

Physiopathologie de l'insuffisance ovarienne prématurée : faits et perspectives

Claudine Vasseur
Sophie Christin-Maitre
Philippe Bouchard

L'insuffisance ovarienne prématurée est une maladie fréquente dont la prévalence est estimée à 2 % de la population féminine. Elle se traduit cliniquement par une aménorrhée primaire ou secondaire survenant avant l'âge de 40 ans avec des concentrations élevées de gonadotrophines et de faibles concentrations d'œstradiol. Cette affection soulève deux problèmes pour le clinicien : la carence hormonale chez ces patientes jeunes et la prise en charge de leur infertilité. Plusieurs étiologies ont été identifiées : toxiques (chimiothérapie et/ou radiothérapie), dysimmunitaires et génétiques. La physiopathologie de cette affection demeure cependant mal connue. L'identification des gènes impliqués dans la croissance, la sélection et l'atrésie folliculaire, et la connaissance des mécanismes moléculaires conduisant à l'apoptose folliculaire devraient permettre de mieux élucider ce phénomène.

ADRESSES

C. Vasseur : docteur en médecine, DEA d'endocrinologie. S. Christin-Maitre : docteur en médecine, praticien hospitalier et universitaire. P. Bouchard : docteur en médecine, professeur des universités, praticien hospitalier, chef du service d'endocrinologie de l'Hôpital Saint-Antoine. Service d'endocrinologie, Hôpital Saint-Antoine, Pavillon de l'Horloge, 184, rue du faubourg-Saint-Antoine, 75571 Paris Cedex 12, France.

L'insuffisance ovarienne physiologique survient, chez la femme, vers l'âge de 50 ans et coïncide avec l'épuisement quasi complet du capital folliculaire. Malgré l'augmentation de l'espérance de vie au cours du XX^e siècle, l'âge moyen de survenue de la ménopause reste stable. L'insuffisance ovarienne est prématurée lorsqu'elle survient avant l'âge de 40 ans. Le nombre maximal d'ovocytes, de 7 millions, est atteint aux alentours du 5^e mois de grossesse. Ces ovocytes sont bloqués en phase de la 1^{re} division méiotique et

entourés d'une couche de cellules folliculaires. Plus de 99 % des follicules entrés en croissance vont involuer [1]. Le nombre de follicules primordiaux est estimé entre 1 et 2 millions à la naissance, il chute à 400 000 à la puberté pour aboutir à environ 1 500 à la ménopause. Seuls 0,01 % des follicules primordiaux vont ovuler. Ce phénomène de déplétion folliculaire s'accélère dans les 10 ans qui précèdent l'arrêt définitif des menstruations [2]. L'insuffisance ovarienne prématurée est une affection fréquente. Sa prévalence est estimée à 2 % de la population fémi-

nine. Elle se traduit cliniquement par une aménorrhée primaire, ou une aménorrhée secondaire survenant avant l'âge de 40 ans avec des concentrations de gonadotrophines élevées et une concentration d'œstradiol basse. Cette maladie soulève pour le clinicien deux problèmes: la carence hormonale, chez ces patientes jeunes, et la prise en charge de leur infertilité. Le don d'ovocyte permet à ces patientes d'obtenir une grossesse avec de bons résultats (25 % de grossesse clinique par transfert) [3]. Dans l'avenir, la mise au point de la technique de cryoconservation du tissu ovarien, effectuée chez des patientes dépistées précocement avant que l'insuffisance ovarienne ne soit définitive, semble être une perspective thérapeutique intéressante [4].

La physiopathologie de cette affection demeure cependant mal connue. Plusieurs étiologies d'insuffisance ovarienne ont été identifiées à ce jour: toxiques, dysfonctionnements immunitaires ou anomalies génétiques. L'identification des gènes impliqués dans la croissance, la sélection et l'atréxie folliculaire et la connaissance des mécanismes moléculaires conduisant à l'apoptose folliculaire, ou mort cellulaire programmée, devraient permettre de mieux élucider ce phénomène d'insuffisance ovarienne prématurée.

Origine toxique

La première étiologie toxique est liée à l'emploi de médicaments à visée anticancéreuse (chimiothérapie et/ou radiothérapie). Plus l'âge de la patiente est avancé au moment du traitement, plus l'insuffisance ovarienne risque de survenir. A titre d'exemple, les patientes présentent une aménorrhée pour une dose totale cumulée de 5,2 g de cyclophosphamide à l'âge de 40 ans. Les patientes plus jeunes tolèrent une dose plus élevée de 9,5 g avant de devenir aménorrhéiques. Les produits les plus toxiques pour les ovocytes sont les agents alkylants tels que les moutardes azotées, le cyclophosphamide, le chlorambucil et le busulfan (Tableau I). Dans un groupe de femmes présentant une maladie de Hodgkin entre l'adolescence et l'âge de 40 ans, l'aménorrhée a été défini-

tive chez 12 % à 46 % des patientes traitées par l'association moutarde azotée-vincristine-procarbazine [5]. Pour comprendre les mécanismes de la toxicité de la chimiothérapie sur l'ovaire, Tilly *et al.* ont étudié les effets de la doxorubicine (Adriamycine®) chez la souris [6]. Elle entraîne *in vitro* une apoptose ovocytaire lorsque la cellule germinale est haploïde. Les auteurs ont ensuite étudié l'effet de cette molécule sur des souris transgéniques déficientes pour le gène *Bax*, gène promoteur de l'apoptose. Les follicules primordiaux (cellules germinales et somatiques) de ces souris traitées (*Bax*⁻/*Bax*⁻) restent insensibles à la doxorubicine, à la différence de la lignée sauvage. De plus, si les ovocytes sont prétraités *in vitro* avec un inhibiteur spécifique des caspases (agents effecteurs de l'apoptose), la mort cellulaire des follicules induite par la doxorubicine est abolie. Ces expériences montrent ainsi que la doxorubicine active les voies de signalisation de l'apoptose.

L'insuffisance ovarienne, objectivée après radiothérapie, est liée à la dose, aux champs d'irradiation et à l'âge de la patiente au moment du traitement. Les petits follicules primor-

diaux sont les plus sensibles à la toxicité de la radiothérapie. L'insuffisance ovarienne est quasi constante chez les femmes âgées de plus de 40 ans, pour une dose fractionnée de 400 à 700 cGy sur les ovaires [7]. Des expositions plus faibles ont une répercussion variable: des adolescentes exposées à des doses fractionnées allant jusqu'à 1 000 cGy, et dont l'ovaire est à la limite du champ d'exposition, ne sont atteintes d'insuffisance ovarienne que dans 23 % des cas [8].

Des insuffisances ovariennes transitoires, avec gonadotrophines élevées, ont été objectivées parfois jusqu'à 3 cycles après l'administration d'iode radioactif chez des femmes en période d'activité génitale traitées pour cancer thyroïdien. Ce délai est en faveur d'une toxicité atteignant les follicules en phase de recrutement. Le caractère transitoire de l'insuffisance ovarienne est suggéré par les travaux de Schlumberger *et al.* Le seul effet délétère du traitement par iode radioactif pour néoplasie thyroïdienne sur la fertilité est une augmentation du nombre de fausses couches lorsque le traitement est administré dans l'année qui précède la conception [9].

Tableau I	
PRINCIPAUX PRODUITS UTILISÉS EN CHIMIOTHÉRAPIE AVEC LEUR TOXICITÉ RESPECTIVE	
Produits	Mécanisme d'action
<i>Associées à une toxicité certaine</i>	
moutarde azotée	agent alkylant
chlorambucil	agent alkylant
cyclophosphamide	agent alkylant
busulfan	agent alkylant
procarbazine	hydrazine substituée
<i>Probablement associées à une toxicité ovarienne</i>	
Doxorubicine	anthracycline
Vinblastine	alcaloïde de la pervenche
Cytosine arabinoside	antimétabolite
cis-platinum	agent alkylant
Carmustine	agent alkylant
Lomustine	agent alkylant
VP-16	podophyllotoxine
<i>Non responsables de toxicité ovarienne</i>	
Méthotrexate	antimétabolite
Fluoro-uracile (5FU)	antimétabolite
6-Mercaptopurine	antimétabolite
Vincristine	alcaloïde de la pervenche

Parmi les étiologies toxiques, la galactosémie est aussi responsable d'une toxicité ovarienne. Cette maladie est liée à l'accumulation intracellulaire du galactose et de ses métabolites par déficit enzymatique de la Gal-transférase. Plus de 65 % des femmes atteintes de cette maladie présentent une aménorrhée primaire ou secondaire avant l'âge de 30 ans [10]. Il existe un modèle murin de cette affection. Les rats exposés à un régime riche en galactose *in utero* présentent un stock ovocytaire diminué à la naissance. Un régime pauvre en galactose chez cet animal permet la réversibilité de la toxicité sur la fonction ovarienne.

Par analogie avec la baisse de la fertilité suspectée chez l'homme, les facteurs liés à l'environnement, dont le tabagisme, ont été suspectés de favoriser la survenue d'un dysfonctionnement ovarien prématuré [11]. Il semble que le tabagisme actif ou passif diminue la durée de la préménopause. Néanmoins, aucune étude n'a incriminé le tabagisme de façon formelle dans la survenue d'une insuffisance ovarienne prématurée.

Origine auto-immune

Plusieurs arguments plaident en faveur du rôle de l'auto-immunité dans la pathogénie de l'insuffisance ovarienne [12].

- Le lien de causalité entre auto-immunité et insuffisance ovarienne prématurée a été suspecté dès la fin des années 1960 par la co-existence d'une insuffisance ovarienne prématurée chez les patientes atteintes d'insuffisance surrénalienne auto-immune [13]. D'après la littérature, 2 % à 10 % des patientes atteintes d'insuffisance ovarienne présentent une maladie d'Addison et/ou des anticorps anti-surrénaux. L'insuffisance ovarienne peut également s'observer dans le cadre de polyendocrinopathies auto-immunes (Tableau II) telles que la polyendocrinopathie auto-immune de type I (APS-1) ou de type II (APS-2). L'APS-1, encore appelée APECED (*auto-immune-polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal-dystrophy*) est une affection autosomique récessive. Elle survient chez l'enfant et prédomine chez les Sardes, les Finlandais (1/25 000) et les Juifs iraniens (1/9 000). Elle se traduit par l'association d'une candidose cuta-

Tableau II	
POLYENDOCRINOPATHIES AUTO-IMMUNES	
Type I	Type II
<p>Signes cliniques Hypoparathyroïdisme (50 % à 75 %) Candidose cutanéomuqueuse (30 %) Insuffisance surrénalienne</p> <p>Hépatite chronique active Malabsorption Hypogonadisme primaire Vitiligo Alopécie Hypothyroïdie primaire</p> <p>Date de début dans l'enfance ou l'adolescence</p> <p>Génétique lié au chromosome 21 pas d'association aux groupes HLA autosomique récessif</p>	<p>Hyperthyroïdie Hypothyroïdie primaire Insuffisance surrénalienne Diabète insulino-dépendant Myasthénie Maladie cœliaque Hypogonadisme primaire Vitiligo Alopécie</p> <p>pic d'incidence 20-60 ans</p> <p>lié au chromosome 6 associé à HLA B8, DR3 autosomique dominant</p>

néomuqueuse, d'une hypoparathyroïdie, d'une insuffisance surrénalienne et, dans 60 % des cas, d'une insuffisance ovarienne. Cette maladie auto-immune est secondaire à des mutations affectant le gène *AIRE* (*auto-immune regulator*). Ce gène est localisé sur le chromosome 21, dans la région q22,3 (*m/s 1998, n° 5, p. 653*) [14, 15]. Les fonctions de la protéine codée par *AIRE* demeurent inconnues. Il s'agit de la seule maladie auto-immune monogénique connue à ce jour. Les futures analyses fonctionnelles de la protéine *in vitro* et chez l'animal permettront de mieux connaître les mécanismes moléculaires de l'auto-immunité. La prévalence de l'insuffisance ovarienne, dans la polyendocrinopathie de type II (APS-2), est estimée à 10 % [12]. Le (ou les) gènes impliqué(s) dans cette maladie n'ont pas encore été identifiés.

- Le deuxième élément en faveur d'une origine auto-immune provient de la détection, chez des patientes atteintes d'insuffisance ovarienne, d'anticorps dans le sérum et sur les biopsies ovariennes. [12, 13]. Sur les biopsies ovariennes, des anticorps dirigés contre les cellules stéroïdiennes (SCA pour *steroid cell antibody*) peuvent être détectés par immunomarquage dans le cytoplasme des cellules thécales. Cepen-

dant, les SCA n'ont été mis en évidence que chez des patientes atteintes de polyendocrinopathies auto-immunes (APS-1). Certains groupes ont voulu identifier les cibles antigéniques des SCA. Kämpe *et al.* ont isolé des auto-anticorps dirigés contre l'enzyme P450-scc, et contre une protéine de 51 kDa présente dans les cellules de granulosa dont le rôle est inconnu [16]. Une autre cible antigénique des anticorps SCA, l'enzyme 3 β -hydroxystéroïde déshydrogénase (3 β HSD), responsable de la conversion de la prégnénolone en progestérone a été détectée de façon significative avec un immuno-essai non quantitatif [17]. Dans cette étude, 21 % des patientes présentent des anticorps anti-3 β HSD contre 5 % chez les témoins. Des techniques ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*) ont récemment été développées pour détecter des anticorps anti-ovariens sériques [18]. Cependant, le rôle physiopathologique de ces anticorps reste inconnu.

Par analogie avec les anticorps dirigés contre le récepteur de la TSH, des anticorps bloquant la liaison des gonadotrophines à leurs récepteurs ovariens pourraient être responsables d'insuffisance ovarienne. Chiauzzi *et al.* ont décrit deux patientes atteintes d'insuffisance ovarienne et de myasthénie [19]. Le sérum des deux

patientes contenait des immunoglobulines inhibant la liaison de la FSH à son récepteur. Récemment, Anasti *et al.* ont recherché la présence d'anticorps dirigés contre le récepteur de la FSH et de la LH dans 38 sérums de patientes atteintes d'insuffisance ovarienne [20]. Aucun anticorps n'a été mis en évidence. En résumé, la présence éventuelle de tels anticorps, leur prévalence et leur rôle exact restent à étudier.

- Le troisième argument qui plaide en faveur de l'étiologie immunitaire de certaines insuffisances ovariennes est histologique. En effet, en cas de terrain auto-immun, une ovarite lymphoplasmocytaire affectant les cellules de la stéroïdogénèse est retrouvée principalement dans les follicules en développement [12]. Néanmoins, en l'absence de contexte d'auto-immunité surrénalienne, il est rare (< 3%) de retrouver de tels signes d'ovarite histologique. En effet, 60 % des patientes ayant une insuffisance ovarienne isolée présentent des ovaires fibreux et dénués de follicules. Il est difficile de savoir si cette fibrose ovarienne correspond à l'évolution ultime d'un processus auto-immun.

- Le quatrième argument en faveur d'une étiologie dysimmunitaire potentielle de l'insuffisance ovarienne prématurée repose sur le modèle des souris auxquelles on a retiré le thymus à l'âge de 3 jours et qui sont traitées par la ciclosporine A. Elles développent une maladie auto-immune avec insuffisance surrénalienne et une ovarite histologique (infiltrats lymphocytaires intrafolliculaires). Le gène *Aod2* (*auto-immune ovarian dysgenesis*), localisé sur le chromosome 3 de la souris A/J, contrôle ce phénotype [21]. L'analyse des produits de ce gène pourra nous renseigner sur les mécanismes cellulaires impliqués dans ce processus auto-immun.

La démonstration d'une origine auto-immune de l'insuffisance ovarienne pourrait justifier un traitement immunosuppresseur. Cependant, l'efficacité de la corticothérapie dans la restauration d'une fertilité chez des patientes atteintes d'insuffisance ovarienne, n'est pas démontrée [22].

Origine génétique

Plusieurs chromosomes sont impliqués dans l'insuffisance ovarienne : le

chromosome X et les autosomes 2, 3, 11. L'insuffisance ovarienne prématurée peut être secondaire à une anomalie de nombre mais aussi à des délétions du chromosome X.

• Le chromosome X

Le syndrome de Turner ou monosomie X, dans sa forme typique, s'accompagne d'une insuffisance ovarienne. Le nombre d'ovocytes est normal jusqu'à 20-24 semaines de vie fœtale puis survient une atrésie très rapide des cellules germinales [23]. Cette perte survient durant les premières étapes de la prophase méiotique. L'hypothèse actuellement retenue pour expliquer cette atrésie accélérée est celle de « l'effet de dosage » des gènes. Les deux chromosomes X demeurent actifs dans les ovocytes, ainsi les gènes du chromosome X sont présents en double copie. Si un (ou des) gène(s) nécessaire(s) à la viabilité de l'ovocyte durant la méiose est (sont) absent(s) sur l'un des deux chromosomes, une anomalie de l'ovogénèse surviendra par haplo-insuffisance [24]. Page *et al.* ont décrit, en 1987, une famille dans laquelle une femme et deux filles, atteintes de ménopause précoce, sont porteuses d'une délétion du bras long du chromosome X (Xq21-Xq27) (figure 1) [25]. Sur la base des différents cas rapportés dans la littérature, la région comprise entre Xq13 et Xq26 a été identifiée comme « région critique » pour le développement de l'ovaire [26]. Ogata *et al.* ont établi une corrélation entre les différentes délétions partielles du chromosome X et le phénotype de l'insuffisance ovarienne [24]. Le degré de sévérité de l'insuffisance ovarienne, dans le cas des délétions des portions terminales du bras long du chromosome X, semble être corrélé à l'importance de la délétion. Le dysfonctionnement gonadique est modéré dans les délétions interstitielles se traduisant par une ménopause précoce précédée de cycles irréguliers. Onze translocations différentes entre le chromosome X et les autosomes (1, 2, 9, 12, 19) ont été rapportées chez des femmes porteuses d'insuffisance ovarienne [27]. La « région critique » est constituée de deux segments Xq13-q22 et Xq22-q26, séparés par une petite portion de Xq22 [26]. La largeur de ce segment rend hautement improbable l'hypothèse d'un gène unique dans la

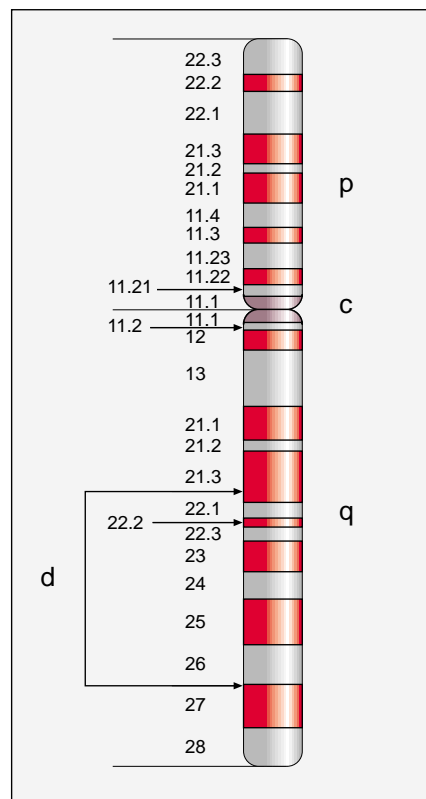


Figure 1. Schéma du chromosome X comportant le bras court (p) et le bras long (q). Les différents marqueurs sont indiqués de part et d'autre du centromère (c). La région d (q21.3: q27-qter) comprise entre les deux flèches est déletée dans certains cas de ménopauses précoces (d'après [25]).

génése de l'insuffisance ovarienne. L'insuffisance ovarienne pourrait être liée à l'interruption de plusieurs gènes impliqués dans le développement ovarien et/ou l'ovogénèse. La deuxième hypothèse serait l'existence d'un « effet de positionnement » : des gènes seraient altérés par modification des séquences environnantes. Récemment, un point de cassure en Xq21 dans le gène *DIA* a été rapporté dans une famille souffrant d'insuffisance ovarienne [28]. Ce gène a été identifié par homologie avec le gène de la drosophile *dia* (pour *Drosophila melanogaster diaphanous gene*). Les mutations de *dia* affectent l'ovogénèse et entraînent une stérilité chez la mouche. Ce gène code pour la protéine DIA qui appartient à la famille des protéines FH1/FH2 (*formin homology 1 et 2*), protéines impliquées dans la polarité cellulaire, la cytokinèse et les processus de morphogénèse

relayés par l'actine. L'analyse d'un grand nombre de patientes pourrait préciser le rôle du gène DIA dans le développement de l'ovaire.

Un autre gène candidat du bras long du chromosome X est le gène *FMRI* (*fragile mental retardation*), situé en Xq27.3. Le syndrome de l'X fragile, encore appelé X-FRA, représente la cause la plus fréquente d'arriération mentale héréditaire masculine (1 cas sur 1 000 à 1 500). Il est lié à la mutation du gène *FMRI*. Le gène muté est porteur d'une répétition anormale d'un triplet CCG. Chez le sujet atteint, le nombre de triplet est supérieur à 200 ($N < 50$). Chez le sujet au gène *FMRI* prémuté, donc asymptomatique et transmetteur de la maladie, le nombre de triplets est compris entre 50 et 200. Schwartz *et al.* ont objectivé une fréquence accrue d'insuffisance ovarienne prématurée chez les femmes ayant une prémutation. En effet, 24 % d'entre elles présentaient une ménopause précoce, ce qui était significativement plus fréquent que chez les patientes ayant une mutation complète (14 %). Le taux de mutation parmi les témoins est de 6 %. De plus, la prévalence de la prémutation X-Fra était 20 fois plus fréquente (4 %) que pour la population générale (0,2 %) chez les femmes ayant une insuffisance ovarienne précoce [29]. La prémutation semble ainsi favoriser de façon plus importante la survenue d'un dysfonctionnement ovarien que la mutation complète. Les prémutations pourraient refléter l'expression du gène *FMRI* dans l'ovaire déstabilisant l'ovocyte bloqué en prophase, ou affecter les gènes de voisinage.

Un autre gène candidat de la fonction ovarienne porté par le bras court du chromosome X est le gène *ZFX*. Page *et al.* ont engendré une lignée de souris dont le gène *Zfx* a été invalidé [30]. La vie reproductrice des femelles homozygotes pour la délétion (-/-) est écourtée. L'examen histologique des ovaires révèle une réduction du nombre d'ovocytes primaires. L'homologue humain de *Zfx*, *ZFX* est porté par le bras court du chromosome X. Néanmoins, la fréquence des mutations de *ZFX* semble être rare chez les femmes insuffisantes ovariennes : Conway *et al.* n'ont pas décelé de mutation de *ZFX* chez 50 femmes présentant une insuffisance ovarienne, isolée ou dans le cadre d'une ménopause précoce familiale [29].

Ainsi, les maladies cytogénétiques humaines témoignent de la nécessité de la présence de deux chromosomes X normaux pour permettre un développement ovocytaire adéquat. Néanmoins, les gènes responsables de la fonction ovarienne portés par le chromosome X ainsi que leur pertinence dans la fonction ovarienne restent à déterminer.

• **Le chromosome 2p** est porteur des gènes codant pour les récepteurs des gonadotrophines, FSH et LH. Aitomäki *et al.* ont isolé chez des patientes finlandaise atteintes d'aménorrhée primaire une mutation du gène codant pour le récepteur de la FSH [31]. Cependant, la forte prévalence de cette mutation semble être une particularité propre à la Finlande. En effet, plusieurs études en Angleterre et aux États-Unis [29, 32, 33], n'ont pas mis en évidence de mutations du gène du récepteur de la FSH. Récemment, deux cas de mutations du récepteur de la FSH ont été mises en évidence en France [34]. Deux observations de mutations du gène codant pour le récepteur de la LH et responsables d'insuffisance ovarienne ont été rapportées à ce jour. La première patiente présente une aménorrhée primo-secondaire. Elle est homozygote pour la mutation du codon 554 comme trois de ses frères qui présentent un pseudohermaphrodisme masculin par agénésie des cellules de Leydig (*m/s* 1996, n° 6,

p. 834) [35]. La deuxième patiente est aussi sœur de deux patients atteints de pseudohermaphrodisme masculin au sein d'une famille consanguine [36].

• **Le chromosome 3** est porteur de gène(s) impliqué(s) dans la fonction ovarienne. En effet, il existe une liaison génétique entre un syndrome malformatif ophtalmique rare comportant une réduction des fentes palpébrales (blépharophimosis), un épicanthus inverse, un ptosis (BEPS) et le chromosome 3 (*m/s* 1996, n° 4, *p.* 539) (*figure* 2). Une liaison génétique a été établie entre le BEPS de type I et la région 3q21-24 [37, 38]. Smith *et al.* ont rapporté le cas de deux sœurs : la première ne répondait pas à la stimulation par les gonadotrophines. De nombreux follicules primordiaux étaient présents à la biopsie ovarienne. La seconde présentait une ménopause précoce [39]. Néanmoins, il est difficile de relier l'association des anomalies oculaires et le dysfonctionnement ovarien. Le BEPS pourrait correspondre à un syndrome secondaire à la délétion de plusieurs gènes adjacents ou coder pour un facteur de morphogenèse durant l'embryogenèse, non identifié à ce jour.

• **Le chromosome 11** est impliqué dans deux étiologies d'insuffisance ovarienne : l'ataxie-télangiectasie et la mutation de la FSH β . L'ataxie-télangiectasie (AT) est liée aux mutations



Figure 2. **Patiente présentant un blépharophimosis de type I** (d'après [37]).

affectant le gène *ATM* (pour *AT mutated*) localisé en 11q22-23. Le phénotype implique un syndrome cérébelleux, des télangiectasies, un déficit immunitaire humoral et cellulaire. Les ovaires sont de taille réduite et dépourvus de follicules primordiaux [40]. Un modèle animal d'AT a été créé en altérant le locus de l'homologue murin de l'*ATM*: [41]. Les souris homozygotes présentent une infertilité par absence de follicules primordiaux.

Le deuxième gène porté par le chromosome 11 responsable d'insuffisance ovarienne est celui qui code pour la FSH β . A ce jour, deux cas de mutations du gène codant pour la FSH β ont été rapportés [42, 43]. Ces insuffisances ovariennes ont comme caractéristique d'être réversibles, sous l'action de FSH exogène. La première patiente, décrite par Matthews *et al.* a été dépistée dans le cadre d'un désir de grossesse à l'âge de 27 ans; la seconde a été diagnostiquée par Layman *et al.* pour retard pubertaire à 15 ans et demi. Toutes les deux présentaient une aménorrhée primaire avec un taux de FSH radio-immunologique indétectable, une LH augmentée et une concentration d'œstradiol effondrée. La première patiente est homozygote pour une délétion de deux nucléotides dans le codon 61 introduisant un codon stop prématuré. La protéine résultante FSH β est donc tronquée dans sa partie carboxy-terminale d'une région impliquée dans la stabilisation du dimère $\alpha\beta$ [44]. La seconde patiente, non apparentée à celle décrite précédemment, est hétérozygote pour la mutation précédente (allèle maternel). Elle est de plus porteuse, sur l'autre allèle transmis par son père, d'une mutation non sens sur le codon 51 de l'exon 3. La FSH β tronquée est biologiquement inactive.

Les mutations de la FSH β et de son récepteur illustrent ainsi le rôle physiologique de la FSH dans la folliculogénèse. La création de souris transgéniques dont le gène de la sous-unité β de la FSH a été invalidé confirme l'importance de cette gonadotrophine dans la croissance folliculaire. Les ovaires des souris nullizygotés $-/-$ sont de petite taille. Ils sont dotés d'une folliculogénèse incomplète: les follicules ne peuvent se développer

au-delà du stade préantral. Au-delà de ce stade, la folliculogénèse devient dépendante de la FSH [45].

Les perspectives

La physiopathologie des insuffisances ovariennes demeure encore inconnue dans la majorité des cas. Néanmoins, plusieurs axes de recherche semblent prometteurs. Ils concernent notamment l'étude de l'apoptose ovarienne, l'étude des communications intercellulaires dans le follicule et l'implication des membres de la superfamille du TGF- β (*transforming growth factor β*) dans la fonction ovarienne.

En physiologie, l'atrésie de la cohorte folliculaire contemporaine à la sélection du follicule dominant est la résultante ultime d'un processus d'apoptose. Ce mécanisme intervient à toutes les étapes du développement folliculaire et semble être finement réglé pour aboutir à la sélection d'un follicule dominant. L'apoptose, à la différence de la nécrose, est un mécanisme actif nécessitant de l'énergie. Elle correspond à un suicide cellulaire programmé. La surexpression de *Bcl-2*, gène favorisant l'apoptose chez le mammifère, entraîne dans l'ovaire de souris une diminution de l'atrésie folliculaire principalement en diminuant l'apoptose des cellules de la granulosa [46].

De plus, Tilly *et al.* ont étudié le résultat de l'invalidation de *Bcl-2* chez des souris transgéniques. L'étude histologique des ovaires révèle que le nombre de follicules primaires normaux est diminué. Ces derniers montrent des stigmates d'apoptose [47]. Un processus d'apoptose équilibré semble être le résultat d'une régulation fine de l'expression de gènes pro-apoptotiques et anti-apoptotiques. Parmi ces gènes, il existe chez le mammifère *Bcl-2*, *Bax*, *Bcl-x* et *p53* [48]. Une dysrégulation de l'apoptose folliculaire, au bénéfice de l'expression des gènes proapoptotiques, pourrait entraîner une insuffisance ovarienne prématurée.

Une autre voie de recherche des mécanismes physiopathologiques de l'insuffisance ovarienne prématurée est représentée par l'étude des communications intercellulaires du follicule. Durant la folliculogénèse et l'ovogénèse, la taille de l'ovocyte augmente parallèlement à la multiplication et à la différenciation des cellules somatiques du follicule. L'échange de petites molécules et la coordination des activités métaboliques et électriques des différents composants cellulaires s'effectuent grâce à des ponts intercellulaires, formés de sous-unités protéiques appelées connexines (Cx). Les souris dont le gène codant pour la connexine Cx37 a été invalidé sont infertiles

Tableau III

MÉCANISMES PHYSIOLOGIQUES CONNUS DE L'INSUFFISANCE OVARIENNE PRÉMATURÉE

Mécanisme	Pathologie	Chromosome
Anomalies du <i>pool</i> des follicules primordiaux	Ataxie Télangiectasie	11
Atrésie folliculaire accélérée	Chimiothérapie Syndrome de Turner	X
Syndrome de résistance ovarienne aux gonadotrophines: dans l'espèce humaine	Mutation du récepteur de la FSH Galactosémie Blépharophimosis	2 3
dans l'espèce murine	invalidation du gène codant pour GDF9 invalidation du gène codant pour la connexine Cx37	

[49]. L'examen histologique révèle un défaut de croissance folliculaire. De plus, il existe une lutéinisation prématurée sous forme de petites structures ressemblant à des corps jaunes. Un défaut d'expression de ces connexines pourrait ainsi survenir dans certaines insuffisances ovariennes prématurées. Cependant, à ce jour, aucune anomalie de ce type n'a été mise en évidence dans l'espèce humaine.

Certains facteurs de croissance comme la follistatine et le GDF-9 (*growth differentiation factor 9*) pourraient être impliquées dans la pathogénie de l'insuffisance ovarienne. En effet, les souris transgéniques surexprimant le gène codant pour la follistatine sont infertiles ou insuffisantes ovariennes précoces [50]. Ce tableau clinique, observé chez l'animal, pourrait correspondre à certaines insuffisances ovariennes présentant un arrêt de la folliculogénèse.

Le GDF-9, protéine homodimérique, appartient également à la famille du TGF β . Ce facteur est exprimé spécifiquement par l'ovaire, plus particulièrement par l'ovocyte chez la souris. Les souris dont le gène codant pour GDF-9 a été invalidé sont infertiles [51]. Seuls, les follicules primaires à une seule couche sont visualisables.

En conclusion, l'insuffisance ovarienne prématurée est une affection humaine fréquente. Elle correspond à des tableaux cliniques hétérogènes (*Tableau III*). Certaines étiologies toxiques (chimiothérapie, radiothérapie, galactosémie), dysimmunitaires ou génétiques (anomalies du chromosome X, des chromosomes 2p, 3, 11 et 21) ont été isolées. Cependant, les mécanismes moléculaires responsables de l'insuffisance ovarienne sont mal connus.

L'identification récente de gènes humains responsables d'insuffisance ovarienne ainsi que le développement récent de modèles animaux devraient nous permettre de progresser, dans l'avenir, dans la connaissance de la physiopathologie de l'insuffisance ovarienne prématurée, voire même des échecs de stimulation ovarienne chez les patientes infertiles ■

RÉFÉRENCES

1. Goujeon A, Lefevre B. Folliculogénèse et maturation ovocytaire. In: Mauvais-Jarvis P, Schaison G, Touraine eds. *Médecine de la reproduction*. Paris: Médecine-Sciences Flammarion, 1997: 48-65.

2. Richardson SJ, Senikas V, Nelson JF. Follicular depletion during the menopausal transition: evidence for accelerated loss and ultimate exhaustion. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 65: 1231-7.

3. Letur-Koenig H, Roaul-Duval A, Bertrand-Servais M, Olivennes F, Franchin R, Hazout A, Flis-Treves M, Selva J, Frydman R. Pratique du don d'ovocytes: l'expérience de l'hôpital Antoine-Béclère. *Med Sci* 1995; 11: 591-600.

4. Newton H, Aubard Y, Rutherford A, Sharma V, Gosden R. Low temperature storage and grafting of human ovarian tissue. *Hum Reprod* 1996; 11: 1487-91.

5. Horning SJ, Hoppe RT, Kaplan HS, Rosenberg SA. Female reproductive potential after treatment for Hodgkin's disease. *N Engl J Med* 1981; 23: 1377-82.

6. Perez GI, Knudson CM, Leykin L, Korsmeyer SJ, Tilly JL. Apoptosis-associated signaling pathways are required for chemotherapy-mediated female germ cell destruction. *Nat Med* 1997; 3, 11: 1228-32.

7. Damewood MD, Grochow LB. Prospects for fertility after chemotherapy or radiation for neoplastic disease. *Fertil Steril* 1986; 45: 443-59.

8. Stillman RJ, Schinfeld SJ, Schiff I. Ovarian failure in long-term survivors of childhood malignancy. *Am J Obstet* 1981; 139: 62-6.

9. Schlumberger M, De Vathaire F, Ceccarelli C, Delisle MJ, Francese C, Couette JE, Pinchera A, Parmentier C. Exposure to radioactive Iodine-131 for scintigraphy or therapy does not preclude pregnancy in thyroid cancer patients. *J Nucl Med* 1996; 37: 606-2.

10. Kaufman FR, Kogut MD, Donnell GN, Goebelsmann U, March C, Koch R. Hypergonadotropic hypogonadism in female patients with galactosemia. *N Engl J Med* 1981; 304: 994-7.

11. Cooper GS, Baird DD, Hulka BS, Weinberg CR, Savitz DA, Hughes CL Jr. Follicle-stimulating hormone concentrations in relation to active and passive smoking. *Obstet Gynecol* 1995; 85: 407-11.

12. Hoek A, Schoemaker J, Drexhage HA. Premature ovarian failure and ovarian autoimmunity. *Endocrinol Rev* 1997; 18: 107-34.

13. Irvine WJ, Chan MMW, Scarth L, Kolb FO, Hartog M, Bayliss RIS, Drury MI. Immunological aspects of premature ovarian failure associated with idiopathic Addison's disease. *Lancet* 1968; 2: 883-7.

14. Nagamine K, Peterson P, Scott H.S, et al. Positional cloning of the APECED gene. *Nat Genet* 1997; 17: 393-7.

15. The Finnish-German APECED Consortium. An autoimmune disease, APECED, caused by mutations in a novel gene featuring two PHD-type zinc-finger domains. *Nat Genet* 1997; 17: 399-403.

16. Winqvist O, Gebre-Medhin G, Gustafsson J, Ritzen EM, Lundkvist O, Anders Karlsson F, Kämpe O. Identification of the main gonadal autoantigens in patients with adrenal insufficiency and associated ovarian failure. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 1717-23.

17. Arif S, Vallian S, Farzaneh F, Zanone MM, James SL, Pietropaolo M, Hettiarachchi S, Vergani D, Conway GS, Peakman M. Identification of β 3-hydroxysteroid deshydrogenase as a novel target of steroid cell autoantibodies: association of autoantibodies with endocrine autoimmune disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 4439-45.

18. Luborsky JL, Visintin I, Boyers S, Asari T, Caldwell B, De Cherney A. Ovarian antibodies detected by immobilized antigen immunoassay in patients with premature ovarian failure. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 70: 69-75.

19. Chiauzzi V, Cigorruga S, Escobar ME, Rivarola MA, Charreau EH. Inhibition of Follicle-Stimulating Hormone receptor binding by circulating immunoglobulins. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 54: 1221-8

20. Anasti JN, Flack MR, Froehlich J, Nelson LM. The use of recombinant gonadotropin receptors to search for immunoglobulin G-mediated premature ovarian failure. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 824-8.

21. Teusher C, Wardell BB, Lunceford JK, Michael SD, Tung KS. Aod2, the locus controlling development of atrophy in neonatal thymectomy-induced autoimmune ovarian dysgenesis, co-localizes with I12, Fgf8, and Idd3. *J Exp Med* 1996; 183: 631-7.

22. Corenblum B, Rowe T, Taylor PJ. High-dose, short-term glucocorticoids for treatment of infertility resulting from premature ovarian failure. *Fertil Steril* 1993; 59: 988-91.

23. Singh RP, Carr DH. The anatomy and histology of XO human embryos and fetuses. *Anat Rec* 1966; 155: 369-83.

24. Ogata T, Matsuo N. Turner syndrome and female sex chromosome aberrations: deduction of the principal factors involved in the development of clinical features. *Hum Genet* 1995; 95: 607-29.

25. Krauss CM, Turksoy RN, Atkins L, Laughlin C, Brown LG, Page DC. Familial premature ovarian failure due to an interstitial deletion of the long arm of the X chromosome. *N Engl J Med* 1987; 317: 125-31.

26. Therman E, Laxova R, Susman B. The critical region on the human Xq. *Hum Genet* 1990; 85: 455-61.

TIRÉS À PART

P. Bouchard.

RÉFÉRENCES

27. Sala C, Arrigo G, Torri G, *et al.* Eleven X chromosome breakpoints associated with premature ovarian failure (POF) map to a 15-Mb Yac contig spanning Xq21. *Genomics* 1997; 40: 123-31.
28. Bione S, Sala C, Manzini C, *et al.* A human homologue of the *Drosophila melanogaster* diaphanous gene is disrupted in a patient with premature ovarian failure: evidence for conserved function in oogenesis and implications for human sterility. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 533-41.
29. Conway GS, Payne NN, Conway E, *et al.* A genetic study of familial and sporadic premature ovarian failure: screening for FSH mutations of the FSH receptor and ZFX genes and for FRAXA premutations. The Endocrine Society 1997, 79 th annual meeting.
30. Luoh SW, Bain PA, Polakiewick RD, Goodheart ML, Gardner H, Jaenisch R, Page DC. *Zfx* mutation results in small animal size and reduced germ cell number in male and female mice. *Development* 1997; 124: 2275-84.
31. Aittomäki K, Dieguez Lucena JL, Pakarinen P, *et al.* Mutation in the follicle-stimulating hormone receptor gene causes hereditary hypergonadotropic ovarian failure. *Cell* 1995; 82: 959-67.
32. Layman LC, Amde S, Cohen DP, Jin M, Xie J. The Finnish follicle-stimulating hormone receptor gene mutation is rare in North American women with 46, XX ovarian failure. *Fertil Steril* 1998; 69: 300-2.
33. Whitney EA, Layman LC, Chan A Lee PJ, Peak DB, McDonough PG. The follicle-stimulating hormone receptor gene is polymorphic in premature ovarian failure and normal controls. *Fertil Steril* 1995; 64: 518-24.
34. Beau I, Touraine P, Gougeon A, *et al.* A novel phenotype related to partial loss of function mutations of the follicle stimulating hormone receptor. *J Clin Invest* 1998; 102: 1352-9.
35. Latronico AC, Anastasi J, Arnhold IJP, Rapaport R, Mendonca BB, Bloise W, Castro M, Tsigos C, Chrousos GP. Testicular and ovarian resistance to luteinizing hormone caused by inactivating mutations of the luteinizing hormone-receptor gene. *N Engl J Med* 1996; 334: 507-11.
36. Toledo SPA, Brunner HG, Kraaij R, Post M, Dahia PLM, Hayashida CY, Kremer H, Themmen APN. An inactivating mutation of the luteinizing hormone receptor causes amenorrhea in a 46, XX Female. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 3850-4.
37. Amati P, Chomel JC, Nivelon-Chevallier A, Gilgenkrantz S, Kaplan J, Bonneau D. A gene for Bblepharophimosis-ptosis-epicanthus inversus syndrome maps to chromosome 3q22-q23. *Hum Genet* 1995; 96: 213-5.
38. Panidis D, Rouso D, Vavilis D, Skiadopoulos S, Kalogeropoulos A familial blepharophimosis with ovarian dysfunction *Hum Reprod* 1994; 4: 2034-7.
39. Smith A, Fraser IS, Shearman RP, Russel P. Blepharophimosis plus ovarian failure: a likely candidate for a contiguous gene syndrome. *J Med Genet* 1989; 26: 434-8.
40. Miller ME, Chatten J. Ovarian changes in ataxia telegiectasia. *Acta Paediatr Scand* 1967; 56: 559-61.
41. Barlow C, Hirotsune S, Paylor R, *et al.* *Atm*-deficient mice: a paradigm of ataxia telegiectasia. *Cell* 1996; 86: 159-71.
42. Matthews CH, Borgato S, Beck-Peccoz P, Adams M, Tone Y, Gambino G, Casagrande S, Tedeschini G, Benedetti A Chatterjee VKK. Primary amenorrhea and infertility due to a mutation in the β -subunit of follicle-stimulating hormone. *Nat Genet* 1993; 5: 83-6.
43. Layman LC, Lee EJ, Peak DB, Nannoum AB, VU KV, Van Lingen BL, Gray MR, McDonough PG, Reindollar RH, Jameson JL. Delayed puberty and hypogonadism caused by mutations in the follicle-stimulating hormone β -subunit gene. *N Engl J Med* 1997; 337: 607-11.
44. Brunie S, Delage MM. Structure tridimensionnelle des gonadotrophines. In Combarnous Y, Volland-Nail, eds. *Les gonadotrophines*. Paris: INRA, 1997: 27-39.
45. Kumar TR, Wang Y, Lu N, Matzuk MM. Follicle stimulating hormone is required for ovarian follicle maturation but not for male fertility. *Nat Genet* 1997; 15: 201-6.
46. Yu Hsh S, Jen-May Lai R, Finegold M, Hsueh AJW. Targeted overexpression of Bcl-2 in ovaries of transgenic mice leads to decreased follicle apoptosis, enhanced folliculogenesis, and increased germ cell tumorigenesis. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 137: 4837-43.
47. Ratts VS, Flaws JA, Kolp R, Sorenson CM, Tilly JL. Ablation of bcl-2 gene expression decreases the numbers of oocytes and primordial follicles established in the postnatal female mouse gonad. *Endocrinology* 1995; 136: 3665-8.
48. Erickson GF. Defining apoptosis: players and systems. *J Soc Gynecol Invest* 1997; 4; 5: 219-27.
49. Simon AM, Goodenough DA, Li E, Paul DL. Female infertility in mice lacking connexin 37. *Nature* 1997; 385: 525-8.
50. Guo Q, Kumar TR, Woodruff T, Hadsell LA, DeMayo FJ, Matzuk MM. Overexpression of mouse follistatin causes reproductive defects in transgenic mice. *Mol Endocrinol* 1998; 12: 96-106.
51. Dong J, Albertini DF, Nishimori K, Kumar TR, Lu N, Matzuk MM. Growth differentiation factor-9 is required during early ovarian folliculogenesis. *Nature* 1996; 383: 531-5.

Summary

Physiopathology of premature ovarian failure: facts and hypotheses

Premature ovarian failure (POF) is an heterogeneous syndrome. Women can present with primary amenorrhea or secondary amenorrhea occurring before the age of 40. Nearly 2% of the female population is affected by this disorder. Its pathophysiology still remains obscure. Different hypotheses can be proposed: a reduction in the number of primordial follicles, an accelerated or increased atresia, a defect in the genes involved in follicular recruitment and finally a blockade in follicular growth. Up to now, few causes have been identified: toxic, autoimmune and genetic. Chemotherapy and radiotherapy lead either to a reversible or to a permanent gonadal dysfunction, according to the type of drug, the doses and the patient's age at the time of treatment. Polyendocrinopathies and animal models seem to involve autoimmune disorders as a cause of premature ovarian failure. The mechanisms, through which mutations in the *AIRE* gene responsible for the APECED syndrome can lead to ovarian insufficiency, are still unknown. It is likely that studies on the function of the *AIRE* protein, a transcription factor, might improve our knowledge. Among genetic causes, X monosomy as in Turner syndrome or X deletions and translocations are known to be responsible for POF. The genes or the X chromosome involved in ovarian function are still unknown. Furthermore, autosomal abnormalities have been identified as mutations of LH and FSH genes, their receptor genes, chromosome 3q, Ataxia-telangiectasia genes, the *AIRE* gene. Meanwhile, the cause of POF remains idiopathic in most cases. In the future, a better knowledge of the cellular and biochemical components implied in folliculogenesis and apoptosis should elucidate the mechanisms of POF.