

Intérêt du dosage de l'hormone anti-müllérienne pour le diagnostic et la définition des anomalies de la différenciation sexuelle

Usefulness of anti-mullerian determination in the diagnosis and definition of disorders of sex development

Rodolfo A. Rey^{1,2}
Jean-Yves Picard³
Nathalie Josso³

¹ Hospital de Niños « R. Gutiérrez », Centro de Investigaciones Endocrinológicas « Dr. César Bergadá » (CEDIE), CONICET-FEI-División de Endocrinología, Gallo 1330, C1425EFD Buenos Aires, Argentine

² Universidad de Buenos Aires, Facultad de Medicina, Departamento de Histología, Embriología, Biología Celular y Genética, Paraguay 2150, C1121ABG Buenos Aires, Argentine
<rodolforey@cedie.org.ar>

³ Inserm U1133, Équipe Physiologie de l'axe gonadotrope, Université Paris Diderot, CNRS UMR 8251 (BFA), 75205 Paris cedex 13, France

Résumé. Le testicule fœtal sécrète deux hormones distinctes : la testostérone qui provoque la différenciation des canaux de Wolff et la masculinisation du sinus urogénital et des organes génitaux externes, et l'hormone anti-Müllérienne (AMH) responsable de la disparition des canaux de Müller. L'AMH est synthétisée en abondance par les cellules de Sertoli du testicule fœtal. Bien que la régression des canaux de Müller soit complète dès la dixième semaine de la vie fœtale, le testicule continue à produire de l'AMH jusqu'à la puberté et même au-delà. Dans cette revue, nous analysons l'intérêt du dosage de l'AMH pour le diagnostic et la définition des anomalies du développement sexuel (DSD).

Mots clés : dysgénésie gonadique, déficit stéroïdogénique, insensibilité aux androgènes, syndrome de persistance des canaux de Müller

Abstract. The fetal testis secretes two distinct hormones: testosterone, which drives the differentiation of the Wolffian ducts, the urogenital sinus and the external genitalia, and anti-mullerian hormone (AMH), responsible for the regression of mullerian ducts. AMH is synthesised in large amounts by the fetal testis. Even though the regression of mullerian ducts is completed by the 10th fetal week, the testis continues to secrete AMH beyond pubertal development. In this review, we address the utility of serum AMH determination for the diagnosis and classification of disorders of sex development (DSD).

Key words: gonadal dysgenesis, steroidogenesis defect, androgen insensitivity, persistent mullerian duct syndrome

L'hormone anti-müllérienne (AMH), une glycoprotéine appartenant à la famille du TGF- β , est synthétisée en abondance par les cellules de Sertoli du testicule fœtal. Les recherches pionnières du Pr Alfred Jost [1, 2] ont montré que le testicule fœtal sécrète deux hormones distinctes (figure 1). La testostérone est une hormone virilisante qui provoque la différenciation des canaux de Wolff et la masculinisation du sinus urogénital et des organes génitaux externes. L'AMH est responsable de la disparition des canaux de Müller qui, en son absence, donneraient naissance à l'utérus, les trompes de Fallope et la partie supérieure du vagin. Bien que la régression des canaux de Müller soit complète dès la dixième semaine de la vie fœtale,

le testicule continue à produire de l'AMH jusqu'à la puberté et même au-delà. Dans cette revue, nous analyserons l'intérêt du dosage de l'AMH pour le diagnostic et la définition des anomalies du développement sexuel (DSD).

Production testiculaire et action de l'hormone anti-müllérienne chez le garçon normal

L'expression de l'AMH dans les cordons séminifères du testicule fœtal est déclenchée au cours de la septième semaine par le facteur SOX9 soutenu par d'autres facteurs, comme SF1, GATA4 et WT1, de façon



Tirés à part : R.A. Rey

doi:10.1684/mte.2014.0504

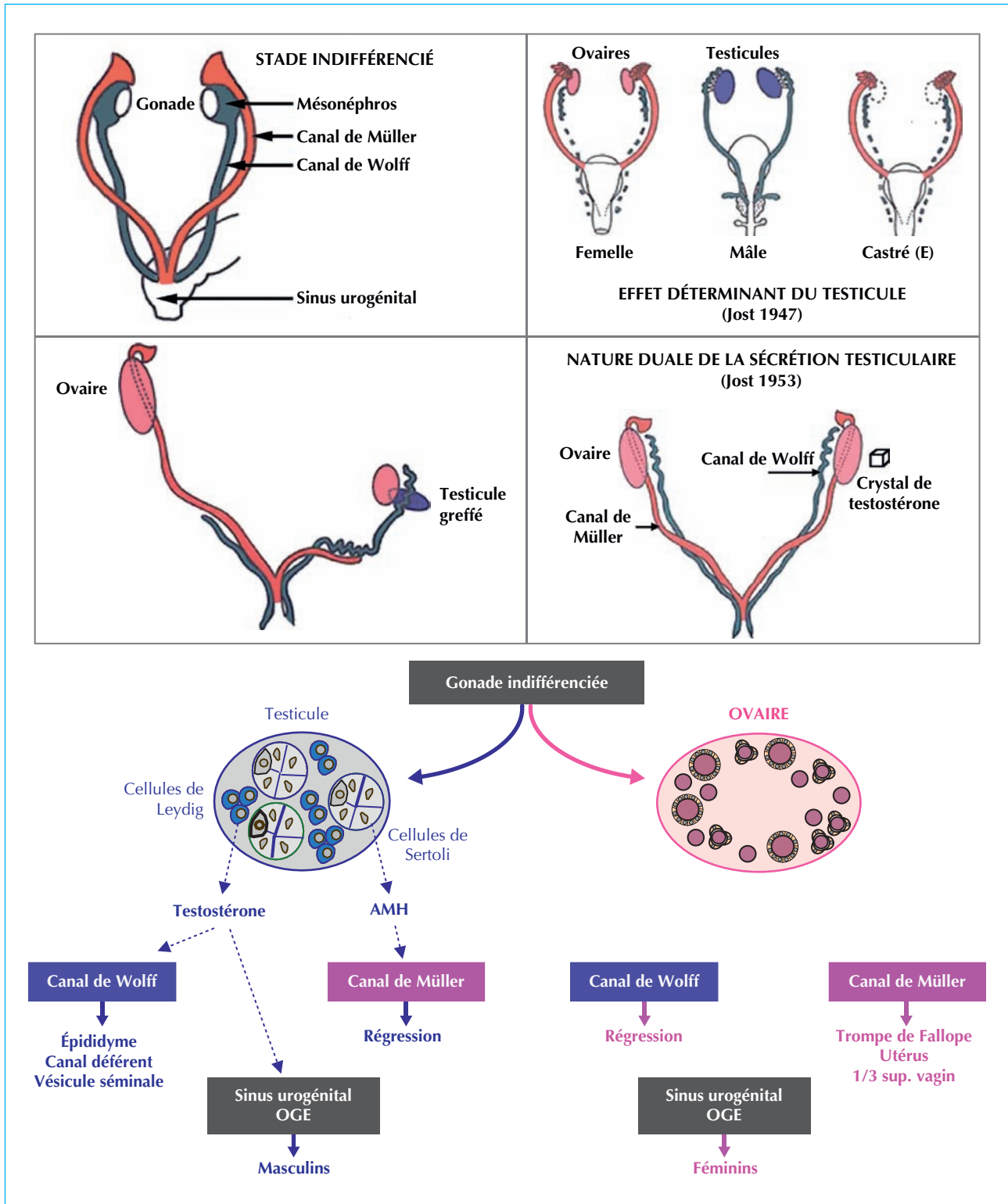


Figure 1. Les recherches pionnières du Pr Alfred Jost ont montré que le testicule foetal est déterminant pour une différenciation sexuelle foetale dans le sens masculin, par l'intermédiaire de deux hormones distinctes : la testostérone provoque la différenciation des canaux de Wolff et la masculinisation du sinus urogénital et des organes génitaux externes (OGE), et l'AMH est responsable de la disparition des canaux de Müller qui, en son absence, donneraient naissance à l'utérus, aux trompes de Fallope et à la partie supérieure du vagin [1, 2].

Tableau 1. Valeurs de référence d'hormone anti-müllérienne (AMH) sérique, obtenues avec le dosage AMH/MIS Elisa®, Beckman-Coulter-Immunotech [9, 11].

Groupe d'âge	AMH sérique	
	Médiane (3 ^e -97 ^e percentiles)	
	pmol/L	ng/mL
0-14 jours	584 (253-1038)	82 (35-145)
15 jours-6 mois	697 (421-1470)	98 (59-206)
6 mois-2 ans	1132 (684-2329)	159 (96-326)
2-9 ans	684 (236-1831)	96 (33-256)
9-18 ans		
G1	713 (257-1371)	100 (36-192)
G2	295 (69-1017)	41 (10-142)
G3	71 (30-423)	10 (4-59)
G4	65 (33-164)	9 (5-23)
G5	82 (38-195)	11 (5-27)

indépendante des gonadotrophines [3]. Au deuxième trimestre, l'activité de la cellule de Sertoli passe sous la dépendance de la FSH qui stimule la multiplication des cellules de Sertoli et leur production d'AMH [4-7]. Aux environs de la naissance [8, 9], la concentration d'AMH sérique diminue, puis elle se rétablit et reste élevée pendant toute la période prépubertaire [10, 11] (*tableau 1*). Au moment de la puberté, la concentration intra-testiculaire de testostérone augmente, freinant la production d'AMH par les cellules de Sertoli, à condition toutefois que le récepteur aux androgènes soit présent et actif (*figure 2*) [12, 13]. Si tel n'est pas le cas, l'action stimulante de la FSH endogène sur la production d'AMH est démasquée [3, 14].

La concentration sérique de l'AMH est un reflet fidèle de la présence et de la valeur fonctionnelle du testicule impubère. Aucune stimulation préalable par les gonadotrophines n'est nécessaire mais l'interprétation des résultats doit impérativement tenir compte de l'âge du patient et de son imprégnation androgénique, éventuellement. Par exemple, des valeurs relativement basses au cours des deux premières semaines de vie sont physiologiques et ne témoignent pas d'une dysgénésie testiculaire ; en cas de doute, il sera nécessaire de répéter le dosage vers la fin du premier mois.

L'AMH est également produite en faible quantité par les cellules de la granulosa des follicules ovariens à partir de la deuxième moitié de la gestation [15] et jusqu'à la transition à la ménopause [16, 17]. L'AMH ovarienne reflète la réserve ovarienne [18], d'où sa valeur dans le domaine de la reproduction assistée.

Classement des anomalies de la différenciation sexuelle

Les DSD peuvent être classées en fonction du mécanisme pathogénique sous-jacent (*tableau 2*) :

- DSD malformatives, dues à des anomalies dans la formation des ébauches des organes reproducteurs ayant lieu avant la différenciation gonadique ;
- DSD « dysgénétiques », conséquences d'une différenciation testiculaire anormale, d'où une production insuffisante des deux hormones testiculaires testostérone et AMH ;
- DSD « hormonales », conséquences d'un déficit spécifique dans la synthèse ou l'activité d'une seule hormone testiculaire, testostérone ou AMH ;
- DSD par excès d'androgènes chez le fœtus XX sans dysgénésie gonadique.

Anomalies du développement sexuel malformatives : hormones testiculaires normales

Certains défauts morphogénétiques atteignent exclusivement les ébauches de l'appareil génital interne et externe, épargnant les ébauches gonadiques (*tableau 2*). L'activité endocrine des gonades n'est donc pas affectée. Par exemple, chez des garçons souffrant d'un hypospade isolé, la production d'AMH et de testostérone est normale [19, 20].

Anomalies dysgénétiques du développement sexuel : déficit conjoint des deux hormones testiculaires

Les dysgénésies gonadiques affectent l'ensemble des compartiments gonadiques, cellules germinales, cellules de Leydig et cellules de Sertoli. Par conséquent, la production de testostérone et d'AMH est affectée à des degrés divers.

Dysgénésies gonadiques pures

Les dysgénésies gonadiques pures (*tableau 2*) se caractérisent au niveau histologique par la disparition du tissu gonadique spécifique au profit de tissu fibreux. En l'absence de toute hormone testiculaire les organes génitaux internes et externes sont féminins mais quand vient l'âge de la puberté, le développement mammaire et les règles n'apparaissent pas. Sur le plan biologique, l'AMH est indétectable dans le sérum (*figure 3*) et il n'y a aucune réponse de la testostérone à la stimulation par l'hCG [21]. Des valeurs faibles, mais clairement détectables d'AMH peuvent indiquer l'existence d'un gonadoblastome chez une patiente avec des séquences du chromosome Y [22]. Chez les patientes avec un syndrome de Turner, l'AMH peut être détectable dans le sérum de patientes ayant un mosaïcisme 45,X/46,XX, qui conservent du tissu ovarien fonctionnel et qui démarrent leur puberté spontanément [23].

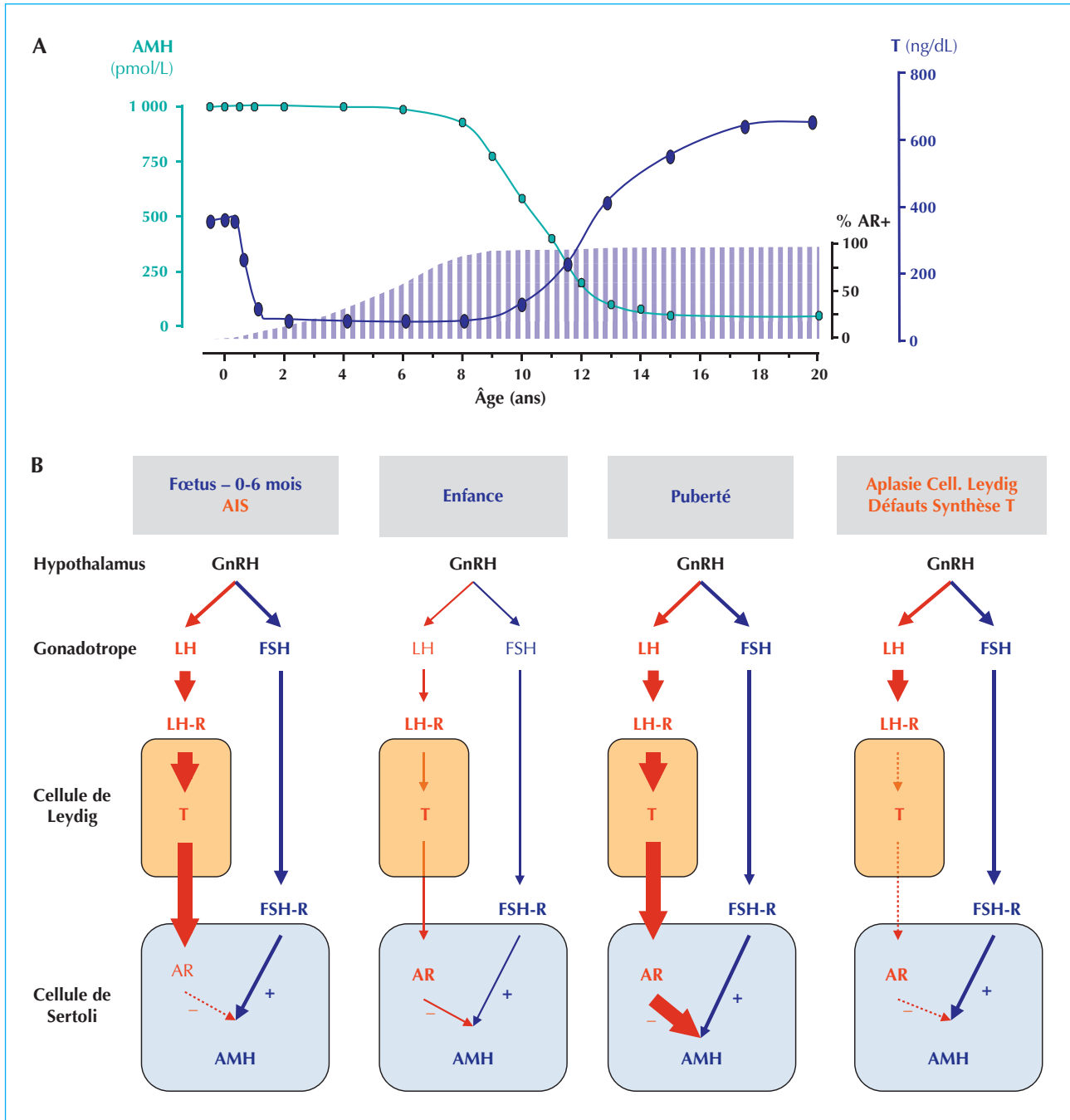


Figure 2. A) Au cours de la vie fœtale, la testostérone élevée est incapable d'inhiber la production d'AMH parce que les cellules de Sertoli n'expriment pas de récepteur aux androgènes à ce stade. Pendant l'enfance, la testostérone (T) est basse et n'affecte pas l'expression de l'AMH. À la puberté, l'augmentation de la testostérone, en agissant sur le récepteur aux androgènes alors présent dans les cellules de Sertoli, est la principale responsable de la chute de l'AMH. % AR : pourcentage des cellules de Sertoli exprimant le récepteur aux androgènes. **B)** Régulation de l'AMH par la FSH et la testostérone au cours de la vie fœtale et postnatale chez l'individu normal ou avec des anomalies de la différenciation sexuelle.
 AIS : syndrome d'insensibilité aux androgènes ; AR : récepteur aux androgènes ; FSH-R : récepteur FSH ; LH-R : récepteur LH ; T : testostérone.

Tableau 2. Classement étiologique des anomalies de la différenciation sexuelle (DSD) et concentration sérique des hormones gonadiques.

Classification	AMH	Testostérone
DSD malformatives		
Malformations des canaux de Müller ou de Wolff Agénésie des canaux déférents (fibrose kystique)	= M chez les 46,XY = F chez les 46,XX	= M chez les 46,XY = F chez les 46,XX
Malformations du sinus urogénital Malformations cloacales Malformations des ébauches des organes génitaux externes Agénésie pénienne/clitoridienne, hypospade isolé		
DSD par défaut de sécrétion ou d'action des hormones testiculaires		
DSD dysgénétiques		
Dysgénésies gonadiques pures 45,X et variantes (Syndrome de Turner) 46,XY : mutations/délétions SRY, MAP3K1, SF1, WT1, SOX9, ATRX, DHH, duplications Xp21 (DAX1), délétions 9p (DMRT1)	Indélectable	Indélectable
Dysgénésies testiculaires 46,XY : mutations/délétions SRY, MAP3K1, SF1, WT1, SOX9, ATRX, DHH, duplications Xp21 (DAX1), délétions 9p (DMRT1)	< M > F	< M > F
Dysgénésie gonadique mixte (ou asymétrique) 45,X/46,XY, ou variantes mosaïques	< M > F	< M > F
Dysgénésie ovotesticulaire 46,XX : mutation RSPO1, duplication SOX9 ; 46,XX/46,XY, ou variantes mosaïques	< M > F	< M > F
DSD non dysgénétiques 46,XY		
Défauts isolés de la synthèse d'androgènes Mutation du récepteur LH (aplasie/hypoplasie des cellules de Leydig) Mutations dans StAR, P450scc, P450c17, POR, Cytochrome b5, 3β-HSD, 17β-HSD	≥ M	Indélectable/= F
Insensibilité aux androgènes (AIS) Mutation du récepteur aux androgènes	≥ M	≥ M
Syndrome de persistance des canaux de Müller (PMDS) Mutation du gène de l'AMH Mutation du récepteur type II de l'AMH	Indélectable = M	= M = M
DSD par excès d'androgènes 46,XX		
Hyperplasie congénitale des surrénales Mutation dans 21-OH Mutations dans P450c17, POR, 3β-HSD	= F = F	= M < M > F
Défaut d'aromatase	= F	= M
Tumeurs androgéniques	= F	≤ M > F
Substances androgéniques	= F	≤ M > F

StAR : protéine régulatrice de la stéroïdogenèse aiguë ; P450scc : cytochrome P450 clivant la chaîne latérale du cholestérol ; P450c17 : cytochrome P450 à activités 17-hydroxylase et 17,20-lyase ; POR : cytochrome P oxydoréductase ; 3 β-HSD : 3 β-hydroxy stéroïde déshydrogénase ; 17 β-HSD : 17 β-hydroxy stéroïde déshydrogénase. = M/= F : dans la gamme des valeurs masculines/féminines normales ; ≥ M / F : dans la gamme des valeurs masculines/féminines normales ou au-dessus ; < M / F : en dessous des valeurs masculines/féminines normales.

Dysgénésie testiculaire partielle et dysgénésie gonadique mixte

Les dysgénésies testiculaires partielles se caractérisent par un développement testiculaire insuffisant qui affecte aussi bien les tubes séminifères que le tissu intersti-

tiel. La virilisation incomplète du sinus urogénital et des organes génitaux externes se traduit par un hypospadias plus ou moins sévère, tandis que la sécrétion insuffisante d'AMH pendant la vie fœtale ne permet pas aux canaux de Müller de régresser complètement. Il per-

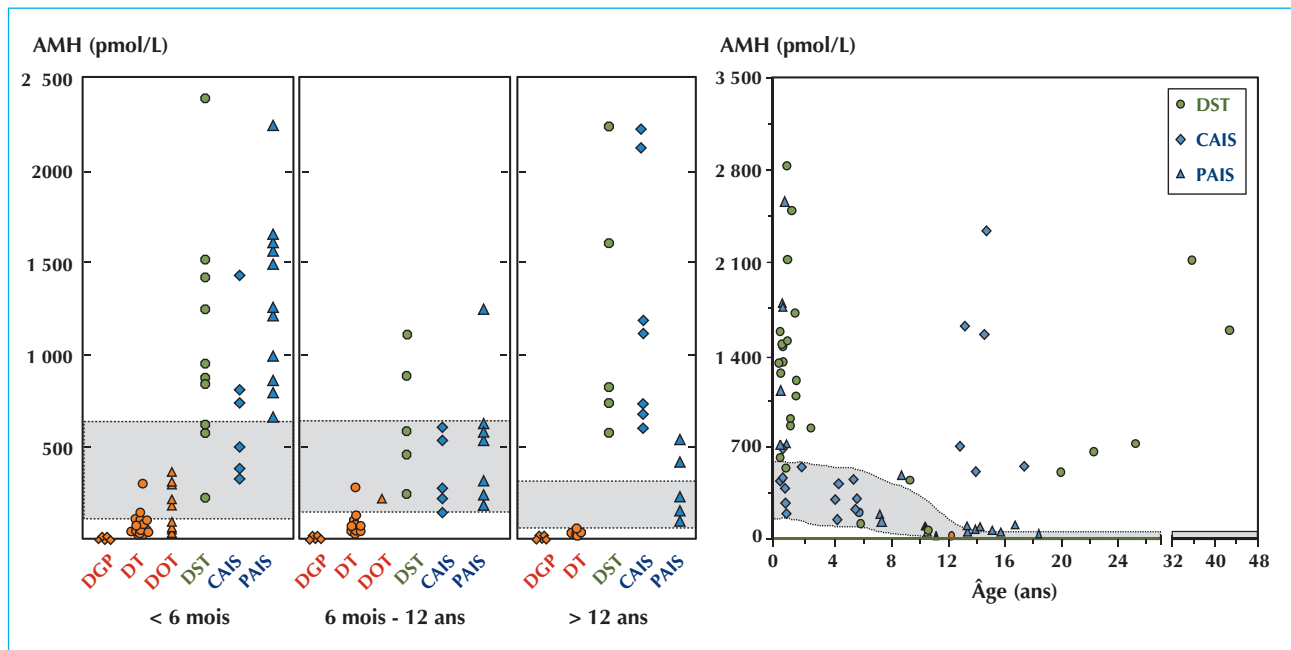


Figure 3. Taux d'AMH dans les anomalies de la différenciation sexuelle. DGP : dysgénésie gonadique pure ; DT : dysgénésie testiculaire ; DOT : dysgénésie ovotesticulaire ; DST : déficits stéroïdogéniques testiculaires ; CAIS : syndrome d'insensibilité complète aux androgènes ; PAIS : syndrome d'insensibilité partielle aux androgènes.

siste des dérivés müllériens plus ou moins développés (tableau 2). La concentration sérique d'AMH reflète la quantité de tissu testiculaire fonctionnel (figure 3) [22], elle est corrélée avec le degré d'ambiguïté des organes génitaux [21, 24, 25]. Toutefois, il peut y avoir une discordance entre le taux d'AMH et le degré de développement des dérivés müllériens, dans la mesure où l'anatomie reflète la sécrétion d'AMH au début de la vie fœtale, qui n'est pas forcément la même que la sécrétion postnatale. L'évolution du taux d'AMH permet de suivre l'évolution de la fonction testiculaire. Chez les patients élevés en garçon, il y a en général un début de masculinisation à la puberté mais un hypogonadisme s'installe par la suite. Le risque de tumeur gonadique est important.

Les dysgénésies testiculaires asymétriques dites « mixtes » diffèrent des précédentes essentiellement sur le plan anatomique. Le plus souvent un testicule dysgénétique est présent d'un côté et une bandelette fibreuse du côté controlatéral. Les organes génitaux internes et externes sont plus virilisés du côté du testicule, avec une persistance du canal de Müller et une moindre virilisation du côté de la bandelette fibreuse. Le caryotype est fréquemment mais non obligatoirement un mosaïcisme 45,X/46,XY (tableau 2). Le dosage de l'AMH apporte les mêmes renseignements que dans les dysgénésies testiculaires partielles (figure 3).

Dysgénésie ovotesticulaire

La dysgénésie ovotesticulaire, autrefois appelée « hermaphrodisme vrai », se caractérise par la coexistence de tissu ovarien et testiculaire soit au sein d'une même gonade, l'ovotestis, soit de chaque côté du corps. Comme dans les dysgénésies testiculaires, le degré de virilisation des organes génitaux et de régression des canaux de Müller dépend de la quantité de tissu testiculaire fonctionnel de chaque côté. Alors que le tissu ovarien est de bonne qualité, permettant une puberté féminine et même une grossesse si l'utérus est préservé, le tissu testiculaire est habituellement dysgénétique, ce qui a pour conséquence une production insuffisante de testostérone et d'AMH (voir paragraphe précédent). Les dérivés müllériens sont bien développés dans environ la moitié des cas. Le caryotype plus fréquent mais non exclusif est 46,XX. Si aucune gonade n'est palpable, le dosage d'AMH peut se révéler utile pour distinguer le DSD ovotesticulaire d'une virilisation par androgènes non testiculaires, hyperplasie congénitale des surrénales (HCS) par exemple.

Bien que l'AMH soit produite aussi bien par le testicule que par l'ovaire, la concentration d'AMH sérique dans les DSD ovotesticulaires reflète essentiellement la masse de tissu testiculaire fonctionnel (figure 3), l'apport des cellules folliculaires du tissu ovarien étant négligeable en comparaison de celui des cellules de Sertoli.

Anomalies du développement sexuel d'origine hormonale chez les sujets 46,XY

Dans certains cas, l'organogenèse testiculaire est normale, le tissu testiculaire n'est pas dysgénétique mais l'anomalie porte sur la synthèse ou l'action de l'une des hormones testiculaires, testostérone ou AMH. Ces anomalies sont en général liées à une mutation génique et sont donc génétiquement transmises. Cependant, comme les sujets atteints sont habituellement stériles, les mutations *de novo* sont fréquentes et les antécédents familiaux ne sont pas forcément révélateurs.

Défauts isolés de la synthèse d'androgènes

Il s'agit d'hypogonadismes dissociés, caractérisés par une production d'androgènes par les cellules de Leydig faible ou absente et une production normale d'AMH par les cellules de Sertoli (*tableau 2*). Selon le degré de la défaillance stéroïdogénique, les organes génitaux externes sont féminins ou ambigus mais l'utérus et les trompes de Fallope sont toujours absents. L'étude de la stéroïdogénèse, éventuellement après stimulation par l'hCG, permet d'identifier l'enzyme déficiente et de remonter à la mutation responsable. Dans de nombreux cas, la même enzyme intervient dans la synthèse de cortisol et le déficit androgénique est associé à une HCS [26].

La concentration sérique d'AMH se situe dans la gamme des valeurs masculines, voire plus élevée chez le nouveau-né ou à l'âge de la puberté (*figure 3*) [21, 27]. L'élévation du taux d'AMH est due à l'effet de la FSH qui n'est pas contrecarré par les androgènes.

Insensibilité aux androgènes

L'insensibilité aux androgènes (*Androgen insensitivity syndrome* ou AIS) est la conséquence d'une mutation génique du gène codant pour le récepteur des androgènes sur le chromosome X et ne se manifeste que chez les sujets 46,XY (hérédité dite « liée au sexe »). L'insensibilité peut être complète (CAIS) ou partielle (PAIS) selon la sévérité de la mutation. Le phénotype externe est totalement féminin dans le CAIS et plus ou moins ambigu dans le PAIS. L'utérus et les trompes sont toujours absents suite à une production normale d'AMH. Selon les cas, le diagnostic est fait à la puberté, en raison d'une aménorrhée, chez l'enfant, du fait d'une ambiguïté des organes génitaux externes ou d'hernies inguinales, ou même en prénatal s'il y a des antécédents familiaux.

Comme dans les DSD par trouble de la stéroïdogénèse, la concentration sérique d'AMH se situe dans la gamme des valeurs masculines, elle est même supérieure chez le nouveau-né ou à l'âge de la puberté [21, 27, 28] (*figure 3*) surtout chez les patients PAIS, qui ont des valeurs de FSH plus élevée [29]. Le taux d'AMH est normal dans les déficits en 5 α -réductase [30].

Syndrome de persistance des canaux de Müller (PMDS) : déficit isolé en hormone anti-müllérienne

Le PMDS est caractérisé par l'existence de l'utérus et des trompes chez des garçons qui ont une virilisation normale des dérivés wolffiens, du sinus urogénital et des organes génitaux externes. Il y a deux étiologies génétiques bien caractérisées : les mutations du gène de l'AMH et les mutations du gène de son récepteur de type II (AMHR-II) [31], qui sont ensemble à l'origine d'environ 85 % des cas, les 15 % restants étant idiopathiques. Ces deux formes partagent la même symptomatologie clinique mais diffèrent par leur taux d'AMH circulante.

Le signe d'appel est une cryptorchidie et/ou une hernie inguinale. Les testicules et les déférents sont souvent adhérents à la paroi de l'utérus et des trompes, et leur position dépend de la mobilité des trompes. Dans certains cas, un testicule descend à travers le canal inguinal et entraîne la trompe de Fallope homolatérale, cette forme anatomique étant connue sous le nom de « *hernia uteri inguinalis* » ; dans des cas extrêmes, l'utérus, les deux trompes et le testicule controlatéral sont entraînés dans le même héli-scrotum, condition appelée « ectopie testiculaire transverse ». Les testicules, étant anormalement mobiles, sont prédisposés à une torsion [32] ce qui peut conduire à leur dégénérescence. Alternativement, les testicules peuvent rester en position ovarienne [33].

Le développement pubertaire est normal, mais ces patients sont pratiquement tous infertiles, conséquence d'une cryptorchidie ancienne qui affecte les cellules germinales ou d'une atteinte de l'épididyme ou du déférent, soit spontanée soit suite à la chirurgie d'exérèse utérine, qui peut mettre en danger les vaisseaux testiculaires.

La testostérone et les gonadotrophines sont normales pour l'âge. L'AMH est indétectable chez la plupart des patients ayant une mutation du gène de l'AMH (*figure 4*) [34]. Une seule mutation, Q496H, suspectée de perturber l'interaction avec le récepteur, comporte des valeurs sériques normales [35]. Une telle association exige de vérifier l'intégrité du gène du récepteur avant de conclure. Inversement, les mutations du récepteur type II, qui provoquent une insensibilité à l'AMH, se caractérisent avant la puberté par l'existence de valeurs clairement détectables d'AMH dans le sang, bien qu'elles puissent être inférieures à la normale probablement par suite de la position ectopique des testicules (*figure 4*) [31]. Après la puberté, le dosage de l'AMH sérique ne permet pas de distinguer les mutations de l'AMH de celles de son récepteur.

Le PMDS se transmet de façon autosomique récessive, 52 % des cas d'étiologie identifiée portent des mutations du gène de l'AMH (*figure 4*) [36]. À ce jour, 65 familles ont été identifiées avec un total de 54 allèles différents. Les mutations se répartissent tout au long du gène, à l'exception de l'exon 4. Dans 63 % des cas, les patients sont homozygotes. Des mutations du gène du récepteur

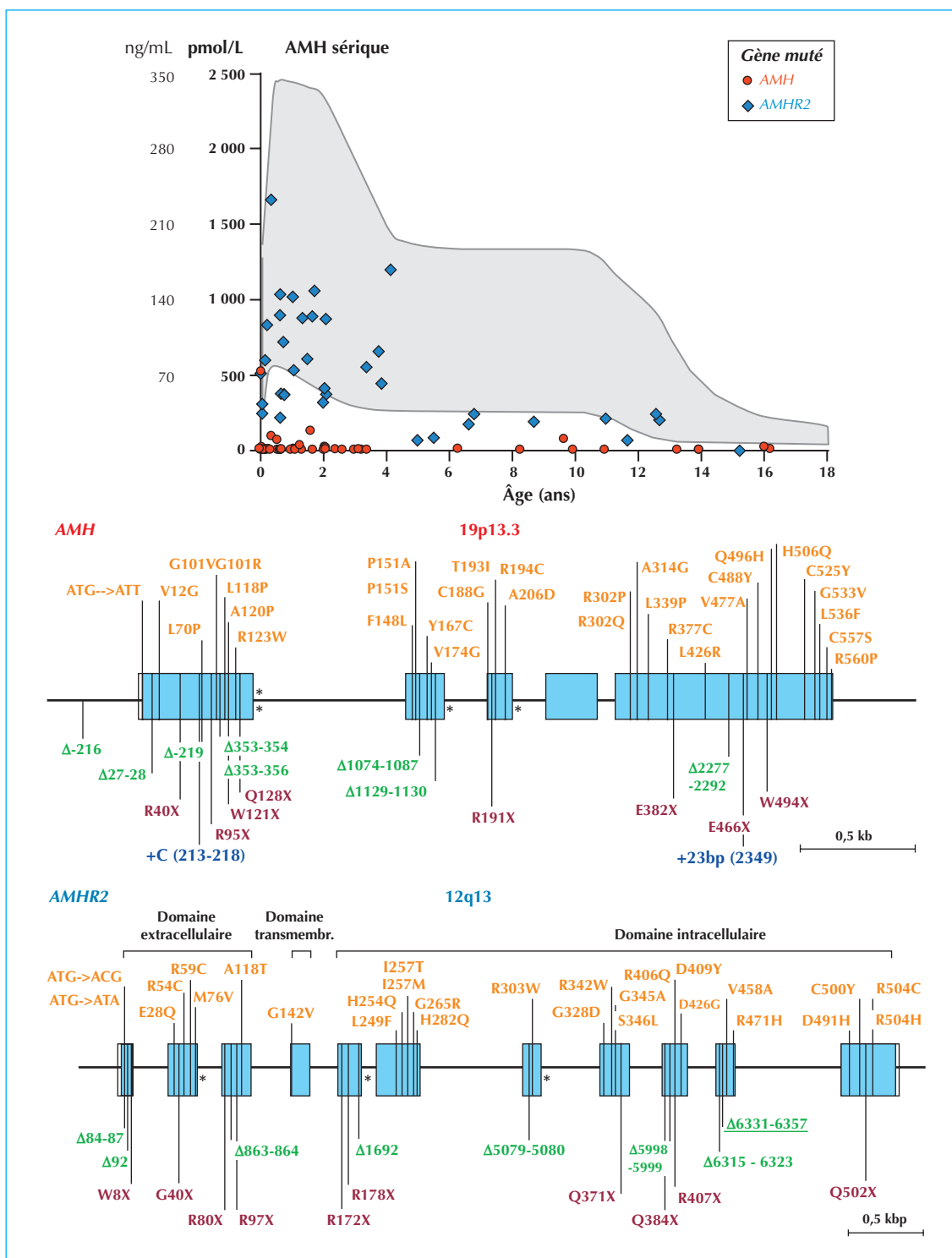


Figure 4. Taux d'AMH sérique chez les garçons atteints du syndrome de persistance des canaux de Müller (PMDS). Il est corrélé avec le gène dans lequel des mutations ont été identifiées : le taux est généralement effondré en présence d'une mutation du gène *AMH*, il est normal ou intermédiaire en présence d'une mutation du gène *AMHR2*. Mutations des gènes *AMH* et *AMHR2* dans le PMDS. Les mutations faux-sens sont indiquées en orange, les mutations non-sens en violet, les délétions (marquées « Δ ») en vert, les insertions (marquées « + ») en bleu. Les étoiles représentent les mutations d'épissage. La délétion de 27 paires de bases Δ6331-6357 soulignée dans l'exon 10 du gène *AMHR2* est très fréquente : on la trouve dans 21 % de toutes les familles PMDS, et dans 44 % de celles qui ont des mutations du récepteur.

type II de l'AMH sont responsables de 48 % des cas de PMDS. Soixante familles ont été décrites avec un total de 49 allèles différents : tous les exons sont touchés, une délétion de 27 pb au niveau de l'exon 10 étant présente dans environ la moitié des cas avec une insensibilité à l'AMH.

Anomalies du développement sexuel par excès d'androgènes chez le fœtus 46,XX

L'exposition à des concentrations élevées d'androgènes au cours de la vie fœtale conduit à une virilisation des organes génitaux, sans affecter le développement des ovaires, de l'utérus et des trompes. La cause la plus fréquente d'hyper-androgénie chez le fœtus 46,XX porteur exclusivement de tissu ovarien est l'HCS, le déficit en 21-hydroxylase étant en cause dans plus de 90 % des cas (tableau 2). Dans les cas plus graves, les organes génitaux externes peuvent avoir une apparence masculine, bien qu'on ne palpe pas de gonade dans le scrotum. L'absence d'AMH sérique confirme alors le diagnostic en conjonction avec le caryotype et le dosage de la 17-hydroxyprogesterone.

L'absence d'activité aromatasase, par mutation du gène *CYP19* est une cause rare d'hyper-androgénie fœtale. L'excès d'androgènes d'origine placentaire provoque la virilisation du fœtus et de la mère au cours de la grossesse. À l'âge pubertaire, les patientes atteintes d'un déficit d'aromatase ne se féminisent pas mais au contraire se virilisent. Le taux d'AMH ne dépasse pas les valeurs féminines normales. C'est également le cas lorsqu'une tumeur gonadique ou surrénalienne de la mère est à l'origine de la virilisation fœtale ou si le fœtus a été exposé à une substance androgénique, ce qui est devenu très rare actuellement. Au cas où l'AMH sérique se rapprocherait des valeurs masculines, il faudrait envisager la possibilité d'une dysgénésie ovotesticulaire mais en général la question ne se pose pas parce qu'alors on palpe une gonade au moins d'un côté.

L'intérêt du dosage d'hormone anti-müllérienne pour le diagnostic des anomalies du développement sexuel

Anomalies du développement sexuel avec des organes génitaux externes féminins

Patientes âgées de moins de six mois

Les formes physiopathologiques les plus sévères des DSD, c'est-à-dire les dysgénésies gonadiques pures, les déficits complets de la synthèse de testostérone et les insensibilités complètes aux androgènes, présentent des organes génitaux externes totalement féminisés (figure 5). Dans la plupart des cas, il n'y a donc aucune raison pour que ces filles cherchent un avis médical avant l'âge de la puberté. Néanmoins, avec l'augmentation des caryotypes

réalisés au cours de la grossesse ces dernières années, un nombre croissant de cas est vu à la naissance à cause d'une discordance entre un caryotype 46,XY et un phénotype externe féminin. Il est alors nécessaire de faire la distinction entre dysgénésie gonadique pure, d'une part, et défaut de synthèse ou de réceptivité aux androgènes, d'autre part. La simple inspection des organes génitaux externes ne suffit pas à cet égard. L'imagerie médicale ou la laparoscopie peuvent renseigner sur la présence ou non d'un utérus mais l'analyse hormonale est également très informative. Une combinaison d'AMH et testostérone indétectables indique une dysgénésie gonadique pure ; une AMH dans la gamme de valeurs masculines voire plus élevée et une testostérone indétectable ou très basse orientent le diagnostic vers un défaut de la production d'androgènes par les cellules de Leydig ; finalement, si l'AMH et la testostérone sont dans la gamme de valeurs masculines, une insensibilité complète aux androgènes est le diagnostic le plus vraisemblable (figure 5 et tableau 2).

Patientes âgées de six mois à 12 ans

Le dosage de testostérone en conditions basales n'est pas informatif dans cette tranche d'âge. En revanche, le dosage d'AMH fait la distinction entre la dysgénésie gonadique pure (AMH indétectable) et les formes de DSD liées à une absence de synthèse ou de réceptivité aux androgènes (AMH dans les valeurs normales du garçon) (figure 5).

À noter que la DSD la plus fréquente est le syndrome de Turner. Ces patientes consultent souvent à cause d'une petite taille au cours de l'enfance, ou d'autres dysmorphies congénitales, telles qu'un lymphœdème des mains et des pieds à la naissance, le cou court (*pterygium colli*), présence d'un grand nombre de *nævi*, des malformations cardiaques et d'autres dysmorphies faciales, du thorax et des membres. Le diagnostic est confirmé par le caryotype 45,X ou des variantes avec des pertes partielles du chromosome X ou Y (isochromosomes et chromosomes en anneau) ou des formes mosaïques 45,X/46,XX ou plus rarement portant une lignée XY en très faible pourcentage. Les gonadotrophines sont élevées au cours de la première enfance et à l'âge de la puberté, mais chutent pour atteindre des valeurs normales dans un grand nombre de cas entre six et 11 ans [37-39]. Les taux des gonadotrophines ne sont pas capables de prédire l'existence de tissu ovarien permettant un développement pubertaire spontané [39]. À l'inverse, le dosage d'AMH est très utile : une AMH indétectable est hautement prédictive d'une absence de tissu gonadique tandis que des concentrations sériques détectables, voire normales dans certains cas, indiquent l'existence de follicules ovariens et font espérer un développement pubertaire spontané [23].

Patientes d'âge pubertaire

Le signe d'appel est l'absence ou l'anomalie du développement pubertaire. S'il n'y a pas de développement

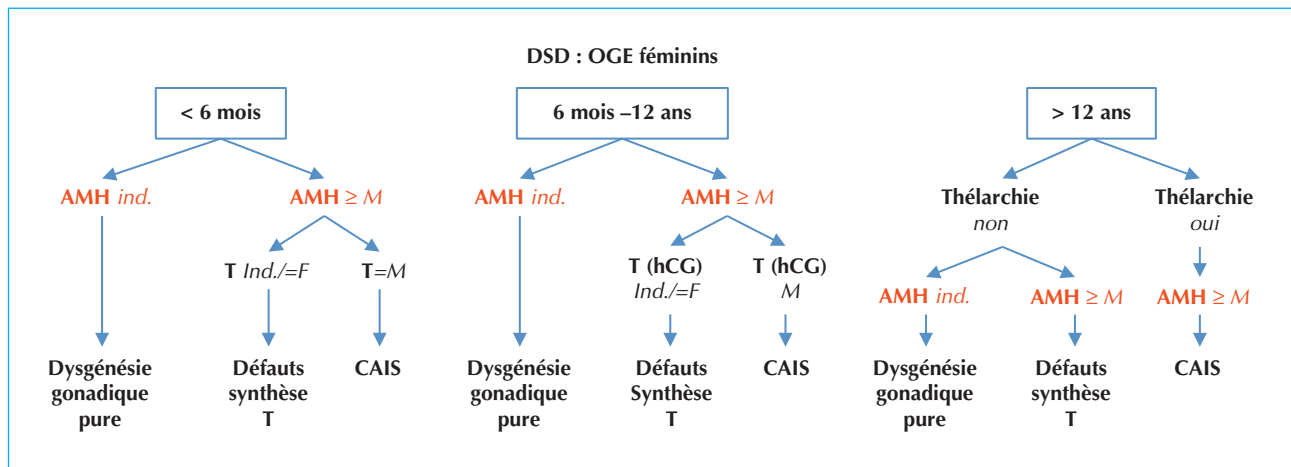


Figure 5. Taux d'AMH et testostérone (T) chez les patients atteints d'une anomalie de la différenciation sexuelle (DSD) avec des organes génitaux externes (OGE) féminins. Ind : indétectable ; = M/=F : dans la gamme des valeurs masculines/féminines normales ; ≥ M : dans la gamme des valeurs masculines normales ou au-dessus ; T (hCG) : testostérone post-hCG. ; CAIS : syndrome d'insensibilité complète aux androgènes.

mammaire, les diagnostics possibles sont une dysgénésie gonadique pure ou un défaut de la production d'androgènes par les cellules de Leydig. La testostérone sérique est basse ou indétectable et les gonadotrophines sont élevées dans les deux cas. Le dosage d'AMH peut apporter la réponse : une AMH indétectable est en faveur d'une dysgénésie gonadique pure tandis qu'une AMH dans la gamme de valeurs masculines oriente vers un défaut isolé des cellules de Leydig. Le pronostic est très différent d'un point de vue reproductif : chez les patientes souffrant d'une dysgénésie gonadique pure, non seulement le traitement substitutif avec des œstrogènes et des progestatifs permet d'induire le développement mammaire et les cycles menstruels mais une grossesse est également envisageable suite à une ovodation, tandis que dans les anomalies de la production des androgènes, seul un développement mammaire peut être obtenu par le traitement œstrogénique, des cycles menstruels étant impossibles du fait de l'absence d'utérus (figure 5).

Chez les filles ayant un développement mammaire spontané qui consultent pour l'absence de règles, l'insensibilité complète aux androgènes est un diagnostic vraisemblable. Dans ces cas, l'AMH et la testostérone dans la gamme de valeurs masculines et le caryotype 46,XY orientent le diagnostic, ensuite confirmé par étude génétique du récepteur des androgènes (figure 5).

Anomalies du développement sexuel avec ambiguïté des organes génitaux externes

Patients âgés de moins de six mois

Chez le nouveau-né, une ambiguïté génitale exige un diagnostic le plus rapide possible afin de prendre une décision sur le sexe d'élevage et d'instaurer un traitement immédiat éventuellement. L'étiologie la plus fréquente,

l'hyperplasie congénitale des surrénales (HCS) par déficit de la 21-hydroxylase est reconnue rapidement par l'existence d'un taux élevé de 17-hydroxyprogesterone dans le sang. L'AMH se situe dans des valeurs féminines (figure 6) ; le résultat du caryotype (46,XX) n'arrive que plus tard. Certaines formes d'HCS, comme les déficits en 3β-hydroxy stéroïde déshydrogénase (HSD), P450c17 ou P450 oxydoréductase (POR), peuvent provoquer une ambiguïté sexuelle tant chez le fœtus 46,XX que 46,XY (figure 6). Dans ces cas, l'élévation de la 17-hydroxyprogesterone n'est pas si marquée, et le taux d'AMH sérique pourrait aider à prédire le caryotype : une AMH basse associée à des valeurs d'androgènes au-delà de la limite supérieure normale pour une fille oriente vers un caryotype 46,XX, tandis que des valeurs d'AMH dans des valeurs normales pour un garçon oriente vers un caryotype 46,XY et en même temps élimine la possibilité d'une dysgénésie testiculaire (figure 6). L'association d'une AMH dans la gamme de valeurs féminines avec des valeurs élevées d'androgènes telles que la testostérone ou la Δ4-androstènedione chez un nouveau-né 46,XX oriente vers un déficit d'aromatase ou une imprégnation par androgènes exogènes (tumeurs, drogues).

L'HCS étant éliminée, et le caryotype n'étant pas disponible immédiatement, les valeurs d'AMH et de testostérone peuvent être très informatives. Si l'AMH et la testostérone sont basses pour un garçon mais élevées pour une fille, le diagnostic plus vraisemblable est une dysgénésie testiculaire (figure 6). Ensuite, le caryotype oriente le diagnostic étiologique : les cas 46,XY sont le plus souvent dus à une dysgénésie testiculaire, les 46,XX et 46,XX/46,XY ou d'autres formes mosaïques avec une lignée XX et une lignée XY évoquent une dysgénésie ovotesticulaire, et les 45,X/46,XY orientent vers une

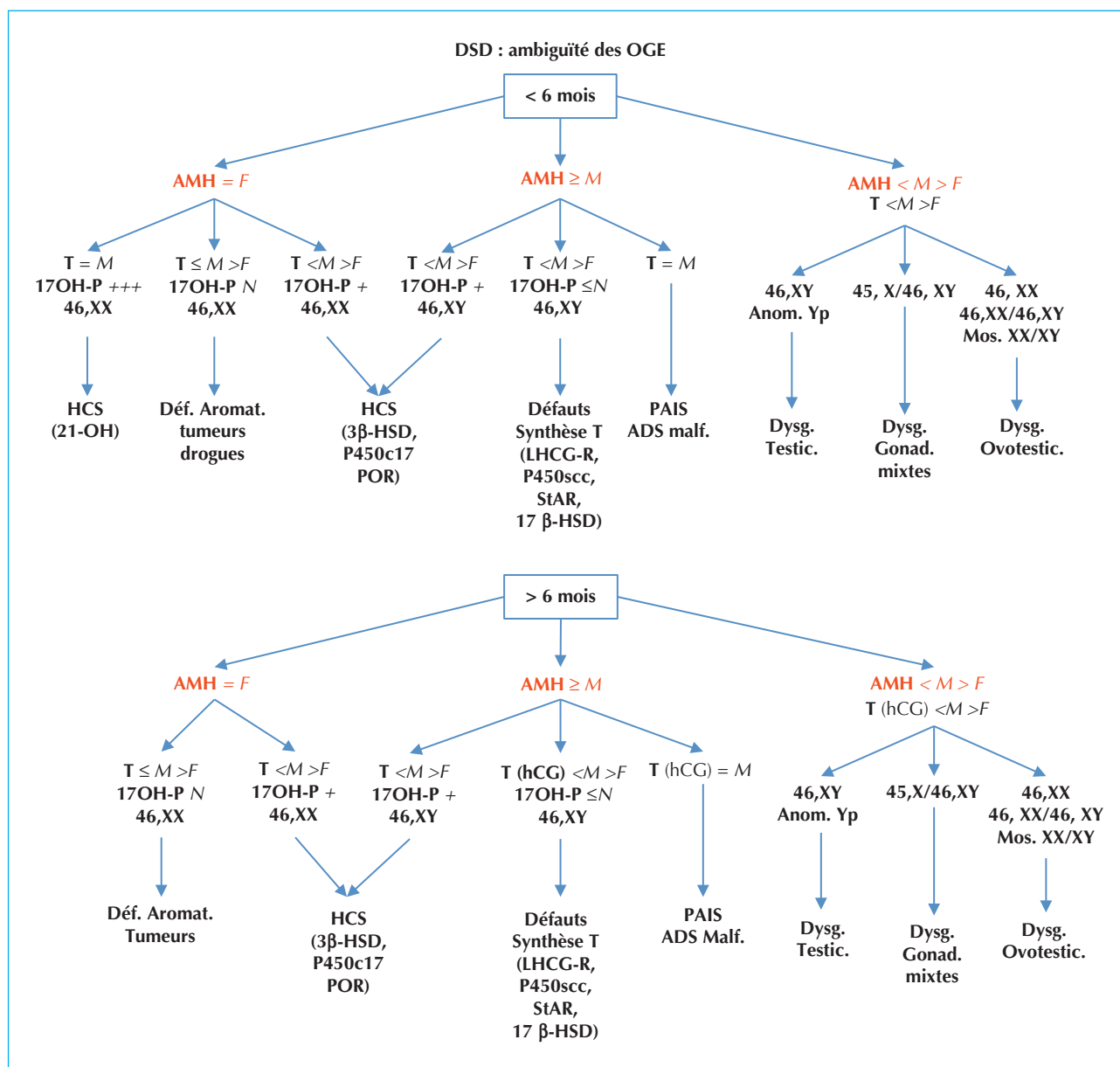


Figure 6. Taux d'AMH et testostérone (T) chez les patients atteints d'une anomalie de la différenciation sexuelle (DSD) avec ambiguïté des organes génitaux externes (OGE). Ind : indétectable ; = M/F : dans la gamme des valeurs masculines/féminines normales ; ≥ M : dans la gamme des valeurs masculines normales ou au-dessus ; T (hCG) : testostérone post-hCG.

dysgénésie gonadique mixte. Le diagnostic exact doit être confirmé par l'étude anatomopathologique puisqu'il existe d'autres associations moins fréquentes.

Une AMH dans la gamme de valeurs masculines élimine le diagnostic de dysgénésie testiculaire. Si la testostérone est basse le diagnostic s'oriente vers un défaut de la production d'androgènes par les cellules de Leydig, tandis que si la testostérone est dans la gamme de valeurs masculines, une insensibilité partielle aux androgènes est le diagnostic le plus vraisemblable (figure 6).

Patients âgés de plus de six mois

Bien que rares, quelques patients avec une ambiguïté sexuelle peuvent arriver à l'âge de six mois ou plus sans diagnostic. Une HCS est pratiquement éliminée, notamment si le patient n'a pas d'antécédents compatibles avec des épisodes d'insuffisance surrénalienne aiguë. L'approche diagnostique ressemble à celle utilisée pour les patients de moins de six mois, à part le fait que les valeurs basales d'androgènes ne sont pas informatives, puisqu'elles sont toujours basses au cours de l'enfance,

même chez les garçons et les filles normales. Une AMH basse indique une dysgénésie gonadique, dont la forme devra être confirmée par l'étude histologique (figure 6). Une AMH dans la gamme de valeurs masculines oriente vers un déficit stéroïdogénique ou une AIS ; la réponse au test à l'hCG permettra de les distinguer (figure 6). Finalement, l'étude génétique confirmera le diagnostic étiologique.

Liens d'intérêts : N. Josso et R. Rey sont co-inventeurs du kit AMH/MIS, développé par Beckman-ImmunoTech sous licence Inserm.

R. Rey a reçu des primes d'intéressement du CONICET (Argentine) pour le développement d'un service technologique basé sur l'utilisation d'un dosage d'AMH.

J.-Y. Picard n'a pas transmis de liens d'intérêts.

Références

- Jost A. Recherches sur la différenciation sexuelle de l'embryon de lapin. III. Rôle des gonades foetales dans la différenciation sexuelle somatique. *Arch Anat Microsc Morphol Exp* 1947 ; 36 : 271-315.
- Jost A. Problems of fetal endocrinology: the gonadal and hypophyseal hormones. *Recent Prog Horm Res* 1953 ; 8 : 379-418.
- Josso N, Picard JY, Rey R, di Clemente N. Testicular anti-mullerian hormone: history, genetics, regulation and clinical applications. *Pediatr Endocrinol Rev* 2006 ; 3 : 347-58.
- Al-Attar L, Noël K, Dutertre M, et al. Hormonal and cellular regulation of Sertoli cell anti-mullerian hormone production in the postnatal mouse. *J Clin Invest* 1997 ; 100 : 1335-43.
- Lukas-Croisier C, Lasala C, Nicaud J, et al. Follicle-stimulating hormone increases testicular anti-mullerian hormone (AMH) production through Sertoli cell proliferation and a nonclassical cyclic adenosine 5'-monophosphate-mediated activation of the AMH gene. *Mol Endocrinol* 2003 ; 17 : 550-61.
- Young J, Chanson P, Salenave S, et al. Testicular anti-mullerian hormone secretion is stimulated by recombinant human FSH in patients with congenital hypogonadotropic hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab* 2005 ; 90 : 724-8.
- Lasala C, Scheingart HF, Arouche N, et al. SOX9 and SF1 are involved in cyclic AMP-mediated upregulation of anti-mullerian gene expression in the testicular prepubertal Sertoli cell line SMAT1. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2011 ; 301 : E539-47.
- Josso N, Lamarre I, Picard JY, et al. Anti-mullerian hormone in early human development. *Early Hum Dev* 1993 ; 33 : 91-9.
- Bergadá I, Milani C, Bedecarrás P, et al. Time course of the serum gonadotropin surge, inhibins, and anti-mullerian hormone in normal newborn males during the first month of life. *J Clin Endocrinol Metab* 2006 ; 91 : 4092-8.
- Aksglæde L, Sorensen K, Boas M, et al. Changes in anti-mullerian hormone (AMH) throughout the life span: a population-based study of 1,027 healthy males from birth (cord blood) to the age of 69 years. *J Clin Endocrinol Metab* 2010 ; 95 : 5357-64.
- Grinspon RP, Bedecarrás P, Ballerini MG, et al. Early onset of primary hypogonadism revealed by serum anti-mullerian hormone determination during infancy and childhood in trisomy 21. *Int J Androl* 2011 ; 34 : e487-98.
- Chemes HE, Rey RA, Nistal M, et al. Physiologic androgen insensitivity of the fetal, neonatal, and early infantile testis is explained by the ontogeny of the androgen receptor expression in Sertoli cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2008 ; 93 : 4408-12.
- Boukari K, Meduri G, Brailly-Tabard S, et al. Lack of androgen receptor expression in Sertoli cells accounts for the absence of anti-mullerian hormone repression during early human testis development. *J Clin Endocrinol Metab* 2009 ; 94 : 1818-25.
- Grinspon RP, Rey RA. Anti-mullerian hormone and Sertoli cell function in paediatric male hypogonadism. *Horm Res Paediatr* 2010 ; 73 : 81-92.
- Kuiri-Hanninen T, Kallio S, Seuri R, et al. Postnatal developmental changes in the pituitary-ovarian axis in preterm and term infant girls. *J Clin Endocrinol Metab* 2011 ; 96 : 3432-9.
- Long WQ, Ranchin V, Pautier P, et al. Detection of minimal levels of serum anti-mullerian hormone during follow-up of patients with ovarian granulosa cell tumor by means of a highly sensitive enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Endocrinol Metab* 2000 ; 85 : 540-4.
- van Rooij IAJ, Tonkelaar I, Broekmans FJ, et al. Anti-mullerian hormone is a promising predictor for the occurrence of the menopausal transition. *Menopause* 2004 ; 11 : 601-6.
- van Rooij IAJ, Broekmans FJM, te Velde ER, et al. Serum anti-mullerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve. *Hum Reprod* 2002 ; 17 : 3065-71.
- Rey RA, Codner E, Iñiguez G, et al. Low risk of impaired testicular Sertoli and Leydig cell functions in boys with isolated hypospadias. *J Clin Endocrinol Metab* 2005 ; 90 : 6035-40.
- Feyaerts A, Forest MG, Morel Y, et al. Endocrine screening in 32 consecutive patients with hypospadias. *J Urol* 2002 ; 168 : 720-5.
- Rey RA, Belville C, Nihoul-Fékété C, et al. Evaluation of gonadal function in 107 intersex patients by means of serum anti-mullerian hormone measurement. *J Clin Endocrinol Metab* 1999 ; 84 : 627-31.
- Rey R, Al-Attar L, Louis F, et al. Testicular dysgenesis does not affect expression of anti-mullerian hormone by Sertoli cells in premeiotic seminiferous tubules. *Am J Pathol* 1996 ; 148 : 1689-98.
- Hagen CP, Aksglæde L, Sorensen K, et al. Serum levels of anti-mullerian hormone as a marker of ovarian function in 926 healthy females from birth to adulthood and in 172 Turner syndrome patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2010 ; 95 : 5003-10.
- Misra M, MacLaughlin DT, Donahoe PK, Lee MM. Measurement of mullerian inhibiting substance facilitates management of boys with microphallus and cryptorchidism. *J Clin Endocrinol Metab* 2002 ; 87 : 3598-602.
- Misra M, MacLaughlin DT, Donahoe PK, Lee MM. The role of mullerian inhibiting substance in the evaluation of phenotypic female patients with mild degrees of virilization. *J Clin Endocrinol Metab* 2003 ; 88 : 787-92.
- Auchus RJ, Miller WL. Defects in androgen biosynthesis causing 46, XY disorders of sexual development. *Semin Reprod Med* 2012 ; 30 : 417-26.
- Morel Y, Rey R, Teinturier C, et al. Aetiological diagnosis of male sex ambiguity: a collaborative study. *Eur J Pediatr* 2002 ; 161 : 49-59.
- Rey R, Mebarki F, Forest MG, et al. Anti-mullerian hormone in children with androgen insensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 1994 ; 79 : 960-4.

- 29.** Bouvattier C, Carel JC, Lecointre C, *et al.* Postnatal changes of T, LH, and FSH in 46, XY infants with mutations in the AR gene. *J Clin Endocrinol Metab* 2002 ; 87 : 29-32.
- 30.** Stuchi-Perez EG, Hackel C, Oliveira LE, *et al.* Diagnosis of 5alpha-reductase type 2 deficiency: contribution of anti-mullerian hormone evaluation. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2005 ; 18 : 1383-9.
- 31.** Josso N, Picard JY, Cate RL. The persistent mullerian duct syndrome. In : New MI, Parsa A, Yuen TT, O'Malley BW, Hammer GD, eds. *Genetic steroid disorders*. New York, NY (USA) : Elsevier, 2013 (p. 265-78).
- 32.** Imbeaud S, Rey R, Berta P, *et al.* Testicular degeneration in three patients with the persistent mullerian duct syndrome. *Eur J Pediatr* 1995 ; 154 : 187-90.
- 33.** Josso N, Fékété CN, Cachin O, Nezelof C, Rappaport R. Persistence of mullerian ducts in male pseudohermaphroditism, and its relationship to cryptorchidism. *Clin Endocrinol* 1983 ; 19 : 247-58.
- 34.** Josso N, Belville C, di Clemente N, Picard JY. AMH and AMH receptor defects in persistent mullerian duct syndrome. *Hum Reprod Update* 2005 ; 11 : 351-6.
- 35.** Belville C, van Vlijmen H, Ehrenfels C, *et al.* Mutations of the anti-mullerian hormone gene in patients with persistent mullerian duct syndrome: biosynthesis, secretion, and processing of the abnormal proteins and analysis using a three-dimensional model. *Mol Endocrinol* 2004 ; 18 : 708-21.
- 36.** Josso N, Rey R, Picard JY. Testicular anti-mullerian hormone: clinical applications in DSD. *Semin Reprod Med* 2012 ; 30 : 364-73.
- 37.** Conte FA, Grumbach MM, Kaplan SL. A diphasic pattern of gonadotropin secretion in patients with the syndrome of gonadal dysgenesis. *J Clin Endocrinol Metab* 1975 ; 40 : 670-4.
- 38.** Ropelato MG, Escobar ME, Gottlieb S, Bergadá C. Gonadotropin secretion in prepubertal normal and agonadal children evaluated by ultrasensitive time-resolved immunofluorometric assays. *Horm Res* 1997 ; 48 : 164-72.
- 39.** Hagen CP, Main KM, Kjaergaard S, Juul A. FSH, LH, inhibin B and estradiol levels in Turner syndrome depend on age and karyotype: longitudinal study of 70 Turner girls with or without spontaneous puberty. *Hum Reprod* 2010 ; 25 : 3134-41.