

**Titre :** Stéroïdomique corticosurrénalienne par LC-MS/MS : applications en endocrinologie pédiatrique

**Mots clés :** Corticostéroïdes – LC-MS/MS – Surrénales – Prématurité – Hyperplasie congénitale des surrénales

**Résumé :** La corticostéroïdogénèse correspond à la synthèse de l'aldostérone, hormone régulant l'homéostasie hydrosodée, et du cortisol hormone du stress, impliquée, dans de nombreux processus physiologiques. Son exploration exhaustive nécessite un dosage précis des précurseurs de synthèse, dont certains, en pathologie, peuvent être déficitaires ou au contraire s'accumuler entraînant des conséquences cliniques graves. Grâce à la chromatographie liquide à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS), nous avons développé deux méthodes permettant de cartographier les stéroïdomes plasmatique et urinaire et de doser la fludrocortisone à partir d'un faible volume d'échantillon. Nous avons démontré le potentiel de cette méthode dans le dépistage et le suivi du bloc en 21-hydroxylase, et décrit une accumulation prolongée de précurseurs de synthèse dont les dérivés 21-déoxystéroïdes chez les patients mal équilibrés. Nous avons montré l'action antagoniste partielle de ces composés conduisant à une interférence potentielle avec la signalisation minéralocorticoïde et risquant d'aggraver la symptomatologie.

Dans un deuxième temps, notre méthode de dosage en LC-MS/MS nous a permis d'explorer la corticostéroïdogénèse périnatale. La comparaison des stéroïdomes maternel et foetal de grossesses menées à terme a permis de préciser la coopération existant entre les stéroïdogénèses materno-foeto-placentaire et l'étude du stéroïdome des 152 nouveau-nés de la cohorte PREMALDO a confirmé l'existence d'un déficit global de la synthèse corticostéroïdienne au cours de la grande prématurité et identifié pour la première fois un déficit partiel en enzyme P450c11 $\beta$  responsable de la synthèse du cortisol chez ces nouveau-nés.

Enfin, avons identifié un nouveau régulateur potentiel de la sécrétion stéroïdienne : l'adrénomédulline (ADM). Négativement corrélé à l'âge gestationnel dans la cohorte PREMALDO et à la concentration de cortisol, l'ADM inhibe la voie glucocorticoïde dans les cellules humaines surrénales HAC15.

L'analyse du stéroïdome par LC-MS/MS est désormais le gold-standard de l'investigation endocrinienne, tant en biologie clinique qu'en recherche fondamentale.

**Title:** Adrenocortical steroid metabolome by LC-MS/MS: applications in pediatric endocrinology

**Keywords:** Adrenocortical steroids – LC/MS-MS – Adrenals – Prematurity – Congenital Adrenal Hyperplasia

**Abstract:** Corticosteroidogenesis is the synthesis of aldosterone, a hydroelectrolytic homeostasis regulatory hormone, and the stress hormone cortisol involved in many physiological processes. Its exhaustive exploration requires a precise dosing of the steroid precursors, some of which, in pathology, may be deficient or, on the contrary, accumulate with serious deleterious clinical consequences. Thanks to liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS/MS), we have developed two methods for mapping plasma and urinary steroidomic and for the determination of fludrocortisone from a small sample volume. We have demonstrated the usefulness of this method in screening and monitoring of 21-hydroxylase deficient patients and have described a prolonged accumulation of precursors including 21-deoxysteoid derivatives in patients with poorly controlled disease. We showed the partial antagonistic action of these compounds leading to an interference with mineralocorticoid signaling and potentially worsening the symptomatology.

In a second part,, our LC-MS/MS assay method allowed us to explore perinatal corticosteroidogenesis. The comparison of maternal and fetal steroidomes of term pregnancies clarified the cooperation existing between maternal-fetal-placental steroidogenesis and the study of the steroidomic profiles of 152 newborns of the PREMALDO cohort confirmed the existence of a overall defect in corticosteroid synthesis during prematurity and identified for the first time a partial deficiency in the P450c11 $\beta$  enzyme, responsible for cortisol synthesis, in these newborns.

Finally, we identified a new potential regulator of steroid secretion: adrenomedullin (ADM). Negatively correlated with gestational age in the PREMALDO cohort and cortisol concentrations, ADM inhibits the glucocorticoid pathway in human adrenal HAC15 cells.

Steroidomic analysis by LC-MS/MS is now the gold-standard in endocrine investigation, in both clinical biology and fundamental research.