

Androgénisation humaine: rôle d'une enzyme clé

L'androgénisation comporte l'intervention d'une enzyme importante, la 5 α -réductase, qui transforme la testostérone en dihydrotestostérone plus active. Cette enzyme existe sous trois formes dont la physiologie et les implications cliniques font l'objet de ce travail.

Pierre Mauvais-Jarvis,
Frédérique Kuttenn,
Irène Mowszowicz,
Françoise Wright

Service d'endocrinologie de la
reproduction, hôpital Necker

Au début des années 60 s'ouvrait une ère nouvelle de l'endocrinologie : celle de la réceptivité aux hormones. Or, la mise en évidence des protéines réceptrices dans les cellules cibles — thème majeur de l'endocrinologie moléculaire contemporaine — a parfois occulté le rôle amplificateur joué par certaines enzymes propres aux stéroïdes hormonaux. On imagine souvent que le devenir de ces hormones réside pour l'essentiel en un processus hépatique d'inactivation. Pourtant, on connaît actuellement deux exemples de métabolisme qui participent à l'amplification du message hormonal. Ainsi la vitamine D₃ devient-elle hormone active en terme de transmission de message dès lors que des hydroxylations hépatique et rénale la transforment en 1,25 hydroxycalciférol, la forme active de la vitamine D. C'est aussi le cas de la testostérone, une sorte de préhormone de la différenciation sexuelle humaine. Certes, la testostérone demeure en soi un androgène actif, mais en physiologie elle se révèle être une hormone à double potentialité [1]. Dans l'ovaire, la présence d'une enzyme activée par la FSH (*follicle-stimulating hor-*

mone) : l'aromatase permet, dans les cellules de la granulosa, la transformation en estradiol de la testostérone sécrétée par les cellules de la thèque interne sous l'effet de la LH (*luteinizing hormone*). Alors que chez la fille, les événements marquants de la différenciation sexuelle s'opèrent à la puberté, il en va différemment chez le garçon qui possède un testicule fœtal actif dès les premières semaines de la vie embryonnaire. Ce testicule sécrète deux hormones : l'une peptidique, l'hormone antimüllérienne ou AMH qui permet la régression des canaux de Müller [2], l'autre stéroïde, la testostérone. Cet androgène est responsable de la virilisation des conduits wolffiens grâce à sa forte concentration locale. Ainsi se masculinisent les conduits génitaux internes. Toutefois, l'existence d'une activité enzymatique, la 5 α -réductase NADPH* dépendante, présente avant la sécrétion testiculaire de testostérone, permet

ADRESSE

P. Mauvais-Jarvis, F. Kuttenn, I. Mowszowicz, F. Wright : Service d'endocrinologie de la reproduction. Hôpital Necker, 149, rue de Sévres, 75730 Paris Cedex 15.

* Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate, dans sa forme hydrogénée. Il s'agit d'un coenzyme d'une déshydrogénase.

RÉFÉRENCES

- Mauvais-Jarvis P, Mowszowicz I, Kuttenn F. Significance of 5α -reductase activity in human sexual differentiation. In: Serio M, Motta M, Zanizi M, Martini L, eds. *Sexual differentiation, basic and clinical aspects*. New York: Raven Press, 1984: 247-59.
- Josso N, Picard JY, Tran D. The antimüllerian hormone. *Rec Progr Horm Res* 1977; 33: 117-62.
- Wilson JD, Griffin JE, George FW, Leshin M. The role of gonadal steroids in sexual differentiation. *Rec Progr Horm Res* 1981; 37: 1-33.
- Imperato McGinley J, Guerero L, Gautier T, Peterson RE. Steroid 5α -reductase deficiency in man. An inherited form of male pseudohermaphroditism. *Science* 1974; 186: 1213-5.
- Imperato McGinley J, Binienea Z, Arthur A, Mininberg DT, Vaughan ED, Quimby F W. The development of male pseudohermaphroditic rat using an inhibitor of the enzyme 5α -reductase. *Endocrinology* 1985; 116: 807-12.
- Mauvais-Jarvis P. Androgen metabolism in human skin. Mechanisms of control. In: Martini L, Motta M, eds. *Androgens and antiandrogens*. New York: Raven Press, 1977: 229-45.
- Kuttenn F, Mauvais-Jarvis P. Testosterone 5α -reductase of normal subjects and of patients with abnormal sex development. *Acta Endocrinol*, 1975; 79: 164-76.
- Mowszowicz I, Melanitou E, Kirchhoffer MO, Mauvais-Jarvis P. Dihydrotestosterone stimulates 5α -reductase activity in public skin fibroblasts. *J Clin Endocrinol Metab* 1983; 56: 320-5.
- Mauvais-Jarvis P, Bercovici JP, Crepy O, Gauthier F. Studies on testosterone metabolism in subjects with testicular feminization syndrome. *J Clin Invest* 1970; 49: 31-40.
- Peterson RE, Imperato McGinley J, Gauthier T, Sturla E. Male pseudohermaphroditism due to 5α -reductase deficiency. *Am J Med* 1977; 62: 170-91.
- Mauvais-Jarvis P, Kuttenn F, Mowszowicz I, Wright F. Different aspects of 5α -reductase deficiency in male hermaphroditism and hypothyroidism. *Clin Endocrinol* 1981; 14: 459-69.
- Kuttenn F, Mowszowicz I, Wirght F, et al. Male pseudohermaphroditism. A comparative study of one patient with 5α -reductase deficiency and three patients with the complete form of testicular feminization syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1979; 49: 861-5.
- Wright F, Mowszowicz I, Mauvais-Jarvis P. Urinary 5α -androstane- 3α , 17β -diol radioimmunoassay. A new clinical evaluation. *J Clin Endocrinol Metab* 1978; 47: 850-4.
- Gompel A, Wright F, Kuttenn F, Mauvais-Jarvis P. Contribution of plasma androstenedione to 5α -androstane diol glucuronide in women with idiopathic hirsutism. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 62: 441-4.

la transformation de cet androgène en son dérivé 5α -réduit, la dihydrotestostérone ou DHT qui a une bien plus grande affinité pour le récepteur des androgènes que la testostérone [3]. Cette activité enzymatique amplifie le message androgénique et concourt de façon certaine à la virilisation de l'appareil génital externe dérivé du sinus urogénital. Ainsi, en cas de production fœtale de testostérone hors du testicule (administration d'androgène à la mère ou hyperplasie surrénale congénitale) observe-t-on chez la fille une virilisation plus ou moins marquée de l'appareil génital externe (clitoromégalie, fusion des bourrelets labio-scrotaux) sans masculinisation de l'appareil génital interne (déféréts, épидидyme etc.). Inversement, il existe une affection génétique encore dénommée pseudohermaphroditisme par déficit en 5α -réductase [4]. Cette affection frappe des sujets XY; elle est transmise sur le mode autosomique récessif. On note dans ces cas une ambiguïté importante au niveau des organes génitaux externes, marquée à la naissance par un hypospadias sévère avec un abouchement urétral périnéoscrotal distinct de l'orifice vaginal. En revanche, les dérivés wolffiens sont normalement virilisés. Ce syndrome met en exergue l'action différentielle de la testostérone qui agit soit directement sur le système wolffien, soit par son dérivé 5α -réduit, la DHT, qui seule permet une virilisation adéquate de l'appareil génital externe. En administrant à des rates gestantes un puissant inhibiteur de la 5α -réductase, Imperato McGinley et coll. [5] ont pu noter chez les nouveau-nés mâles des anomalies phénotypiques du sinus urogénital comparables à celles qui sont observées dans le syndrome de déficit en 5α -réductase.

Le modèle des trois enzymes

Ontogénèse et organogénèse des enzymes « 5α -réductase» au cours de la différenciation sexuelle. Nous avons vu que la 5α -réductase présente dans le sinus urogénital embryonnaire est androgéno-indépendante puisque

cette activité existe au cours de la vie fœtale avant l'apparition d'une sécrétion testiculaire de testostérone chez le garçon. Elle est élevée à la naissance, aussi bien au niveau du prépuce chez le garçon, que dans le clitoris ou les grandes lèvres chez la fille [6] (figure 1). En revanche, la 5α -réductase située dans les zones de différenciation

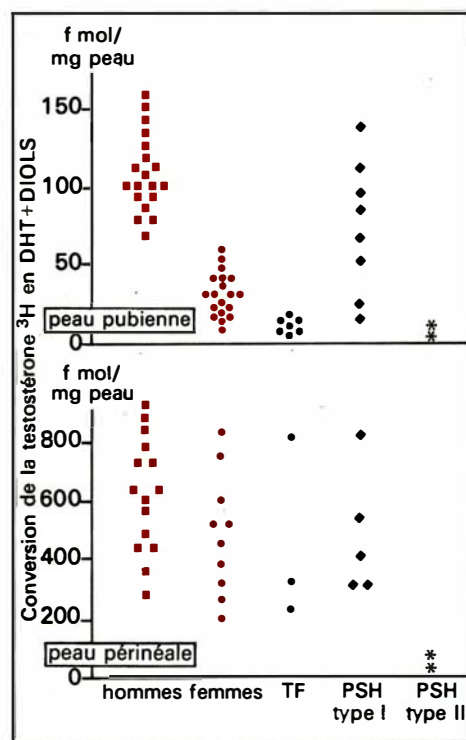


Figure 1. Capacité de 5α -réduction de la testostérone- ^3H dans la peau humaine, au niveau du pubis (zone de caractère sexuel secondaire) et au niveau périnéal (zone de caractère sexuel primaire) chez les sujets normaux des 2 sexes et dans différents troubles de la réceptivité périphérique aux androgènes. Syndrome de féminisation testiculaire: TF; pseudohermaphroditisme de type I: PSH type I (ou déficit partiel en récepteur); pseudohermaphroditisme de type II: PSH type II (ou déficit en 5α -réductase).

sexuelle secondaire semble androgéno-dépendante. C'est le cas par exemple de la peau pubienne. Ici, en effet, se développe à la puberté la pilosité. Or, dans ce territoire l'activité 5 α -réductase NADPH dépendante, basse à la naissance, semble induite par les androgènes à la puberté [7]. Différentes données obtenues *in vitro* sur des homogénats de peau accréditent cette possibilité. C'est donc afin de mieux cerner l'androgéno-dépendance de la 5 α -réductase pubienne que l'expérience suivante a été conduite [8] : des fibroblastes provenant de peau pubienne de sujets normaux ont été mis en culture. La croissance cellulaire a été contrôlée par des mesures d'ADN. Toutes les expériences ont été faites à la cinquième ou à la sixième subculture, parce qu'il a été démontré antérieurement que l'activité 5 α -réductase augmentait spontanément dans les fibroblastes de peau au fur et à mesure des subcultures successives. Afin d'étudier l'effet des androgènes sur la 5 α -réductase, des doses croissantes de DHT ont été ajoutées au milieu de culture. L'activité 5 α -réductase a été mesurée au quatrième jour par incubation des cellules avec de la testostérone radioactive et dosage de la DHT formée. Les résultats ont fait apparaître que sous DHT, la division cellulaire n'est pas affectée, comme le montre le contenu total en ADN. En revanche, la transformation de testostérone radioactive en DHT, c'est-à-dire l'activité 5 α -réductase, augmente de deux à quatre fois (figure 2). Si l'on ajoute au milieu de culture un anti-androgène actif au niveau des récepteurs des androgènes, en l'occurrence de l'acétate de cyprotérone (CPA), aucune stimulation de la 5 α -réductase n'est observée. En outre, dans les fibroblastes de peau pubienne provenant de sujets ayant un syndrome d'insensibilité aux androgènes par absence de récepteur (féminisation testiculaire), la DHT n'augmente pas l'activité 5 α -réductase. On a d'autre part confirmé, avec ce système de culture, que dans les fibroblastes de peau génitale (prépuce, etc.), la DHT ne stimulait pas l'activité 5 α -réductase, ce qui confirme l'androgéno-indépendance de l'enzyme localisée dans les terri-

toires de différenciation sexuelle primaire. Quant à l'activité enzymatique de la peau pubienne, elle est stimulée électivement par la DHT, à un moindre degré par la testostérone, mais ni par le cortisol ni par la progesterone ou l'estradiol. Enfin, l'effet de stimulation enzymatique exercé par la DHT disparaît en présence d'inhibiteurs de la synthèse protéique (cycloheximide et actinomycine D).

Ces différents résultats suggèrent que l'enzyme 5 α -réductase de la peau pubienne humaine est stimulable par la DHT et que cette stimulation implique la présence d'un récepteur androgénique intact. Cette activité enzymatique peut donc être considérée comme un marqueur spécifique du récepteur des androgènes puisqu'elle n'est

plus observée en cas de récepteur absent (testicule féminisant) ou inopérant (anti-androgènes) ou d'inhibiteurs de la synthèse protéique.

Il existe enfin une troisième forme de 5 α -réductase. Cette activité enzymatique localisée dans le foie est très importante car elle assure en partie l'inactivation des stéroïdes Δ_4 -cétoniques en composés 5 α -réduits, qui sont ensuite réduits en C₃ puis conjugués et éliminés.

Chez le rat, cette activité enzymatique est inhibée par les androgènes à la puberté. Dans l'espèce humaine, la production hépatique de dérivés 5 α -réduits, notamment à partir des androgènes circulants, est élevée avant la puberté, du moins potentiellement; elle diminue ensuite aux dépens d'une production augmentée de dérivés réduits en position 5 β . Cette baisse relative de l'activité 5 α -réductase hépatique n'est probablement qu'artificielle car elle peut aussi s'expliquer par l'induction à la puberté d'une importante activité 5 α -réductase dans le compartiment extra-splanchnique, notamment le territoire cutané sexuel [1]. Ainsi dans le syndrome d'insensibilité aux androgènes (syndrome de féminisation testiculaire) la production du principal métabolite 5 α -réduit des androgènes, l'androstérone, est — contrairement à ce qui est observé chez l'homme normal — plus importante que la production du dérivé 5 β -réduit correspondant, l'étiocolanalone [9]. Mais d'autres facteurs peuvent affecter l'activité de la 5 α -réductase hépatique, notamment les hormones thyroïdiennes qui la stimulent soit directement, soit indirectement en modifiant la concentration en co-facteur NADPH. On sait en effet que les hypothyroïdiens n'excrètent pratiquement pas d'androstérone dans leurs urines. Il existe en outre des affections génétiques qui comportent un déficit en une ou plusieurs 5 α -réductases [10]. Ainsi, dans la porphyrie intermittente, l'activité 5 α -réductase hépatique est déficiente. Il en résulte une accumulation hépatique des dérivés 5 β -réduits de différents stéroïdes Δ_4 -3 cétoniques. Certains attribuent à l'excès de concentration hépatique de ces métabolites un rôle dans l'initiation des poussées carac-

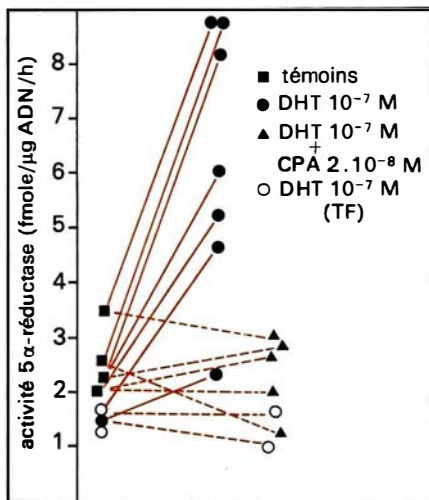


Figure 2. Effet de la DHT (10^{-7} M) (■—●), ou de la DHT + cyprotérone acétate (10^{-7} M + 10^{-6} M) (■---▲), ou de la DHT chez des sujets normaux et porteurs de testicules féminisants (TF) (○---○) sur différentes lignées de fibroblastes en culture. La mesure de la 5 α -réductase est effectuée au 4^e jour de subculture.

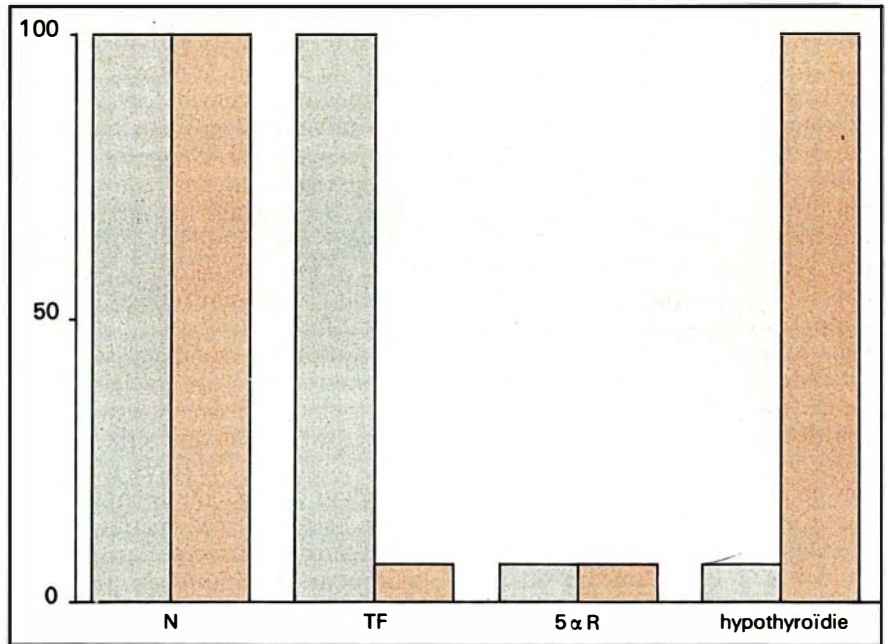
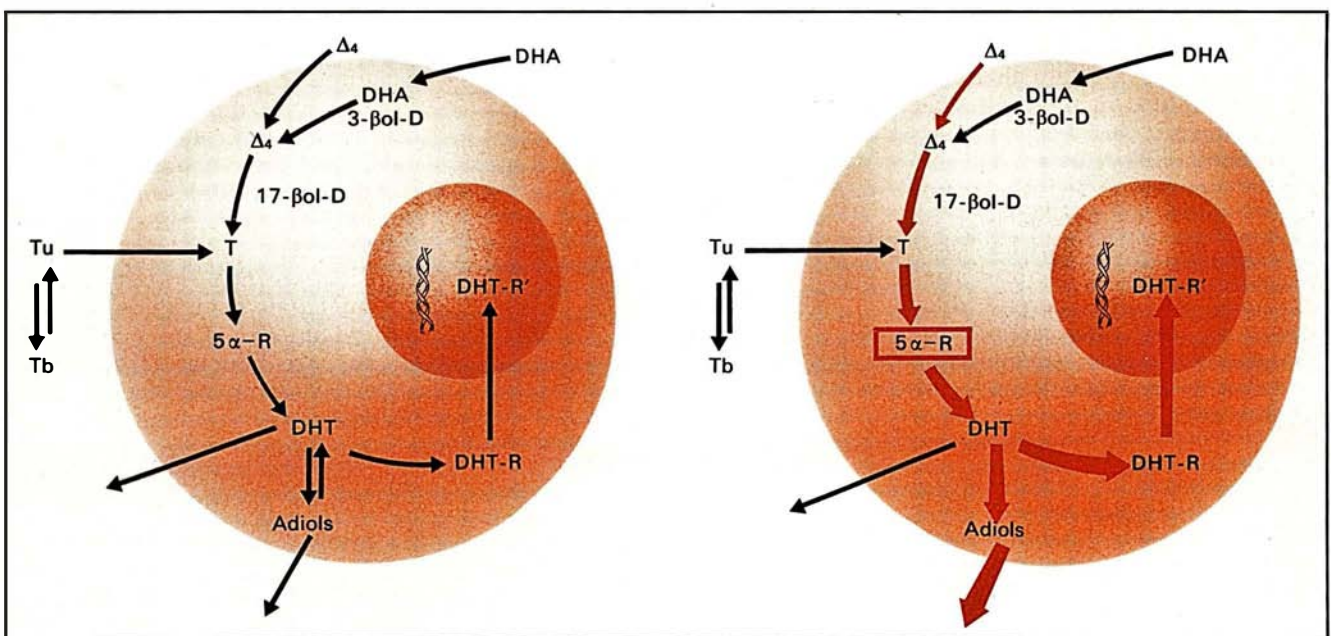


Figure 3. Activités 5 α -réductase hépatique et cutanée chez des humains normaux N, des sujets atteints de féminisation testiculaire TF, de pseudohermaphrodisme par déficit en 5 α -réductase 5 α R et d'hypothyroïdie. Ce calcul a été fait après administration de testostérone- 3 H soit par voie orale soit par voie percutanée et évaluation des métabolites 5 α et β réduits de la testostérone.

Figure 4. Mécanisme d'action des hormones stéroïdes dans la peau. A gauche : possibilités théoriques. A droite : en rouge les principaux événements observés au cours de l'hirsutisme idiopathique par excès d'activité 5 α -réductase. T=Testostérone; Δ_4 =Androstenedione; R, R'=Récepteurs; DHA=Déhydroépiandrostérone; DHT=Dihydrotestostérone; 5 α R=5 α -Réductase; Adiol=Androstaniols; Tu=T libre; Tb=T liée à la TeBG.



téristiques de cette affection. Dans le pseudohermaphrodisme masculin par déficit en 5 α -réductase, on note aussi un déficit en l'activité de cette enzyme qui vient compléter le déficit en 5 α -réductases «sexuelles» [10]. L'élévation des dérivés 5 β -réduits de divers précurseurs stéroïdiens aux dépens des 5 α -réduits constitue d'ailleurs un excellent marqueur de cette affection, permettant souvent de contribuer à l'établissement du diagnostic. Nous avons pu apporter la preuve définitive de cette assertion en utilisant certains artifices métaboliques [11]. En effet selon qu'un traceur radioactif est administré par voie orale ou appliqué sur la peau (administration percutanée) il aborde en premier lieu soit la 5 α -réductase hépatique, soit la 5 α -réductase cutanée (*figure 3*). Or, il est frappant de constater chez les hypothyroïdiens que l'absence d'activité 5 α -réductase reflétée par le rapport 5 α /5 β des métabolites issus du traceur administré, n'est observée qu'en cas d'administration digestive, l'activité 5 α -réductase explorée par voie percutanée paraissant normale. Dans les pseudohermaphrodismes par déficit en 5 α -réductase, les 5 α -réductases tant cutanées qu'hépatiques paraissent absentes, suggérant un déficit génétique frappant soit la structure des enzymes soit leur fonctionnement et ceci quels que soient la distribution anatomique de cette protéine et son substrat. Dans le syndrome de féminisation testiculaire provoqué par une absence génétique de récepteur androgénique, on note un tableau inverse de celui observé dans l'hypothyroïdie : à savoir une activité 5 α -réductase hépatique normale contrastant avec une activité enzymatique cutanée absente. Cette observation conforte les résultats rapportés plus haut et concernant l'androgéno-dépendance de la 5 α -réductase cutanée, donc son absence en cas d'inactivité du récepteur androgénique [12]. Le modèle des trois enzymes a donc une justification physiologique et comporte des conséquences cliniques. En revanche, on ignore encore à l'heure actuelle si génétiquement il s'agit de trois enzymes distinctes, ou d'une même enzyme soumise à des régulations différentes.

Implications cliniques

Le caractère androgéno-dépendant de l'activité 5 α -réductase cutanée sexuelle et le fait que cette enzyme apparaisse comme un marqueur fidèle du caractère fonctionnel du récepteur androgénique, ont des applications évidentes en médecine. Pour les apprécier, deux méthodes peuvent être utilisées. L'une *in vitro* [7] consiste à évaluer l'activité 5 α -réductase dans des homogénats ou des fibroblastes en culture obtenus à partir de spécimens de peau pubienne. L'autre méthode plus routinière et plus aisée consiste à évaluer, soit dans le plasma, soit dans l'urine le glucuronide de 5 α -androstane diol [13], métabolite privilégié de la DHT issue de la 5 α -réduction de la testostérone. Dans les organes cibles androgéniques, en effet, la DHT non liée au récepteur est immédiatement réduite sur son carbone 3 en 5 α -androstane 3 α , 17 β -diol qui circule dans le plasma avant d'être éliminé dans l'urine sous forme glucuroconjuguée (*figure 4*). Cinquante pour cent du glucuronide d'androstane diol que l'on trouve normalement dans les urines proviennent du foie et 50% des tissus cibles, essentiellement de la peau. Toute élévation franche du glucuronide d'androstane diol chez une femme hirsute témoigne donc d'une activité 5 α -réductase augmentée au niveau des territoires pilo-sébacés de la peau, et cela même s'il n'y a pas d'hyperproduction de substrat. En effet, dans l'hirsutisme dit idiopathique, le récepteur cutané est capable d'utiliser soit la testostérone libre circulante soit, plus souvent, la testostérone formée *in situ* dans les organes cibles androgéniques à partir de précurseurs androgènes inactifs, essentiellement le Δ_4 androsténone [14]. A l'inverse, le taux d'androstane diol urinaire, ainsi que la 5 α -réductase cutanée sont abaissés dans les anomalies de la différenciation sexuelle liées soit à une absence primaire de 5 α -réductase (pseudohermaphrodisme par déficit en enzyme) soit secondaire, comme dans le syndrome de féminisation testiculaire (*figure 1*) ■

Summary

Based on different hormonal regulation, there appears to exist at least three types of 5 α -reductase: 1) hepatic: inhibited by androgens, 2) peripheral: in territories where secondary sexual differentiation is expressed, such as pubic skin. In this area, it is stimulated by androgens whereas in the external genitalia it is independent of androgen secretion.

Furthermore, although androgenization may occur in the absence of 5 α -reductase, this enzyme represents an essential step in the regulation of this androgen activity. Its role may vary according to its localization. During fetal life, 5 α -reductase may protect the target tissues against the anti-androgenic effect of progesterone by transforming the secreted androgen into a more active molecule while progesterone is transformed into a less active antiandrogen. It thus allows the normal masculinization of the external genitalia. In contrast, in areas of secondary sexual differentiation, where it is androgen dependent, it acts as an amplifier of androgen action. Whether there is one enzyme with different expressions or different enzymes remains to be demonstrated.

TIRÉS A PART

P. Mauvais-Jarvis : Service d'endocrinologie de la reproduction. Hôpital Necker, 149, rue de Sèvres, 75730 Paris Cedex 15.