

Interactions entre androgènes, hormone folliculostimulante, hormone antimüllérienne et œstradiol au cours de la folliculogénèse dans l'ovaire humain normal et polykystique

Interactions between androgens, FSH, anti-mullerian hormone and estradiol during folliculogenesis in the human normal and polycystic ovary

Didier Dewailly^{1,5}
Geoffroy Robin^{2,3,5}
Maëli Peigne¹
Christine Decanter³
Pascal Pigny^{4,5}
Sophie Catteau-Jonard^{1,2,5}

¹ Laboratoire de développement et de plasticité du cerveau neuroendocrinien, centre de recherche Jean-Pierre Aubert, Inserm U1172, Lille, France

² CHU Lille, service de gynécologie médicale, orthogénie, sexologie, hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France

³ CHU Lille, service d'assistance médicale à la procréation et de préservation de la fertilité, Hôpital Jeanne de Flandre, 59037, Lille, France

⁴ CHU Lille, laboratoire de biochimie & hormonologie, centre de biologie pathologie, Lille, France

⁵ Faculté de médecine, université de Lille, Haut de France, Lille, France
<didier.dewailly@orange.fr>

Résumé. Les androgènes, l'hormone folliculostimulante (FSH), l'hormone antimüllérienne (AMH) et l'œstradiol (E2) sont essentiels à la folliculogénèse ovarienne. Cependant, les interactions entre ces quatre agents ne sont pas entièrement comprises. Le but de cette revue est d'essayer de les mettre en scène de façon chronologique et d'analyser leur implication et leur fonction, en mettant l'accent sur les controverses quant aux relations entre FSH et AMH. Une meilleure compréhension de cette interaction pourrait compléter nos connaissances actuelles sur la physiopathologie du syndrome des ovaires polykystiques (SOPK). Au cours de la croissance du follicule préantral (« indépendante des gonadotrophines »), la FSH est déjà active et favorise la croissance du follicule en synergie avec les androgènes dérivés des cellules thécales. Inversement, l'AMH inhibe la FSH. Nous contestons l'hypothèse que l'AMH est régulée par les androgènes et proposons plutôt un effet indirect, via une amplification androgénodépendante de l'action de la FSH sur les cellules de la granulosa (CG) à partir de petits follicules en croissance. Cette hypothèse implique que la FSH stimule l'expression de l'AMH. Au cours de la croissance folliculaire antrale (« dépendante des gonadotrophines »), la production d'E2 résulte de l'activation de l'aromatase, dépendante de la FSH. À l'inverse, l'AMH est inhibitrice mais le déclin de son expression, amplifié par l'E2, permet la pleine expression de l'aromatase, caractéristique des gros follicules antraux. Nous proposons un schéma théorique composé de deux triangles qui se suivent chronologiquement. Dans le SOPK, la croissance folliculaire préantrale est excessive (triangle 1) en raison de l'excès intrinsèque d'androgènes qui rend les CG hypersensibles à la FSH, entraînant par conséquent une expression excessive de l'AMH. La croissance et la différenciation du follicule antral sont perturbées (triangle 2) en raison de l'inhibition anormalement persistante des effets de la FSH par l'AMH qui bloque l'aromatase. Outre l'anovulation, ce scénario peut également expliquer la plus grande réceptivité au traitement par les gonadotrophines et le risque accru de syndrome d'hyperstimulation ovarienne chez les patientes atteintes de SOPK. Au sein des CG, l'équilibre entre les effets de la FSH et ceux de l'AMH joue un rôle central dans le passage des follicules d'une dépendance aux androgènes à une dépendance aux œstrogènes. Notre hypothèse des deux triangles, basée sur des données mises à jour de la littérature, offre un modèle pédagogique pour la compréhension de la folliculogénèse dans les ovaires normaux et polykystiques. Il ouvre de nouvelles voies pour le traitement de l'anovulation due au SOPK.

Mots clés : androgènes, hormone folliculostimulante (FSH), hormone antimüllérienne, œstradiol, folliculogénèse, cellule de la granulosa, syndrome des ovaires polykystiques

Abstract. Androgens, FSH, anti-Müllerian hormone (AMH) and estradiol (E2) are essential in human ovarian folliculogenesis. However, the interactions between these four players is not fully understood. The purpose of this review is to highlight the chronological sequence of the appearance and function of androgens, FSH, AMH and E2 and to discuss controversies in the relationship between FSH and AMH. A better understanding of this interaction could supplement our current knowledge about the pathophysiology of the polycystic ovary syndrome (PCOS). During the pre-antral ("gonadotropin-independent") follicle growth, FSH is already active and promotes follicle growth in synergy with theca cell-derived androgens. Conversely, AMH is inhibitory by counteracting FSH. We challenge the hypothesis that AMH is regulated by androgens and propose rather an indirect effect through an androgen-dependent amplification of FSH action on granulosa cells (GCs) from small growing follicles. This hypothesis implies that FSH stimulates AMH expression. During the antral ("gonadotropin-dependent") follicle growth, E2 production results from FSH-dependent activation of

Médecine
de la **Reproduction**

Tirés à part : D. Dewailly

aromatase. Conversely, AMH is inhibitory but the decline of its expression, amplified by E2, allows full expression of aromatase, characteristic of the large antral follicles. We propose a theoretical scheme made up of two triangles that follow each other chronologically. In PCOS, pre-antral follicle growth is excessive (triangle 1) because of intrinsic androgen excess that renders GCs hypersensitive to FSH, with consequently excessive AMH expression. Antral follicle growth and differentiation are disturbed (triangle 2) because of the abnormally persisting inhibition of FSH effects by AMH that blocks aromatase. Beside anovulation, this scenario may also serve to explain the higher receptiveness to gonadotropin therapy and the increased risk of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) in patients with PCOS. Within GCs, the balance between FSH and AMH effects is pivotal in the shift from androgen- to estrogen- driven follicles. Our two triangles hypothesis, based on updated data from the literature, offers a pedagogic template for the understanding of folliculogenesis in the normal and polycystic ovary. It opens new avenues for the treatment of anovulation due to PCOS.

Key words: androgens, FSH, anti-mullerian hormone, estradiol, folliculogenesis, granulosa cell, PCOS

La folliculogénèse au sein de l'ovaire continue de susciter un intérêt passionné chez les chercheurs et les cliniciens. C'est en effet un phénomène d'une extraordinaire complexité, et les connaissances à ce sujet sont en constante évolution. Même s'il est incomplet, un schéma physiopathologique centré sur les principaux acteurs impliqués peut aider à diriger la recherche et à améliorer la prise en charge des patientes. Les androgènes, l'hormone folliculostimulante (FSH), l'hormone antimüllérienne (AMH) et l'œstradiol (E2) sont tous quatre essentiels dans la folliculogénèse ovarienne humaine. Cependant, les interactions entre ces quatre agents ne sont pas complètement comprises. Le but de cette revue est d'essayer de les mettre en scène de façon chronologique et d'analyser leur implication et leur fonction, en discutant plus particulièrement les controverses au sujet des relations entre FSH et AMH. Une meilleure compréhension de cette interaction pourrait notamment améliorer nos connaissances actuelles sur la physiopathologie du syndrome des ovaires polykystiques (SOPK).

Interactions entre androgènes, hormone folliculostimulante et hormone antimüllérienne lors du développement du follicule préantral (croissance « indépendante » des gonadotrophines)

Cette partie de la folliculogénèse dépend de nombreux facteurs principalement intra-ovariens [1], qui ne seront pas examinés dans leur intégralité. Le but de cette revue est de se concentrer sur l'interaction entre trois acteurs qui jouent un rôle central dans la physiopathologie du SOPK, à savoir les androgènes, la FSH et l'AMH.

Le rôle des androgènes

Il y a vingt ans, on soupçonnait les androgènes d'accroître l'atrésie folliculaire [2]. Certains auteurs avaient montré que, sur un modèle murin, les androgènes amplifiaient l'apoptose des cellules de la granulosa (CG) [3]. Cependant, des études plus récentes ont plutôt montré un rôle stimulant des androgènes sur le développement du follicule. Ainsi, Vendola *et al.* [4] ont signalé une augmentation nombre de follicules en croissance ainsi

qu'une plus grande prolifération des CG et des cellules de thèque (CT) chez des singes Rhesus femelles adultes traités avec de la testostérone ou de la dihydrotestostérone (DHT). À l'inverse, des souris déficientes pour le récepteur aux androgènes (RA) ont plus de CG apoptotiques dans leurs follicules préovulatoires et affichent un taux d'ovulation inférieur [5], développant finalement une insuffisance ovarienne prématurée [6]. Le RA étant exprimé au maximum dans les follicules préantraux murins [7, 8], l'action principale des androgènes semble avoir lieu pendant les premiers stades de la folliculogénèse. Hillier *et al.* [9] ont rapporté que, chez les primates (marmousets), les RA sont plus abondants dans les follicules préantraux et antraux débutants et virtuellement absents dans les follicules préovulatoires. Nous avons également signalé, chez l'humain, une diminution de l'expression du gène du RA dans les CG des grands follicules préovulatoires par rapport aux petits [10]. Ce résultat est compatible avec la diminution de l'expression des RA tout au long de la maturation folliculaire humaine [11]. En outre, une expression différentielle des RA a été rapportée dans les follicules matures : faible dans les CG murales, elle est plus marquée dans les cellules du cumulus [12].

Le rôle de l'hormone folliculostimulante

Bien que les gonadotrophines ne soient pas censées agir sur la croissance du follicule durant la phase dite « indépendante des gonadotrophines », la question se pose d'un possible effet de la FSH sur les CG à un stade plus précoce que celui du petit follicule antral [1]. Certaines données indiquent que les CG expriment le récepteur FSH (FSHR) dès le stade folliculaire préantral [13]. Par autoradiographie de coupes histologiques d'ovaire humain, Yamoto *et al.* [14] ont révélé la présence de FSHR à la surface des CG des follicules préantraux (stade folliculaire secondaire) et antraux à différents stades de la croissance folliculaire.

Malgré l'expression précoce de la FSHR au cours de la folliculogénèse, l'effet de la FSH sur la croissance folliculaire initiale reste controversé. Chez des souris *knock-out* déficientes pour les gènes β -FSH ou FSHR [15, 16], les follicules se développent jusqu'au stade préantral. Chez les femmes présentant des mutations dans l'un de ces gènes, les follicules atteignent le stade de

follicules sélectionnables (2-5 mm) [17-19]. Ces données suggèrent que la croissance folliculaire initiale est indépendante de la FSH [20-22]. À l'inverse, d'autres groupes ont montré sur des modèles animaux que, bien que la FSH ne soit pas essentielle au démarrage de la croissance folliculaire, elle la soutient ensuite, quantitativement et qualitativement. Ainsi, la transplantation d'ovaires néonataux chez des rats hypophysectomisés (FSH basse) ou castrés (FSH élevée) a montré que la FSH favorise le développement de follicules préantraux [23]. Chez les rats et les souris hypophysectomisés, différentes classes de follicules sont observées jusqu'au stade des follicules préantraux [24]. Néanmoins, le nombre de follicules préantraux morphologiquement normaux apparaît moins important chez les témoins. Des observations similaires ont été faites chez des modèles murins d'hypogonadisme hypogonadotrope [25] et chez des rats juvéniles traités avec un antagoniste de la gonadolibérine (GnRH) [25, 26]. Des xéno greffes d'ovaires humains transplantés sous la capsule rénale de souris immunodéficientes et hypogonadotropes suggèrent que la FSH serait nécessaire pour une croissance folliculaire précoce, à partir du stade de follicules à deux couches de CG [27]. Des expériences menées sur des moutons, utilisant le modèle de l'autogreffe de tissu cortical ovarien, ont montré que la FSH endogène entraînait une stimulation nette de la croissance du follicule préantral [28]. Ainsi, il est possible que la FSH stimule modérément la croissance du follicule au cours de la phase de croissance basale du follicule, en synergie avec d'autres facteurs de stimulation tels que les androgènes, le facteur kit-ligand, le facteur inhibiteur de la leucémie (LIF) et le *growth differentiation factor 9* (GDF9) [1]. En l'absence de FSH, ces facteurs stimulants maintiendraient une croissance basale du follicule « indépendante de la FSH », qui serait toutefois moins efficace.

Le rôle de l'hormone antimülérienne

L'AMH est une glycoprotéine appartenant à la famille du TGF- β qui est sécrétée par les CG dès le stade folliculaire primaire [29-31]. Sa production est maximale au stade du follicule sélectionnable (stade préantral chez la souris et antral chez l'homme). Elle diminue ensuite, lorsque les follicules commencent leur processus de recrutement cyclique dépendant de la FSH [31]. On considère que l'AMH a deux fenêtres d'action sur la folliculogénèse :

- d'une part, elle régule négativement le recrutement folliculaire initial, chez la souris et chez l'homme, en exerçant un effet inhibiteur sur la transition du follicule primordial au follicule primaire [15, 32, 33],
- d'autre part, elle inhibe le recrutement cyclique dépendant de la FSH.

Le rôle joué par l'AMH dans la croissance du follicule semble indépendant des gonadotrophines.

Les données expérimentales recueillies *in vitro*, sur un modèle de souris prépubères *knock-out* pour le gène de l'AMH [15, 34], confirment cette action continue de l'AMH. Premièrement, *in vivo*, les souris *knock-out* déficientes pour le gène de l'AMH (AMH^{-/-}) présentent un nombre de follicules en croissance à tous les stades, y compris ceux situés au-delà du follicule préantral, significativement supérieur à ceux de souris témoins [34]. Deuxièmement, l'ajout d'AMH dans un milieu de culture cellulaire contenant des follicules de souris AMH^{-/-} ralentissait la croissance folliculaire, même en présence de FSH, suggérant un effet inhibiteur de l'AMH sur la prolifération des CG dépendante de la FSH [15].

Interactions entre hormone antimülérienne, hormone folliculostimulante et androgènes

Certaines relations entre les androgènes, la FSH et l'AMH sont bien démontrées, tandis que d'autres sont beaucoup plus controversées.

Les androgènes stimulent les effets de l'hormone folliculostimulante sur les cellules de la granulosa via une expression accrue du récepteur de l'hormone folliculostimulante

Les souris *knock-out* pour les RA (RA^{-/-}) ont une réduction des niveaux d'ARNm codant la FSHR, ce qui suggère un effet positif des androgènes sur l'expression de la FSHR [6]. Cette hypothèse a été confirmée dans un modèle *in vitro* de CG de bovins. Luo et Wiltbank [35] ont montré une augmentation de la transcription du gène FSHR sous l'action de la testostérone et de la DHT, impliquant les RA. En utilisant le bicalutamide, un antagoniste spécifique des RA, ils ont pu bloquer cet effet. Un effet indirect, dû à la conversion d'androgènes en œstrogènes, a été exclu car les niveaux des ARNm de FSHR n'étaient pas augmentés dans les cellules stimulées par des œstrogènes à différentes concentrations. Dans les follicules de souris, la testostérone et la DHT non aromatisable ont amplifié la croissance folliculaire amorcée avec la FSH [36]. Murray *et al.* [37] ont également signalé que la DHT accélérât la croissance des follicules murins à de très faibles concentrations de FSH. Les mêmes résultats ont été observés chez d'autres espèces. Par hybridation *in situ*, Weil *et al.* [38] ont observé une forte corrélation positive entre les niveaux d'ARNm du RA et de la FSHR dans les CG de primates, traités ou non à la testostérone. Dans ce modèle, le traitement aux androgènes a augmenté la transcription de FSHR dans les CG, et ces auteurs ont ensuite montré que l'expression des RA augmentait dans ces CG exposées à la testostérone [39]. Ceci suggère fortement que les androgènes stimulent l'expression de leurs propres récepteurs. Plus récemment, Nielsen *et al.* [40] ont confirmé ces résultats en étudiant de petits follicules humains (de 3 à 9 mm de diamètre)

obtenus lors d'une chirurgie ovarienne afin de préserver la fertilité. Ils ont également constaté que les niveaux d'ARNm des RA et d'androgènes intrafolliculaires étaient corrélés positivement aux taux d'ARNm de FSHR. En utilisant la quantification par PCR avec transcriptase inverse (RT-PCR), nous avons nous-mêmes montré une forte corrélation positive entre les niveaux d'ARNm des RA et de la FSHR dans les CG collectées dans le liquide folliculaire des follicules de femmes témoins et de femmes atteintes du SOPK stimulées par FIV [10]. Ainsi l'expression du FSHR est-elle sans doute également augmentée par les androgènes chez les primates et les humains, via une expression accrue du RA, comme cela a récemment été analysé par Lebbe et Woodruff [41]. L'augmentation parallèle de l'expression des gènes du RA et du FSHR, que nous avons observée dans les CG de femmes atteintes du SOPK, par comparaison avec les témoins, suggère que cet effet physiologique est amplifié dans le SOPK [10].

Globalement, ces résultats sont en faveur d'une action directe des androgènes sur la transcription du gène *FSHR*, et il est probable que ce phénomène soit un événement précoce au cours de la folliculogénèse [41]. Il reste toutefois à déterminer si le RA agit directement sur le promoteur du gène *FSHR* et/ou par l'intermédiaire d'autres facteurs de transcription et/ou en stabilisant l'ARNm et/ou par des effets non génomiques. Récemment, Sen *et al.* [42] ont montré que les androgènes augmentaient les FSHR par un mécanisme extranucléaire indépendant de la transcription, suggérant des mécanismes non génomiques. Cela a déjà été suggéré par Kousteni *et al.* [43] pour expliquer l'effet antiapoptotique des androgènes qui se produit très rapidement et qui est dissocié des activités génomiques. Yang *et al.* [44] ont décrit, dans l'ovaire de souris néonatale, une activation de la folliculogénèse presque immédiatement après l'administration de testostérone. Cet effet est inversé par l'ajout de flutamide, un antagoniste des RA. La liaison de la testostérone à son récepteur était capable d'induire une phosphorylation et d'activer des voies de signalisation très rapides, ce qui n'est pas compatible avec un effet génomique.

Ainsi, de plus en plus d'arguments convergent vers une action promotrice des androgènes sur la transcription et la traduction du FSHR par le biais d'effets génomiques et non génomiques. Cette action améliore la croissance et le développement folliculaires induits par la FSH.

L'hormone antimüllérienne neutralise les effets de croissance induits par l'hormone folliculostimulante sur les cellules de la granulosa

Conscients de la nécessité d'un timing précis pour la folliculogénèse, et en particulier de la prévention de la différenciation prématurée des CG, on pourrait penser que tout facteur d'accélération tel que la FSH doit avoir ses

opposants. L'hormone antimüllérienne, sécrétée principalement par les CG de follicules préantraux et de petits follicules antraux, pourrait en faire partie. En effet, l'administration de FSH à des souris *AMH^{-/-}* induit un taux de croissance folliculaire précoce plus élevé que chez les souris sauvages [15]. Ces données suggèrent que les follicules en croissance sont plus sensibles à la FSH en l'absence d'AMH. L'AMH pourrait donc inhiber la sensibilité des follicules préantraux à la FSH et ainsi réguler négativement la croissance des follicules. Ces données expérimentales ont d'abord été confirmées chez les souris prépubères, chez qui il a été observé que la croissance folliculaire était plus importante chez les souris *AMH^{-/-}* que chez des animaux de type sauvage [15]. De plus, chez les souris *βFSH^{-/-}* ayant de faibles taux de FSH, un nombre significativement plus élevé de follicules en croissance a été observé lorsque le gène de l'AMH était également invalidé. Dans les cultures de CG humaines, Pellatt *et al.* [45] ont observé une diminution de l'expression du gène *FSHR* lorsque l'AMH était ajoutée au milieu de culture. Chez l'homme, certains polymorphismes des gènes de l'AMH et de son récepteur de type II réduisent partiellement l'interaction ligand-récepteur, conduisant à une meilleure sensibilité des follicules en croissance à la FSH, comme le suggère l'étude de Kevenaar *et al.* [46], qui a montré des taux sériques d'E2 significativement plus élevés chez les femmes présentant ces polymorphismes. Globalement, ces résultats plaident en faveur d'un effet d'équilibrage de l'AMH qui pourrait être considéré comme une nécessité physiologique contre l'épuisement précoce du pool folliculaire primordial et/ou contre la sélection prématurée par la FSH [41]. Inversement, dans les situations pathologiques entraînant une production excessive d'AMH, comme dans le cas du SOPK, cet effet protecteur pourrait être exagéré, ce qui ralentirait la croissance des follicules et entraînerait donc une accumulation de follicules à chaque stade de croissance (*stock piling effect*) [47, 48]. La question se pose alors si ce phénomène de protection présumé (c'est-à-dire l'expression de l'AMH) fait partie d'une boucle d'autorégulation qui impliquerait les androgènes, la FSH ou les deux. Cela soulève la question d'un éventuel effet des androgènes et/ou de la FSH sur l'expression de l'AMH.

Existe-t-il une relation directe entre les androgènes et l'hormone antimüllérienne ?

Certaines données suggèrent indirectement l'existence d'une telle relation mais, contrairement aux données concernant les hommes [49], les preuves directes font défaut chez les femmes. Le paradigme du SOPK a conduit certains auteurs à postuler que les androgènes pourraient augmenter l'expression de l'AMH dans les CG car les niveaux sériques des deux hormones sont étroitement et positivement associés [50]. Cependant, une comparaison

des phénotypes de SOPK indique que l'augmentation des taux sériques d'AMH est davantage liée au trouble de l'ovulation qu'à l'hyperandrogénie du syndrome [51]. Ceci sera discuté ci-dessous.

Les données provenant de petits follicules bovins cultivés *in vitro* ont montré un effet des androgènes sur l'expression de l'AMH, mais cet effet était négatif [52]. Cette constatation serait difficile à concilier avec l'hypothèse formulée précédemment, si cet effet négatif était physiologiquement pertinent chez les espèces femelles. Dans la situation pharmacologique du traitement par androgènes à fortes doses chez les transsexuels femmes à hommes, une forte baisse des taux sériques d'AMH a récemment été observée [53]. Ce modèle semble contredire un précédent rapport suggérant l'induction du SOPK dans une telle situation [54], bien que cette conclusion ait été contredite plus récemment [55]. En fait, dans cette étude, les sujets ont également reçu un agoniste de la GnRH qui annulait leur taux de FSH sérique. Si l'AMH ne peut pas augmenter et même diminuer en l'absence de FSH, malgré l'augmentation du nombre de follicules

induite par les androgènes, cela signifie-t-il que la FSH est impliquée dans l'expression de l'AMH ? Cela impliquerait en fait que les androgènes n'ont pas d'action directe et qu'ils régulent plutôt l'expression de l'AMH de façon indirecte, via l'amplification de la sensibilité des CG à la FSH (voir la légende de la *figure 1*). Cependant, bien que les androgènes dérivés de CT ne semblent pas impliqués, d'autres produits issus de CT peuvent contrôler l'expression de l'AMH par les CG. Ainsi, les CT synthétisent des protéines morphogénétiques osseuses (BMP) dont l'effet stimulant sur la production d'AMH a été démontré *in vitro* sur des CG humaines [56] et sur des ovins [57]. Cela mérite une attention particulière, car jusqu'à présent, aucun effet paracrine putatif, de CT à CG, via les BMP, n'a été spécifiquement démontré chez l'homme. Si tel était le cas, il resterait à étudier si les BMP d'origine thécale agissent directement sur le gène de l'AMH [57] ou indirectement en augmentant l'expression du FSHR, comme montré chez la poule [58]. L'effet putatif d'amplification de l'expression de l'AMH par la FSH est discuté ci-après.

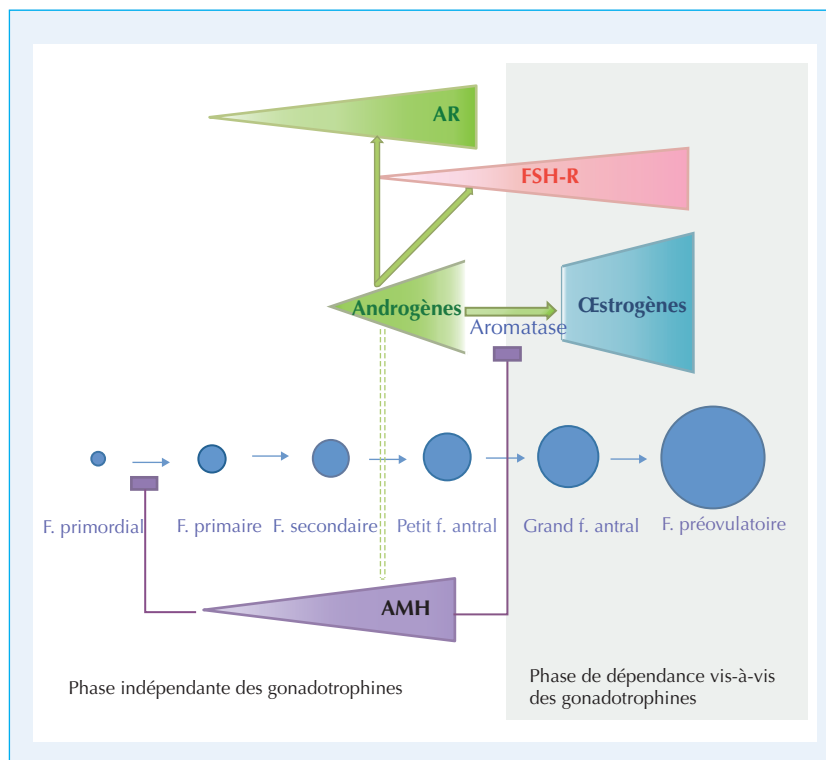


Figure 1. Modèle de travail pour l'action des androgènes dans les CG des follicules préantraux. Les follicules en croissance à partir du stade secondaire sécrètent des androgènes qui amplifient leurs effets en augmentant l'expression et l'activité de leurs propres récepteurs. Les androgènes induisent également l'expression des FSHR, soutenant la croissance et la maturation folliculaires induites par la FSH. Cependant, le follicule est protégé contre la sélection prématurée par la FSH par le biais d'un effet négatif de l'AMH, qui inhibe l'expression de l'aromatase induite par la FSH, empêchant ainsi la conversion des androgènes en œstrogènes. Lebbe et Woodruff [41] ont postulé que les androgènes stimulent directement la sécrétion d'AMH (flèche verte en pointillés) afin de maintenir un milieu intrafolliculaire essentiellement androgénique. Notre hypothèse est en accord avec cette interprétation, à ceci près que nous suggérons que les androgènes stimulent la sécrétion d'AMH non pas directement, mais par l'amplification de l'expression d'AMH stimulée par la FSH. (Reproduit de Lebbe et Woodruff [41], avec autorisation.).

L'hormone folliculostimulante stimule l'expression de l'hormone antimüllérienne dans les petits follicules en croissance

Nous suggérons que la FSH pourrait induire l'expression de l'AMH ; ce concept reste cependant controversé, avec de nombreux résultats contradictoires. Certains soutiennent un effet positif tandis que d'autres indiquent un effet négatif.

Les premières études *in vivo* sur la régulation de l'AMH par la FSH ont été réalisées à l'origine chez l'homme. Kuroda *et al.* [59] ont démontré, chez des rats mâles traités avec la FSH, que les taux d'AMH dans les testicules étaient considérablement réduits. Cette première étude venait donc étayer l'hypothèse d'un effet inhibiteur de la FSH sur l'expression de l'AMH. Certaines études *in vivo* chez la femme sont en accord avec cette idée. Chez le rat femelle, Baarends *et al.* [60] ont démontré qu'une administration combinée de FSH (à une dose quotidienne de 10 UI) pendant quatre jours et d'antagonistes de la GnRH entraînait une diminution de l'expression de l'AMH dans les follicules. Cependant, l'absence de quantification exclut toute mesure du degré de cette diminution. Chez les femmes, les taux sériques d'AMH diminuent de plus de 50 % pendant les traitements de stimulation ovarienne pour la FIV utilisant de la FSH et des agonistes ou des antagonistes exogènes de la GnRH [61, 62]. De même, au cours de la stimulation par la FSH à faible dose, la concentration sérique d'AMH diminue chez les femmes témoins [63] et celles atteintes de SOPK [64]. Une autre situation clinique suggérant un effet négatif de la FSH sur l'AMH est la transition pubertaire au cours de laquelle on observe une diminution mineure de l'AMH sérique contemporaine de l'augmentation des taux sériques de FSH et de l'hormone lutéinisante (LH) [65-67]. Cependant, ces résultats doivent être discutés. En effet, les études *in vivo* ne permettent pas de déterminer si la FSH altère directement ou indirectement la sécrétion et/ou l'expression de l'AMH. Par exemple, chez l'homme, la testostérone sécrétée par les cellules de Leydig dans le testicule a un puissant effet inhibiteur sur l'expression de l'AMH, ce qui peut masquer l'effet de la FSH sur l'AMH [52]. En effet, dans l'étude réalisée par Kuroda *et al.* [59] sur testicules entiers, il est possible que la testostérone intratesticulaire ait masqué l'action de la FSH. C'est pourquoi Al-Attar *et al.* [68] et Lukas-Crosier *et al.* [69] ont plutôt utilisé, respectivement, des rats prépubères et *knock-out* pour la β FSH, sans testostérone intratesticulaire. Ils ont conclu que la FSH stimulait l'AMH sérique et testiculaire en l'absence de testostérone. Ceci est corroboré par une étude chez des nouveau-nés atteints d'hypogonadisme hypogonadotrope [70], montrant une augmentation des taux sériques d'AMH sous administration recombinante de FSH, en l'absence de sécrétion d'androgènes par le testicule. Cependant, un tel biais ne peut pas être évoqué chez les femmes car la testostérone est sécrétée par des CT qui ne sont pas

directement régulées par la FSH. Inversement, l'E2 plutôt que la testostérone peut être un important facteur de confusion ; cela sera discuté ci-dessous. En outre, il est bien décrit que l'expression et la sécrétion d'AMH par les follicules sont maximales au cours des stades préantral et antral et qu'elles diminuent progressivement au cours des stades ultérieurs pour devenir presque indétectables dans les follicules préovulatoires et lutéinisés [31, 60, 71]. L'AMH sérique ne reflétant pas la production d'AMH par les petits follicules en croissance [72], les modifications du pool folliculaire au cours de la stimulation de la FSH pourraient réduire les taux sériques d'AMH sans entraîner d'effet négatif direct de la FSH. Par conséquent, les données *in vivo* obtenues lors de la stimulation par la FSH auraient pu être biaisées de plusieurs façons.

En effet, les résultats d'autres études *in vivo* sont en faveur d'un effet stimulant de la FSH sur l'AMH. Chez des souris mâles prépubères [68] et chez les souris *knock-out* déficientes pour le gène de la FSH [69], le traitement par la FSH stimule l'expression de l'AMH dans les testicules et sa sécrétion dans le sérum. Chez le primate femelle, l'administration *in vivo* d'antagonistes de la GnRH, qui entraîne une baisse des taux sériques de FSH et de LH, entraîne une diminution de la sécrétion d'AMH dans les follicules préantraux et les petits follicules antraux [73]. D'autres études confirment encore un effet positif de la FSH sur l'expression de l'AMH chez la femme. Plusieurs groupes ont en particulier montré une diminution des taux sériques d'AMH consécutive à l'inhibition de l'axe gonadotrope avec les agonistes de la GnRH [74, 75] ou des pilules œstroprogestatives [76, 77]. De même, pendant la grossesse, dans une situation où il n'y a pratiquement pas de FSH circulante, on observe également une diminution de l'AMH sérique [78]. Enfin, chez les patients présentant un hypogonadisme hypogonadotrope, le taux sérique d'AMH est faible, probablement en raison de l'absence de follicules en croissance dépendant de la FSH. Lorsqu'un traitement de stimulation par les gonadotrophines est instauré, le taux d'AMH augmente [79].

Mesurer la concentration d'AMH dans le milieu de culture, dans le cadre d'études *in vitro*, est théoriquement l'approche la plus convaincante. Dans les CG de vaches, Rico *et al.* [80] ont démontré, avec le test Immunotech, que la FSH à une concentration de 5 ou 50 ng/mL induit une diminution de la sécrétion d'AMH d'environ 50 % dans les CG en culture de follicules de 3 à 5 mm. Dans des CG humaines en culture, deux études ont conclu au même effet inhibiteur de la FSH sur la sécrétion d'AMH. La première, réalisée sur des follicules de 2 à 10 mm, a révélé cet effet négatif uniquement dans les CG de femmes atteintes de SOPK, alors qu'aucun effet n'a été observé chez les témoins [81]. La deuxième étude, menée sur des CG de follicules de 8 à 10 mm collectés uniquement chez des femmes atteintes de SOPK, a révélé un effet inhibiteur de la FSH sur la sécrétion d'AMH d'environ 50 % [82]. À

l'inverse, une troisième étude a signalé une régulation à la fois de l'expression et de la sécrétion d'AMH par les CG lutéinisées humaines exposées à la FSH [83]. Les données obtenues à partir des milieux de culture sont le plus souvent controversées, en partie du fait de problèmes techniques. Ainsi, une équipe [81] a ajouté de la testostérone au milieu de culture, ce qui aurait pu, à lui seul, avoir un effet inhibiteur sur l'AMH (voir ci-dessus). Par ailleurs, toutes les études ont été menées sur des CG murales lutéinisées, qui sont un modèle éloigné de la physiologie, en particulier en ce qui concerne l'expression de l'AMH. Par conséquent, les kits de dosage utilisés pour la mesure de l'AMH dans les milieux de culture pourraient ne pas avoir été suffisamment sensibles, et certains résultats auraient pu être faussés. La récente commercialisation d'essais ultrasensibles d'AMH devrait contribuer à abolir ce problème. Enfin et surtout, comme nous le verrons plus loin, certains facteurs de confusion dépendant de la FSH et intervenant dans ces CG en culture peuvent avoir annulé le véritable effet de la FSH sur l'AMH.

Une autre approche est la recherche de changements dans l'expression du gène de l'AMH, en mesurant l'ARNm intracellulaire par RT-PCR quantitative. Des expériences utilisant des CG lutéinisées humaines et des lignées de CG immortalisées ont montré que la FSH augmente l'expression de l'AMH, de 50 à 100 % selon les études [83-85]. À l'inverse, l'étude de Rico *et al.* [80], menée chez des vaches, rapporte que la FSH a inhibé d'environ 30 % l'expression du gène de l'AMH dans les CG de 5 à 10 mm de follicules, mais n'a eu aucun effet dans les follicules de 3 à 5 mm. Encore une fois, les modèles utilisés ici ne sont pas les plus appropriés pour élucider ce qui se passe réellement dans les petits follicules en croissance.

La méthode la plus appropriée pour traiter la question de la régulation de l'AMH par la FSH, à mi-chemin entre les études *in vivo* et *in vitro*, reste la culture d'ovaires ou de follicules entiers. Dans les cultures d'ovaires de saumon, un effet négatif modéré de la FSH sur l'expression de l'AMH [86] a été noté durant les premières 24 h de traitement, mais a disparu par la suite. Inversement, une augmentation de la sécrétion d'AMH a été observée dans le milieu de culture de follicules de singes ou de femmes en croissance, en réponse à l'administration de FSH humaine recombinante (15 ng/mL) ; cette hausse était plus marquée dans les follicules à croissance rapide que dans ceux à croissance lente ou nulle [87] (*figure 2*). L'effet stimulant de la FSH sur la sécrétion d'AMH était maximal après vingt jours de culture, et s'atténuait après vingt-huit jours de culture. Selon ces auteurs, cette augmentation serait indirecte et impliquerait des facteurs ovocytaires tels que les BMP [80]. En effet, les ovocytes possèdent des récepteurs de la FSH [88], celle-ci étant ainsi susceptible de stimuler la sécrétion de certaines BMP connues pour

améliorer l'expression et la sécrétion de l'AMH chez la femme [56, 57]. Cette influence de l'ovocyte ne peut pas être prise en compte dans la plupart des modèles *in vitro* qui sont basés sur la culture de CG murales [89]. Bien que les preuves manquent encore, il ne faut pas oublier que l'ovocyte peut également être impliqué dans la régulation de l'AMH par la FSH. À cet égard, les auteurs n'ont pas commenté leurs observations concernant l'évolution dans le temps des taux d'AMH et d'E2 dans le milieu de culture, ces valeurs évoluant dans des sens opposés, suggérant que le niveau d'AMH s'accroît dans un premier temps, puis, dès lors que celui d'E2 augmente à son tour, se stabilise et enfin décline (*figure 2*).

Ainsi, les données *in vivo* et *in vitro* sont toujours contradictoires : le modèle expérimental idéal n'existe pas. Cependant, outre les limitations et les inconvénients de chaque modèle, une raison majeure de ces divergences pourrait être la non-prise en compte, dans de nombreuses expériences, du rôle crucial d'un quatrième acteur entrant en jeu lors du développement du follicule antral (croissance folliculaire dépendante des gonadotrophines), à savoir l'E2.

Interactions entre hormone folliculostimulante, hormone antimüllérienne et œstradiol dans le développement du follicule antral (croissance « dépendante de la gonadotrophine »)

À ce stade folliculaire, les effets des androgènes sur les CG diminuent, de même que ceux de l'AMH, tandis que la FSH favorise les fonctions de différenciation des CG, telles que la capacité de synthèse d'E2. Par conséquent, le rôle des androgènes et leur interaction avec la FSH et l'AMH ne sont plus prééminents, tandis que ceux de l'E2 prennent de plus en plus d'importance jusqu'à la maturation finale du follicule.

L'expression de l'aromatase

L'E2 est synthétisé par les CG grâce à l'action de l'aromatase, l'enzyme qui convertit les androgènes (issus des CT) en œstrogènes. L'aromatase est déjà exprimée par les CG de fœtus dans de petits follicules en croissance [90, 91] mais, jusqu'à la naissance, cette expression reste relativement faible. Au cours de la période néonatale immédiate, elle augmente progressivement dans les follicules préantraux et les petits follicules antraux. La synthèse d'aromatase diminue ensuite progressivement dans les petits follicules en croissance et dans les follicules préantraux et n'est plus observée que dans les grands follicules antraux durant l'enfance [91, 92]. Cette expression accrue pendant la période postnatale dépend des

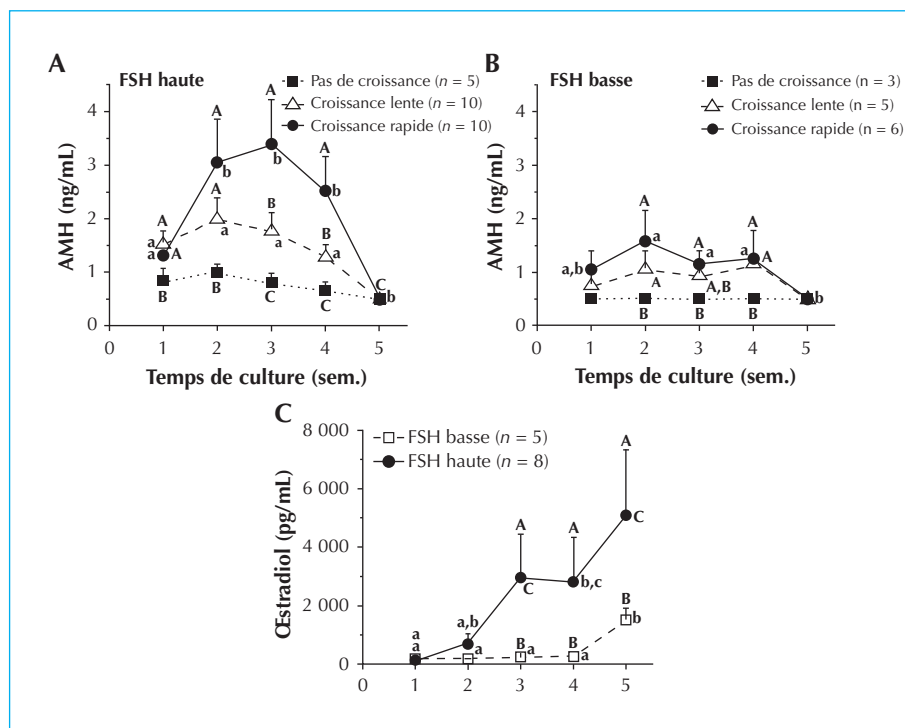


Figure 2. Réponses de l'AMH et de l'œstradiol à la FSH dans les follicules en croissance. **A, B)** Concentrations en AMH provenant de follicules non croissants, à croissance lente et à croissance rapide au cours de la culture dans un milieu contenant des taux de FSH élevés (**A**) ou faibles (**B**) (respectivement 15 ou 0,3 ng/mL de FSH humaine recombinante) à 5 % d'O₂ sans supplémentation en LH au jour 30. **C)** Courbe dose-réponse de la FSH sur la production de E2 par des follicules à croissance rapide *in vitro* dans un milieu contenant une FSH à dose faible ou élevée à 5 % d'O₂ sans supplémentation en LH au jour 30. Les différences significatives dans le temps (minuscules) ou entre les groupes de dosage de la FSH (majuscules) sont indiqués par des lettres différentes ($p < 0,05$). Les données sont présentées sous forme de moyenne + SEM. n : nombre de follicules. Dans les follicules à croissance rapide, noter la synchronisation des courbes pour AMH et E2 en présence de FSH élevée ou faible. Cela suggère que, chronologiquement, dans les follicules en croissance, la FSH stimule d'abord la production d'AMH, puis, dans les follicules plus matures, celle d'E2 qui désactive la synthèse d'AMH. (Reproduit de Xu *et al.* [87], avec permission.).

gonadotrophines, et en particulier de la FSH [93]. Cependant, l'amplification de l'expression de l'aromatase n'entraîne pas, à ce stade, une augmentation significative des taux plasmatiques d'E2, en l'absence d'une stéroïdogenèse optimale (c'est-à-dire, selon le modèle à deux cellules, que le reste de l'équipement enzymatique est encore insuffisant dans les CT et les CG). La stéroïdogenèse ne peut survenir de manière optimale que dans la période postpubère. À partir de ce moment, l'expression de l'aromatase augmente dans les grands follicules antraux et préovulatoires [91, 92, 94].

L'hormone folliculostimulante stimule l'expression de l'aromatase

L'expression du gène de l'aromatase (*CYP19*) est considérablement stimulée par la FSH. La liaison de la FSH à son récepteur induit la phosphorylation du facteur de transcription CREB, secondaire à une augmentation de l'AMP cyclique et donc à l'activation de la protéine kinase A. Le facteur phosphorylé CREB (pour *cyclic AMP*

response element-binding protein) (facteur transactivateur) se lie aux séquences d'activation *cis* de CRE en amont du gène *CYP19* et stimulera ainsi sa transcription [91,95,96].

L'hormone antimüllérienne inhibe l'activité aromatasé induite par l'hormone folliculostimulante

Chez la femme, une corrélation négative entre les taux d'AMH et d'E2 a été observée dans le liquide de petits follicules antraux, suggérant une interdépendance étroite entre l'expression de l'AMH et l'activité de la FSH à l'intérieur de chaque follicule [75, 102]. Grossman *et al.* [97] ont montré un effet inhibiteur de l'AMH sur l'activité catalytique de l'aromatase dans des CG humaines cultivées partiellement lutéinisées provenant du liquide folliculaire de patientes normo-ovulatoires bénéficiant d'une FIV ; ceci s'explique par un effet répressif sur l'expression du gène *CYP19* [97]. Nielsen *et al.* [40] ont confirmé l'existence d'une corrélation négative significative entre les taux d'AMH

et l'expression du gène *CYP19* dans le liquide de petits follicules antraux d'ovaires humains prélevés pour préserver la fertilité. Il semble que l'AMH réprime l'effet de la FSH en inhibant l'activité catalytique de l'adénylate cyclase [98]. L'administration d'AMH dans les milieux de culture de CG induit une diminution significative de la production d'AMP cyclique, ce qui pourrait réduire de manière secondaire la transcription du gène *CYP19* [98]. Pellat *et al.* [45] ont également confirmé, dans des cultures CG humaines, que l'AMH inhibe l'activité catalytique de l'aromatase dépendante de la FSH par la répression du gène *CYP19*. Des études plus récentes confirment ces données et suggèrent que l'AMH n'affecte pas l'expression basale de l'aromatase mais atténue spécifiquement l'effet stimulant de la FSH [99, 100].

L'œstradiol réprime l'expression de l'hormone antimüllérienne

Les données *in vivo* vont dans le sens d'une répression par E2 de l'expression de l'AMH. Tout d'abord, au cours de la transition pubertaire, la réascension des gonadotrophines est associée à des niveaux croissants d'E2 [65-67], ce qui pourrait expliquer la légère diminution de l'AMH sérique à cette époque, plutôt qu'un effet inhibiteur direct de la FSH (voir ci-dessus). Deuxièmement, toutes les études menées chez des femmes au cours de la stimulation ovarienne pour FIV font état d'une diminution significative des taux plasmatiques d'AMH, avec un nadir le jour du déclenchement par l'hormone chorionique gonadotrope (hCG) [61-64, 101]. Chacune de ces études a révélé une corrélation négative entre les concentrations sériques d'AMH et d'E2 le jour de l'hCG. L'une d'entre elles a même montré une corrélation négative entre l'augmentation relative de l'E2 et la diminution relative de l'AMH sérique, du début de la stimulation jusqu'au jour de l'hCG [101].

Les données *in vitro* concordent avec la répression de l'AMH par l'E2. L'E2 a un élément de réponse dans le promoteur du gène de l'AMH. Plus spécifiquement, selon les travaux de Grynberg *et al.* [85], l'E2 aurait un effet stimulant sur l'AMH via le récepteur α des œstrogènes (ER α) et un effet inhibiteur sur l'AMH via l'ER β . L'ER β est le principal récepteur des follicules en croissance dans les GC, tandis que l'ER α devient alors prédominant dans le corps jaune. L'effet de l'E2 sur l'AMH au cours de la dernière phase de croissance folliculaire serait donc principalement inhibiteur et permettrait de surmonter les effets stimulants de la FSH sur l'AMH, qui prévaut dans les plus petits follicules exprimant peu ou pas d'E2. Par conséquent, il semble que la sécrétion d'E2 dépendante de la FSH soit le principal facteur de confusion de l'effet de la FSH sur l'AMH, la rendant soit directement positive, soit indirectement négative en fonction de l'absence ou de la présence, respectivement, de E2 dans le modèle utilisé.

Le shift des follicules de l'androgénodépendance à l'œstrogénodépendance

Les relations entre les androgènes, l'AMH, la FSH et l'E2 varient en fonction du cycle et du stade de développement folliculaire.

Jusqu'au stade préantral, en l'absence d'E2, l'expression de l'AMH est maximale, sous l'influence des androgènes agissant par augmentation de l'action de la FSH au sein des CG et via des facteurs de croissance tels que les BMP, sécrétées par les CT, les CG et l'ovocyte. Au fur et à mesure de la croissance folliculaire, les effets des androgènes diminuent et la production d'E2 augmente dans les follicules, jusqu'à atteindre le seuil auquel la production d'AMH sera supprimée (*figure 2*). Par conséquent, l'E2 prend le contrôle de la transformation du follicule, notamment l'augmentation de l'expression du FSHR et l'acquisition des récepteurs de la LH (LHR), permettant ainsi aux follicules de subir leur processus de recrutement cyclique et de faire partie de la cohorte de follicules sélectionnables.

Évidemment, tous les follicules ne suivent pas ce scénario et l'AMH pourrait être l'un des facteurs qui modulent le passage du tonus androgénique au tonus œstrogénique, limitant le nombre de follicules qui suivront le processus de recrutement cyclique. En effet, dans les ovaires de rat, il semble exister une expression différentielle du gène de l'AMH au sein des grands follicules préantraux et des petits follicules antraux non atrétiques [60]. Bien que ces follicules soient difficiles à distinguer morphologiquement, certains expriment fortement le gène de l'AMH alors que l'expression est plus faible chez d'autres. Les follicules qui expriment le moins l'AMH sont les plus sensibles à la FSH et sont donc plus susceptibles d'être sélectionnés lors du processus de recrutement cyclique. À l'inverse, ceux qui expriment le plus d'AMH sont plus résistants à la FSH, ce qui faciliterait leur entrée en atresie [30, 33]. Par conséquent, la forte diminution de l'expression de l'AMH dans les follicules antraux plus grands (diamètre moyen de 6 à 8 mm) pourrait être considérée comme une condition préalable physiologique ne permettant qu'à un nombre limité de follicules d'être recrutés par la FSH lors de son pic intercyclique [20, 103, 104]. Le fait que l'AMH joue un tel rôle de « gardien » est corroboré par notre observation selon laquelle l'apparition d'un follicule dominant est précédée par la baisse du taux sérique d'AMH chez les femmes anovulatoires atteintes du SOPK dans le cadre d'un protocole d'augmentation à faible dose utilisant la FSH recombinante [64].

La sensibilité à la LH pourrait être un autre facteur conditionnant le processus de recrutement cyclique et l'établissement de la dominance [105]. Cependant,

l'acquisition de LHR par les CG intervient tardivement. Dans une étude [106], l'expression de la LHR dans les follicules antraux (diamètre de 3 à 10 mm) était d'environ 10 % du maximum observé dans les follicules préovulatoires. Fait intéressant, toutefois, l'expression du LHR dans les petits follicules semble être associée négativement aux taux d'AMH dans le liquide folliculaire [106, 107]. Cela va dans le sens de l'hypothèse selon laquelle l'AMH joue un rôle primordial dans le contrôle négatif du processus de recrutement cyclique et de l'établissement de la dominance.

L'hypothèse des deux triangles

De nouveaux schémas, offrant une vue « panoramique » sur l'ensemble de la folliculogénèse, sont nécessaires. La théorie des « deux cellules, deux gonadotrophines » est toujours pertinente, mais elle ne concerne que les gros follicules antraux. Par conséquent, pour illustrer et résumer ce qui se passe avant et pendant la folliculogénèse, nous proposons un schéma composé de deux triangles qui se suivent de manière chronologique (*figure 3*). Ce paradigme des deux triangles conduit à considérer quatre sommets (androgènes, E2, FSH et AMH, les deux derniers étant communs aux deux triangles) et six côtés. Outre d'autres applications cliniques, telles que la faible réponse à la stimulation ovarienne pour la FIV, cette hypothèse de travail, si elle n'est certainement pas exhaustive, peut aider à comprendre certains aspects de la physiopathologie du SOPK.

Le paradigme du syndrome des ovaires polykystiques

Le SOPK est la cause la plus courante d'anovulation, d'infertilité et d'hyperandrogénie chez les femmes. En effet, 5 à 10 % des femmes en âge de procréer sont touchées [108]. L'hyperandrogénie et l'oligoanovulation sont les principales caractéristiques du SOPK. Malgré des efforts considérables pour en déterminer la cause, la physiopathologie du SOPK reste mal comprise ; les données s'accumulent néanmoins, qui suggèrent que les anomalies centrales du SOPK sont principalement ovariennes. Plus précisément, l'hyperandrogénie apparaît de plus en plus comme étant au « cœur » du SOPK ; le premier effet en serait une folliculogénèse perturbée [109]. Pour des raisons supposées génétiques et/ou épigénétiques [110], les CT sont intrinsèquement trop actives, créant ainsi un excès androgénique intraovarien. Connaissant l'importance des androgènes sur la croissance du petit follicule, comme décrit ci-dessus (sommets 1 du triangle 1), l'hyperandrogénisme intraovarien est désigné comme le principal responsable de l'excès folliculaire qui caractérise la maladie [111, 112]. Cet excès de follicules

joue lui-même un rôle important dans l'oligoanovulation, par le biais de mécanismes mal compris mais qui semblent indépendants de toute influence hormonale systémique [51, 113]. En effet, la corrélation négative entre le nombre de petits (2-5 mm) et de grands follicules antraux (6-9 mm), dans le SOPK et dans les ovaires normaux [113], suggère une action inhibitrice de ces derniers sur les premiers, par le biais d'interactions follicule à follicule qui n'ont pas encore été élucidées, mais qui seraient exacerbées dans le SOPK. Le fait est que plus les follicules sont petits, plus leur croissance est freinée et plus le risque d'ovulation est faible. Il est intéressant de noter que l'AMH sérique dans le SOPK est étroitement liée au nombre de follicules de 2 à 5 mm détectés par échographie, mais pas à celui des follicules de 6 à 9 mm [50]. Ceci est attendu, puisque cette classe de follicules est précisément celle dans laquelle l'expression de l'AMH par les CG est maximale [31]. Nous avons donc émis l'hypothèse que l'arrêt folliculaire pourrait résulter d'un tonus excessif de l'AMH dans le microenvironnement des follicules sélectionnables [111], mais aucune donnée n'a jusqu'à présent étayé cette affirmation.

La folliculogénèse désordonnée du SOPK n'est pas seulement une question de nombre de follicules. Outre cet excès, nous émettons l'hypothèse qu'il existerait également une dysrégulation intrinsèque des CG, impliquant les androgènes, la FSH, l'AMH et l'E2. Ainsi, le SOPK est certainement le meilleur paradigme pathologique pour la théorie des deux triangles.

Dans le syndrome des ovaires polykystiques, le triangle 1 est hypertrophié

Selon cette théorie, en raison de l'excès local d'androgènes, tous les sommets et les côtés du triangle 1 (*figure 3*) sont, dans le SOPK, amplifiés par rapport aux ovaires normaux. En effet, puisque les androgènes des CT régulent positivement l'expression de leurs propres récepteurs en CG, il existe dans les ovaires polykystiques une activité excessive des androgènes dans ces cellules (vertex 1), suggérée par l'augmentation de leur teneur en RA [10]. En conséquence, selon la face 1 du triangle 1, l'expression, le nombre et l'activité des FSHR sont augmentés dans ces cellules (vertex 2), comme cela a été documenté il y a de nombreuses années dans des CG lutéinisées en culture à partir d'ovaires polykystiques [114] et plus récemment confirmé par deux études utilisant la PCR dans des CG lutéinisées provenant de follicules de femmes atteintes du SOPK bénéficiant d'une FIV [10, 115].

On peut se demander si l'excès d'androgènes est le seul responsable de cette amplification de la FSH dans le SOPK. La génétique du FSHR dans le SOPK fait l'objet d'une littérature abondante. Cependant, aucune mutation n'a été identifiée ; seuls des polymorphismes ont été rapportés.

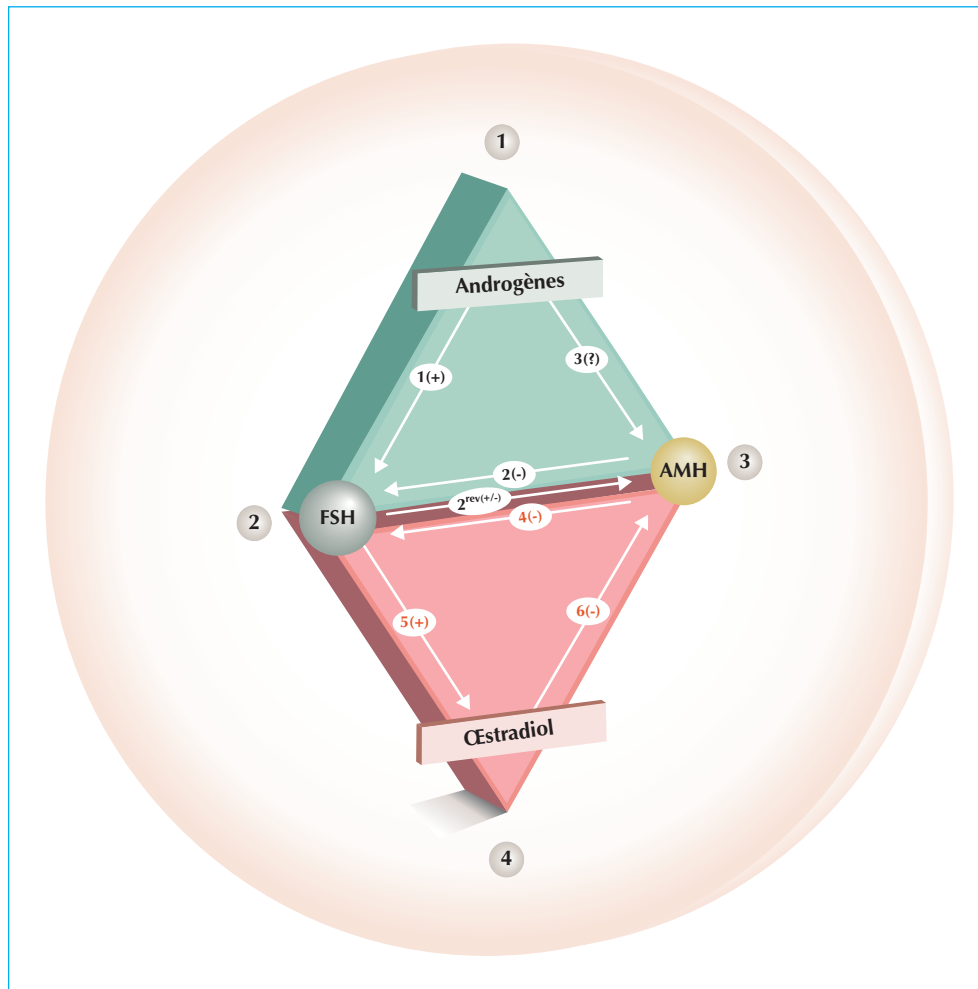


Figure 3. Relations entre androgènes, FSH et AMH au cours de la phase de croissance folliculaire indépendante de la gonadotropine (triangle vert) et entre FSH, AMH et œstradiol au cours de la phase de croissance folliculaire dépendante de la gonadotropine (triangle rouge 2). « + », « - » ou « ? » indiquent un effet positif, négatif ou incertain de l'un des facteurs sur l'autre. Au cours de la phase de croissance folliculaire indépendante des gonadotrophines, l'effet inhibiteur de l'AMH influence principalement l'effet promoteur de la FSH sur la croissance folliculaire (flèche 2). Selon notre théorie, la FSH, dont les récepteurs sont augmentés par les androgènes (flèche 1), stimulerait la production d'AMH au cours de cette phase (flèche 2 rev), en l'absence d'œstradiol. Un effet direct des androgènes sur la production d'AMH (flèche 3) est peu probable (voir le texte pour plus de détails). Au cours de la phase de croissance folliculaire liée aux gonadotrophines, l'AMH est également impliquée dans une relation triangulaire avec la FSH et l'œstradiol. Pendant cette phase, l'effet inhibiteur de l'AMH influence principalement les fonctions de différenciation cellulaire induites par la FSH (flèche 4), en particulier l'induction de l'aromatase (flèche 5). Cet effet inhibiteur s'atténue progressivement, ce qui permettra l'induction de l'aromatase par la FSH, permettant la synthèse d'œstradiol, qui accélérera l'extinction de la sécrétion d'AMH dans les grands follicules antraux (flèche 6) (voir le texte pour plus de détails).

L'idée d'une association de la variante allélique [FSHR (Ser680)] à un risque accru de SOPK est très controversée, mais des études récentes la contredisent [116, 117]. Récemment, une autre variante (rs2268361-T), située dans un intron de FSHR, a été associée à un risque de SOPK [118]. Cette variante était également associée à des taux sériques de FSH inférieurs et pouvait donc influencer sur la réactivité des récepteurs de la FSH. Cependant, il est peu probable que cette variante puisse induire un SOPK. Inversement, il pourrait moduler l'effet de l'hyperandrogénie sur la sensibilité de la CG à la FSH et contribuer ainsi

à la variabilité phénotypique du SOPK. Jusqu'à présent, aucune mutation génétique ni aucun polymorphisme du gène *FSHR* ne semble impliqué dans le lien entre FSH et AMH chez les femmes atteintes du SOPK.

Plusieurs études *in vivo* et *in vitro* ont montré une augmentation de la production d'AMH dans les CG de SOPK (sommet 3). En effet, les concentrations d'AMH dans le liquide folliculaire étaient beaucoup plus élevées dans de petits follicules dérivés d'un ovaire polykystique cultivé que dans ceux d'un ovaire normal, et trois fois plus élevées chez les femmes oligoanovulantes atteintes du SOPK que

chez celles ovulant [119]. Pellatt *et al.* [81] ont signalé une production d'AMH dans les milieux de culture de CG de femmes anovulatoires atteintes de SOPK quatre fois plus élevée que celle obtenue pour des CG de femmes ovulantes. Enfin, dans des follicules de taille équivalente, les CG ont démontré une expression deux fois plus élevée du gène de l'AMH au moment de la collecte des ovocytes pour la FIV chez les patients atteints de SOPK que chez les témoins [120]. Par conséquent, et contrairement à ce que nous avons initialement proposé [50], l'augmentation de l'AMH sérique du SOPK [50, 121-123] ne reflète pas seulement le nombre excessif de follicules, mais indique également une production excessive d'AMH par chaque follicule.

La ou les raisons de cette production excessive d'AMH dans le SOPK ne sont pas élucidées. Aucune anomalie dans le gène de l'AMH entraînant une surexpression de la protéine n'a été rapportée [124]. La corrélation positive entre les concentrations sériques d'AMH et de testostérone ou d'androstènedione, rapportée par plusieurs auteurs chez des patientes atteintes de SOPK [50, 125, 126], suggérait initialement un effet de stimulation directe des androgènes sur l'expression d'AMH (côté 3). Cependant, comme discuté ci-dessus, aucune donnée expérimentale ne supporte cette hypothèse. Si cela était vrai, la diminution du taux sérique d'AMH sous acétate de cyprotérone (CPA), un puissant antiandrogène doté d'une forte activité antigonadotrope progestative, serait plus importante que sous d'autres médicaments antigonadotropes, tels que les pilules contraceptives orales. D'après notre expérience [127], ce n'est pas le cas, ce qui suggère que, chez les patients sous CPA, le faible taux de FSH dû à l'activité antigonadotrope du médicament exclut tout effet antiandrogène sur la sécrétion d'AMH. En effet, selon la flèche inversée du côté 2 du triangle 1 et en l'absence de E2, c'est l'hyperactivité de la FSH sur les CG qui pourrait être directement responsable de l'expression excessive d'AMH dans les petits follicules de patients atteints de SOPK.

Enfin, la surproduction d'AMH par chaque follicule semble varier selon le phénotype SOPK tel que défini par la classification de Rotterdam. Des taux plus élevés d'AMH ont été observés chez les femmes SOPK hyperandrogéniques que chez les normoandrogéniques [125, 128, 129]. À l'inverse, dans une autre étude, les taux sériques d'AMH étaient plus élevés chez les femmes atteintes de SOPK anovulatoire, avec ou sans hyperandrogénie, que chez les femmes atteintes de SOPK ovulatoire, présentant par définition une hyperandrogénie [51]. En analyse multivariée, la dérégulation de la production d'AMH par les CG dans le SOPK, reflétée par l'augmentation du rapport AMH/nombre de follicules antraux (AFC), était significativement associée à l'anovulation mais pas à l'hyperandrogénie. Cette question est complexe car l'analyse en composantes principales a

montré que les marqueurs de l'hyperandrogénie et de l'oligoanovulation sont intimement liés [126]. Cependant, lorsque l'hyperandrogénie et l'anovulation sont tous deux confrontés à un excès sérique d'AMH, l'association est significative avec le dernier, alors que le premier serait simplement un facteur de confusion [51].

Par conséquent, l'excès d'AMH semble être particulièrement significatif chez les patientes atteintes de SOPK oligoanovulatoire, et pourrait être l'un des principaux facteurs perturbant le triangle 2 (*figure 3*).

Dans le syndrome des ovaires polykystiques anovulatoire, le triangle 2 dysfonctionne

Dans le SOPK, l'expression de l'aromatase et donc la synthèse de E2 (*figure 3* : sommet 4) dans les grands follicules antraux (c'est-à-dire > 2 mm) sont altérées [130]. Cette anomalie n'est pas la conséquence d'un défaut génétique [131], mais indique une bioactivité plutôt insuffisante stimulant l'aromatase pour augmenter l'expression de l'ARNm du *CYP19* [130]. Cela pourrait résulter d'une inhibition anormalement persistante des effets de la FSH par l'AMH (face 5), en raison de son accumulation dans les CG lors des stades folliculaires précédents (triangle 1). En outre, la régulation négative du récepteur de l'AMH de type II (AMHRII) induite physiologiquement par la LH dans les CG des gros follicules antraux semble ne pas se produire normalement dans le SOPK [83].

Dans le SOPK, la FSH, bien que présente dans des concentrations sériques faibles à normales, ne pourrait pas induire une diminution suffisante de la sécrétion/action de l'AMH pour permettre l'expression de l'aromatase (côté 4) [109, 111]. Cette hypothèse est renforcée par notre étude déjà citée [64], qui montre que la modeste augmentation des taux sériques de FSH par l'administration de FSH recombinante est inversement corrélée à la diminution des taux sériques d'AMH qui précède l'émergence d'un follicule dominant. Cela ne se produit pas spontanément, probablement à cause de l'absence de pic intercyclique de FSH, et du fait également que les CG doivent être exposées à la FSH pendant une période suffisamment longue pour éliminer l'excès d'AMH. De plus, une corrélation négative entre les taux sériques de FSH et d'AMH a été rapportée chez les femmes atteintes de SOPK, qui reste inexplicite à ce jour [50, 64]. Une fois que les CG ont reçu suffisamment de FSH, et pendant un temps suffisant, le déséquilibre entre les effets de la FSH et de l'AMH sur le contrôle de l'expression de l'aromatase est corrigé, ce qui entraîne une augmentation du contenu en E2 dans ces cellules. Ensuite, selon la face 6 du triangle 2, l'E2 réprime l'expression de l'AMH et permet ainsi la pleine expression de l'aromatase. Cette théorie est étayée par les découvertes *in vitro* de Xu *et al.* [87], comme indiqué ci-dessus (*figure 2*), qui corroborent nos données *in vivo* sur la FSH recombinante, indiquant que les taux sériques d'E2

commencent à augmenter lorsque le taux sérique d'AMH est passé sous un certain seuil [64]. Si ce seuil, certes, est variable d'une patiente à l'autre, le groupe des femmes aménorrhéiques et oligoménorrhéiques atteintes de SOPK présentent des plages de taux sériques d'AMH supérieures à celles des patientes atteintes de SOPK euménorrhéiques [132]. L'une des conséquences pratiques de cette théorie du seuil est l'utilisation d'un dosage de l'AMH sérique pour calculer la dose de FSH lors de l'induction de l'ovulation monofolliculaire. Dans un échantillon de patientes atteintes d'un SOPK résistant au clomiphène, le taux sérique d'AMH était la seule variable indépendante pour laquelle l'effet sur la dose requise de FSH pour atteindre le développement monofolliculaire était statistiquement significatif [133].

Ce scénario peut également expliquer le risque accru de syndrome d'hyperstimulation ovarienne (SHO) sous traitement par la gonadotrophine chez les patientes atteintes de SOPK [134]. Lorsque les CG sont exposés à de grandes quantités de FSH, leur richesse en FSHR les amène à réagir de manière excessive en termes de production d'E2 et de perte de l'effet protecteur de l'AMH. Ceci illustre la difficulté de manipuler le triangle 2 au niveau du sommet 2 (FSH) chez les patients atteints de SOPK. À l'avenir, il sera peut-être possible d'agir plutôt sur le sommet 3 (AMH), par exemple en utilisant des molécules ayant une activité antagoniste au niveau de l'AMHR II [135]. Cela réduirait vraisemblablement le risque de SHO en maintenant les taux de FSH sériques physiologiques et régulés de manière endogène.

Qu'en est-il de l'hormone lutéinisante ?

On peut s'étonner que la LH soit absente du schéma théorique que nous proposons, alors qu'elle est considérée depuis longtemps comme un acteur central de la physiopathologie du SOPK. En effet, la présence de LH est absolument nécessaire pour que s'exprime de la dysrégulation intrinsèque des CT avec son hyperandrogénie ovarienne ultérieure. Par conséquent, la LH est implicitement impliquée dans le sommet 1 du triangle 1, à la fois chez les femmes normales et chez celles atteintes de SOPK, par son effet stimulant sur la synthèse des androgènes par les CT, qui est amplifiée dans le SOPK. Notre théorie des deux triangles se limitant aux CG et aux follicules en croissance jusqu'au stade de petits follicules antraux, avec une expression physiologiquement nulle ou faible des LHR [106], aucun autre rôle de la LH n'est abordé. Cependant, des études antérieures avaient suggéré que l'expression des LHR était prématurée dans les CG des SOPK, une anomalie qui pourrait être responsable de l'arrêt folliculaire des femmes anovulatoires atteintes du SOPK [136, 137]. Cette hypothèse a été peu soutenue depuis qu'elle a été proposée et elle est difficile à concilier avec la relation inverse observée entre l'AMH dans le

liquide folliculaire et l'expression du LHR dans les CG [106, 107]. Enfin, une étude génétique récente chez des femmes soupçonnées d'être atteintes du SOPK a montré une association entre l'oligoanovulation et un polymorphisme du gène de la LHR (*rs13405728*), dont la signification fonctionnelle dans les CT et/ou les CG est actuellement inconnue [138]. La LH mérite donc sans doute de conserver toute notre attention dans l'évaluation de l'anovulation liée au SOPK.

De plus, il existe une association positive entre LH et AMH. En effet, une analyse multivariée réalisée chez des femmes atteintes du SOPK a montré que la relation positive entre les taux sériques des deux hormones était indépendante des taux sériques d'androgènes et de FSH [64]. Une analyse en composantes principales a quant à elle mis en évidence une corrélation positive et indépendante entre les deux hormones, avec la même composante principale chez les femmes atteintes du SOPK, mais pas chez les témoins [126]. Ce résultat pourrait refléter un effet stimulant de la LH sur la sécrétion d'AMH, comme le montrent les CG lutéinisées en culture [81, 84], et ne passant donc pas par la stimulation des androgènes au niveau des CT. Alternativement, certaines données expérimentales ont récemment soulevé la question enthousiasmante d'un éventuel effet stimulant de l'AMH sur l'activité et/ou la sécrétion des neurones à GnRH au niveau médian de l'éminence [139]. Cette idée conduit à l'hypothèse, révolutionnaire, selon laquelle l'AMH ovarienne et le contrôle hypothalamique de la sécrétion de LH pourraient être impliqués dans un cercle vicieux dans le SOPK, l'AMH ayant une action endocrinienne (rétroaction positive) en plus de ses effets ovariens autocrines décrits dans cette revue.

Perspectives

Ce modèle du double triangle est nécessairement restrictif et ne peut prétendre répondre à toutes les questions concernant la régulation de la croissance folliculaire chez la femme. De nombreux aspects restent insuffisamment explorés, voire pas du tout, et feront, espérons-le, l'objet d'études futures qui viendront compléter, voire remettre en question notre modèle.

– Tout d'abord, l'interaction entre les ovocytes et les CG du cumulus, en particulier les relations entre la FSH, l'AMH et les facteurs de croissance de l'ovocyte tels que BMP-15 (pour *bone morphogenetic protein 15*) ou GDF-9 (pour *growth differentiation factor 9*) [80, 140] doit être étudiée.

– Deuxièmement, le rôle de l'AMH parmi les autres facteurs régulant la croissance folliculaire à tous les stades reste à préciser. Que la mutation ou le polymorphisme des gènes de l'AMH ou de l'AMHR II confère un risque d'insuffisance ovarienne chez l'homme est controversé

[141, 142]. Curieusement, le phénotype de femmes qui en sont atteintes, et dont les frères sont atteints du syndrome persistant du canal de Muller, dû à des mutations du gène de l'AMH ou de celui de l'AMHRII, a été très peu décrit et semble être normal [143, 144].

– Troisièmement, le rôle de la LH, comme mentionné ci-dessus, doit être redéfini, sur la base des progrès récents en génétique.

– Quatrièmement, la chronologie de la dérégulation de l'AMH dans le SOPK n'est pas connue. Existe-t-elle déjà dans l'ovaire fœtal ? Peut-elle s'intégrer aux modèles physiopathologiques soutenant l'ontogenèse du SOPK pendant la vie fœtale [145] ? À l'appui de cela, une augmentation des taux sériques d'AMH a été rapportée chez les jeunes filles et les filles prépubères exposées au risque de SOPK [146].

– Cinquièmement, si un jour elles sont disponibles, les molécules dotées d'une action antagoniste sur AMHRII présenteront-elles un intérêt pour le traitement du SOPK ? La réponse est probablement positive, pour une utilisation à court terme, afin de faciliter l'ovulation, mais l'utilisation à long terme en tant que thérapie de fond semble plus problématique car, selon notre modèle, elle supprimerait le rôle régulateur de l'AMH sur les effets de la FSH et pourrait induire une folliculogénèse accélérée avec finalement un épuisement folliculaire précoce.

– Enfin, ce modèle peut être appliqué à des situations autres que le SOPK, en particulier la situation inverse, à savoir l'épuisement folliculaire, responsable d'une faible réponse lors de la stimulation ovarienne pour la FIV. Notre modèle correspond en particulier à la logique d'administration d'androgènes, mais les résultats de cette mesure thérapeutique sur les résultats de la FIV doivent encore être confirmés par des études bien conçues [147].

Conclusion

Notre modèle du double triangle met en évidence les rôles essentiels de la FSH et de l'AMH dans la régulation de la croissance folliculaire, bien que de nombreux autres facteurs soient impliqués. Ce modèle suggère l'hypothèse que la sécrétion d'AMH serait dépendante de la FSH tant que les CG ne synthétisent pas l'E2. Cependant, cette hypothèse reste à valider par d'autres études.

Enfin, ce modèle est applicable à la fois à la croissance folliculaire normale et à la croissance folliculaire excessive observée dans le SOPK. Les anomalies de la folliculogénèse dans le SOPK ne seraient donc pas le résultat d'une « aberration », mais simplement l'exagération d'un processus physiologique.

Liens d'intérêt : Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt en rapport avec cet article.

Références

1. Hsueh AJ, Kawamura K, Cheng Y, Fauser BC. Intraovarian control of early folliculogenesis. *Endocr Rev* 2015 ; 36 : 1-24.
2. Hsueh AJ, Billig H, Tsafiriri A. Ovarian follicle atresia: a hormonally controlled apoptotic process. *Endocr Rev* 1994 ; 15 : 707-24.
3. Billig H, Furuta I, Hsueh AJ. Estrogens inhibit and androgens enhance ovarian granulosa cell apoptosis. *Endocrinology* 1993 ; 133 : 2204-12.
4. Vendola KA, Zhou J, Adesanya OO, Weil SJ, Bondy CA. Androgens stimulate early stages of follicular growth in the primate ovary. *J Clin Invest* 1998 ; 101 : 2622-9.
5. Hu YC, Wang PH, Yeh S, et al. Subfertility and defective folliculogenesis in female mice lacking androgen receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004 ; 101 : 11209-14.
6. Shiina H, Matsumoto T, Sato T, et al. Premature ovarian failure in androgen receptor-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006 ; 103 : 224-9.
7. Tetsuka M, Whitelaw PF, Bremner WJ, Millar MR, Smyth CD, Hillier SG. Developmental regulation of androgen receptor in rat ovary. *J Endocrinol* 1995 ; 145 : 535-43.
8. Lenie S, Smitz J. Functional AR signaling is evident in an *in vitro* mouse follicle culture bioassay that encompasses most stages of folliculogenesis. *Biol Reprod* 2009 ; 80 : 685-95.
9. Hillier SG, Tetsuka M, Fraser HM. Location and developmental regulation of androgen receptor in primate ovary. *Hum Reprod* 1997 ; 12 : 107-11.
10. Catteau-Jonard S, Jamin SP, Leclerc A, Gonzales J, Dewailly D, di Clemente N. Anti-Mullerian hormone, its receptor, FSH receptor, and androgen receptor genes are overexpressed by granulosa cells from stimulated follicles in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2008 ; 93 : 4456-61.
11. Rice S, Ojha K, Whitehead S, Mason H. Stage-specific expression of androgen receptor, follicle-stimulating hormone receptor, and anti-Mullerian hormone type II receptor in single, isolated, human preantral follicles: relevance to polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab* 2007 ; 92 : 1034-40.
12. Szoltys M, Slomczynska M. Changes in distribution of androgen receptor during maturation of rat ovarian follicles. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2000 ; 108 : 228-23413.
13. Gougeon A. Regulation of ovarian follicular development in primates: facts and hypotheses. *Endocr Rev* 1996 ; 17 : 121-55.
14. Yamoto M, Shima K, Nakano R. Gonadotropin receptors in human ovarian follicles and corpora lutea throughout the menstrual cycle. *Horm Res* 1992 ; 37(Suppl 1) : 5-11.
15. Durlinger AL, Gruijters MJ, Kramer P, et al. Anti-Mullerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary. *Endocrinology* 2001 ; 142 : 4891-9.
16. Kumar TR, Wang Y, Lu N, Matzuk MM. Follicle stimulating hormone is required for ovarian follicle maturation but not male fertility. *Nat Genet* 1997 ; 15 : 201-4.

17. Aittomaki K, Lucena JL, Pakarinen P, *et al.* Mutation in the follicle-stimulating hormone receptor gene causes hereditary hypergonadotropic ovarian failure. *Cell* 1995 ; 82 : 959-68.
18. Touraine P, Beau I, Gougeon A, *et al.* New natural inactivating mutations of the follicle-stimulating hormone receptor: correlations between receptor function and phenotype. *Mol Endocrinol* 1999 ; 13 : 1844-54.
19. Matthews CH, Borgato S, Beck-Peccoz P, *et al.* Primary amenorrhoea and infertility due to a mutation in the beta-subunit of follicle-stimulating hormone. *Nat Genet* 1993 ; 5 : 83-6.
20. Fauser BC, Van Heusden AM. Manipulation of human ovarian function: physiological concepts and clinical consequences. *Endocr Rev* 1997 ; 18 : 71-106.
21. Gulyas BJ, Hodgen GD, Tullner WW, Ross GT. Effects of fetal or maternal hypophysectomy on endocrine organs and body weight in infant rhesus monkeys (*Macaca mulatta*): with particular emphasis on oogenesis. *Biol Reprod* 1977 ; 16 : 216-27.
22. Hillier SG. Current concepts of the roles of follicle stimulating hormone and luteinizing hormone in folliculogenesis. *Hum Reprod* 1994 ; 9 : 188-91.
23. Arendsen de Wolff-Exalto E. Influence of gonadotrophins on early follicle cell development and early oocyte growth in the immature rat. *J Reprod Fertil* 1982 ; 66 : 537-42.
24. McGee EA, Perlas E, LaPolt PS, Tsafiriri A, Hsueh AJ. Follicle-stimulating hormone enhances the development of preantral follicles in juvenile rats. *Biol Reprod* 1997 ; 57 : 990-8.
25. Halpin DM, Jones A, Fink G, Charlton HM. Postnatal ovarian follicle development in hypogonadal (hpg) and normal mice and associated changes in the hypothalamic-pituitary ovarian axis. *J Reprod Fertil* 1986 ; 77 : 287-96.
26. Van Cappellen WA, Meijs-Roelofs HM, Kramer P, Van den Dungen HM. Ovarian follicle dynamics in immature rats treated with a luteinizing hormone-releasing hormone antagonist (Org. 30276). *Biol Reprod* 1989 ; 40 : 1247-56.
27. Oktay K, Newton H, Mullan J, Gosden RG. Development of human primordial follicles to antral stages in SCID/hpg mice stimulated with follicle stimulating hormone. *Hum Reprod* 1998 ; 13 : 1133-8.
28. Campbell BK, Telfer EE, Webb R, Baird DT. Evidence of a role for follicle-stimulating hormone in controlling the rate of preantral follicle development in sheep. *Endocrinology* 2004 ; 145 : 1870-9.
29. Durlinger AL, Gruijters MJ, Kramer P, *et al.* Anti-Mullerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary. *Endocrinology* 2002 ; 143 : 1076-84.
30. Visser JA, Themmen AP. Anti-Mullerian hormone and folliculogenesis. *Mol Cell Endocrinol* 2005 ; 234 : 81-6.
31. Weenen C, Laven JS, Von Bergh AR, *et al.* Anti-Mullerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. *Mol Hum Reprod* 2004 ; 10 : 77-83.
32. Carlsson IB, Scott JE, Visser JA, Ritvos O, Themmen AP, Hovatta O. Anti-Mullerian hormone inhibits initiation of growth of human primordial ovarian follicles *in vitro*. *Hum Reprod* 2006 ; 21 : 2223-7.
33. Durlinger AL, Visser JA, Themmen AP. Regulation of ovarian function: the role of anti-Mullerian hormone. *Reproduction* 2002 ; 124 : 601-9.
34. Durlinger AL, Kramer P, Karels B, *et al.* Control of primordial follicle recruitment by anti-Mullerian hormone in the mouse ovary. *Endocrinology* 1999 ; 140 : 5789-96.
35. Luo W, Wiltbank MC. Distinct regulation by steroids of messenger RNAs for FSHR and CYP19A1 in bovine granulosa cells. *Biol Reprod* 2006 ; 75 : 217-25.
36. Wang H, Andoh K, Hagiwara H, *et al.* Effect of adrenal and ovarian androgens on type 4 follicles unresponsive to FSH in immature mice. *Endocrinology* 2001 ; 142 : 4930-6.
37. Murray AA, Gosden RG, Allison V, Spears N. Effect of androgens on the development of mouse follicles growing *in vitro*. *J Reprod Fertil* 1998 ; 113 : 27-33.
38. Weil S, Vendola K, Zhou J, Bondy CA. Androgen and follicle-stimulating hormone interactions in primate ovarian follicle development. *J Clin Endocrinol Metab* 1999 ; 84 : 2951-6.
39. Weil SJ, Vendola K, Zhou J, *et al.* Androgen receptor gene expression in the primate ovary: cellular localization, regulation, and functional correlations. *J Clin Endocrinol Metab* 1998 ; 83 : 2479-85.
40. Nielsen ME, Rasmussen IA, Kristensen SG, *et al.* In human granulosa cells from small antral follicles, androgen receptor mRNA and androgen levels in follicular fluid correlate with FSH receptor mRNA. *Mol Hum Reprod* 2011 ; 17 : 63-70.
41. Lebbe M, Woodruff TK. Involvement of androgens in ovarian health and disease. *Mol Hum Reprod* 2013 ; 19 : 828-37.
42. Sen A, Prizant H, Light A, *et al.* Androgens regulate ovarian follicular development by increasing follicle stimulating hormone receptor and microRNA-125b expression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014 ; 111 : 3008-13.
43. Kousteni S, Bellido T, Plotkin LI, *et al.* Nongenotropic, sex-nonspecific signaling through the estrogen or androgen receptors: dissociation from transcriptional activity. *Cell* 2001 ; 104 : 719-30.
44. Yang JL, Zhang CP, Li L, *et al.* Testosterone induces redistribution of forkhead box-3a and down-regulation of growth and differentiation factor 9 messenger ribonucleic acid expression at early stage of mouse folliculogenesis. *Endocrinology* 2010 ; 151 : 774-82.
45. Pellatt L, Rice S, Dilaver N, *et al.* Anti-Mullerian hormone reduces follicle sensitivity to follicle-stimulating hormone in human granulosa cells. *Fertil Steril* 2011 ; 96 : 1246-1251 e1241.
46. Kevenaar ME, Themmen AP, Laven JS, *et al.* Anti-Mullerian hormone and anti-Mullerian hormone type II receptor polymorphisms are associated with follicular phase estradiol levels in normo-ovulatory women. *Hum Reprod* 2007 ; 22 : 1547-54.
47. Hughesdon PE. Morphology and morphogenesis of the Stein-Leventhal ovary and of so-called "hyperthecosis". *Obstet Gynecol Surv* 1982 ; 37 : 59-77.
48. Maciel GA, Baracat EC, Benda JA, *et al.* Stockpiling of transitional and classic primary follicles in ovaries of women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2004 ; 89 : 5321-7.
49. Rey R, Lukas-Croisier C, Lasala C, Bedecarras P. AMH/MIS: what we know already about the gene, the protein and its regulation. *Mol Cell Endocrinol* 2003 ; 211 : 21-31.

50. Pigny P, Merlen E, Robert Y, et al. Elevated serum level of anti-mullerian hormone in patients with polycystic ovary syndrome: relationship to the ovarian follicle excess and to the follicular arrest. *J Clin Endocrinol Metab* 2003 ; 88 : 5957-62.
51. Alebić M, Stojanović N, Duhamel A, Dewailly D. The phenotypic diversity in per-follicle anti-Müllerian hormone production in polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2015 ; 30 : 1927-33.
52. Crisosto N, Sir-Petermann T, Greiner M, et al. Testosterone-induced downregulation of anti-Müllerian hormone expression in granulosa cells from small bovine follicles. *Endocrine* 2009 ; 36 : 339-45.
53. Caanen MR, Soleman RS, Kuijper EA, et al. Antimüllerian hormone levels decrease in female-to-male transsexuals using testosterone as cross-sex therapy. *Fertil Steril* 2015 ; 103 : 1340-5.
54. Balen AH, Schachter ME, Montgomery D, Reid RW, Jacobs HS. Polycystic ovaries are a common finding in untreated female to male transsexuals. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1993 ; 38 : 325-9.
55. Mueller A, Gooren LJ, Naton-Schotz S, Cupisti S, Beckmann MW, Dittrich R. Prevalence of polycystic ovary syndrome and hyperandrogenemia in female-to-male transsexuals. *J Clin Endocrinol Metab* 2008 ; 93 : 1408-11.
56. Shi J, Yoshino O, Osuga Y, et al. Bone morphogenetic protein-6 stimulates gene expression of follicle-stimulating hormone receptor, inhibin/activin beta subunits, and anti-Müllerian hormone in human granulosa cells. *Fertil Steril* 2009 ; 92 : 1794-8.
57. Estienne A, Pierre A, di Clemente N, et al. Anti-Müllerian hormone regulation by the bone morphogenetic proteins in the sheep ovary: deciphering a direct regulatory pathway. *Endocrinology* 2015 ; 156 : 301-13.
58. Kim D, Ocon-Grove O, Johnson AL. Bone morphogenetic protein 4 supports the initial differentiation of hen (*Gallus gallus*) granulosa cells. *Biol Reprod* 2013 ; 88 : 161.
59. Kuroda T, Lee MM, Haqq CM, Powell DM, Manganaro TF, Donahoe PK. Müllerian inhibiting substance ontogeny and its modulation by follicle-stimulating hormone in the rat testes. *Endocrinology* 1990 ; 127 : 1825-32.
60. Baarends WM, Uilenbroek JT, Kramer P, et al. Anti-müllerian hormone and anti-müllerian hormone type II receptor messenger ribonucleic acid expression in rat ovaries during postnatal development, the estrous cycle, and gonadotropin-induced follicle growth. *Endocrinology* 1995 ; 136 : 4951-62.
61. Fanchin R, Schonauer LM, Righini C, Frydman N, Frydman R, Taieb J. Serum anti-Müllerian hormone dynamics during controlled ovarian hyperstimulation. *Hum Reprod* 2003 ; 18 : 328-32.
62. Weintraub A, Margalioth EJ, Chetrit AB, et al. The dynamics of serum anti-Müllerian-hormone levels during controlled ovarian hyperstimulation with GnRH-antagonist short protocol in polycystic ovary syndrome and low responders. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2014 ; 176 : 163-7.
63. La Marca A, Malmusi S, Giulini S, et al. Anti-Müllerian hormone plasma levels in spontaneous menstrual cycle and during treatment with FSH to induce ovulation. *Hum Reprod* 2004 ; 19 : 2738-41.
64. Catteau-Jonard S, Pigny P, Reyss AC, Decanter C, Poncelet E, Dewailly D. Changes in serum anti-müllerian hormone level during low-dose recombinant follicular-stimulating hormone therapy for anovulation in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2007 ; 92 : 4138-43.
65. Kelsey TW, Wright P, Nelson SM, Anderson RA, Wallace WH. A validated model of serum anti-müllerian hormone from conception to menopause. *PLoS One* 2011 ; 6 : e22024.
66. Hagen CP, Aksglaede L, Sorensen K, et al. Individual serum levels of anti-Müllerian hormone in healthy girls persist through childhood and adolescence: a longitudinal cohort study. *Hum Reprod* 2012 ; 27 : 861-6.
67. Lashen H, Dunger DB, Ness A, Ong KK. Peripubertal changes in circulating antimüllerian hormone levels in girls. *Fertil Steril* 2013 ; 99 : 2071-5.
68. Al-Attar L, Noel K, Dutertre M, et al. Hormonal and cellular regulation of Sertoli cell anti-Müllerian hormone production in the postnatal mouse. *J Clin Invest* 1997 ; 100 : 1335-43.
69. Lukas-Croisier C, Lasala C, Nicaud J, et al. Follicle-stimulating hormone increases testicular Anti-Müllerian 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.
70. Young J, Chanson P, Salenave S, et al. Testicular anti-müllerian hormone secretion is stimulated by recombinant human FSH in patients with congenital hypogonadotropic hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab* 2005 ; 90 : 724-8.
71. Bezaud J, Vigier B, Tran D, Mauleon P, Josso N. Immunocytochemical study of anti-Müllerian hormone in sheep ovarian follicles during fetal and post-natal development. *J Reprod Fertil* 1987 ; 80 : 509-16.
72. Kristensen SG, Andersen K, Clement CA, Franks S, Hardy K, Andersen CY. Expression of TGF-beta superfamily growth factors, their receptors, the associated SMADs and antagonists in five isolated size-matched populations of pre-antral follicles from normal human ovaries. *Mol Hum Reprod* 2014 ; 20 : 293-308.
73. Thomas FH, Telfer EE, Fraser HM. Expression of anti-Müllerian hormone protein during early follicular development in the primate ovary *in vivo* is influenced by suppression of gonadotropin secretion and inhibition of vascular endothelial growth factor. *Endocrinology* 2007 ; 148 : 2273-81.
74. Hagen CP, Sorensen K, Anderson RA, Juul A. Serum levels of antimüllerian hormone in early maturing girls before, during, and after suppression with GnRH agonist. *Fertil Steril* 2012 ; 98 : 1326-30.
75. Andersen CY, Byskov AG. Estradiol and regulation of anti-Müllerian hormone, inhibin-A, and inhibin-B secretion: analysis of small antral and preovulatory human follicles' fluid. *J Clin Endocrinol Metab* 2006 ; 91 : 4064-9.
76. Arbo E, Vettori DV, Jimenez MF, Freitas FM, Lemos N, Cunha-Filho JS. Serum anti-müllerian hormone levels and follicular cohort characteristics after pituitary suppression in the late luteal phase with oral contraceptive pills. *Hum Reprod* 2007 ; 22 : 3192-6.
77. Kallio S, Puurunen J, Ruokonen A, Vaskivuo T, Piltonen T, Tapanainen JS. Antimüllerian hormone levels decrease in women using combined contraception independently of administration route. *Fertil Steril* 2013 ; 99 : 1305-10.
78. Koeniger A, Kauth A, Schmidt B, et al. Anti-Müllerian-hormone levels during pregnancy and postpartum. *Reprod Biol Endocrinol* 2013 ; 11 : 60.

- 79.** Chan C, Liu K. Clinical pregnancy in a woman with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism and low AMH: utility of ovarian reserve markers in IHH. *J Assist Reprod Genet* 2014 ; 31 : 1317-21.
- 80.** Rico C, Medigue C, Fabre S, et al. Regulation of anti-Mullerian hormone production in the cow: a multiscale study at endocrine, ovarian, follicular, and granulosa cell levels. *Biol Reprod* 2011 ; 84 : 560-71.
- 81.** Pellatt L, Hanna L, Brincat M, et al. Granulosa cell production of anti-Mullerian hormone is increased in polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab* 2007 ; 92 : 240-5.
- 82.** Li Y, Wei LN, Liang XY. Follicle-stimulating hormone suppressed excessive production of antimullerian hormone caused by abnormally enhanced promoter activity in polycystic ovary syndrome granulosa cells. *Fertil Steril* 2011 ; 95 : 2354-8.
- 83.** Pierre A, Peigne M, Grynberg M, et al. Loss of LH-induced down-regulation of anti-Mullerian hormone receptor expression may contribute to anovulation in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2013 ; 28 : 762-9.
- 84.** Taieb J, Grynberg M, Pierre A, et al. FSH and its second messenger cAMP stimulate the transcription of human anti-Mullerian hormone in cultured granulosa cells. *Mol Endocrinol* 2011 ; 25 : 645-55.
- 85.** Grynberg M, Pierre A, Rey R, et al. Differential regulation of ovarian anti-mullerian hormone (AMH) by estradiol through alpha and beta-estrogen receptors. *J Clin Endocrinol Metab* 2012 ; 97 : E1649-1657.
- 86.** Luckenbach JA, Dickey JT, Swanson P. Follicle-stimulating hormone regulation of ovarian transcripts for steroidogenesis-related proteins and cell survival, growth and differentiation factors *in vitro* during early secondary oocyte growth in coho salmon. *Gen Comp Endocrinol* 2011 ; 171 : 52-63.
- 87.** Xu J, Lawson MS, Yeoman RR, et al. Secondary follicle growth and oocyte maturation during encapsulated three-dimensional culture in rhesus monkeys: effects of gonadotrophins, oxygen and fetuin. *Hum Reprod* 2011 ; 26 : 1061-72.
- 88.** Meduri G, Charneau N, Driancourt MA, et al. Follicle-stimulating hormone receptors in oocytes? *J Clin Endocrinol Metab* 2002 ; 87 : 2266-76.
- 89.** Baumgarten SC, Convissar SM, Fierro MA, Winston NJ, Scoccia B, Stocco C. IGF1R signaling is necessary for fsh-induced activation of AKT and differentiation of human Cumulus granulosa cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2014 ; 99 : 2995-3004.
- 90.** di Clemente N, Ghaffari S, Pepinsky RB, et al. A quantitative and interspecific test for biological activity of anti-mullerian hormone: the fetal ovary aromatase assay. *Development* 1992 ; 114 : 721-7.
- 91.** Stocco C. Aromatase expression in the ovary: hormonal and molecular regulation. *Steroids* 2008 ; 73 : 473-87.
- 92.** Guigon CJ, Mazaud S, Forest MG, Brailly-Tabard S, Coudouel N, Magre S. Unaltered development of the initial follicular waves and normal pubertal onset in female rats after neonatal deletion of the follicular reserve. *Endocrinology* 2003 ; 144 : 3651-62.
- 93.** Gray SA, Mannan MA, O'Shaughnessy PJ. Development of cytochrome P450 aromatase mRNA levels and enzyme activity in ovaries of normal and hypogonadal (hpg) mice. *J Mol Endocrinol* 1995 ; 14 : 295-301.
- 94.** Turner KJ, Macpherson S, Millar MR, et al. Development and validation of a new monoclonal antibody to mammalian aromatase. *J Endocrinol* 2002 ; 172 : 21-30.
- 95.** Mendelson CR, Jiang B, Shelton JM, Richardson JA, Hinshelwood MM. Transcriptional regulation of aromatase in placenta and ovary. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2005 ; 95 : 25-33.
- 96.** Mendelson CR, Kamat A. Mechanisms in the regulation of aromatase in developing ovary and placenta. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007 ; 106 : 62-70.
- 97.** Grossman MP, Nakajima ST, Fallat ME, Siow Y. Mullerian-inhibiting substance inhibits cytochrome P450 aromatase activity in human granulosa lutein cell culture. *Fertil Steril* 2008 ; 89 : 1364-70.
- 98.** Chang HM, Klausen C, Leung PC. Antimullerian hormone inhibits follicle-stimulating hormone-induced adenylyl cyclase activation, aromatase expression, and estradiol production in human granulosa-lutein cells. *Fertil Steril* 2013 ; 100 : 585-592 e581.
- 99.** Sacchi S, Marinaro F, Giulini S, et al. Effect of AMH on granulosa-lutein cells response to gonadotropins. *Human Reproduction* 2014 ; 29 : 321-1321.
- 100.** Prapa E, Vasilaki A, Dafopoulos K, et al. Effect of Anti-Mullerian hormone (AMH) and bone morphogenetic protein 15 (BMP-15) on steroidogenesis in primary-cultured human luteinizing granulosa cells through Smad5 signalling. *J Assist Reprod Genet* 2015 ; 32 : 1079-88.
- 101.** Lee JR, Kim SH, Kim SM, et al. Anti-Mullerian hormone dynamics during controlled ovarian hyperstimulation and optimal timing of measurement for outcome prediction. *Hum Reprod* 2010 ; 25 : 2597-604.
- 102.** Dumesic DA, Lesnick TG, Stassart JP, Ball GD, Wong A, Abbott DH. Intrafollicular antimullerian hormone levels predict follicle responsiveness to follicle-stimulating hormone (FSH) in normoandrogenic ovulatory women undergoing gonadotropin releasing-hormone analog/recombinant human FSH therapy for *in vitro* fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril* 2009 ; 92 : 217-21.
- 103.** Broekmans FJ, Visser JA, Laven JS, Broer SL, Themmen AP, Fauser BC. Anti-Mullerian hormone and ovarian dysfunction. *Trends Endocrinol Metab* 2008 ; 19 : 340-7.
- 104.** Jeppesen JV, Anderson RA, Kelsey TW, et al. Which follicles make the most anti-Mullerian hormone in humans? Evidence for an abrupt decline in AMH production at the time of follicle selection. *Mol Hum Reprod* 2013 ; 19 : 519-27.
- 105.** Franks S, Stark J, Hardy K. Follicle dynamics and anovulation in polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update* 2008 ; 14 : 367-78.
- 106.** Jeppesen JV, Kristensen SG, Nielsen ME, et al. LH-receptor gene expression in human granulosa and cumulus cells from antral and preovulatory follicles. *J Clin Endocrinol Metab* 2012 ; 97 : E1524-31.
- 107.** Eilso Nielsen M, Rasmussen IA, Fukuda M, Westergaard LG, Yding Andersen C. Concentrations of anti-Mullerian hormone in fluid from small human antral follicles show a negative correlation with CYP19 mRNA expression in the corresponding granulosa cells. *Mol Hum Reprod* 2010 ; 16 : 637-43.
- 108.** Norman RJ, Dewailly D, Legro RS, Hickey TE. Polycystic ovary syndrome. *Lancet* 2007 ; 370 : 685-97.

- 109.** Catteau-Jonard S, Dewailly D. Pathophysiology of polycystic ovary syndrome: the role of hyperandrogenism. *Front Horm Res* 2013 ; 40 : 22-7.
- 110.** Franks S, Berga SL. Does PCOS have developmental origins? *Fertil Steril* 2012 ; 97 : 2-6.
- 111.** Jonard S, Dewailly D. The follicular excess in polycystic ovaries, due to intra-ovarian hyperandrogenism, may be the main culprit for the follicular arrest. *Hum Reprod Update* 2004 ; 10 : 107-17.
- 112.** Homburg R. Androgen circle of polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2009 ; 24 : 1548-55.
- 113.** Dewailly D, Catteau-Jonard S, Reyss AC, Maunoury-Lefebvre C, Poncelet E, Pigny P. The excess in 2-5 mm follicles seen at ovarian ultrasonography is tightly associated to the follicular arrest of the polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2007 ; 22 : 1562-6.
- 114.** Almahbobi G, Anderiesz C, Hutchinson P, McFarlane JR, Wood C, Trounson AO. Functional integrity of granulosa cells from polycystic ovaries. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1996 ; 44 : 571-80.
- 115.** Gonzalez-Fernandez R, Pena O, Hernandez J, Martin-Vasallo P, Palumbo A, Avila J. Patients with endometriosis and patients with poor ovarian reserve have abnormal follicle-stimulating hormone receptor signaling pathways. *Fertil Steril* 2011 ; 95 : 2373-8.
- 116.** Fu L, Zhang Z, Zhang A, et al. Association study between FSHR Ala307Thr and Ser680Asn variants and polycystic ovary syndrome (PCOS) in Northern Chinese Han women. *J Assist Reprod Genet* 2013 ; 30 : 717-21.
- 117.** Singhasena W, Pantasri T, Piromlertamorn W, Samchinchom S, Vutyavanich T. Follicle-stimulating hormone receptor gene polymorphism in chronic anovulatory women, with or without polycystic ovary syndrome: a cross-sectional study. *Reprod Biol Endocrinol* 2014 ; 12 : 86.
- 118.** Saxena R, Georgopoulos NA, Braaten TJ, et al. Han Chinese polycystic ovary syndrome risk variants in women of European ancestry: relationship to FSH levels and glucose tolerance. *Hum Reprod* 2015 ; 30 : 1454-9.
- 119.** Das M, Gillott DJ, Saridogan E, Djahanbakhch O. Anti-Mullerian hormone is increased in follicular fluid from unstimulated ovaries in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2008 ; 23 : 2122-6.
- 120.** Desforges-Bullet V, Gallo C, Lefebvre C, Pigny P, Dewailly D, Catteau-Jonard S. Increased anti-Mullerian hormone and decreased FSH levels in follicular fluid obtained in women with polycystic ovaries at the time of follicle puncture for *in vitro* fertilization. *Fertil Steril* 2010 ; 94 : 198-204.
- 121.** Cook CL, Siow Y, Brenner AG, Fallat ME. Relationship between serum mullerian-inhibiting substance and other reproductive hormones in untreated women with polycystic ovary syndrome and normal women. *Fertil Steril* 2002 ; 77 : 141-6.
- 122.** Laven JS, Mulders AG, Visser JA, Themmen AP, De Jong FH, Fauser BC. Anti-Mullerian hormone serum concentrations in normoovulatory and anovulatory women of reproductive age. *J Clin Endocrinol Metab* 2004 ; 89 : 318-23.
- 123.** Nardo LG, Christodoulou D, Gould D, Roberts SA, Fitzgerald CT, Laing I. Anti-Mullerian hormone levels and antral follicle count in women enrolled in *in vitro* fertilization cycles: relationship to lifestyle factors, chronological age and reproductive history. *Gynecol Endocrinol* 2007 ; 23 : 486-93.
- 124.** Sproul K, Jones MR, Mathur R, Azziz R, Goodarzi MO. Association study of four key folliculogenesis genes in polycystic ovary syndrome. *BJOG* 2010 ; 117 : 756-60.
- 125.** Pigny P, Jonard S, Robert Y, Dewailly D. Serum anti-Mullerian hormone as a surrogate for antral follicle count for definition of the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006 ; 91 : 941-5.
- 126.** Dewailly D, Pigny P, Soudan B, et al. Reconciling the definitions of polycystic ovary syndrome: the ovarian follicle number and serum anti-Mullerian hormone concentrations aggregate with the markers of hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab* 2010 ; 95 : 4399-405.
- 127.** Plouvier P, Peigne M, Gronier H, Robin G, Catteau-Jonard S, Dewailly D. Is the suppressive effect of cyproterone acetate on serum anti-Mullerian-hormone levels in women with polycystic ovary syndrome stronger than under oral contraceptive pill? *Gynecol Endocrinol* 2016 ; 18 : 1-5.
- 128.** Piouka A, Farmakiotis D, Katsikis I, Macut D, Gerou S, Panidis D. Anti-Mullerian hormone levels reflect severity of PCOS but are negatively influenced by obesity: relationship with increased luteinizing hormone levels. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009 ; 296 : E238-243.
- 129.** Eldar-Geva T, Margalioth EJ, Gal M, et al. Serum anti-Mullerian hormone levels during controlled ovarian hyperstimulation in women with polycystic ovaries with and without hyperandrogenism. *Hum Reprod* 2005 ; 20 : 1814-9.
- 130.** Jakimiuk AJ, Weitsman SR, Brzechffa PR, Magoffin DA. Aromatase mRNA expression in individual follicles from polycystic ovaries. *Mol Hum Reprod* 1998 ; 4 : 1-8.
- 131.** Söderlund D, Canto P, Carranza-Lira S, Méndez JP. No evidence of mutations in the P450 aromatase gene in patients with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2005 ; 20 : 965-9.
- 132.** Catteau-Jonard S, Bancquart J, Poncelet E, Lefebvre-Maunoury C, Robin G, Dewailly D. Polycystic ovaries at ultrasound: normal variant or silent polycystic ovary syndrome? *Ultrasound Obstet Gynecol* 2012 ; 40 : 223-9.
- 133.** Koninger A, Sauter L, Edimiris P, et al. Predictive markers for the FSH sensitivity of women with polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod* 2014 ; 29 : 518-24.
- 134.** Delvigne A, Rozenberg S. Epidemiology and prevention of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS): a review. *Hum Reprod Update* 2002 ; 8 : 559-77.
- 135.** Seifer DB, Merhi Z. Is AMH a regulator of follicular atresia? *J Assist Reprod Genet* 2014 ; 31 : 1403-7.
- 136.** Willis DS, Watson H, Mason HD, Galea R, Brincat M, Franks S. Premature response to luteinizing hormone of granulosa cells from anovulatory women with polycystic ovary syndrome: relevance to mechanism of anovulation. *J Clin Endocrinol Metab* 1998 ; 83 : 3984-91.
- 137.** Jakimiuk AJ, Weitsman SR, Navab A, Magoffin DA. Luteinizing hormone receptor, steroidogenesis acute regulatory protein, and steroidogenic enzyme messenger ribonucleic acids are overexpressed in thecal and granulosa cells from polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab* 2001 ; 86 : 1318-23.

-
- 138.** Cui L, Li G, Zhong W, *et al.* Polycystic ovary syndrome susceptibility single nucleotide polymorphisms in women with a single PCOS clinical feature. *Hum Reprod* 2015 ; 30(3) : 732-6.
- 139.** Cimino I, Casoni F, Liu X, *et al.* Novel role for anti-Mullerian hormone in the regulation of GnRH neuron excitability and hormone secretion. *Nat Commun* 2016 ; 7 : 10055.
- 140.** Salmon NA, Handyside AH, Joyce IM. Oocyte regulation of anti-Mullerian hormone expression in granulosa cells during ovarian follicle development in mice. *Dev Biol* 2004 ; 266 : 201-8.
- 141.** Yoon SH, Choi YM, Hong MA, *et al.* Association study of anti-Mullerian hormone and anti-Mullerian hormone type II receptor polymorphisms with idiopathic primary ovarian insufficiency. *Hum Reprod* 2013 ; 28 : 3301-5.
- 142.** Alvaro Mercadal B, Imbert R, Demeestere I, *et al.* AMH mutations with reduced *in vitro* bioactivity are related to premature ovarian insufficiency. *Hum Reprod* 2015 ; 30 : 1196-202.
- 143.** Carre-Eusebe D, Imbeaud S, Harbison M, New MI, Josso N, Picard JY. Variants of the anti-Mullerian hormone gene in a compound heterozygote with the persistent Mullerian duct syndrome and his family. *Hum Genet* 1992 ; 90 : 389-94.
- 144.** Abduljabbar M, Taheini K, Picard JY, Cate RL, Josso N. Mutations of the AMH type II receptor in two extended families with persistent Mullerian duct syndrome: lack of phenotype/genotype correlation. *Horm Res Paediatr* 2012 ; 77 : 291-7.
- 145.** Dumesic DA, Goodarzi MO, Chazenbalk GD, Abbott DH. Intrauterine environment and polycystic ovary syndrome. *Semin Reprod Med* 2014 ; 32 : 159-65.
- 146.** Sir-Petermann T, Codner E, Maliqueo M, *et al.* Increased anti-Müllerian hormone serum concentrations in prepubertal daughters of women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006 ; 91 : 3105-9.
- 147.** Nagels HE, Rishworth JR, Siristatidis CS, Kroon B. Androgens (dehydroepiandrosterone or testosterone) for women undergoing assisted reproduction. *Cochrane Database Syst Rev* 2015 ; 11 : Cd009749.