



Hyperandrogénie et infertilité féminine..

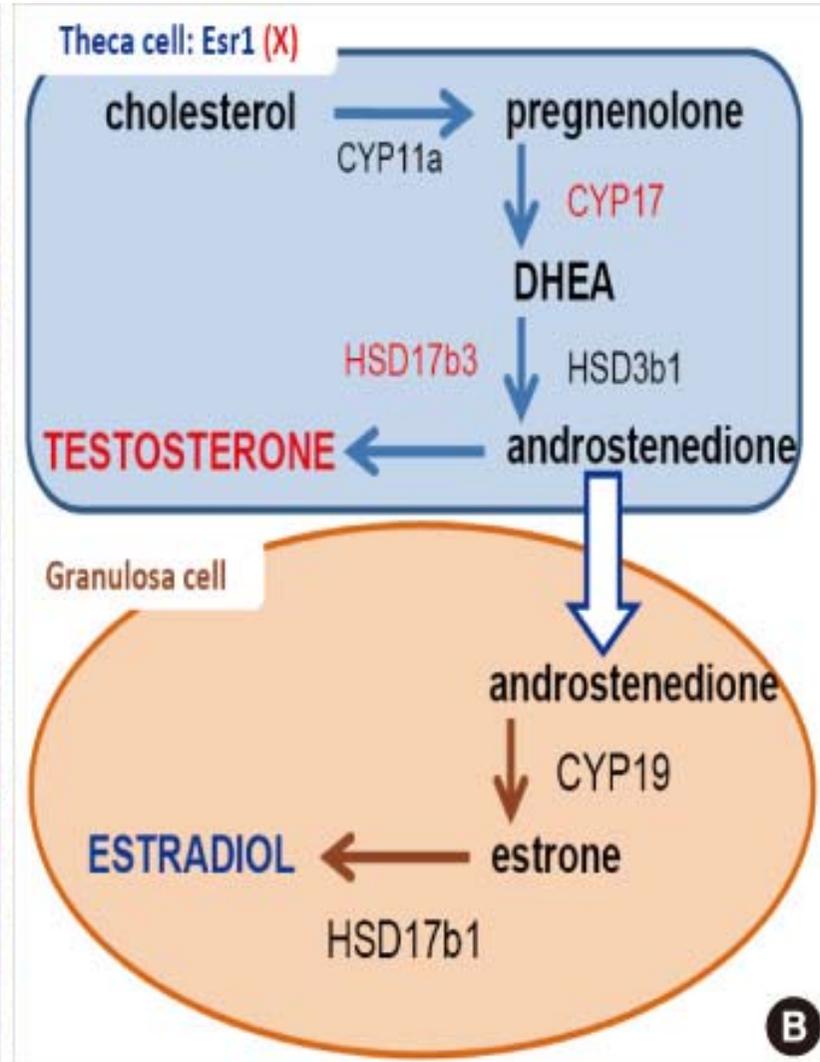
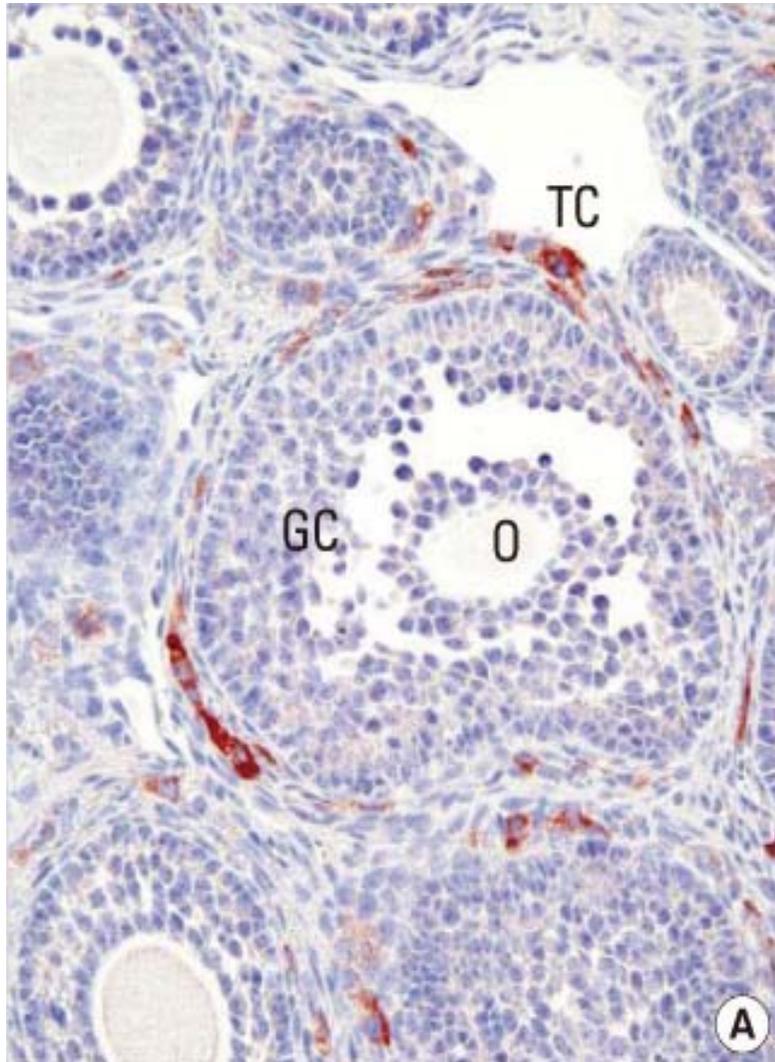
Dr Nathalie Bourcigaux
Service du Pr Sophie Christin -Maitre
Hôpital St Antoine

Hyperandrogénie et infertilité

- Sources des androgènes en physiologie chez la femme
- Rôle des androgènes sur la folliculogénèse
Modèles animaux
- Hyperandrogénie et fertilité féminine:
maturation folliculaire et l'axe gonadotrope

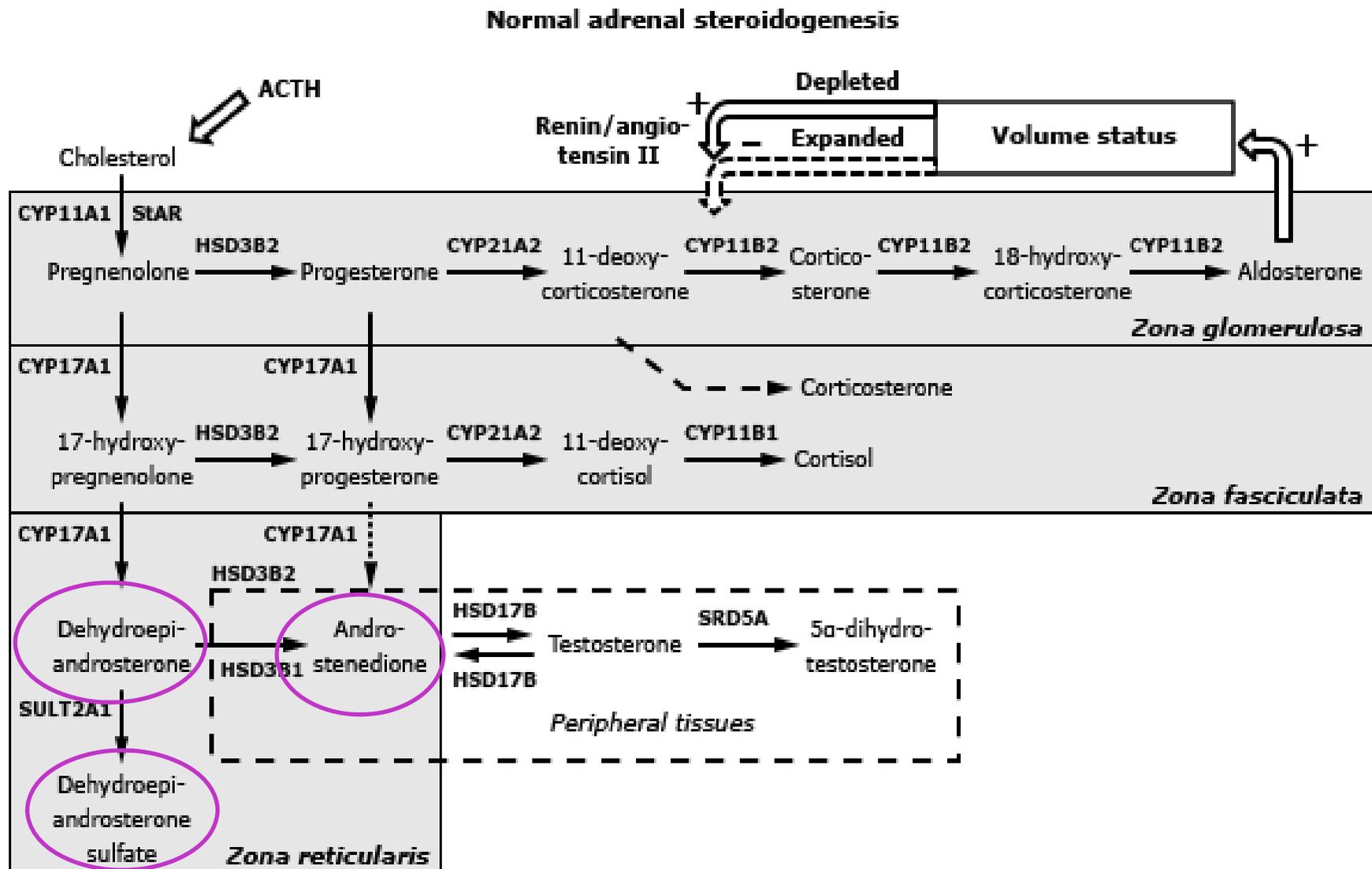
Source d'Androgènes

Ovaire : testostérone

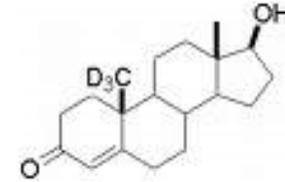


Source d'Androgènes

Surrénale



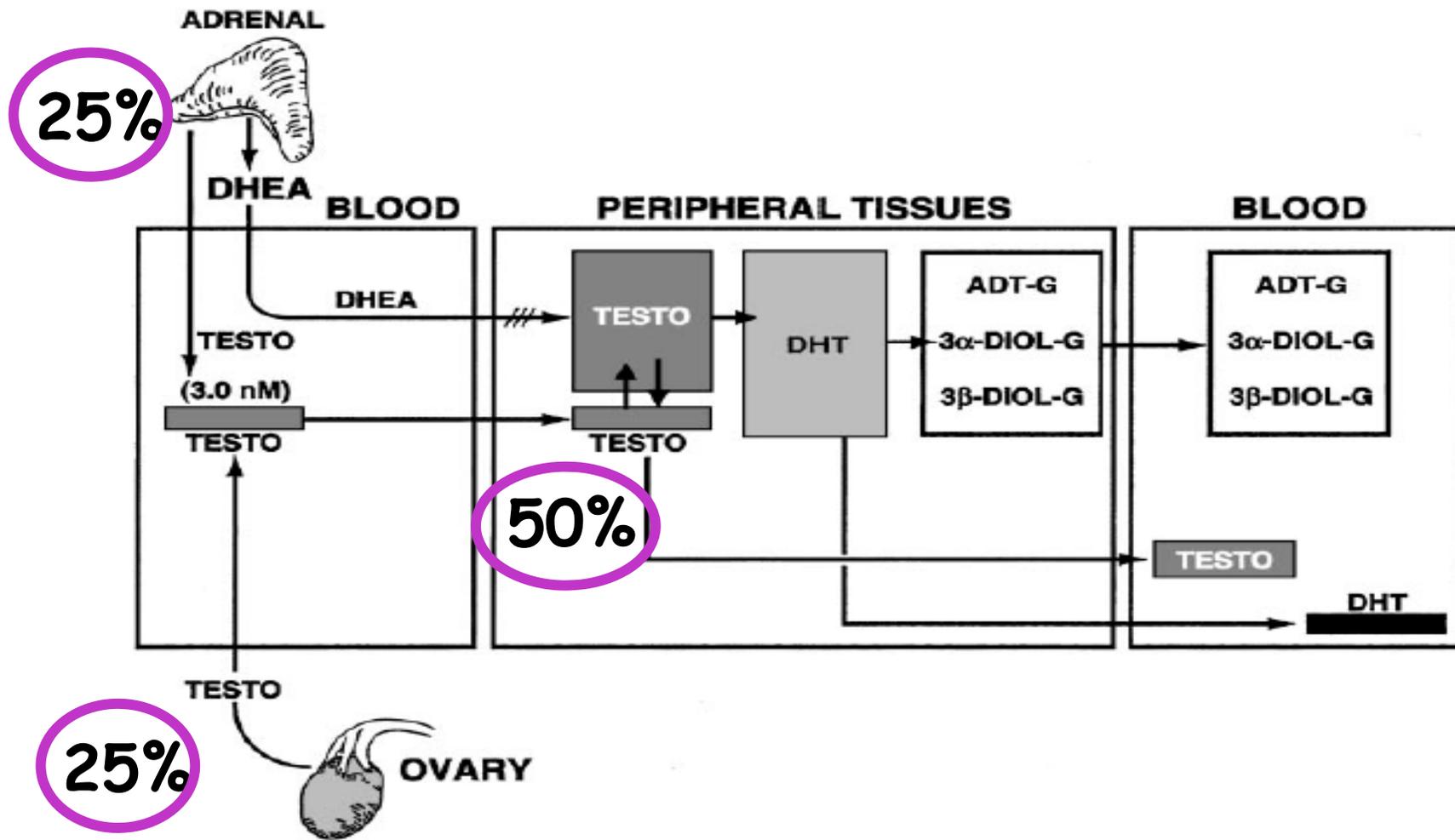
Testostérone



- Taux de production quotidien 0,1-0,4mg
- Concentration circulante 0,2-0,7 ng/ml

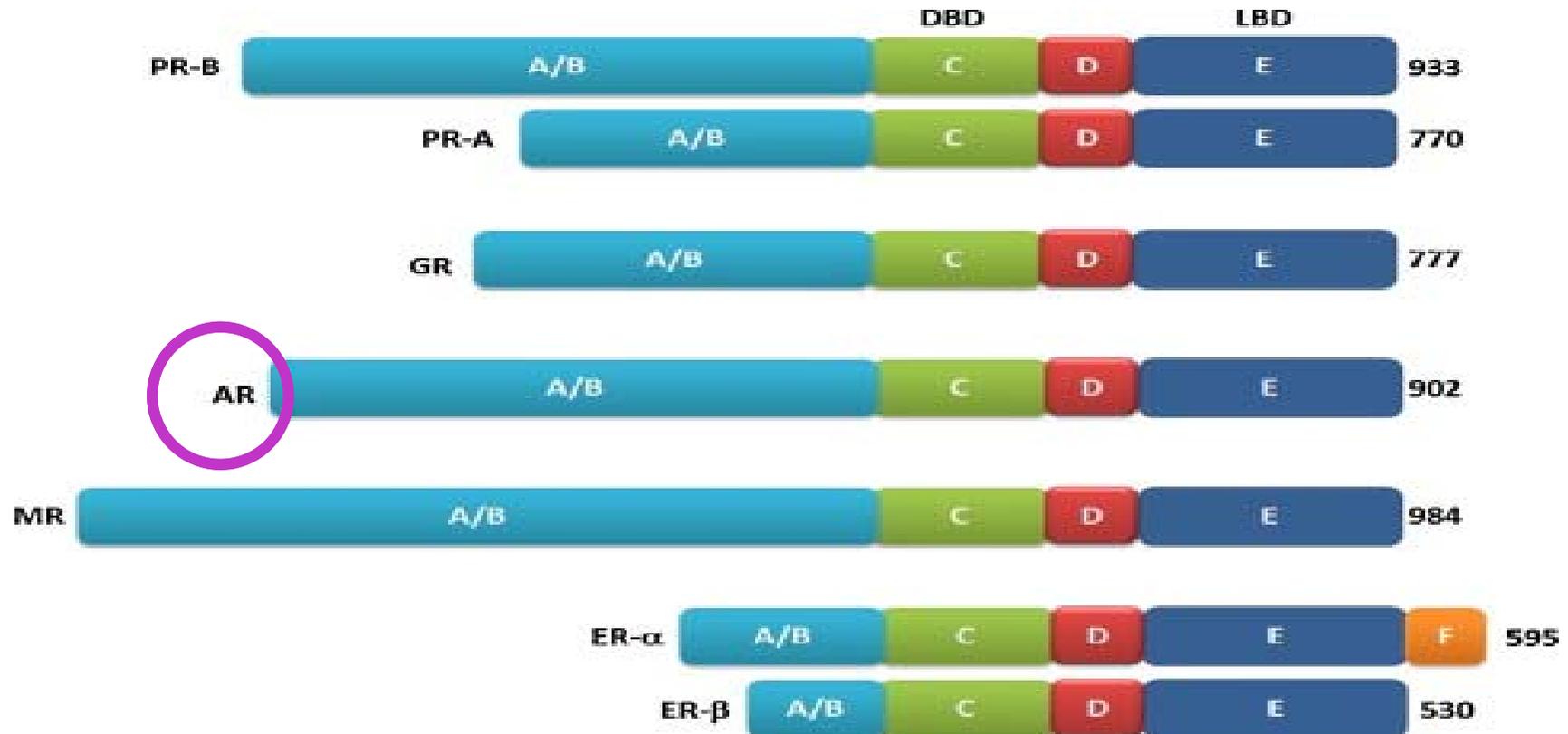
- Liaison à la SHBG et à l'albumine : 98%
- Testostérone libre : 2%

Source d'Androgènes

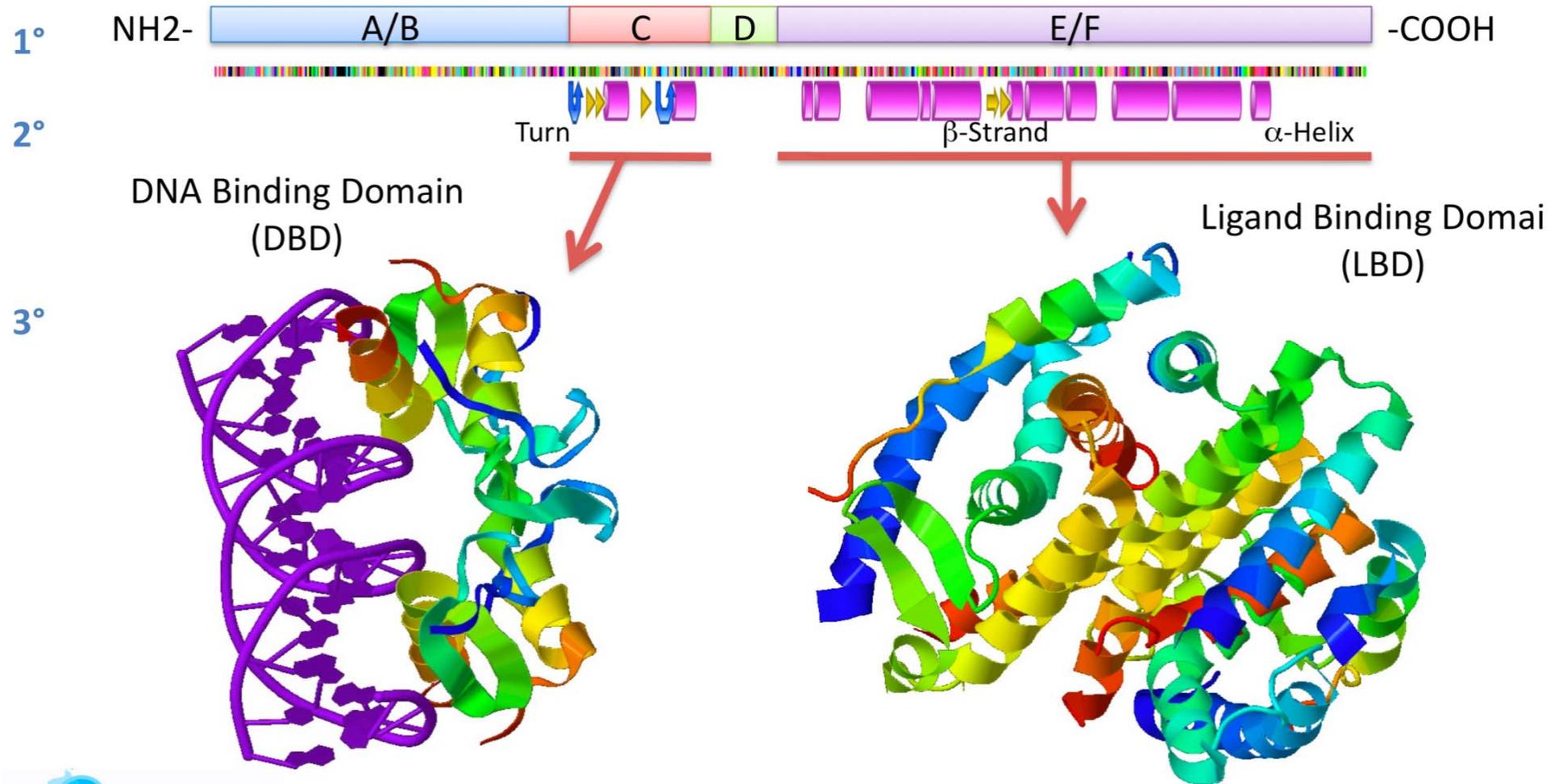


Récepteur des Androgènes (RA)

Famille des récepteurs nucléaires



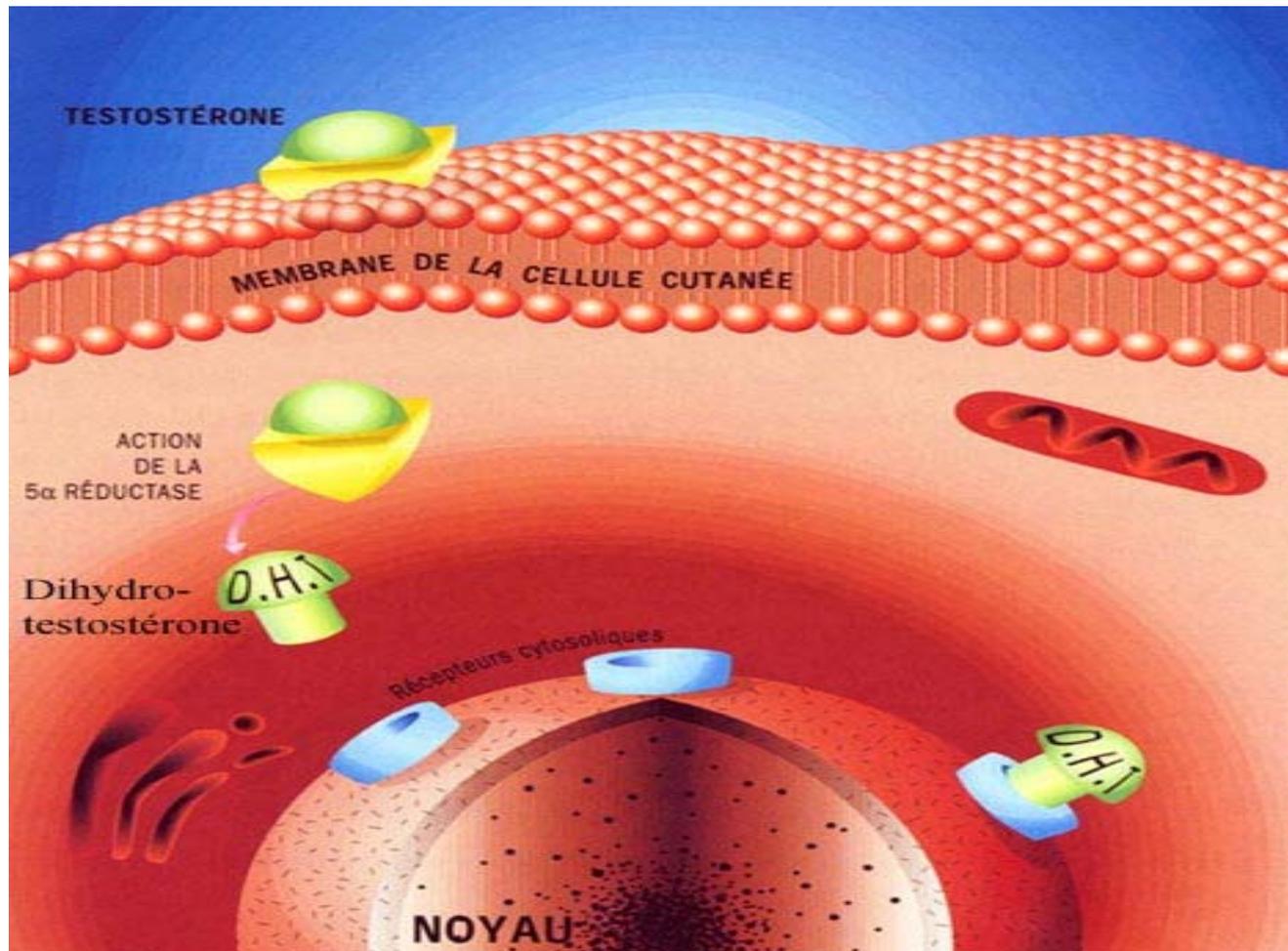
Structure des récepteurs nucléaires



Récepteur des Androgènes (RA)

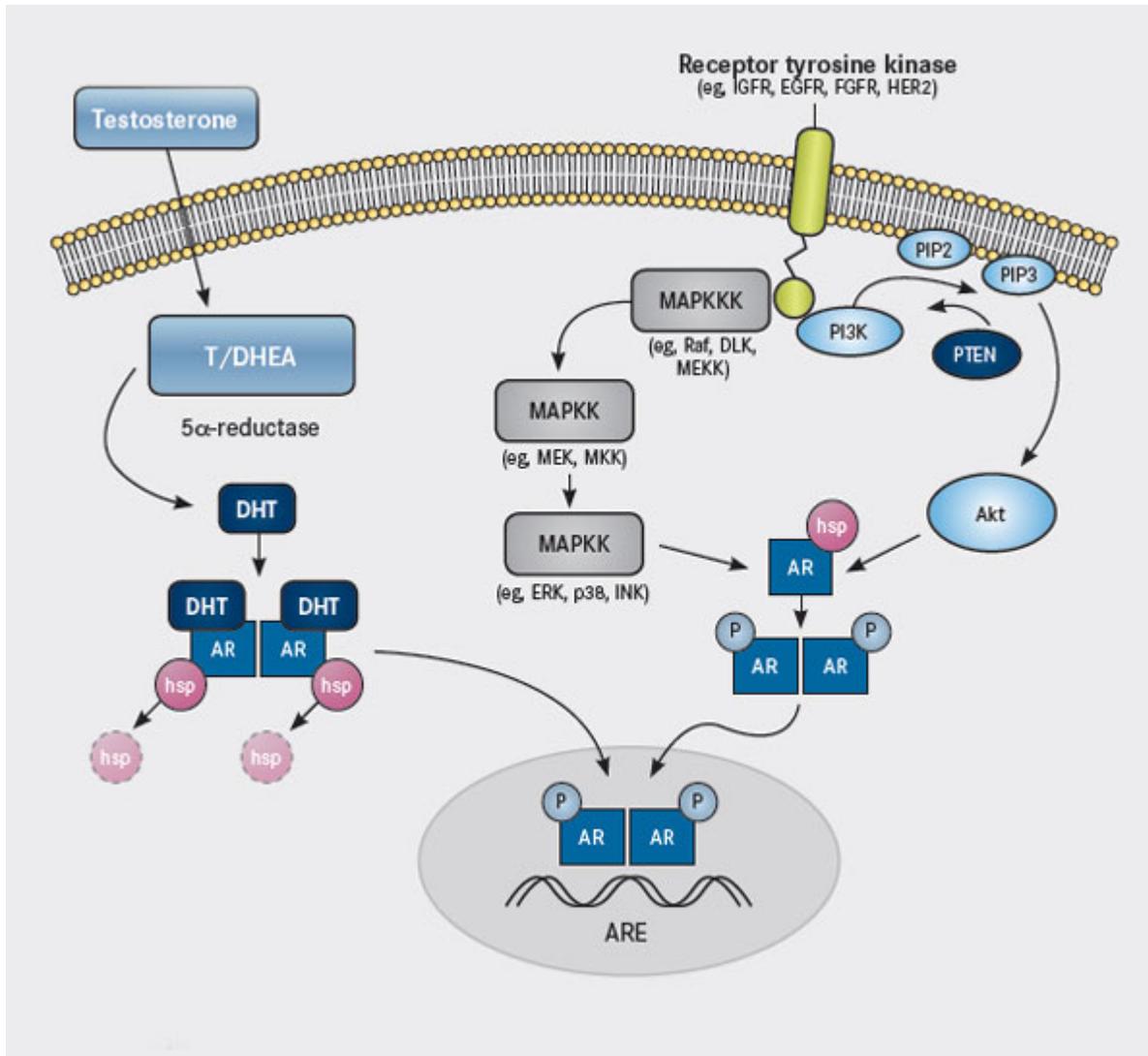
Voie génomique:

activation de la machinerie transcriptionnelle



Récepteur des Androgènes (RA)

Voie non génomique : rôle paracrine



Hyperandrogénie et infertilité

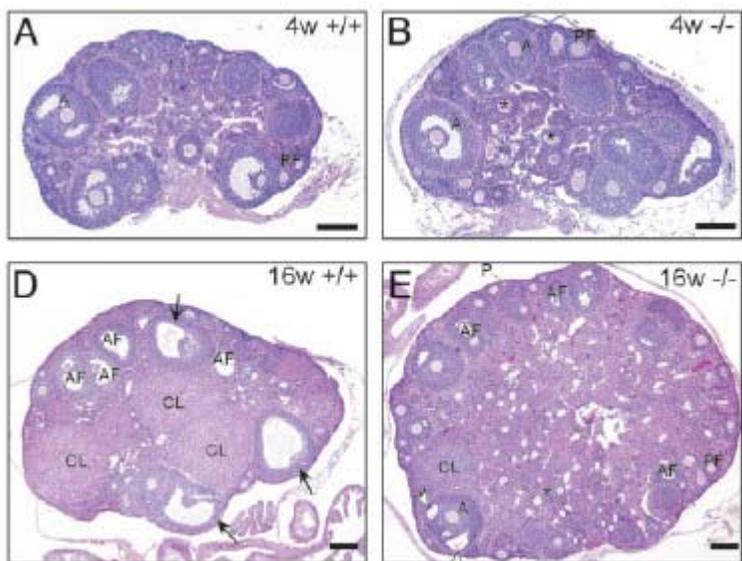
- Sources des androgènes en physiologie
chez la femme
- Rôle des androgènes sur la folliculogénèse
Modèles animaux

KO global du gène du RA chez la souris

3 types de souris par mutagénèse dirigée :

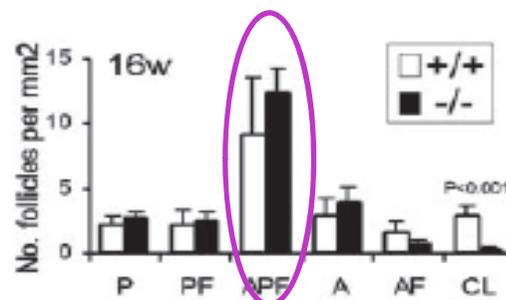
ARKO 1,2,3 (délétion des exons 1, 2, 3)
(Shina et al 2006; Yeh 2002 et **Hu 2004** ;Walters 2007; Cheng 2013)

cycles longs, fertilité diminuée/sauvage



Ovaires similaire à 4 semaines de vie

Chez la souris sexuellement mature



Follicules primordiaux atrétiques

KO global du gène du RA chez la souris

Table 2. Oocytes produced from female mice after superovulation

Genotype	Cumulus cells	Oocyte count	
		Mean \pm SD	Range
<i>AR^{+/+}</i>	Surrounded	20.3 \pm 5.6	13–26
	Dissociated	6.3 \pm 3.4	3–11
	Total	26.5 \pm 7.9	16–34
<i>AR^{+/-}</i>	Surrounded	17.5 \pm 1.9	15–19
	Dissociated	8.0 \pm 3.4	4–12
	Total	25.5 \pm 4.9	19–31
<i>AR^{-/-*}</i>	Surrounded	10.5 \pm 5.6	5–18
	Dissociated	5.8 \pm 3.0	2–9
	Total	16.3 \pm 8.2*	7–27

Female mice ($n = 4$ for each genotype) at age 25 days were subjected to superovulation treatment. Oocyte/cumulus masses were then surgically extracted from their oviducts, and oocytes surrounded with or not surrounded with cumulus cells were counted after hyaluronidase digestion for 10 min. Results are presented as mean \pm SD. *, $P < 0.05$ vs. *AR^{+/+}*, Student's unpaired t test.

Diminution du nombre d'ovocytes recueillis diminués après stimulation
Et de cellules du cumulus

KO global du gène du RA chez la souris

Via le RA, les androgènes jouent un rôle positif

- ◆ dans le développement folliculaire des stades préantral/antral et préovulatoire
- ◆ un rôle le maintien de la folliculogénèse, et la fertilité

KO du gène du RA sur les C Granulosa (CGARKO) et les ovocytes (OoARKO)

CGARKO

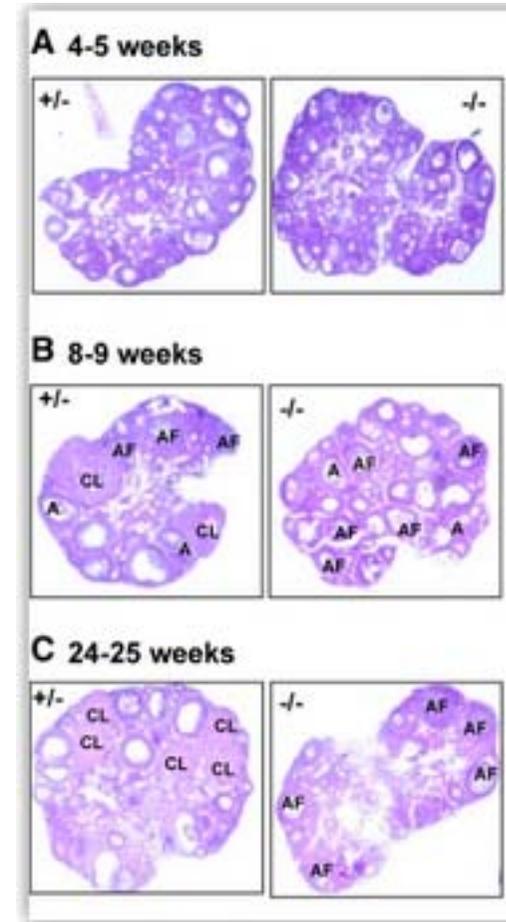
- Réduction de la fertilité de l'ovulation et de la progression folliculaire
- augmentation de l'atrésie
- Croissance in vitro des follicules plus lente

OoARKO:

- Fertilité, cycle, ovaire normaux

Le CG RA est nécessaire pour le développement folliculaire et la fertilité mais pas l'Oo RA

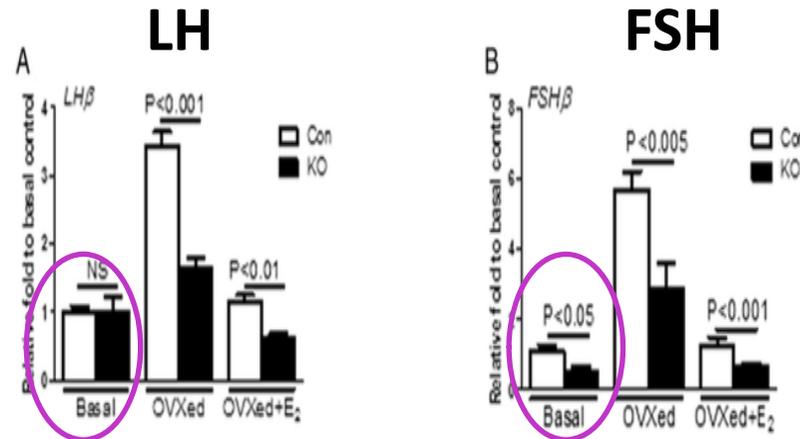
A Sen. Mol Endocrinol 2010: 24(7):1393



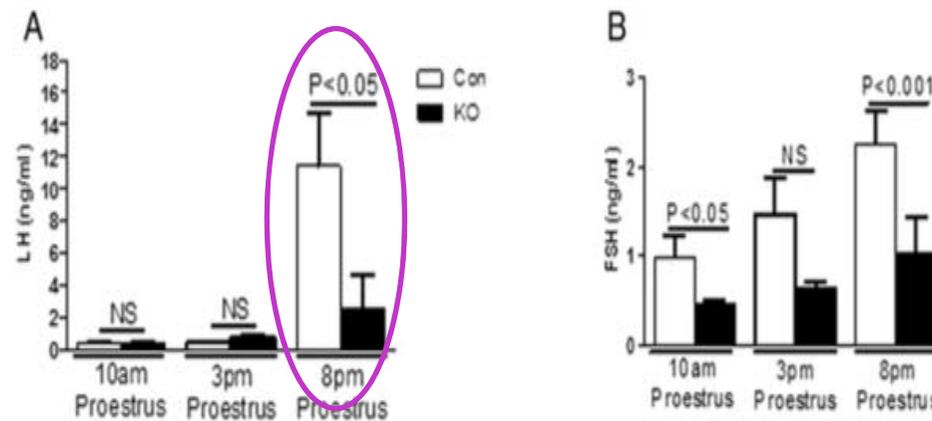
KO Pituitaire du gène du RA chez la souris (PiTARKO)

puberté normale, des cycles réguliers, moins de sourisseau/portée

Taux de base identiques



Avant ovulation
Taux de FSH Plus bas
Baisse du pic de LH



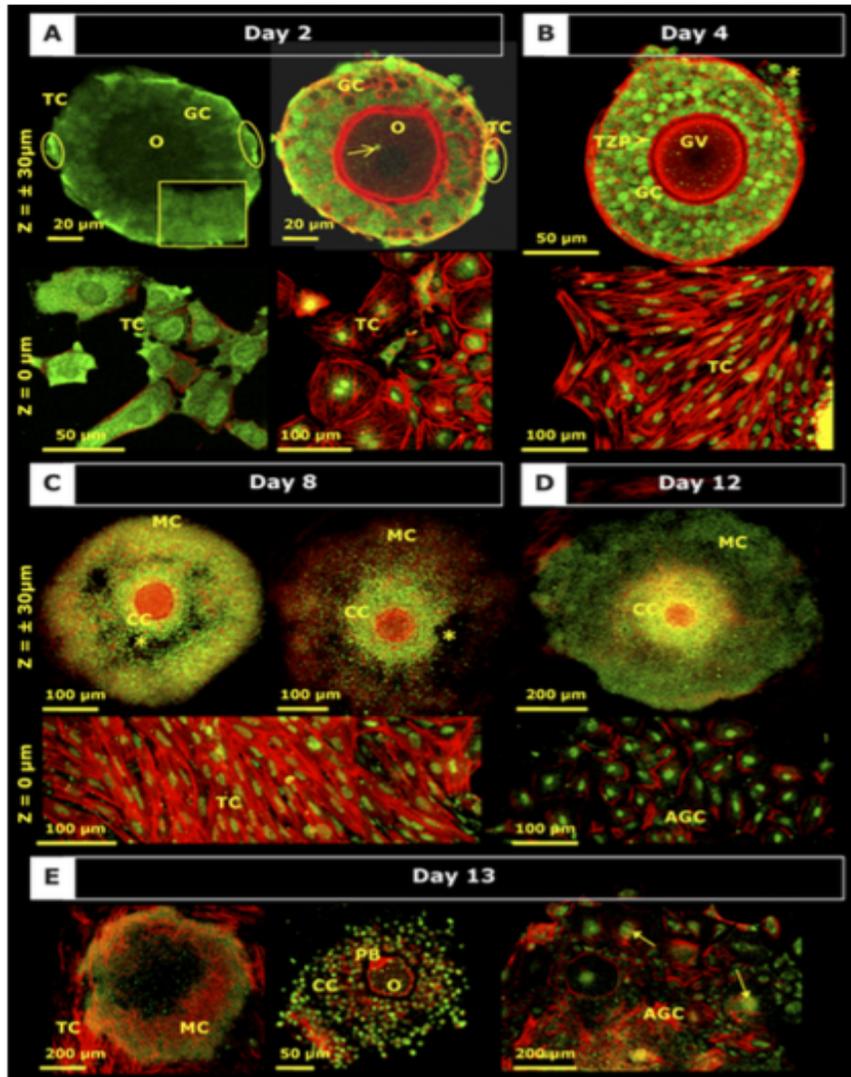
KO Pituitaire du gène du RA chez la souris (PiTARKO)

La testostérone via son RA hypophysaire participe

-À l'expression et la sécrétion de FSH

-A l'élaboration du pic de LH

Le récepteur aux androgènes Pattern d' Expression dans l'ovaire



Cultures folliculaires de souris

Présence de RA (vert) dans

- follicules préantraux
- antraux
- cellules de la granulosa
- Ovocytes

Etudes Folliculogénèse *in vitro*

Chez le rongeur, la culture isolée de follicules antraux
En présence d'AC anti RA

→ absence de croissance et différenciation
folliculaire rétablies par l'ajout d'androgène

Absence d'action de la FSH sur la croissance
→ folliculaire, rétablie par l'ajout d'androgène

Action synergique de FSH et des androgènes

Effects of testosterone, dihydrotestosterone, and 17 β -estradiol on human ovarian tissue survival in culture

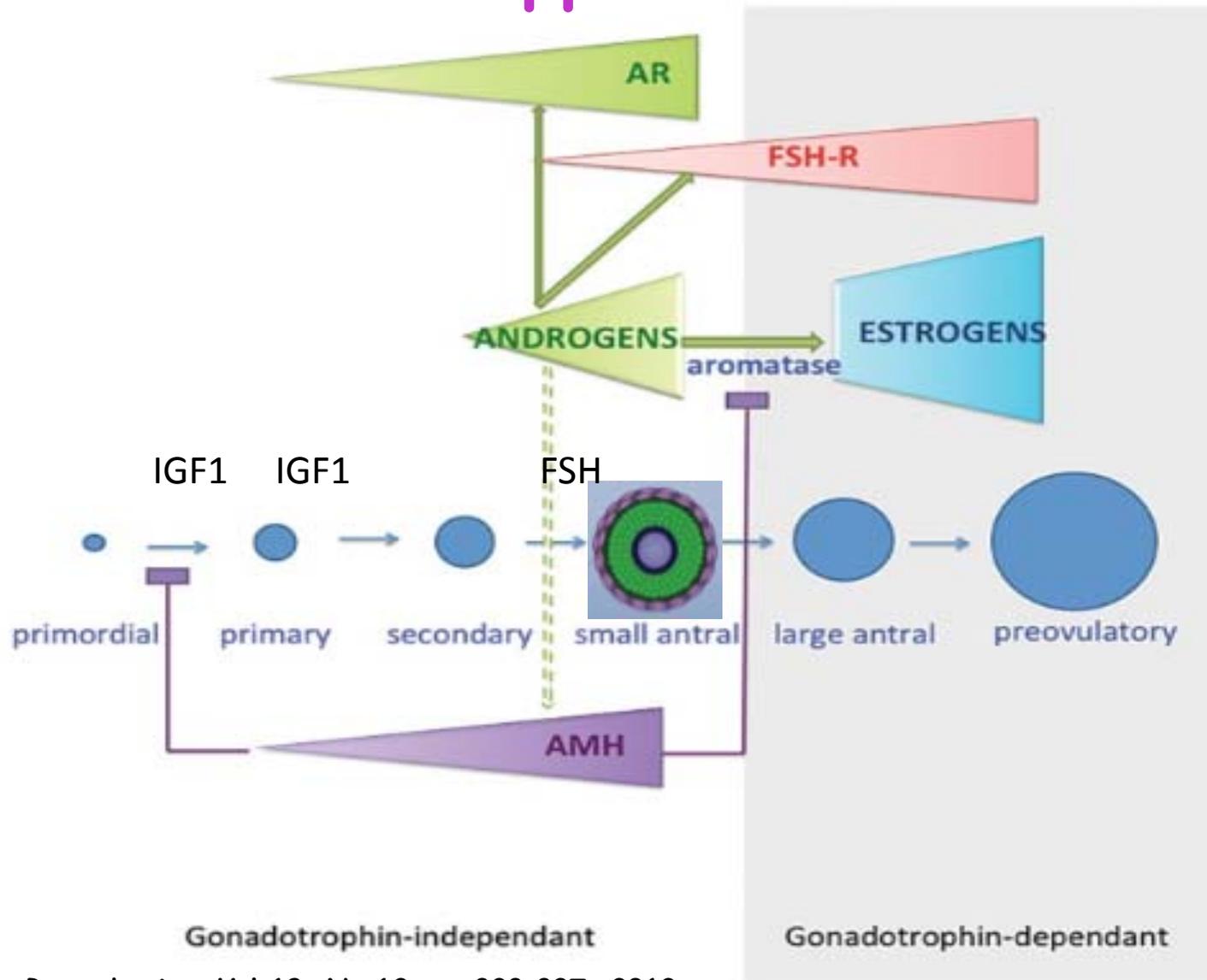
Marjut Ojala, M.Sc.,^{a,b} Sirpa Mäkinen, M.Sc.,^c Timo Tuuri, Ph.D.,^c
Jari Sjöberg, M.D., Ph.D.,^d Virve Pentikäinen, M.D., Ph.D.,^{a,b}
Tiina Matikainen, M.D., Ph.D.,^{a,b} and Leo Dunkel, M.D., Ph.D.^{a,b}

Biomedicum Helsinki, and University of Helsinki, Helsinki, Finland



Effet anti- apoptotique

Résumé: Rôle des androgènes sur le développement folliculaire



Molecular Human Reproduction, Vol.19, No.12 pp. 828-837, 2013

M. Lebbe and T.K. Woodruff

Hyperandrogénie et infertilité

- Sources des androgènes en physiologie chez la femme
- Rôle des androgènes sur la folliculogénèse
Modèles animaux
- Hyperandrogénie et fertilité féminine: maturation folliculaire et l'axe gonadotrope

Hyperandrogénie Etiologies

Ovaire

SOPK

Hyperthécose

Tumeurs

Surrénale

Bloc enzymatique
21 Hydroxylase

Sd de Cushing
Corticosurrénalome

Adenome androgénique

Exploration des hyperandrogénies de la femme

Consensus SFE 2008

M. Pugeat et al. / Annales d'Endocrinologie 71 (2010)

Recommandation 2: La méthode de dosage radio-immunologique après traitement préalable de l'échantillon (extraction ou extraction+chromatographie) est la méthode recommandée dans l'attente d'une plus large expérience de l'utilisation de la spectrométrie de masse (MS).

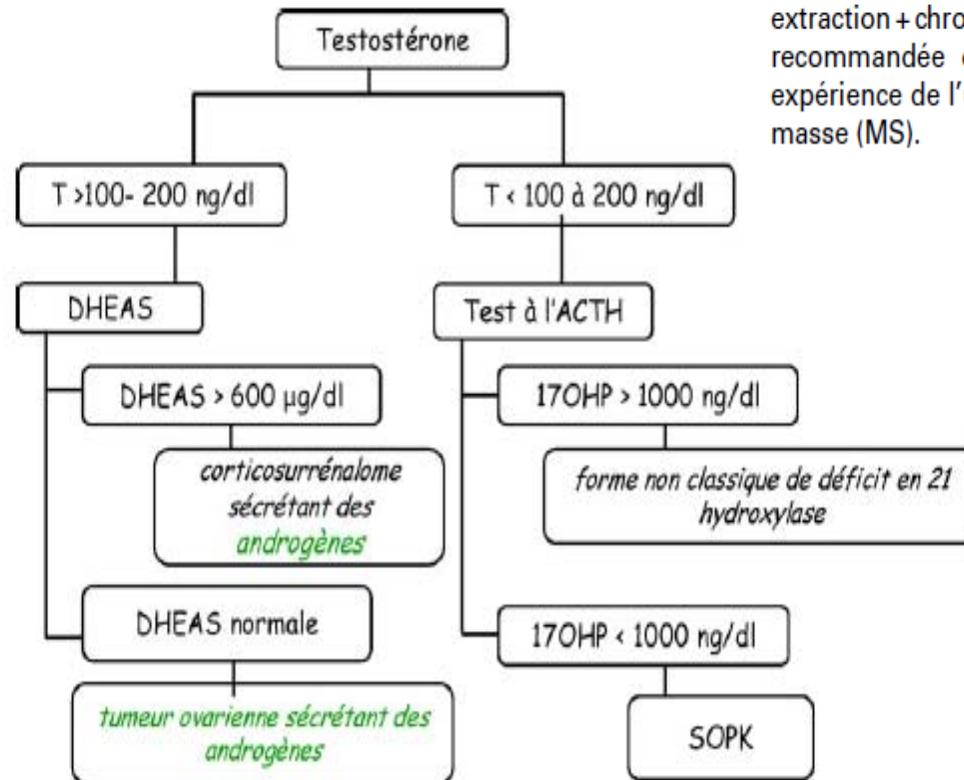


Fig. 3. Arbre décisionnel devant une élévation tumorale de testostérone totale : deux fois plus élevée que la valeur supérieure de la normale, ou > 100 (dosage avec extraction) ou 200 (dosage direct) ng/dl.

Decision tree for total testosterone tumoral elevation: twice the upper limit of normal, or > 100 (assay with extraction) or 200 (direct assay) ng/dl.

Effets sur l'ovaire

De l'exposition aux androgènes en prénatal

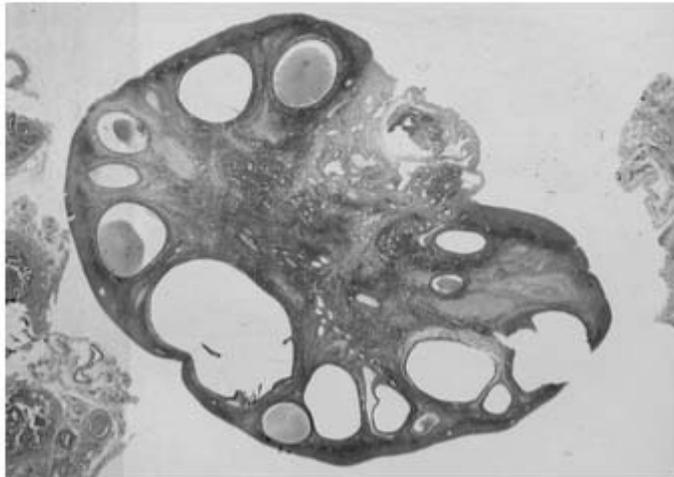
Abott and Bacha Fertil Stéril 2013 , 100:2-11
 Abott et al 2005

Human diagnostic traits of PCOS	Primates	
	Prenatal testosterone (GD 40–80 for 15–40 days)	Prenatal testosterone (GD 94–140 for 15–25 days)
<u>Irregular cycles/ acyclicity</u>	Yes ^{l,m}	Yes ^m
Oligo- or anovulation	Yes ^m	Yes ^m
<u>Hyperandrogenism</u> (↑ serum testosterone)	Yes ^{p,m} /No ^l	Yes ^m
LH hypersecretion	Yes ^{l,m}	No ^m
<u>Polycystic ovaries</u>	Yes ^m	Yes ^{m,n}
↑ Ovary weight	Yes ^m	Yes ^m
↑ Numbers of preantra and/or antral follicle	–	–
↓ Follicle health	–	–
↑ Body fat	Yes ^u /No ^v	Yes ^m
Adipocyte hypertrophy	No ^v	–
Dyslipidaemia	Yes ^m	–
Insulin resistance	Yes ^m	No ^m
Presence of steatosis	–	–

L'hyperandrogénie : modèle des transsexuelles F=>H

Histologie ovarienne après traitement par testostérone,

Grynberg M Reprod biomed 2010, 20(4):553



Follicules antraux atrétiques
16/Ovaire
Hypertrophie stromale

112 patientes, cycles réguliers
avant traitement (88%)
Testosterone enantate
250 mg /4 sem pendant 2 à 6 ans



Aménorrhée, hirsutisme,



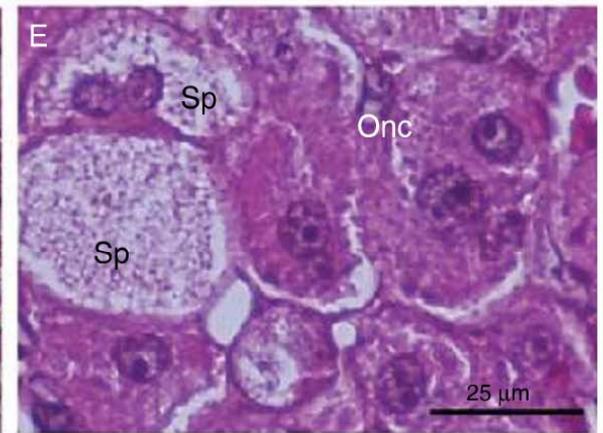
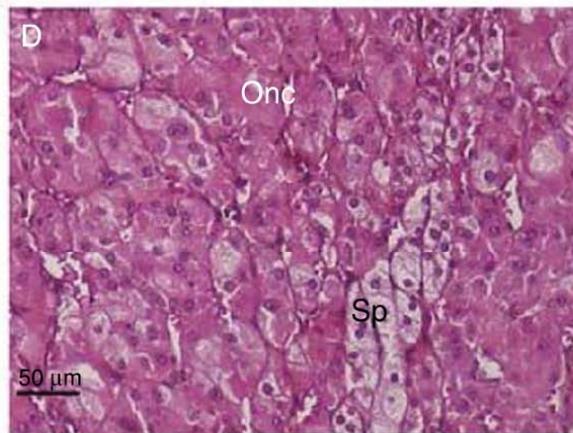
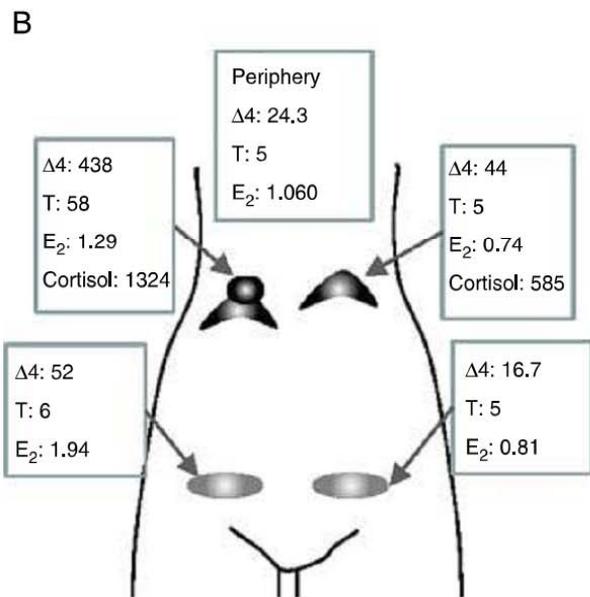
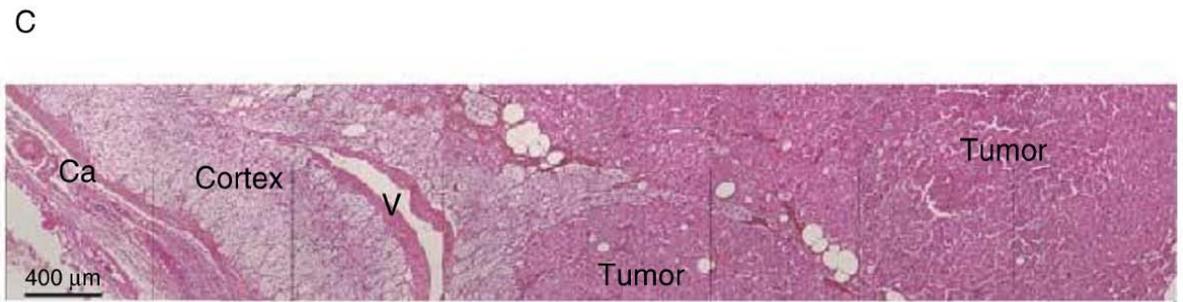
Aspect de SOPK en histologie

Mme T, 34 ans

- Originaire du Sénégal
 - Taille 1m68, 75 kgs IMC : 28 kg/m²
 - PR :13 ans, cycles réguliers jusqu'à l'âge de 31 ans
 - Puis spanioménorrhée : cycles tous les 40 à 50 jours
- Hirsutisme modéré apparu progressivement depuis 3 ans
- INFERTILITE +++**

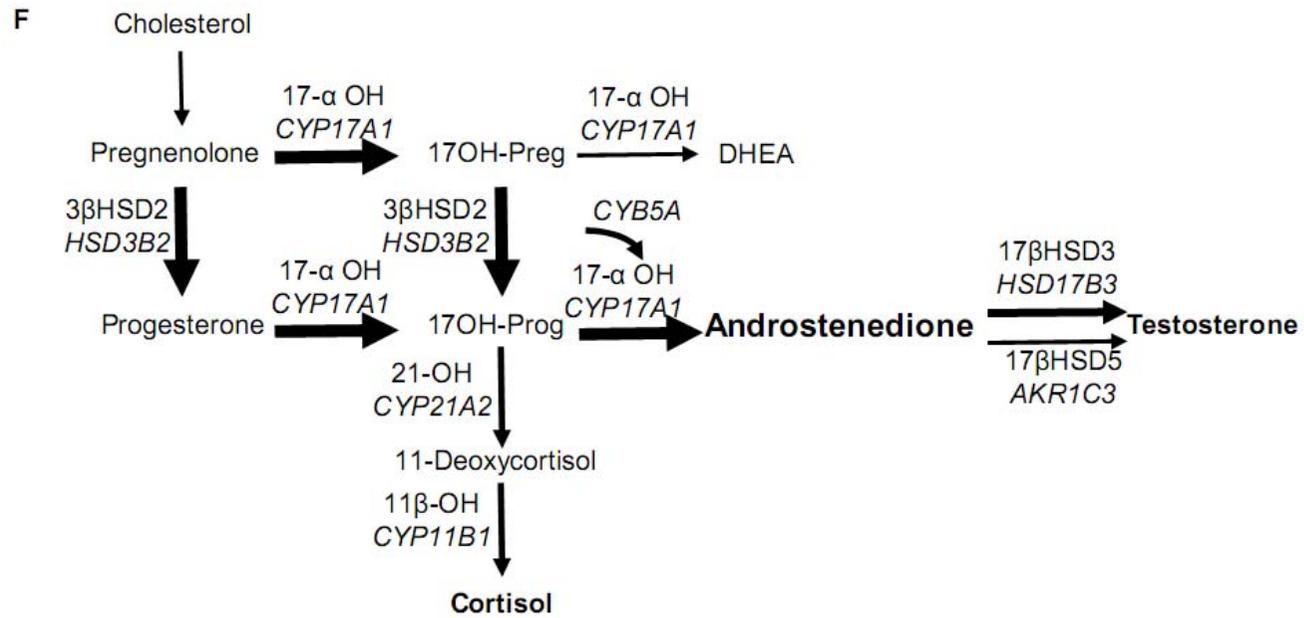
Table 2 Plasma hormone concentrations at diagnosis.

Parameter	Value	Normal value
FSH (IU/l)	2.6	2–13
LH (IU/l)	2.1	1.5–11
Estradiol (pmol/l)	1060	80–370
Total testosterone (nmol/l)	5	0.35–1.85
SHBG (nmol/l)	33	40–80
Bioavailable testosterone (nmol/l)	1.1	0.06–0.25
Androstenedione (nmol/l)	24.3	2–7
Baseline 17-OH progesterone (nmol/l)	3.2	1–5
17-OHP post ACTH (nmol/l)	7.6	<25
DHEAS (μ mol/l)	1.2	1.5–7
Cortisol 0800 h (nmol/l)	175	220–610
Cortisol 60' post ACTH (nmol/l)	345	>540
ACTH (pg/ml)	5	9–52
Prolactin (ng/ml)	15	2–20
TSH (mIU/l)	1.86	0.15–3.7
Fasting glycaemia (mmol/l)	5.6	3.9–6.1
HbA1c (%)	6.6	4.3–6.1



Oncocytome de petite taille

Culture primaire des cellules surrénaliennes



Hyperandrogénie « inhabituelle »

- Hyperandrogénie d'origine surrénalienne
- Origine tumorale bénigne
- Démonstration des anomalies enzymatiques responsables de l'hyperandrogénie dans cette tumeur : origine surrénalienne ++ profil intermédiaire entre zone réticulée et fasciculée
- Reprise des cycles après exérèse tumorale

SOPK = Le modèle humain de choix

L'hyperandrogénie est un des principaux médiateurs

↓
accumulation de petits follicules antraux

↓
Le développement folliculaire est dérégulé
arrêt de la croissance folliculaire et
de la sélection du follicule dominant

→ Anovulation

→ Infertilité

Overexpression of a DENND1A isoform produces a polycystic ovary syndrome theca phenotype

Jan M. McAllister^{a,b,1}, Bhavi Modi^c, Bruce A. Miller^a, Jessica Biegler^a, Richard Bruggeman^a, Richard S. Legro^b, and Jerome F. Strauss III^c

Departments of ^aPathology and ^bObstetrics and Gynecology, Pennsylvania State College of Medicine, Hershey, PA 17033; and ^cDepartment of Obstetrics and Gynecology and Human and Molecular Genetics, Virginia Commonwealth University, Richmond, VA 23298

Etudes d'association pangénomique

Gène DENND1A code pour une protéine de type connecdenn

= protéine impliquée dans le transport membranaire

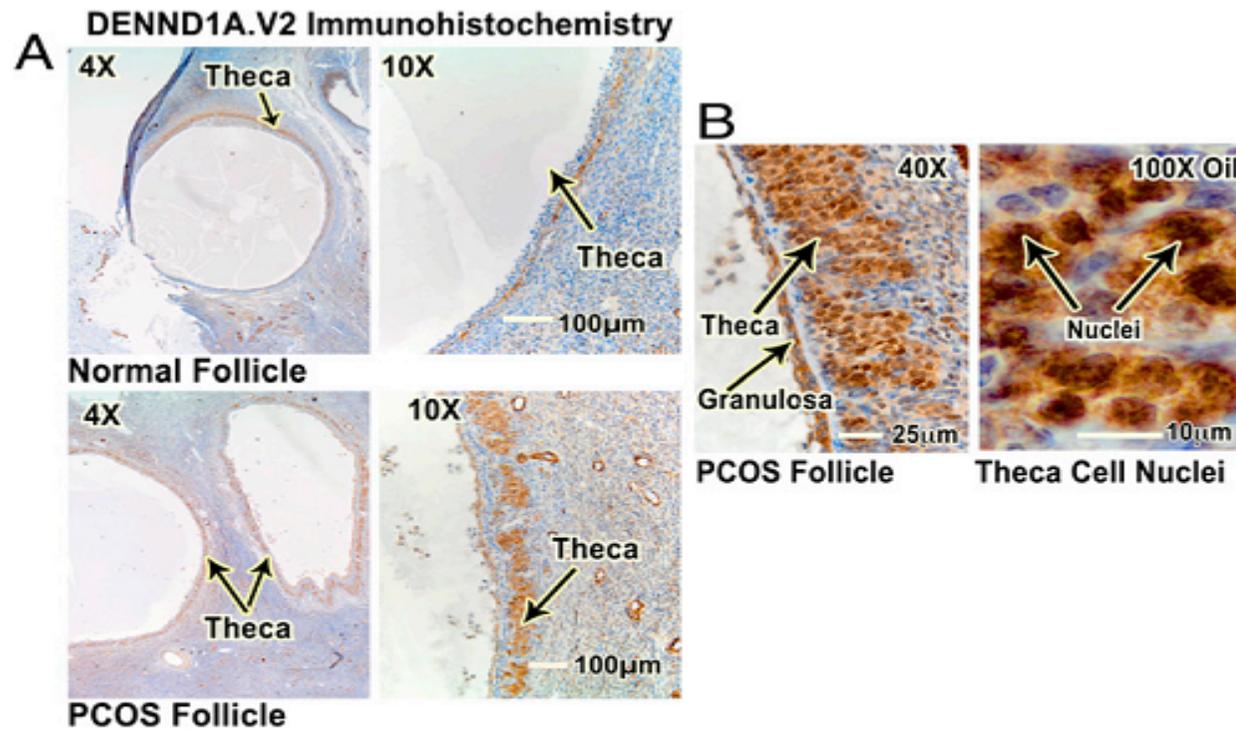


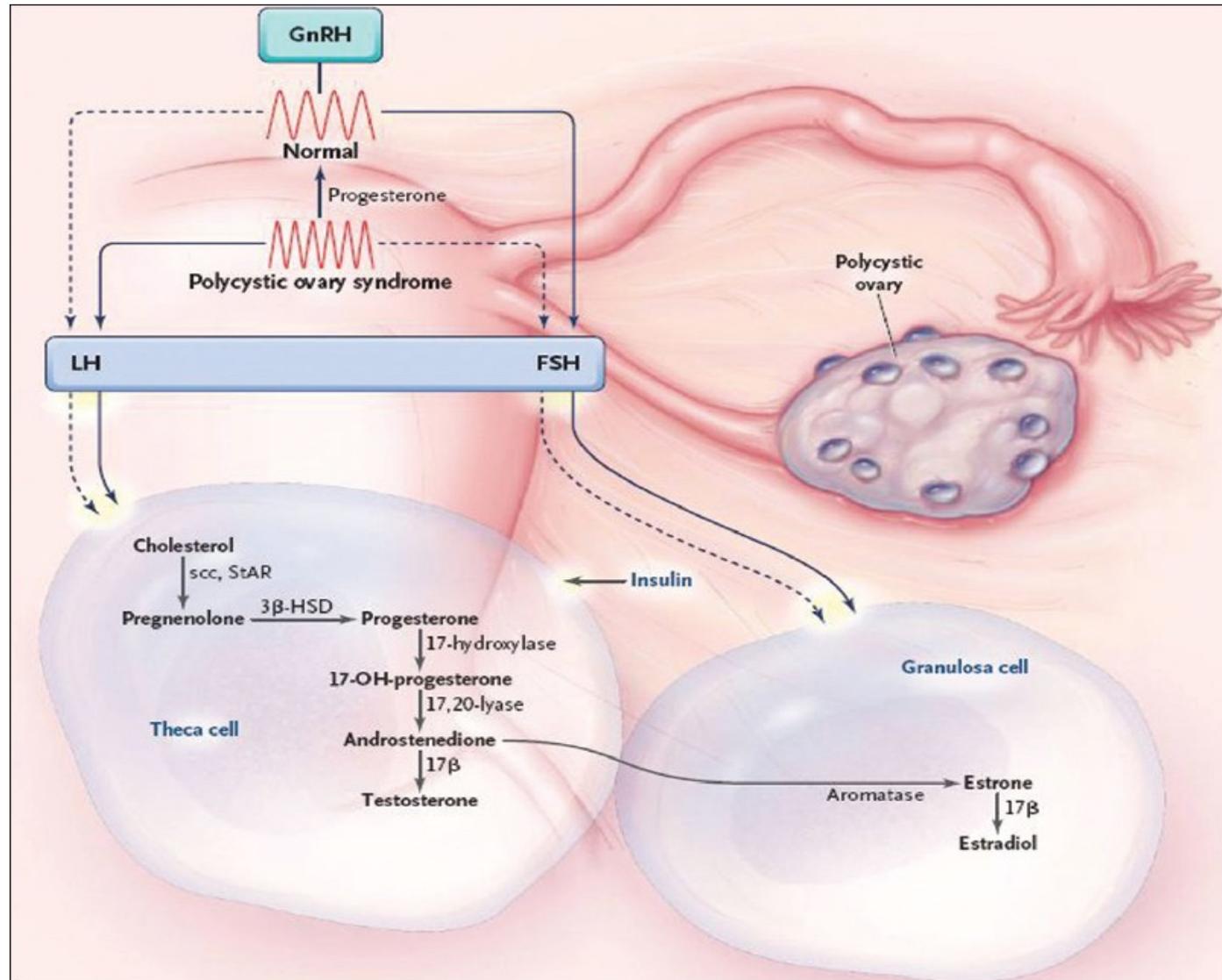
Fig. 2. Immunohistochemical localization of DENND1A protein in normal cycling and PCOS ovary. (A) DENND1A protein was localized in the theca interna of the ovarian follicles, and was increased in PCOS theca (*Lower*) compared with normal theca (*Upper*). (B) DENND1A staining in PCOS theca and granulosa cells (*Left*, 40× magnification). Staining, primarily in the PCOS theca cell nuclei, cytoplasm, and cell membrane (*Right*, 100× magnification, under oil).

Hyperandrogénie dans le SOPK

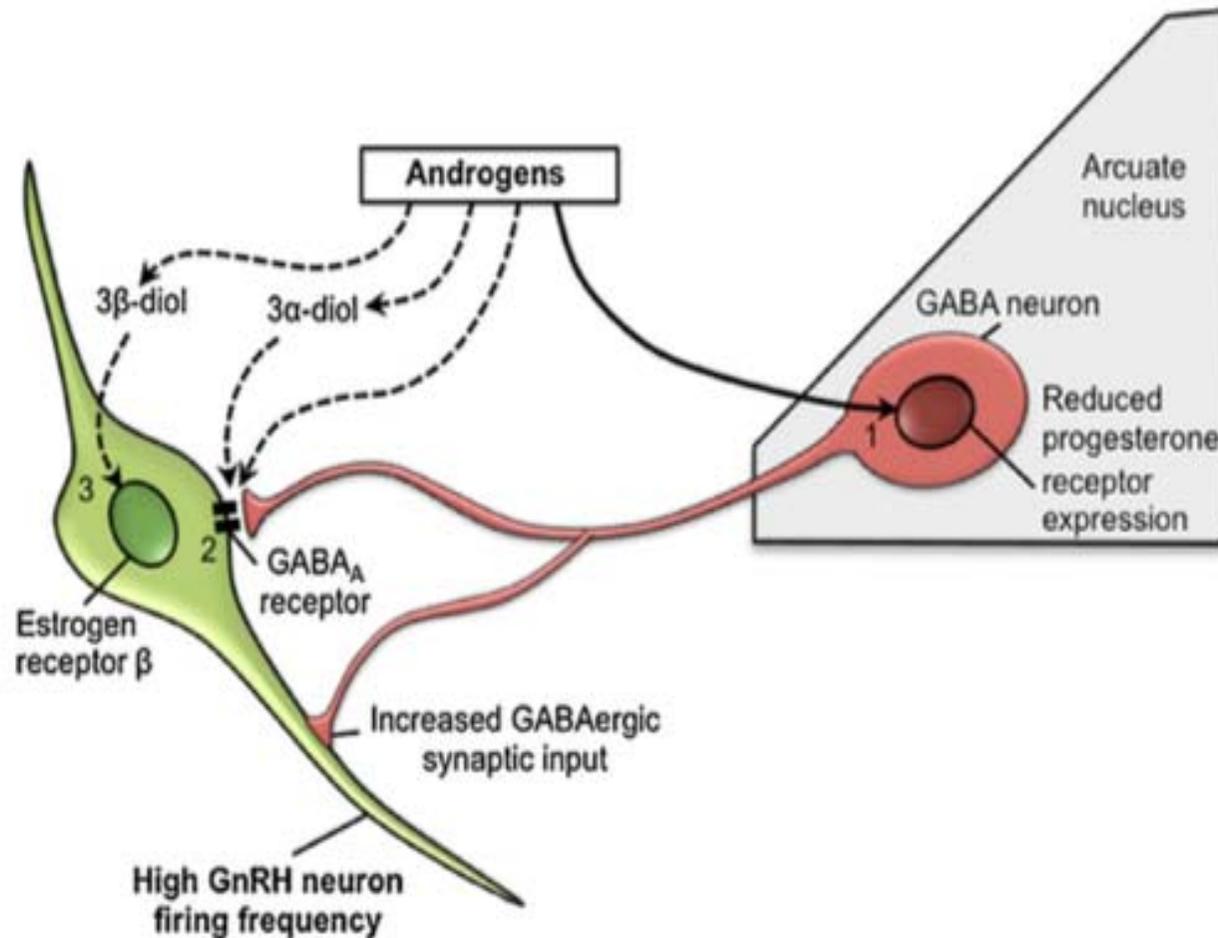
Le gène DENND1A

- ◆ Exprimé dans les cellules de la thèque
- ◆ La surexpression d'un variant de DENND1AV2 Est impliqué dans la transcription des gènes des enzymes de la stéroïdogénèse: CYP17A1 et Cyp11A1 et la production d'androgène
- ◆ Joue un rôle dans L'endocytose et le recyclage des recpteurs: LH, FSH, INS

Pulsatilité de LH et hyperandrogénie: le SOPK et bloc en 21 hydroxylase



Hypothèse: action des androgènes sur le rétrocontrôle négatif hypothalamique Via le neurone GABA



Modèles de souris
SOPK
TT prénat par des
androgènes

Les androgènes via le neurone GABA bloque l'action de la PG sur les neurones à GnRH augmentant ainsi la fréquence des pulses de GnRH et de LH

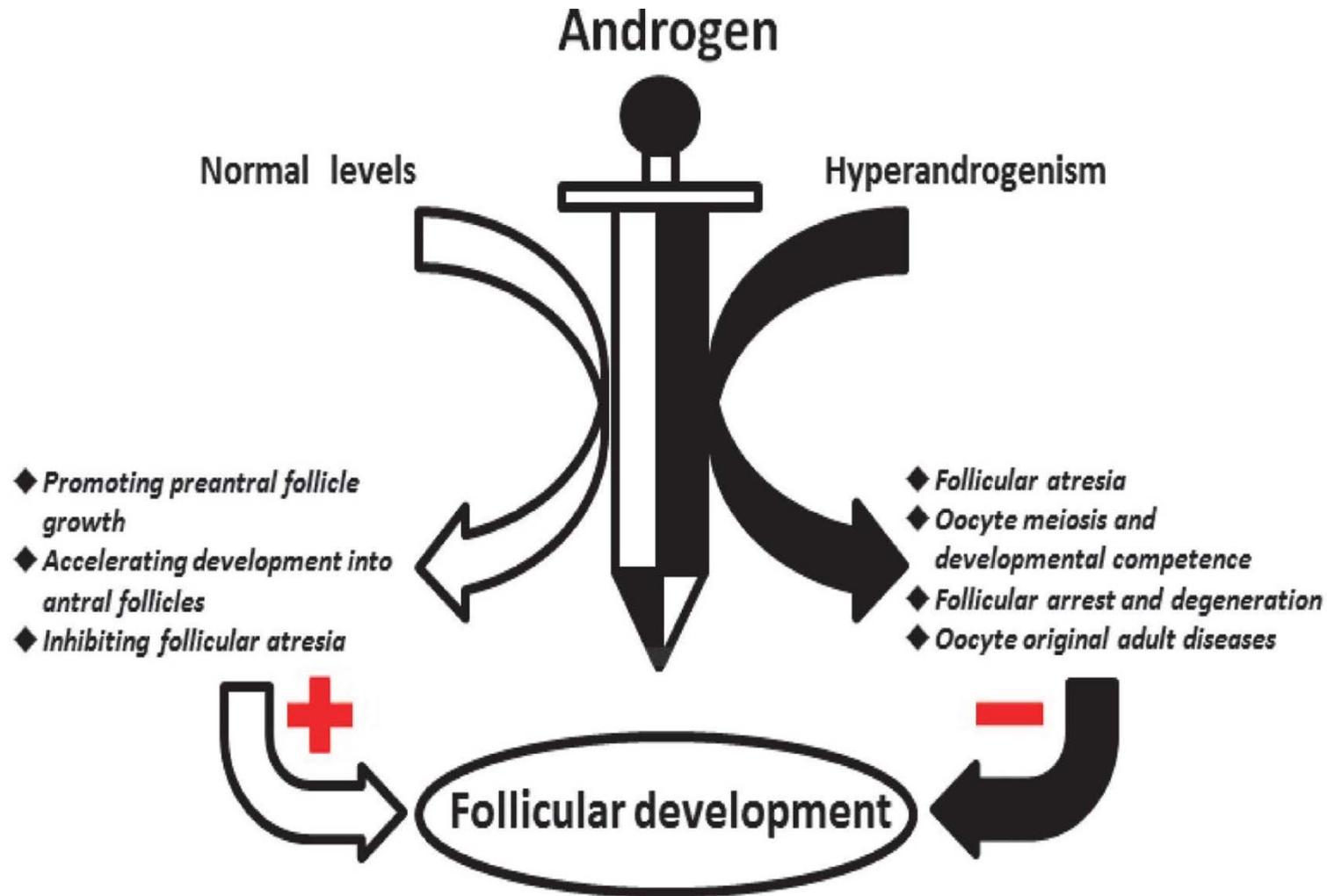


Figure 1. Androgen and androgen receptor (AR) have both positive and negative effects on follicular development, just like a double-edged sword.

Sustained fertility from 22 to 41 years of age in women with polycystic ovarian syndrome

Jan R. Mellembakken^{1,*}, Sarah L. Berga², Mirjam Kilen³,
Tom G. Tanbo⁴, Thomas Åbyholm⁵, and Peter Fedorcsák¹

¹Section for Reproductive Medicine, Department of Gynecology, Oslo University Hospital, Oslo, Norway ²Department of Gynecology and Obstetrics, Emory University School of Medicine, Atlanta, Georgia 30322, USA ³Faculty of Medicine, University of Oslo, Oslo, Norway ⁴Department of Gynecology, Oslo University Hospital, Oslo and University of Oslo, Oslo, Norway ⁵Department of Obstetrics, Oslo University Hospital and University of Oslo, Oslo, Norway

Compte

1) du nombre d'ovocytes obtenus lors d'une procédure de FIV

2) du nombre de grossesses vivantes

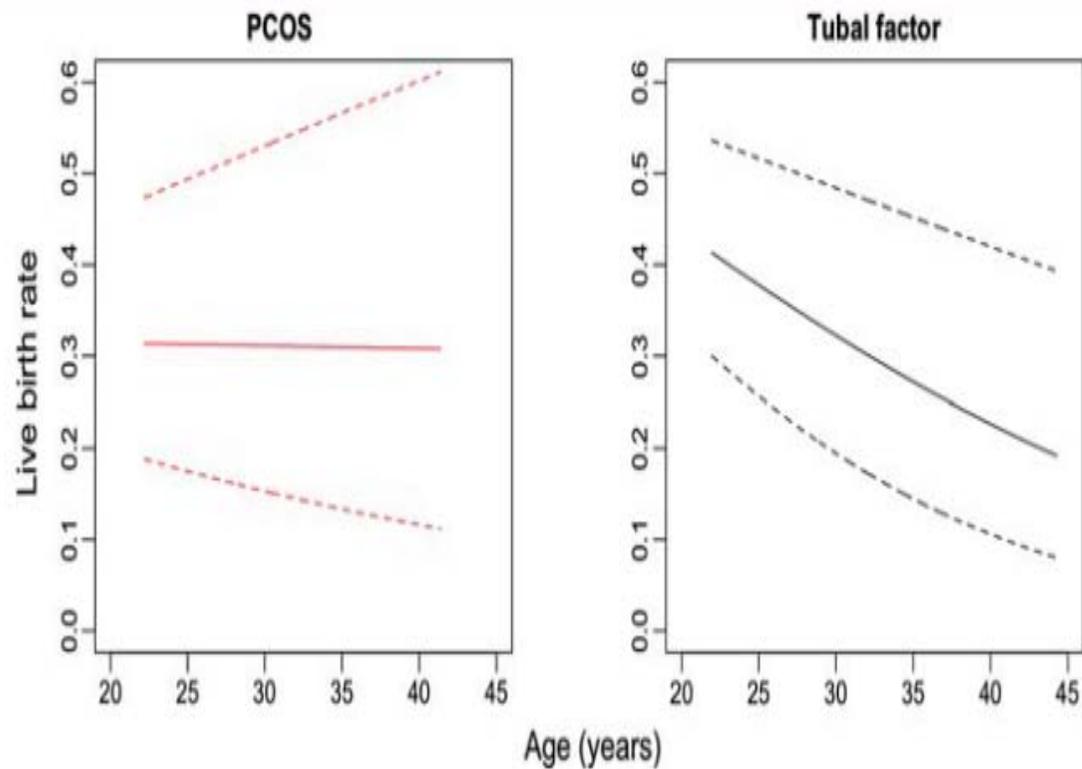


Figure 2 Predicted age-specific live birth rates for women with PCOS or tubal factor infertility undergoing first treatment with IVF. Dotted lines indicate SE.

Les SOPK sont « fertiles » plus longtemps.....

Conclusion

Les androgènes jouent un rôle positif:

- dans le développement folliculaire
- le maintien de la fertilité

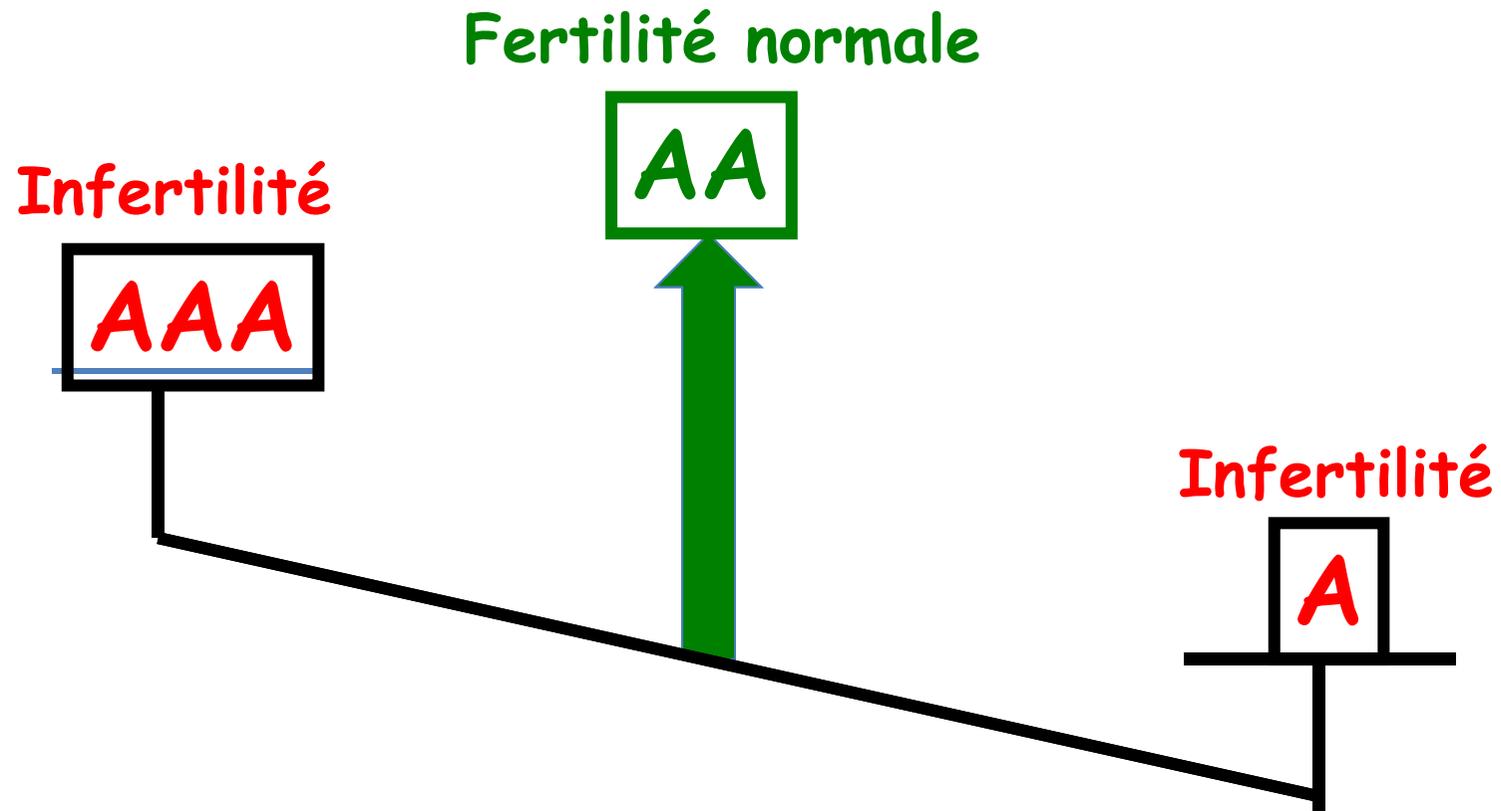
L'hyperandrogénie est responsable

-Blocage de la maturation folliculaire

-Modifications de la pulsatilité du GnRH

Préservation de la fertilité plus longtemps...?

Conclusion



Pulsatilité de LH et hyperandrogénie

➤ *Etude transversale de la fréquence et amplitude des pulses de LH
Chez les patientes CAH (A Bachelot EJE 2012, 167:499)*

- ◆ 16 patientes CAH cluster 1:9 avec une $17OP > 25$ ng/ml , testo $> 0,6$ ng/ml
Aspect de SOPK
- cluster 2: 7 avec une $17OHP < 25$ ng/ml , testo $< 0,6$ ng/ml
- ◆ 16 témoins

La fréquence et l'amplitude de la pulsatilité de LH

Sont diminués dans le cluster 1 et identiques aux témoins dans le cluster 2

➔ Importance du traitement et de la compliance au traitement hormonal par Hydrocortisone

Dewis P Clinical Endocrinology 1986 24 515–521

Dunaif A Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 1986: 63

Serafini P, Journal of Obstetrics and Gynecology 1986 155 1288–1292.

➤ *Plusieurs études ont montrées:*

Elévation modérée du taux de testostérone

➔ diminution de la fréquence de la pulsatilité de LH

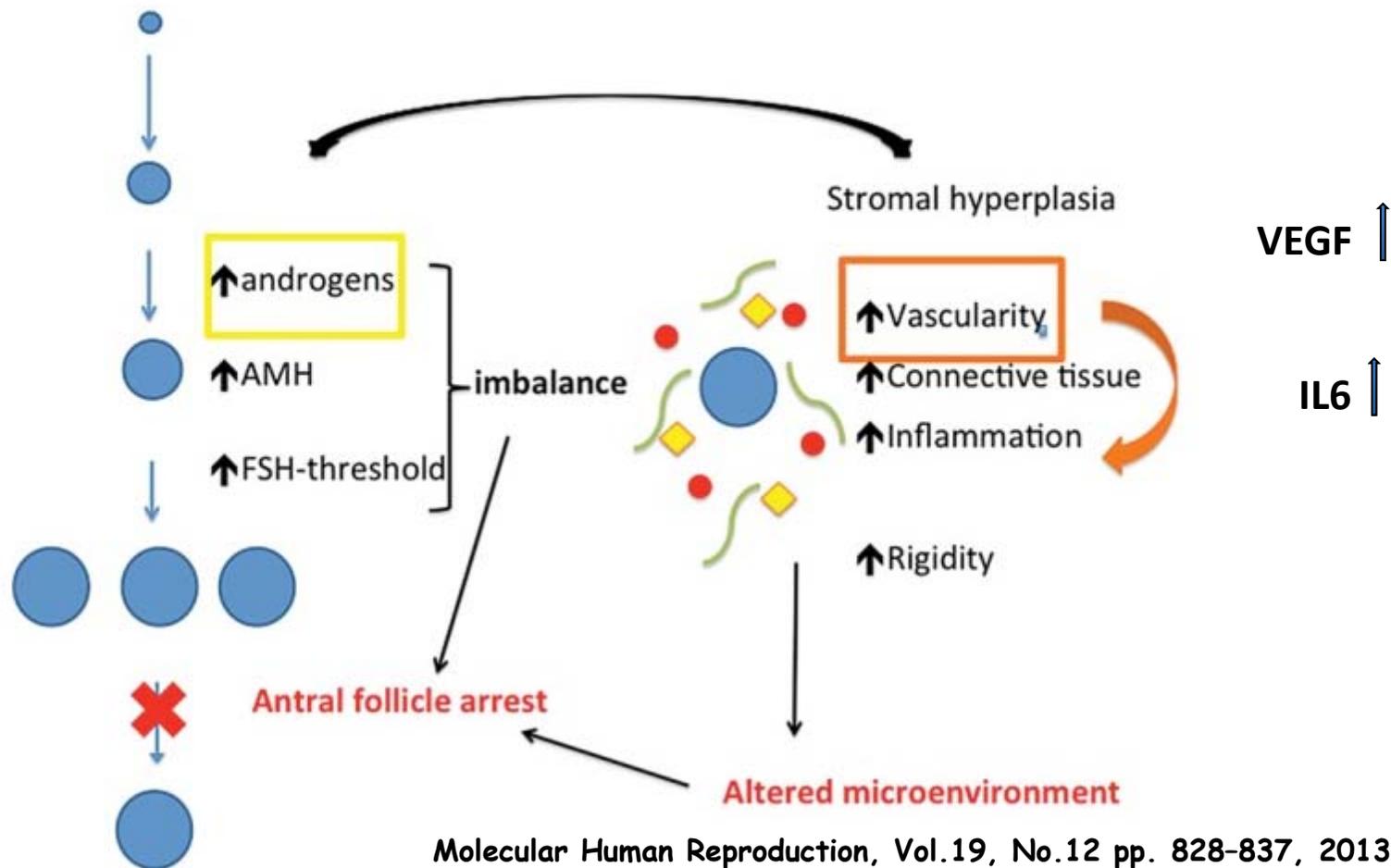
Elévation importante

➔ Diminution de la fréquence et de l'amplitude de LH

Modèle d'action de l'hyperandrogénie

Effet négatif sur la maturation folliculaire et Environnement folliculaire

Modèle du SOPK



Un Traitement par anti androgène Améliore t-il la fertilité chez des patientes avec hyperandrogénie?

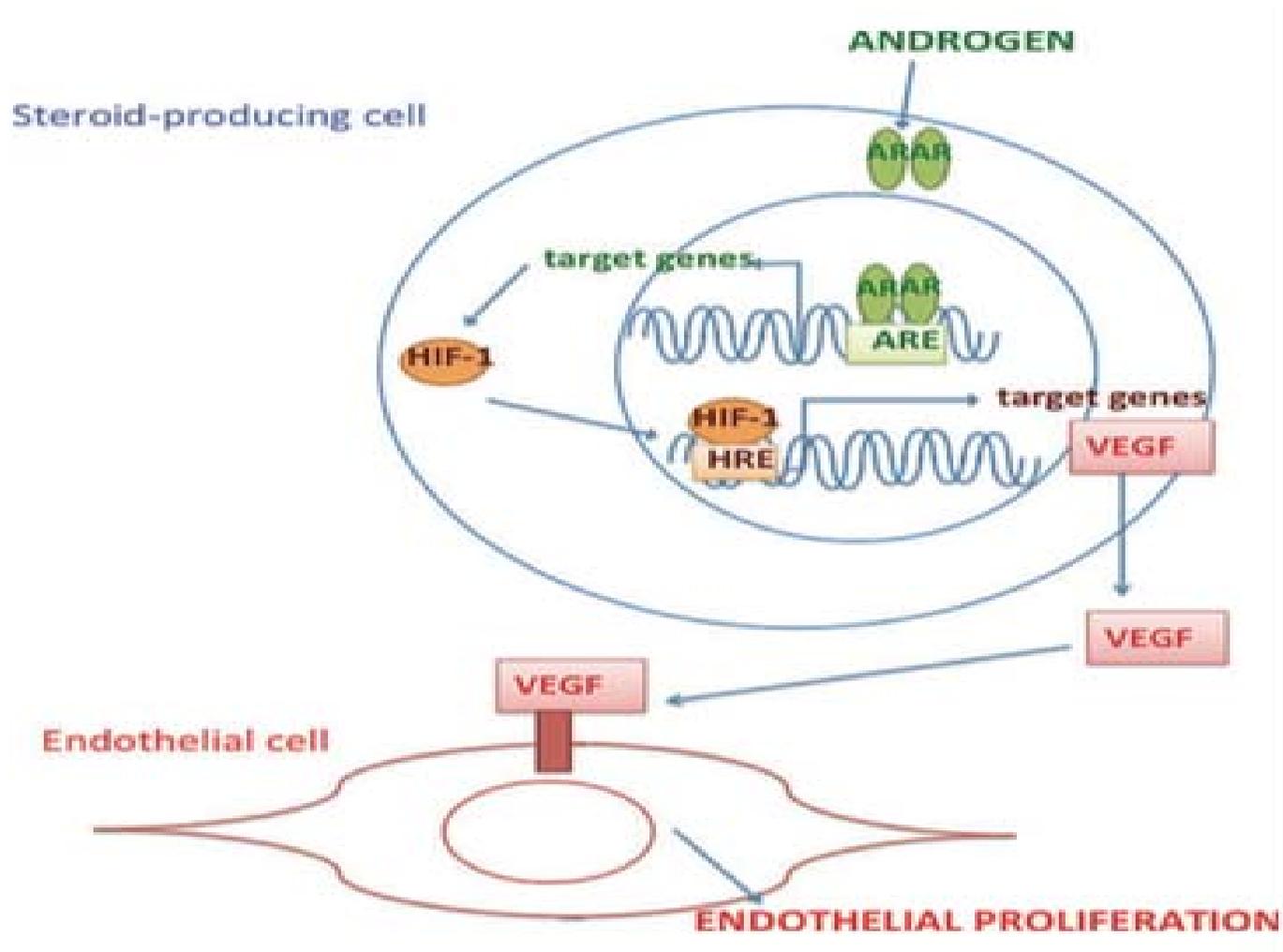
80 patientes **SOPK**, 38 **non SOPK**: 12 17OHP NC+ 26 hirsutisme idiopathique
Traitées par Fultamide pendant 3 ans: 250 mg/j 1 an puis 125 2^{ème} 62.5 la 3^{ème}

	Avant traitement	Après 1 an de traitement
Cycles/an	3,8/12,6	8/12,7
Ovulation %	33,7/ 100	76,3/100
Anovulation%	66,3	23,7/100
FSH	4,6/5,3	4,6/5,3
LH	9/5	8/5
Testo ng/ml N0,3-0,8	0,97/0,56	0,54/0,40
E2 pg/ml	46/41	57/51
17OHP ng/ml N 0,3-1,3	1/1,6	0,8/0,9



Amélioration du nombre de cycle ovulatoires chez les SOPK

Action des androgènes sur l'environnement folliculaire



Molecular Human Reproduction, Vol.19, No.12 pp. 828-837, 2013

M. Lebbe and T.K. Woodruff

Effets in vivo de l'administration d'androgènes

Animal	Methodology used	Main results
	Subcutaneous implants containing testosterone (4 mg/kg animal weight/day) for 3 days, (400 µg/kg animal weight/day) for 10 days, (20 g/kg animal weight/day) for 5 days, or dihydrotestosterone (145 µg/kg animal weight/day) for 5 days.	Increased follicular retrieval, growth, and survival. Increased theca and granulosa cell proliferation.
Non-human primate	Subcutaneous implants containing testosterone (20 µg/kg animal weight/day) or dihydrotestosterone (145 µg/kg animal weight/day) for 5 days.	Increased expression of mRNA for IGF-I and for IGF-I receptor in granulosa and theca cells of growing follicles.
	Subcutaneous implants containing testosterone (20 µg/kg animal weight/day) or dihydrotestosterone (145 µg/kg animal weight/day) for 5 days; testosterone (400 µg/kg animal weight/day) for 3 or 10 days.	Increased follicular retrieval and expression of IGF-I mRNA and of IGF-I receptor in oocytes of primordial follicles.
	Subcutaneous implants containing testosterone (4 mg/kg animal weight/day) for 3 days or testosterone (0.4 mg/kg animal weight/day) for 10 days.	Increased expression of FSH receptor mRNA in granulosa cells of growing follicles.

Les principaux androgènes

Les principaux androgènes mesurés dans le sang
D'une femme avec cycles normaux:

Testostérone

SDHA

DHA

Androstenedione



« Prohormones » nécessitant une
conversion En testostérone pour
avoir un effet androgénique

Folliculogénèse in vitro chez la souris

action synergique des androgènes et de la FSH sur la Maturation des follicules préantraux

