 1990, 17 (3), 66-70.
- 85. HORNE M., CORNISH C.J. and POSEN S.**, Use of urea denaturation in the identification of human alkaline phosphatases, J. Lab. Clin. Med., 1968, 72, 905-915.
- 86. ITOH H., KAKUTA T. GENDA G., SAKONJU I. and TAKASE K.**, Canine serum alkaline phosphatase isoenzymes detected by polyacrylamide gel disk electrophoresis, J. Vet. Med. Sci., 2002 Jan, 64 (1), 35-39.
- 87. JANCKILA A.J., YAM L.T. and LI CHIN-YANG**, Immunoalkaline phosphatase cytochemistry. Technical considerations of endogenous phosphatase activity., Am. J. Clin. Pathol., 1985, 84, 476-480.

- 88. JAUDON J.Ph.**, Indications et perspectives de l'échographie en médecine vétérinaire des carnivores domestiques, *Le Point Vétérinaire*, 1993, 25, 201-210.
- 89. JOHNSTON D.E.**, Adrenalectomy via retroperitoneal approach in dogs, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1977, 170, 1092-1095.
- 90. KANTROWITZ B.M., NYLAND T.G. and FELDMAN E.C.**, Adrenal ultrasonography in the dog. Detection of tumors and hyperplasia in hyperadrénocorticism, *Vet. Radiol.*, 1986, 27, 91-96.
- 91. KARAYANNOPOULOU M., KOUTINAS A.F., POLIZOPOULOU Z.S., ROUBIES N., FYTIANOU A., SARIDOMICHELAKIS M.N. and KALDRYMIDOU E.**, Total serum alkaline phosphatase activity in dogs with mammary neoplasms : a prospective study on 79 natural cases, *J. Vet. Med. A. Physiol. Pathol. Clin. Med.*, 2003 Dec, 50 (10), 501-505.
- 92. KAUFMAN J.**, Diseases of the adrenal cortex of dogs and cats. Hyperadrenocorticism, *Mod. Vet. Pract.*, 1984, 65 (6), 429-434.
- 93. KELLER P.**, Enzymes activities in the dog : tissue analyses plasma values intracellular distribution, *Am. J. Vet. Res.*, 1981, 42 (4), 575-582.
- 94. KEMPPAINEN R.J.**, Endocrine tests for adrenal glands disorders in dogs, *Calif. Vet.*, 1984, 38, 12-16.
- 95. KEMPPAINEN R.J and ZENOBLE R.D.**, Non-dexamethasone-suppressible pituitary-dependent hyperadrenocorticism in a dog, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1985, 187 (3), 276-278.
- 96. KEROACK S. et CADORE J.-L.**, La faiblesse et la perte de conscience en endocrinologie : présentation au travers de quelques situations cliniques, *Le Point Vétérinaire*, 2000, 31 (spécial), 151-157.
- 97. KIDNEY B.A. and JACKSON M.L.**, Diagnostic value of alkaline phosphatase isoenzyme separation by affinity electrophoresis in the dog, *Can. J. Vet. Res.*, 1988, 52, 106-110.
- 98. KINTZER P.P. and PETERSON M.E.**, Mitotane (o,p'-DDD) treatment of 200 dogs with pituitary-dependent hyperadrénocorticism, *J. Vet. Int. Med.*, 1991, 5, 182-190.
- 99. KIPPERMAN B.S., FELDMAN E.C., DYBDAL N.O. and NELSON R.W.**, Pituitary tumor size, neurologic signs, and relation to endocrine test results in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism : 43 cases (1980-1990), *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1992, 201, 762-767.
- 100. KUHLENSCHMIDT M.S., HOFFMANN W.E. and RIPPY M.K.**, Glucocorticoid hepatopathy : effect on receptor-mediated endocytosis of asialoglycoproteins, *Biochem. Med. Metab. Biol.*, 1991 Oct, 46 (2), 152-168.

- 101. KUTZLER M.A., SOLTER P.F., HOFFMANN W.E. and VOLKMANN D.H.,** Characterization and localization of alkaline phosphatase in canine seminal plasma and gonadal tissues, *Theriogenology*, 2003 Jul, 60 (2), 299-306.
- 102. LAMB C.R.,** Abdominal ultrasonography in small animals : intestinal tract and mesentery, kidneys, adrenal glands, uterus and prostate, *J. Small An. Pract.*, 1990, 31, 295-304.
- 103. LANTZ G.C., IHLE S.L., NELSON R.W., CARLTON W.W., FELDMAN E.C., LOTHROP C.D. and BOTTOMS G.D.,** Transsphenoidal hypophysectomy in the clinically normal dog, *Am. J. Vet. Res.*, 1988, 49 (7), 1134-1142.
- 104. LAPLAUD J.P., DELISLE E. et JEGOU J.-P.,** Pathologie surrénalienne 1. Physiologie 2. Physiopathologie-Etiologie 3. Clinique, *L'Action Vétérinaire*, 1985 Mai, 917, I-VIII
- 105. LAPLAUD J.P., DELISLE E. et JEGOU J.-P.,** Pathologie surrénalienne 4. Diagnostic non spécifique 5. Diagnostic spécifique 6. Traitement-Pronostic, *L'Action Vétérinaire*, 1985 Juin, 921, I-X.
- 106. LAVELLE R.B.,** The treatment of Cushing's Disease in the dog, *Vet. Record*, 1976, 98, 406.
- 107. LEVEILLE-WEBSTER C.R.,** Laboratory diagnosis of hepathobiliary disease, Ettinger S.J. (5th Edition), 1989, 2, 1277-1283.
- 108. LING G.V., STABENFELDT G.H. and CMOER K.M.,** Canine hyperadrenocorticism : pretreatment clinical and laboratory evaluation of 117 cases, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1979, 174, 1211-1215.
- 109. LITTMAN M.P., ROBERTSON J.L. and BOVEE K.C.,** Spontaneous systemic hypertension in dogs : five cases (1981-1983), *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1988, 193 (4), 486-494.
- 110. LOTHROP C.D.Jr and OLIVER J.W.,** Diagnosis of canine Cushing's syndrome based on multiple steroid analysis and dexamethasone turnover kinetics, *Am. J. Vet. Res.*, 1984, 45 (10), 2304-2309.
- 111. MACK R.E. and FELDMAN E.C.,** Comparison of two low-dose dexamethasone suppression protocols as screening and discrimination tests in dogs with hyperadrénocorticism, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1990, 197, 1603-1606.
- 112. MAHAFFEY E.A. and LAGO M.P.,** Comparison of techniques for quantifying alkaline phosphatase isoenzymes in canine serum, *Vet. Clin. Pathol.*, 1991, 20 (2), 51-55.
- 113. MAI W.,** Imagerie et endocrinologie, *Le Point Vétérinaire*, 2000, 31 (spécial), 177- 185.
- 114. MAULDIN G.N. and BURK R.L.,** The use of diagnostic computerized tomography and radiation therapy in canine and feline hyperadrénocorticism, *Prob. In Vet. Med.*, 1990, 2, 557-564.

- 115. MILLER W.H.**, Parapituitary meningioma in a dog with pituitary-dependent hyperadrenocorticism, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1991, 198, 444-446.
- 116. MOORE W.E. and FELDMAN B.F.**, The use of isoenzymes in small animal medicine, *J. Am. An. Hosp. Assoc.*, 1974, 10, 420-428.
- 117. MORRIS R.E. and HORROWITZ D.A.**, Cellular enzyme-linked immunospecific assay (CELISA) IV. Inhibition of endogenous cellular alkaline phosphatase activity, *J. Immun. Meth.*, 1984, 68, 11-17.
- 118. NOGUES J.P.**, Tumeur surrenalienne chez une chienne, *L'Action Vétérinaire*, 1998, 1437, 19-26.
- 119. NELSON R.W.**, Treatment of canine Cushing's using o,p'-DDD, *TNAVC 1997 Proceeding*, 1997, 11, 186-188.
- 120. NELSON R.W., IHLE S.L. and FELDMAN E.C.**, Pituitary macroadenomas and macrocarcinomas in dogs treated with mitotane for pituitary-dependent hyperadrenocorticism : 13 cases (1981-1986), *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1989, 194, 1612-1617.
- 121. NELSON R.W., FELDMAN E.C. and FORD S.L.**, Topics in the diagnosis and treatment of canine hyperadrenocorticism, *Compendium on Continuing Education For The Practicing Veterinarian*, 1991, 13 (12), 1797-1806.
- 122. NIEBAUER G.W., EIGENMANN J.E. and VAN WINKLE T.J.**, Study of long-term survival after transphenoidal hypophysectomy in clinically normal dogs, *Am. J. Vet. Res.*, 1990, 51, 677-681.
- 123. NORMAN E.J., THOMPSON H. and MOONEY C.T.**, Dynamic adrenal function testing in eight dogs with hyperadrenocorticism associated with adrenocortical neoplasia, *Vet. Record*, 1999, 144, 551-554.
- 124. OKIN R.E.**, Adrenocortical hyperfunction : diagnosis and differentiation, *Canine Pract.*, 1983, 10 (2), 12-20.
- 125. OLUJU M.P., ECKERSALL P.D. and DOUGLAS T.A.**, Simple quantitative assay for canine steroid-induced alkaline phosphatase, *Vet. Record*, 1984, 115, 17-18.
- 126. PAUPELIN-HUCHARD B.**, Evaluation de l'efficacité du traitement de l'hypercorticisme du chien par la sélégiline : étude retrospective de 260 cas cliniques, *Thèse de Doctorat Vétérinaire (Nantes)*, 2002.
- 127. PECHEREAU D.**, Polyurie et polydipsie, *Prat. Med. Chir. Anim. Cie*, 1983, 18 (6), 49-53.
- 128. PECHEREAU D.**, Traitement médical de la maladie de Cushing. Quelle place pour les IMAOB ?, *CNVSPA (EDS), Congrès annuel, Lyon, 6-8 décembre, 1996*, 199-200.
- 129. PENNINGCK D.G., FELDMAN E.C. and NYLAND T.G.**, Radiographic features of canine hyperadrenocorticism caused by autonomously functioning adrenocortical tumors : 23 cases (1978-1986), *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1988, 192, 1604-1608.

- 130. PERENNES Y.**, La tomodensitométrie dans le diagnostic étiologique du syndrome de Cushing chez le chien, Thèse de Doctorat Vétérinaire (Lyon), 1998.
- 131. PERRON-LEPAGE M.-F. et MAGNOL J.-P.**, Apport de l'examen histopathologique lors de suspicion clinique d'endocrinopathie chez le chien, *Le Point Vétérinaire*, 2000, 31 (spécial), 187- 192.
- 132. PETERSON M.E.**, O,p'DDD (mitotane) treatment of canine pituitary-dependent hyperadrénocorticism, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1983, 182 (5), 527-528.
- 133. PETERSON M.E.**, Hyperadrenocorticism, *Vet. Clin. North Am. : Small An. Pract.*, 1984, 14 (4), 731-749.
- 134. PETERSON M.E., ALTSZULER N. and NICHOLS C.E.**, Decreased insulin sensitivity and glucose tolerance in spontaneous canine hyperadrénocorticism, *Res. Vet. Sci.*, 1984, 36 (2), 177-182.
- 135. PETERSON M.E., FERGUSON D.C., KINTZER P.P. and DRUCKER W.D.**, Effect of spontaneous hyperadrenocorticism on serum thyroid hormone concentrations in the dog, *Am. J. Vet. Res.*, 1984, 45 (10), 2034-2038.
- 136. PETERSON M.E., GILBERTSON S.R. and DRUCKER W.D.**, Plasma cortisol response to exogenous ACTH in 22 dogs with hyperadrenocorticism caused by adrenocortical neoplasia, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1982, 180 (5), 542-544.
- 137. PICALET P. et VAN CROMBRUGGE B.**, Myopathie associée à un hypercorticisme chez un chien, *Le Point Vétérinaire*, 1993, 24 (150), 745-748.
- 138. PINARD S.A.**, Traitement de l'hypercorticisme spontané du chien par le kétoconazole : étude bibliographique et expérimentale, Thèse de Doctorat Vétérinaire (Lyon), 1994.
- 139. PINARD S.A., GUAGUERE E. et GARNIER F.**, Traitement de l'hypercorticisme spontané du chien par le kétoconazole : à propos de 13 cas, *Prat. Med. Chir. Anim. Cie*, 1995, 30 (suppl. 2), 319-329.
- 140. POFFENBARGER E.M., FEENEY D.A. and HAYDEN D.W.**, Gray-scale ultrasonography in the diagnosis of adrenal neoplasia in dogs : six cases (1981-1986), *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1988, 192, 228-232.
- 141. PONDER B.A. and WILKINSON M.M.**, Inhibition of endogenous tissue alkaline phosphatase with the use of alkaline phosphatase conjugates in immunohistochemistry, *J. Histochem. Cytochem.*, 1981, 29, 981-998.
- 142. PRELAUD P.**, Tests hormonaux : l'exploration corticosurrénalienne, *L'Action Vétérinaire*, 1996, 1370, 19-22.
- 143. REGNIER A.**, Hypercorticisme spontané, *Encyclopédie Vétérinaire, Endocrinologie*, 1993.

- 144. REINE N.J., HOHENHAUS A.E., PETERSON M.E. and PATNAIK A.K.,** Deoxycorticosterone-secreting adrenocortical carcinoma in a dog, *J. Vet. Int. Med.*, 1999, 13, 386-390.
- 145. REINKE S.I.,** The clinical approach to the pruritic dog, *Vet. Clin. North Am. : Small An. Pract.*, 1988, 18 (5), 983-998.
- 146. REUSCH C.E. and FELDMAN E.C.,** Canine hyperadrenocorticism due to adrenocortical neoplasia. Pretreatment evaluation on 41 dogs, *J. Vet. Int. Med.*, 1991, 5, 3-10.
- 147. RICHKIND M.,** The treatment of unresponsive Cushing's disease after the use of o,p'-DDD, *Canine Pract.*, 1981, 8 (3), 18-20.
- 148. RIJNBERK A. and BELSHAW B.E.,** An alternative protocol for the medical management of canine pituitary-dependent hyperadrenocorticism, *Vet. Record*, 1988, 122 (20), 486-488.
- 149. RIJNBERK A., VAN WEES A. and MOL J.A.,** Assessment of two tests for the diagnosis of canine hyperadrenocorticism, *Vet. Record*, 1988, 122, 178-180.
- 150. RIJNBERK A., VOORHOUT G. and MOL J.A.,** Corticoid production by four dogs with hyperfunctioning adrenocortical tumours during treatment with mitotane (o,p'-DDD), *Vet. Record*, 1992, 131, 484-487.
- 151. ROCHE J. et COURTOIS J.,** *Exposés annuels de biochimie médicale*, 4<sup>o</sup> série Masson et Cie Ed. Paris, 1964.
- 152. ROGERS W.A.,** Source of serum alkaline phosphatase in clinically normal and diseased dogs : a clinical study, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1976, 168, 934-937.
- 153. ROSENBERG D.,** Approche diagnostique d'une polyuro-polydipsie chez le chien et le chat, *Le Point Vétérinaire*, 2000, 31 (spécial), 133- 141.
- 154. SAINI P.K. and SAINI S.K.,** Immunochemical study of canine intestinal hepatic and osseous alkaline phosphatases, *Am. J. Vet. Res.*, 1978, 39 (9), 1506-1509.
- 155. SAINI P.K. and SAINI S.K.,** Origin of serum alkaline phosphatase in the dog, *Am. J. Vet. Res.*, 1978 Sept, 39 (9), 1510-1513.
- 156. SAINI P.K., PEARY G.M., HAUSER D.E. and SAINI S.K.,** Diagnostic evaluation of canine serum alkaline phosphatase by immunochemical means and interpretation of result, *Am. J. Vet. Res.*, 1978 Sept, 39 (9), 1514-1518.
- 157. SANECKI R.K., HOFFMANN W.E., DORNER J.L. and KUHLENSCHMIDT M.S.,** Purification and comparison of corticosteroid-induced and intestinal isoenzymes of alkaline phosphatase in dogs, *Am. J. Vet. Res.*, 1990, 51 (12), 1964-1968.
- 158. SANECKI R.K., HOFFMANN W.E., GELBERG H.B. and DORNER J.L.,** Subcellular location of corticoid-induced alkaline phosphatase in canine hepatocytes, *Vet. Pathol.*, 1987 Jul, 24 (4), 296-301.

- 159. SANECKI R.K., HOFFMANN. W.E., HANSEN R. and SCHAEFFER D.J.,** Quantification of bone alkaline phosphatase in canine serum, *Vet. Clin. Pathol.*, 1993, 22 (1), 17-23.
- 160. SARFATY D., CARRILLO J.M. and PETERSON M.E.,** Neurologic, endocrinologic, and pathologic findings associated with large pituitary tumors in dogs : eight cases (1976-1984), *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1988, 193 (7), 854-856.
- 161. SCAVELLI T.D., PETERSON M.E. and MATTHIESEN D.T.,** Results of surgical treatment for hyperadrenocorticism caused by adrenocortical neoplasia in the dog : 25 cases (1980-1984), *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1986, 189, 1360-1364.
- 162. SCHAER M.,** Treatment of canine Cushing's syndrome with o,p'-DDD, *Canine Pract.*, 1979, 6 (6), 38-41.
- 163. SCHECHTER R.D., STABENFELDT G.H., GRIBBLE C.H. and LING G.V.,** Treatment of Cushing's syndrome in the dog with adrenocorticolytic agent o,p'-DDD, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1973, 162 (8), 629-639.
- 164. SCHOLTENS H.B., HARDONK M.J. and MEIJER D.K.,** A kinetic study of hepatic uptake of canine intestinal alkaline phosphatase in rat, *Liver*, 1982 Mar, 2 (1), 1-13.
- 165. SCOTT D.W.,** Hyperadrenocorticism (hyperadrenocorticoidism, hyperadrenocorticalism, Cushing's disease, Cushing's syndrome), *Vet. Clin. North Am. : Small An. Pract.*, 1979, 9 (1), 3-28.
- 166. SIEGEL E.T., KELLY D.F. and BERG P.,** Cushing's syndrome in the dog, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1970, 157 (12), 2081-2090.
- 167. SIEGEL E.T., O'BRIEN J.B., PYLE L. and SCHRYVER H.F.,** Functional adrenocortical carcinoma in a dog, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1967, 150 (7), 760-766.
- 168. SMILEY L.E. and PETERSON M.E.,** Evaluation of a urine cortisol : creatinine ratio as a screening test for hyperadrenocorticism in dogs, *J. Vet. Int. Med.*, 1993, 7, 163-168.
- 169. SOLTER P.F., HOFFMANN W.E., HUNGERFORD L.L., PETERSON M.E. and DORMER J.L.,** Assessment of corticosteroid-induced alkaline phosphatase isoenzyme as a screening test for hyperadrenocorticism in dogs, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1993 Aug 15, 203 (4), 534-538.
- 170. SORENSEN S., MATZEN P. and BOGH I.,** Electrophoretic separation of alkaline phosphatase isoenzymes compared with alkaline phosphatase and gamma glutamyl transferase in hepatobiliary diseases, *Scand. J. Gastroenterol.*, 1981, 16 (7), 885-889.
- 171. STOLP R., RIJNBERK A., MEIJER J.C. and CROUGHS R.J.M.,** Urinary corticoids in the diagnosis of canine hyperadrenocorticism, *Res. Vet. Sci.*, 1983, 34 (2), 141-144.

- 172. SYAKALIMA M., TAKIGUCHI M., YSAUDA J. and HASHIMOTO A.**, Separation and quantification of corticosteroid-induced, bone and liver alkaline phosphatase isoenzymes in canine serum, *J. Vet. Med.* , 1997 Dec, 44 (9-10), 603-610.
- 173. SYAKALIMA M., TAKIGUCHI M., YSAUDA J. and HASHIMOTO A.**, The age dependant levels of serum ALP isoenzymes and the diagnostic significance of corticosteroid-induced ALP during long-term glucocorticoid treatment, *J. Vet. Med. Sci.*, 1997 Oct, 59 (10), 905-909.
- 174. SYME H.M., SCOTT-MONCRIEFF J.C., TREADWELL N.G., THOMPSON M.F., SNYDER P.W., WHITE M.R. and OLIVER J.W.**, Hyperadrenocorticism associated with excessive sex hormone production by an adrenocortical tumor in two dogs, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2001, 12, 1725-1728.
- 175. TESKE E., ROTHUIZEN J., DE BRUIJNE J.J. and RIJNBERK A.**, Corticosteroid-induced alkaline phosphatase isoenzyme in the diagnosis of canine hypercorticism, *Vet. Record*, 1989, 125, 12-14.
- 176. TURREL J.M., FIKE J.R., LECOUTEUR R.A. and HIGGINS R.J.**, Computed tomographic characteristics of primary brain tumors in 50 dogs, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1986, 188, 851-856.
- 177. VAN BELLE H.**, Kinetics and inhibition of alkaline phosphatases from canine tissues, *Biochem. Biophys. Acta*, 1972, 289, 158-168.
- 178. VAN BELLE H.**, Alkaline phosphatases, I, Kinetics and inhibition by levamisole of purified isoenzymes from humans, *Clin. Chem.*, 1976, 22, 972-976.
- 179. VERSCHUEREN C. and RIJNBERK A.**, Le syndrome de Cushing chez le chien : actualités pathogéniques, diagnostiques et thérapeutiques, *Ann. Méd. Vet.*, 1987, 131, 17-36.
- 180. VIALLE A.**, Contribution à l'étude du développement ontofoetal des phosphatases alcalines tissulaires - Apport au diagnostic prénatal de l'hypophosphatasie et de la mucoviscidose, Thèses de Doctorat Médical, 1986.
- 181. VOORHOUT G., RIJNBERK A., SJOLLEMA B.E. and VAN DEN INGH T.S.G.A.M.**, Nephrotomography and ultrasonography for the localization of hyperfunctioning adrenocortical tumors in dogs, *Am. J. Vet. Res.*, 1990, 51 (8), 1280-1285.
- 182. VOORHOUT G., STOLP R., LUBBERINK A.A.M.E. and VAN WAES P.F.G.M.**, Computed tomography in the diagnosis of canine hyperadrenocorticism not suppressible by dexamethasone, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1988, 192, 641-646.
- 183. VOORHOUT G., STOLP R., RIJNBERK A. and VAN WAES P.F.G.M.**, Assessment of survey radiography and comparison with x-ray computed tomography for detection of hyperfunctioning adrenocortical tumors in dogs, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1990, 196, 1799-1803.

- 184. WATSON A.D.J., RIJNBERK A. and MOOLENAAR A.J.**, Systematic availability of o,p'-DDD in normal dogs, fasted and fed, and in dogs with hyperadrenocorticism, *Res. Vet. Sci.*, 1987, 43 (2), 160-165.
- 185. WELLMAN M.L., HOFFMANN W.E., DORNER J.L. and MOCK R.E.**, Comparison of the steroid-inducer, intestinal, and hepatic isoenzymes of alkaline phosphatase in the dog, *Am. J. Vet. Res.*, 1982 Jul, 43 (7), 1204-1207.
- 186. WHITE S.D., CERAGIOLI K.L., BULLOCK L.P. and MASON G.D.**, Cutaneous markers of canine hyperadrenocorticism, *Compendium on Continuing Education For The Practicing Veterinarian*, 1989, 11 (4), 446-464.
- 187. WILLEBERG P. and PRIESTER W.A.**, Epidemiological aspects of clinical hyperadrenocorticism in dogs (Canine Cushing's syndrome), *J. Am. An. Hosp. Assoc.*, 1982, 18, 717-724.
- 188. WILSON S.M. and FELDMAN E.C.**, Diagnostic value of the steroid-induced isoenzyme of alkaline phosphatase in the dog, *J. Am. An. Hosp. Assoc.*, 1992, 28 (3), 245-250.
- 189. WYERS M.**, Le syndrome de Cushing dans l'espèce canine. Physiologie de la corticosurrénale, *Rec. Med. Vet.*, 1974, 150 (3), 227-234.
- 190. WYERS M.**, Le syndrome de Cushing dans l'espèce canine. Etude du syndrome de Cushing, *Rec. Med. Vet.*, 1974, 150 (5), 423-434.
- 191. WYERS M. et PARODI A.L.**, Le syndrome de Cushing chez le chien, *Le Point Vétérinaire*, 1976, 15 (3), 39-42.
- 192. YOUNG J.J.**, Source, fate and possible significance of elevated serum alkaline phosphatase in nonicteric animals with partial biliary obstruction, *J. Am. An. Hosp. Assoc.*, 1974, 10, 140-145.



**NOM PRENOM :** RICKLIN Anthony

**TITRE :** DIAGNOSTIC ET SUIVI THERAPEUTIQUE DU SYNDROME DE CUSHING – DOSAGE DES PHOSPHATASES ALCALINES CORTICO-INDUITES

**Thèse Vétérinaire :** Lyon, 07 novembre 2005

**RESUME :** Les phosphatases alcalines sont des enzymes qui se localisent dans la plupart des tissus de l'organisme. Ainsi leurs variations sont peu spécifiques. Cependant, il existe une forme particulière produite uniquement chez le chien et principalement lors d'hypercorticisme spontané ou iatrogène : les phosphatases alcalines cortico-induites. Le but de ce travail consistait à mettre au point un test diagnostique fiable du syndrome de Cushing chez le chien, par le biais du dosage de ces PAL, ainsi que de vérifier la possibilité de suivre le traitement de l'hypercorticisme au moyen de ce même dosage. Les résultats mettent en évidence qu'un tel test peut être réalisé en première intention. Par contre, ils montrent que ce dosage ne permet en aucun cas de réaliser un suivi médical, en raison de la variation tardive des phosphatases alcalines cortico-induites.

**MOTS CLES :**

- Diagnostic
- Suivi thérapeutique
- Cushing
- Hypercorticisme
- Phosphatases alcalines
- Lévamisole

**JURY :**

Président :	Monsieur le Professeur ORGIAZZI
1er Assesseur :	Monsieur le Professeur BENOIT
2ème Assesseur :	Madame le Maître de conférence PONCE

**DATE DE SOUTENANCE :**

07 novembre 2005

**ADRESSE DE L'AUTEUR :**

112 Chemin des 3 Poiriers  
73200 Albertville