Journal de la Société de Biologie, 196 (3), 207-216 (2002)

Gènes de l'ovaire et pathologie moleculaire

par Sophie Christin-Maitre, Nathalie Ronci-Chaix, Philippe Bouchard

Service d'Endocrinologie, Unité EA1533 Génétique de la Reproduction Humaine, Hôpital Saint-Antoine, 184, rue du faubourg Saint-Antoine, 75012 Paris.

(Reçu le 10 juillet 2002)

RÉSUMÉ

Dans l'ovaire, les follicules primordiaux doivent franchir de nombreuses étapes pour atteindre le stade de follicule préovulatoire. Ces dernières années, de nouveaux gènes et donc de nouvelles protéines, ont été identifiés comme acteurs principaux de la folliculogenèse. Ces gènes interviennent à différents niveaux de la folliculogenèse. Les gènes *ATM*, *kit ligand* et son récepteur *c-kit*, sont nécessaires au maintien du pool de follicules primordiaux. *GDF-9* et *BMP15*, d'origine ovocytaire, jouent un rôle important dans la maturation folliculaire précoce. Les protéines pro ou anti-apoptotiques comme Bax et Bcl2 entrent en compétition au sein des cellules de la granulosa pour maintenir ou non la survie du follicule. La présence du récepteur de la FSH est nécessaire à la maturation du follicule au-delà du stade antral précoce. Le récepteur de la LH est nécessaire à l'ovulation du follicule.

De nombreux gènes doivent cependant encore être identifiés et leurs rôles dans l'ovaire doivent être précisés pour décrypter certaines pathologies ovariennes, en particulier les cas d'insuffisances ovariennes prématurées.

SUMMARY Genes involved in ovarian diseases

In the ovary, primordial follicles have to pass different stages in order to become preovulatory follicles. In the past few years, new genes and therefore new proteins have been recognized as major players in folliculogenesis. Atm, kit ligand and its receptor c-kit are necessary for the maintenance of ovarian follicle pool. GDF-9, BMP15, originating from the oocyte play a major role in early folliculogenesis. Pro and anti-apoptotic proteins such as Bax and Bcl2 compeet in granulosa cells, in order to maintain or not the follicle alive. FSH receptor is necessary for final follicular maturation, from the preantral stage and beyond. LH receptor is necessary for follicle ovulation.

However, new genes and their regulation need to be identified as many ovarian diseases such as premature ovarian failure are not yet clarified.

La folliculogenèse est un processus de croissance et de maturation des follicules ovariens, du stade de follicule primordial jusqu'au stade de follicule pré-ovulatoire. Le follicule primordial est constitué d'un ovocyte ou cellule germinale entouré d'une couche de cellules de la granulosa. Une réserve très importante de follicules primordiaux se constitue de manière définitive pendant la vie fœtale. De la puberté à la ménopause, environ 500 follicules matures vont atteindre le stade de l'ovulation, tous les autres follicules vont subir une dégénérescence, c'est l'atrésie folliculaire ou mort cellulaire programmée. L'apoptose est massive pendant la vie fœtale et se poursuit ensuite jusqu'à la ménopause. Pendant les 20 premières semaines de vie fœtale, les cellules germinales se multiplient rapidement pour atteindre le nombre maximal d'environ 6 à 7 millions. Pendant les 3 derniers mois de vie fœtale, les 2/3 de ces cellules sont détruites. Les ovaires possèdent environ 1 million d'ovocytes à la naissance, 300 000 à la puberté et 10 000 à l'âge de 40 ans (1). Lors de la dernière décade de la vie reproductive, la destruction folliculaire s'accélère et à l'âge de la ménopause, vers 50 ans, très peu de follicules sont encore présents au sein du tissu ovarien (2).

L'atrésie folliculaire est donc la destinée la plus fréquente d'un follicule ovarien puisque plus de 99 % des follicules qui entrent en croissance dégénèrent. Différents facteurs sont impliqués dans le mécanisme de mort cellulaire programmée. Deux formes d'atrésie follicu-

laire ont été décrites, l'une touchant l'ovocyte des follicules pré-antraux, l'autre ayant pour cible les cellules de la granulosa des follicules antraux (3). L'apoptose ou mort cellulaire programmée est contrôlée par des gènes qui modulent positivement ou négativement des enzymes de destruction de l'ADN, appelées les caspases. Certains gènes, comme *Bax* sont inducteurs de l'apoptose, d'autres, comme *Bcl-2* sont anti-apoptotiques. Les souris invalidées pour *Bcl-2* ont un nombre diminué de follicules primordiaux mais ces souris sont fertiles (4). Les souris invalidées pour le gène *Bax* maintiennent leur stock folliculaire. Les ovaires de ces souris contiennent un grand nombre de follicules primordiaux, l'apoptose des cellules de la granulosa est diminuée (5).

La folliculogenèse peut être séparée en deux phases (6) :

– la phase initiale, croissance folliculaire basale ou recrutement initial.

– la phase terminale, croissance folliculaire dépendante des gonadotrophines ou recrutement cyclique.

La première phase permet le recrutement initial d'une cohorte de follicules primordiaux et la croissance de ces follicules jusqu'au stade de follicules pré-antraux. Il a été mis en évidence des facteurs de croissance intra-ovariens capables de stimuler la croissance de quelques follicules pendant que la majorité des autres follicules primordiaux restent quiescents. Le mécanisme par lequel certains follicules primordiaux quittent le pool des follicules quiescents n'est pas connu. Le processus de croissance folliculaire basale est continu et lent. Il débute bien avant le début de la puberté. La durée du recrutement initial n'est pas connue de façon précise, elle est de plus de 220 jours soit environ 8 cycles. La phase de croissance du follicule primordial en folliculaire primaire a une durée non encore déterminée. La maturation de follicule primaire en follicule secondaire dure environ 120 jours et il faut 71 jours à un follicule secondaire pour atteindre le stade de follicule pré-antral (ou stade antral précoce, follicules mesurant 2 à 5 mm). Avant la puberté, les follicules qui quittent le pool des follicules quiescents, évoluent inévitablement vers l'atrésie. A partir de la puberté, un petit nombre de follicules pré-antraux échappent à l'atrésie abordant le recrutement cyclique. Les gonadotrophines pourraient avoir un rôle stimulant dans le recrutement initial bien que les récepteurs aux gonadotrophines ne soient pas présents avant le stade de follicule secondaire. Les principaux mécanismes contrôlant l'initiation de la croissance folliculaire semblent être des facteurs intra-ovariens. Le facteur Steel, appelé aussi kit-ligand, pourrait jouer un rôle important dans la croissance folliculaire initiale. Ce facteur est exprimé par les cellules de la granulosa des follicules en croissance. Son récepteur, c-kit, récepteur de la famille des tyrosine kinases, est exprimé par les ovocytes et les cellules de la thèque. L'invalidation du gène de kit-ligand chez la souris, entraîne un arrêt de la croissance folliculaire au stade de follicule primaire (7). L'ovocyte joue un rôle important dans la folliculogenèse par l'intermédiaire de protéines, telles que GDF-9 (« growth differentiation factor-9 ») et son homologue GDF-9B (également nommée BMP-15, « bone morphogenetic protein-15 ») (8). GDF-9 est une protéine homodimérique de la famille des TGFβ (« transforming growth factor β ») sécrétée par les ovocytes à partir du stade de follicules primaires. Chez la souris et chez la femme, l'ARNm de GDF-9 est exprimé par les ovocytes à tous les stades de développement folliculaire sauf au stade de follicule primordial (9, 10). Le modèle des souris invalidées pour le gène de GDF-9 a permis de mieux comprendre le rôle de ce facteur dans la folliculogenèse. En effet, l'absence de GDF-9 provoque un blocage de la croissance folliculaire au stade de follicule primaire 3b. Dans les ovaires de ces souris, les follicules primordiaux sont présents en grand nombre mais il n'y a pas de développement au-delà du stade de follicule primaire 3b (11). Les cellules de la granulosa ne se multiplient pas ; les ovocytes, après une phase de croissance rapide, sont détruits ; les marqueurs des cellules de la thèque sont absents (12). Les souris invalidées pour GDF-9B ou BMP-15 présentent une hypofertilité mais, contrairement aux souris invalidées pour GDF-9, il n'existe pas un blocage complet de la folliculogenèse (13). Il a été montré, chez la brebis Inverdale, l'existence d'une mutation du gène de BMP-15. Si la mutation est hétérozygote, les brebis présentent une augmentation de l'ovulation ; si la mutation est homozygote, les brebis ont une insuffisance ovarienne prématurée par blocage de la croissance folliculaire (14).

Après le recrutement initial, les follicules primaires se transforment en follicules secondaires, l'ovocyte grossit, les cellules de la granulosa prolifèrent et l'antrum se forme. La communication entre l'ovocyte et les cellules de la granulosa est indispensable pour le développement du follicule pré-antral. Il existe entre l'ovocyte et les cellules de la granulosa des jonctions gap qui permettent cette communication. Les jonctions gap sont des agrégats de canaux intercellulaires composés de connexine. La connexine 37 est présente dans les jonctions gap entre l'ovocyte et les cellules de la granulosa des follicules secondaires. Les souris invalidées pour le gène de la connexine 37 sont stériles. Chez ces souris, il existe un blocage de la folliculogenèse au stade de follicules secondaires. Les ovocytes n'atteignent pas la taille normale et ne peuvent poursuivre la méiose. On observe dans les ovaires de ces souris, des follicules jusqu'au stade secondaire mais peu de follicules antraux, pas de follicules pré-ovulatoires (et donc pas d'ovulation) et le développement de nombreux corps jaunes (15).

La seconde phase permet le recrutement et la croissance du follicule dominant pendant la première partie du cycle ovarien. Avant la puberté, les follicules en croissance évoluent obligatoirement vers l'atrésie. Après la puberté, un nombre limité de follicules antraux va évoluer vers le stade pré-ovulatoire sous l'effet cyclique des gonadotrophines. L'apoptose est également présente lors de cette seconde phase puisqu'elle survient à toutes les étapes du développement folliculaire. La croissance folliculaire terminale, qui correspond à la phase folliculaire

du cycle ovarien, est dépendante des gonadotrophines. Sa durée est de 14 jours. En début de phase folliculaire, 1 à 15 follicules antraux entrent dans le pool des follicules sélectionnables et seul un de ces follicules va évoluer vers le stade pré-ovulatoire, c'est le follicule dominant (6). L'augmentation de FSH en début de phase folliculaire permet le recrutement du follicule dominant. Sous l'action de la FSH, il existe une prolifération des cellules de la granulosa de ce follicule (16). Puis, le taux d'œstradiol augmente et le taux de FSH diminue. En fin de phase folliculaire, la croissance du follicule dominant dépend de la LH. Les cellules de la granulosa expriment le récepteur de la FSH (RFSH) et les cellules de la thèque expriment le récepteur de la LH (RLH). En accord avec la théorie « deux cellules-deux gonadotrophines », la production d'œstradiol par le follicule dominant dépend de la stimulation par la LH de la sécrétion d'androgènes des cellules de la thèque et de la stimulation par la FSH de l'aromatase (qui permet la synthèse d'œstrogènes à partir d'androgènes) des cellules de la granulosa. En fin de phase folliculaire, les cellules de la granulosa du follicule pré-ovulatoire expriment également RLH.

Même si les gonadotrophines sont le facteur de survie le plus important des follicules pré-ovulatoires, d'autres mécanismes hormonaux intra-folliculaires pourraient avoir un rôle non négligeable. Ainsi, GDF-9 a un rôle majeur dans la phase précoce de la folliculogenèse, c'est également un facteur indispensable dans la phase tardive. GDF-9 est sécrétée par les ovocytes des follicules pré-ovulatoires (10). Dans le follicule pré-ovulatoire, les cellules de la granulosa du cumulus sécrètent une matrice riche en acide hyaluronique responsable de l'expansion du cumulus. Ces cellules sont expulsées avec l'ovocyte lors de l'ovulation. GDF-9 induit l'expansion du cumulus par inhibition d'uPA « urokinase plasminogen activator », par stimulation de l'acide hyaluronique synthétase (HAS2) et donc augmentation de l'acide hyaluronique et par diminution de l'expression des récepteurs de la LH qui protège de la lutéinisation. GDF-9 joue un rôle important dans la survie du complexe ovocyte-cumulus en stimulant la production de progestérone par les cellules du cumulus *via* l'induction de stAR (« steroidogenic acute regulator proteine »). GDF-9 induit la synthèse de prostaglandines par stimulation de la cyclooxygénase 2 (COX2) (17). GDF-9 est donc un facteur paracrine sécrété par l'ovocyte, qui régule certaines enzymes des cellules de la granulosa impliquées dans l'expansion du cumulus et le maintien d'un environnement ovocytaire optimal indispensable pour une ovulation normale.

D'autres facteurs de croissance sont impliqués dans la physiologie ovarienne, comme par exemple, BMP-6 dont l'activité semble assez comparable à celle de BPM-15 (18). BMP-4 et BMP-7 ont également un rôle dans l'ovaire en régulant l'action de la FSH sur la production d'œstradiol et de progestérone. BMP-4 et BMP-7 sont exprimées dans les cellules de la thèque. Il semblerait que le système des BMP soit inhibiteur de la lutéinisation (19). GDF-9 et les BMP agissent *via* des récepteurs à sérine-thréonine kinase, les BMPR qui sont de trois types, BMPR1A, BMPR1B et BMPR2 et qui sont présents dans les cellules de la granulosa et les ovocytes. BMPR1B joue un rôle important dans la fonction de reproduction. En effet, les souris invalidées pour le gène de BMPR1B ont une hypofertilité secondaire à des anomalies de la follicologenèse. Les follicules pré-ovulatoires ont un défaut d'expansion du cumulus, les cellules de la granulosa produisent moins d'aromatase et l'expression de l'ARNm de COX2 est augmentée (20).

Les cas d'insuffisance ovarienne prématurée (IOP) définies par une hypoestrogénie et des gonadotrophines élevées avant l'âge de 40 ans chez la femme permettent d'identifier des gènes importants dans le fonctionnement ovarien. De nombreux modèles animaux d'IOP ont été décrits ces dix dernières années. Schématiquement, l'insuffisance ovarienne peut survenir par 3 mécanismes : une diminution de la réserve de follicules primordiaux, un blocage de la maturation folliculaire ou une accélération de l'apoptose.

DIMINUTION DE LA RÉSERVE DE FOLLICULES PRIMORDIAUX

Parmi les causes génétiques d'insuffisance ovarienne par diminution du pool de follicules primordiaux, est décrite une maladie autosomique récessive rare et grave, l'**ataxie-télangiectasie**. Les manifestations cliniques de cette maladie sont variées et associent une dégénérescence neurologique progressive (ataxie cérébelleuse, choreoathétose, dysfonctionnement oculomoteur...), des télangiectasies oculaires et cutanées, un déficit immunitaire, une sensibilité accrue aux radiations ionisantes et la survenue fréquente de lymphomes (dans 10 à 15 % des cas) (21). Les patientes atteintes de ce syndrome présentent également une insuffisance ovarienne prématurée avec des ovaires de petite taille, dépourvus de follicules primordiaux (22). L'ataxie-télangiectasie est une maladie d'évolution péjorative progressive entraînant le décès dans la seconde ou troisième décennie de la vie. Le gène de l'ataxie télangiectasie, *ATM*, a été cloné en 1995 par clonage positionnel (23). Il est situé sur le chromosome 11q22-23. *ATM* est impliqué dans la régulation du cycle cellulaire (23). Des mutations du gène *ATM* ont été détectées chez plus d'une centaine de patients. L'homologue murin, Atm, identifié en 1996, est situé sur le chromosome 9. Les souris invalidées pour le gène *ATM* ont un phénotype très proche de celui des patients atteints d'AT. Les ovaires des souris *ATM* -/- sont petits et ne possèdent pas de follicules primordiaux, ni matures, et pas non plus d'ovocytes (24).

Deux autres gènes sont associés à la déplétion du pool de follicules primordiaux : les **gènes de kit-ligand et de son récepteur c-kit**. Les souris dont le gène *c-kit* est muté, présentent un nombre effondré de cellules germinales et de follicules primordiaux (25). La mutation affectant la fonction de c-kit chez la femme ne semble pas être responsable d'infertilité féminine (26). La muta-

tion du gène de *kit-ligand* chez la souris entraîne un arrêt de la croissance folliculaire au stade de follicule primaire (7). Il n'existe pas d'équivalent identifié à ce jour dans l'espèce humaine.

Le gène *WnT4* pourrait être un autre gène candidat. En effet, les souris invalidées pour le gène *WnT4* présente une dégénérescence ovocytaire avec absence de follicules primordiaux. WnT4 serait un facteur nécessaire à la migration des cellules germinales (27).

BLOCAGE DE LA MATURATION FOLLICULAIRE

Ce type d'insuffisance ovarienne avec blocage de la maturation folliculaire a été appelé « syndrome de résistance aux gonadotrophines ». En effet, les patientes peuvent avoir des ovaires de taille normale avec des follicules visibles à l'échographie et une élévation des gonadotrophines sériques. Plusieurs causes génétiques d'insuffisance ovarienne par blocage de la folliculogenèse ont été décrites dans l'espèce humaine. Dans d'autres cas, il n'existe que des modèles animaux.

Ainsi, les **gènes *GDF-9* et *GDF-9B*** sont des gènes candidats puisque les souris invalidées pour ces gènes présentent une stérilité par blocage de la folliculogenèse à un stade très précoce. Mais, pour l'instant, il n'a pas encore été mis en évidence de mutation de ces gènes chez des femmes présentant une insuffisance ovarienne prématurée. Une seule étude a recherché cette mutation chez 15 patientes japonaises avec un résultat négatif (28).

De même, les souris invalidées pour le **gène de la connexine 37** présentent une infertilité par blocage de la folliculogenèse au stade de follicule secondaire (15). Néanmoins, il n'a pas été décrit chez la femme de mutation de ce gène.

Une découverte importante a été le premier cas de mutation inactivatrice **du gène du récepteur de la FSH.** La mutation Ala189Val, affectant le domaine extra-cellulaire du récepteur, a été identifiée chez 22 patientes finlandaises présentant une insuffisance ovarienne prématurée familiale (29). Les patientes homozygotes pour la mutation Ala189, ont une aménorrhée primaire avec des ovaires de taille sub-normale et des follicules bloqués au stade préantral (30). Dans d'autres pays, des mutations du gène du récepteur de la FSH ont été recherchées de façon systématique chez des patientes atteintes d'une insuffisance ovarienne prématurée. En Angleterre, aux Etats-Unis, au Japon et en Allemagne, ces recherches ont été négatives (31, 32) (33, 34). En France, deux cas ont été identifiés. Une patiente en aménorrhée secondaire est porteuse d'une mutation hétérozygote composite (Ile160Thr et Arg573Cys) responsable d'une perte de fonction partielle du récepteur de la FSH, (35). L'autre patiente a également une mutation hétérozygote composite (Asp224Val et Leu601Val), mais elle présente une aménorrhée primaire avec développement pubertaire normal (36). Ces maladies humaines ont depuis été confirmées par des modèles de souris invalidées pour le gène de la sous-unité β de la FSH et de souris invalidées pour le gène du récepteur de la FSH. Ces souris ont des ovaires de petite taille, avec des follicules qui ne peuvent se développer au delà du stade préantral (37-40).

Plusieurs cas de mutation inactivatrice **du gène du récepteur de la LH** ont été mis en évidence dans des familles où, auparavant, des cas de pseudohermaphrodisme masculin avaient été diagnostiqués chez des garçons. Les deux patientes décrites ont une aménorrhée primo-secondaire avec un développement mammaire normal (41, 42).

Des anomalies de la maturation folliculaire peuvent survenir dans des cas très rares **d'anomalies enzymatiques, comme le déficit en 17α-hydroxylase, le déficit en 17-20 desmolase, le déficit en StAR (« steroidogenic acute regulatory protein ») et le déficit en aromatase**.

Les patientes porteuses d'un **déficit en 17α-hydroxylase** présentent une aménorrhée primaire et une hypertension artérielle avec hypokaliémie (43). Des grossesses ont été rapportées chez ces femmes malgré des concentrations sériques très basses d'œstradiol (44). La symptomatologie clinique du **déficit en 17-20 desmolase** est très similaire puisque le cytochrome P450c17 catalyse l'activité de la 17α-hydroxylase et de la 17-20 desmolase.

La mutation du **gène StAR** entraîne une insuffisance surrénale par hyperplasie surrénalienne congénitale lipoïde (45). Dans les formes sévères, les stéroïdes surrénaliens et gonadiques ne sont pas du tout synthétisés et les patientes présentent une aménorrhée primaire avec absence de développement des caractères sexuels secondaires.

De rares cas de mutations de l'**aromatase** ont été décrits. Les patientes ont une aménorrhée primaire et de gros ovaires multikystiques (46).

Le rôle de l'auto-immunité dans la pathogénie de l'insuffisance ovarienne a été depuis longtemps suspecté du fait de l'association fréquente entre l'insuffisance ovarienne prématurée et d'autres maladies auto-immunes. Entre 10 et 30 % des patientes atteintes d'insuffisance ovarienne prématurée ont une maladie auto-immune associée, la plus fréquente étant l'hypothyroïdie. En dehors des polyendocrinopathies familiales, l'insuffisance ovarienne peut être associée à une myasthénie, un lupus, une polyarthrite rhumatoïde et à la maladie de Crohn.

Les **polyendocrinopathies auto-immunes** sont définies par l'existence, chez un même individu, d'au moins deux affections endocriniennes d'origine auto-immune. On en distingue deux formes, la polyendocrinopathie de type I ou APECED (« Autoimmune-Poly-Endocrinopathy-Candidiasis-Ectodermal Dystrophy ») et la polyendocrinopathie de type II.

La **polyendocrinopathie de type I ou APECED** est une maladie familiale rare dont la transmission est autosomique récessive. APECED, aussi fréquent chez l'homme que chez la femme, associe une candidose cutanéo-muqueuse chronique, de multiples endocrinopathies (hypoparathyroïdie, insuffisance surrénalienne, insuffisance ovarienne prématurée, diabète de type I, insuffi-

sance anté-hypophysaire, hypothyroïdie, hypophysite) et une atteinte ectodermique (alopécie, vitiligo, hypoplasie de l'émail dentaire, dystrophie unguéale) (47). Les premières manifestations surviennent dans l'enfance, les autres manifestations apparaissent progressivement jusqu'à la 5e décennie. Pour certains auteurs, l'insuffisance gonadique touche 60 % des femmes et 14 % des hommes (47) ; pour d'autres, seules les femmes sont atteintes (48). Le gène de la polyendocrinopathie de type I, appelé AIRE (« AutoImmune Regulator ») est localisé sur le chromosome 21q22-3 (49). Les fonctions de la protéine codée par AIRE et son rôle dans la survenue de l'insuffisance ovarienne demeurent inconnues. Une trentaine de mutations du gène AIRE ont été décrites. La mutation la plus fréquente en Finlande est R257X, mutation non sens qui remplace une arginine par un codon STOP (50). La mutation la plus fréquente chez les anglo-saxons est la délétion de 13 bp au niveau du nucléotide 964 (964del13) (51).

La **polyendocrinopathie de type II** est plus fréquente que le type I. Dans sa forme familiale, la transmission est autosomique récessive à pénétrance variable. Elle est fortement associée à certains allèles du complexe majeur d'histocompatibilité, notamment l'haplotype HLA A1-B8-DR3-DQ2. Cette maladie débute le plus souvent à l'âge adulte et s'observe préférentiellement chez la femme. Elle associe plusieurs endocrinopathies : maladie d'Addison, diabète de type I, hypothyroïdie, insuffisance ovarienne prématurée et des maladies auto-immunes : maladie de Biermer, vitiligo...La chronologie des atteintes endocriniennes est variable avec parfois un délai de plus de 15 ans entre la première et la dernière atteinte (52). 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 pathologie n'ont pas encore été identifiés.

Les antigènes cibles de l'ovaire, impliqués dans l'auto-immunité, sont mal connus. Certains anticorps sont considérés comme des marqueurs sérologiques de l'IOP, par exemple, les anticorps dirigés contre les cellules stéroïdiennes, SCA (« Steroid Cell Antibody »). Cependant, les SCA n'ont été mis en évidence que chez des patientes atteintes d'APECED (48). Les cibles antigéniques des SCA ont été recherchées. Deux auto-antigènes ont été identifiés dans les gonades. Ce sont des enzymes du cytochrome P450 (CYP) impliquées dans la synthèse des stéroïdes. Les anticorps anti-17alpha-hydroxylase (CYP17A) et les anticorps anti-20-22 desmolase (CYP11AA) sont associés au SCA (48).

Des auteurs 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 (53). Une autre cible antigénique des anticorps SCA, l'enzyme 3β-hydroxysteroïde déshydrogenase (3βHSD), responsable de la conversion de la pregnenolone en progestérone a été détectée de façon significative (54). Dans cette étude, 21 % des patientes présentent des anticorps anti-3βHSD versus 5 % chez les témoins. Des techniques ELISA (Enzymes Linked Immunosorbent assay) ont récemment été développées pour détecter des anticorps anti-ovariens sériques (55). 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. Ainsi, il a été retrouvé dans le sérum de deux patientes, atteintes d'insuffisance ovarienne et de myasthénie, des immunoglobulines inhibant la liaison de la FSH à son récepteur (56). Néanmoins, aucun anticorps dirigé contre le récepteur de la FSH et de la LH n'a été mis en évidence dans 38 sérums de patientes atteintes d'insuffisance ovarienne (57).

L'origine auto-immune d'une insuffisance ovarienne est difficile à démontrer en dehors d'un contexte familial auto-immun ou d'une insuffisance surrénalienne associée.

Le **BPES** (« blepharophemosis/ptosis/epicanthus inversus syndrome ») est une maladie génétique rare, autosomique dominante, associant un syndrome malformatif ophtalmique et une insuffisance ovarienne. Les malformations ophtalmiques comportent une réduction des fentes palpébrales (blépharophimosis), un ptosis et un épicanthus inverse. Il existe deux types de BPES, le BPES de type 1 qui associe les malformations ophtalmiques et une infertilité féminine (pas d'anomalie gonadique masculine) et le BPES de type 2 où seule l'anomalie ophtalmique est présente (58). Dans le BPES I, l'insuffisance ovarienne est intermittente avec un tableau clinique de « résistance ovarienne aux gonadotrophines » (59). Le gène putatif probablement en cause dans cette maladie a été récemment cloné, il s'agit du gène *FOXL2* (60). Ce gène est localisé sur le chromosome 3q23 et code pour une protéine qui est un facteur de transcription. Plusieurs mutations de *FOXL2* ont été identifiées chez des patients atteints de BPES. Il semble exister une corrélation génotype-phénotype. Des délétions et mutations non-sens conduisant à la production d'une protéine tronquée ont été retrouvées chez des patients BPES type 1. A l'inverse, les mutations décrites chez les patients BPES type 2 sont des duplications responsables de la formation de protéine plus longue (61). L'homologue murin *FOXL2* est exprimé au niveau des paupières et dans les follicules ovariens (60). On a donc supposé que *FOXL2* puisse avoir un rôle dans le maintien et le développement des follicules.

ACCÉLÉRATION DE L'APOPTOSE

L'augmentation de l'apoptose responsable d'insuffisance ovarienne prématurée peut être d'origine toxique :

Une des causes les plus fréquentes d'atrésie folliculaire accélérée est le traitement par **chimiothérapie**. Les drogues les plus toxiques pour les ovocytes sont les agents alkylants tels les moutardes azotées, le cyclophosphamide, le chlorambucil et le busulfan. Plus l'âge de la patiente est avancé au moment du traitement, plus l'insuffisance ovarienne risque de survenir. Ainsi, les

patientes de 40 ans présentent une aménorrhée pour une dose totale cumulée de 5,2 g de cyclophosphamide. Les patientes plus jeunes tolèrent une dose plus élevée de 9,5 g avant de devenir aménorrhéiques. Dans un groupe de femmes présentant une maladie de Hodgkin entre l'adolescence et l'âge de 40 ans, l'aménorrhée est définitive chez 12 à 46 % des patientes traitées par l'association de moutarde azotée, vincristine et procarbazine (62). Pour comprendre les mécanismes de la toxicité de la chimiothérapie sur l'ovaire, Tilly et col. ont étudié les effets de la doxorubicine (Adriamycine*) chez la souris (63). Elle entraîne *in vitro* une apoptose ovocytaire lorsque la cellule germinale est haploïde. Les auteurs ont ensuite étudié l'effet de cette drogue sur des souris transgéniques déficientes pour le gène Bax, gène promoteur de l'apoptose. Les follicules primordiaux de ces souris traitées (*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, la mort cellulaire des follicules induite par la DXR est abolie. Ainsi, ces expériences montrent que la doxorubicine active les voies de signalisation de l'apoptose. Les autres drogues utilisées en chimiothérapie exercent probablement leur toxicité ovarienne par la même voie, c'est à dire par accélération de l'apoptose. Cependant ce mécanisme n'a été démontré que pour la doxorubicine.

La toxicité ovarienne de la **radiothérapie** pourrait relever d'un mécanisme similaire. Ce mécanisme implique l'apoptose intraovarienne. 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 primordiaux 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 (64). 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 (65).

Des insuffisances ovariennes transitoires 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 col. 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 (66).

Des facteurs toxiques liés à l'environnement peuvent favoriser la survenue d'une insuffisance ovarienne prématurée. Ainsi, l'exposition humaine aux hydrocarbures aromatiques polycycliques et plus particulièrement au **tabac** induit une ménopause plus précoce (67). De même, chez les souris traitées par hydrocarbures aromatiques polycycliques, apparaît une insuffisance ovarienne par destruction ovocytaire. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques activent un récepteur appelé Ahr qui appartient à la famille des facteurs de transcription. L'exposition de souris aux hydrocarbures aromatiques polycycliques induit l'expression de Bax dans les ovocytes, ce qui a pour conséquence une augmentation de l'apoptose folliculaire (68). Ces lésions ovariennes sont prévenues chez les souris exposées aux hydrocarbures par l'inactivation du gène *Bax* ou du gène du récepteur aux hydrocarbures, *Ahr*. La liaison des hydrocarbures aromatiques polycycliques à leur récepteur Ahr induit l'activation d'un gène pro-apoptotique, le gène *Bax*. Par conséquent, les toxiques environnementaux, dont le tabac, sont responsables d'insuffisance ovarienne par accélération de l'apoptose.

Les autres causes d'insuffisance ovarienne par accélération de l'apoptose sont d'origine génétique :

La **galactosémie** est une maladie rare, autosomique récessive, secondaire à la mutation du gène de la galactose-1-phosphate uridyl transférase (GALT). Ce gène est localisé sur le chromosome 9p13. Le déficit enzymatique en GALT est responsable d'une accumulation intracellulaire, dans différents tissus, du galactose et de ses métabolites. La mise en route précoce d'un régime permet de diminuer les anomalies hépatiques, rénales et neurologiques mais pas l'atteinte ovarienne. Plus de 65 % des femmes atteintes de cette maladie ont une aménorrhée primaire ou secondaire avant l'âge de 30 ans (69). Le risque d'insuffisance ovarienne dans la galactosémie est plus important chez les femmes qui ont une activité enzymatique plus faible (70). A noter que les hommes atteints de galactosémie ont une fonction gonadique normale (69). Le mécanisme de l'atteinte ovarienne dans la galactosémie n'est pas connu mais il est probable que l'accumulation de galactose dans l'ovaire entraîne une augmentation de l'atrésie folliculaire.

L'insuffisance ovarienne prématurée par accélération de l'atrésie folliculaire peut être secondaire à **une anomalie du chromosome X**.

L'exemple le plus connu d'atrésie folliculaire accélérée dans l'espèce humaine est le **syndrome de Turner**. Les dysgénésies gonadiques ne sont pas des pathologies rares. La prévalence du syndrome de Turner est de 1 sur 2 500 naissances. Les patientes atteintes d'un syndrome de Turner peuvent présenter une petite taille, une dysgénésie gonadique, un syndrome dysmorphique : pterygium colli (cou palmé), cubitus valgus, brièveté des 4es métacarpiens, implantation basse des cheveux et des oreilles, lymphoedème des extrémités, dysplasie unguéale, écartement des mamelons, thorax en bouclier, voûte palatine ogivale, des naevi multiples ; des malformations rénales (rein unique, reins en fer à cheval), des malformations cardiaques (coarctation de l'aorte, communication inter-auriculaire) et des endocrinopathies (diabète, hypothyroïdie) (71). Les variations du syndrome de Turner sont phénotypiques mais aussi génotypiques. Le caryotype le plus fréquent est 45X mais il existe également des mosaïques 45X/46XX ou d'autres mosaïques. S'il existe du matériel Y, une gonadectomie

doit être pratiquée afin d'éviter le risque potentiel de gonadoblastome (72). Peu de patientes présentent une puberté spontanée, la majorité ont une aménorrhée primaire, très rares sont les grossesses. Les ovaires de ces patientes sont réduits à des bandelettes fibreuses. Le nombre d'ovocytes est normal jusqu'à 20-24 semaines de vie fœtale puis survient une atrésie très rapide des cellules germinales (73). 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 2 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) absents sur l'un des deux chromosomes, une anomalie de l'ovogenèse surviendra par haploinsuffisance (74).

L'insuffisance ovarienne prématurée peut être secondaire à l'absence complète d'un des deux chromosome X (c'est le cas du syndrome de Turner) ou à des anomalies qualitatives de ce chromosome. Les **anomalies du bras court du chromosome X** sont responsables de phénotype proche de celui du syndrome de Turner avec petite taille et dysgénésie ovarienne. Le phénotype peut varier en fonction de l'importance de la délétion (75). Les **anomalies du bras long du chromosome X**, telle la délétion Xq21-Xq27, sont plus souvent responsables d'insuffisance ovarienne isolée (76). Le degré de sévérité de l'insuffisance ovarienne, dans le cas de délétions des portions terminales du bras long du chromosome X, semble être proportionnel à l'importance de la dimension de la délétion (74). La fonction gonadique est modérément altérée 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 (77). La région comprenant les deux segments Xq13-q22 et Xq22-q26 (séparés par une petite portion de Xq22) a été identifiée comme « région critique » pour le fonctionnement de l'ovaire (78). La grande largeur de cette région rend peu probable l'hypothèse d'un gène unique dans la genèse de l'insuffisance ovarienne. Les différents gènes impliqués ne sont pas connus. Le **gène *DIA*** semble être un gène candidat. Un point de cassure en Xq21 dans le gène *DIA* a été rapporté dans une famille d'insuffisance ovarienne (79). Ce gène a été identifié par homologie avec le gène *DIA* de la drosophile (*Drosophila melanogaster Diaphanous*). Les mutations du gène *DIA* affectent l'ovogenèse et entraînent une stérilité chez la mouche. L'analyse d'un grand nombre de patientes pourraient préciser le rôle du gène *DIA* dans le développement de l'ovaire. Pour l'instant, il n'a pas été mis en évidence d'autres cas de patientes présentant une insuffisance ovarienne prématurée par anomalie du gène *DIA*. Un autre gène candidat pourrait être le **gène *XPN-PEP2*** situé sur le bras long du chromosome X et dont neuf translocations, points de cassure ont été décrits (80). Un autre gène candidat du bras long du chromosome X est le **gène *FMR1*** (« fragile mental retardation »), situé en Xq27.3 (81). 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 *FMR1*. Le gène muté est porteur d'une répétition anormale d'un triplet CGG. Chez le sujet atteint, le nombre de triplets est supérieur à 200. Chez le sujet pré-muté, donc asymptomatique et transmetteur de la maladie, le nombre de triplets est compris entre 60 et 200. Chez le sujet sain, le nombre de triplets est inférieur à 60. Récemment, il a été mis en évidence une association entre la pré-mutation X-FRA et l'insuffisance ovarienne prématurée, en particulier dans sa forme familiale. Le mécanisme de cette association n'est pas connu. Dans une série de près de 400 patientes porteuses de la pré-mutation, 16 % d'entre elles ont présenté une ménopause avant l'âge de 40 ans (82). De plus, lorsque la pré-mutation est recherchée de façon systématique chez des patientes atteintes d'insuffisance ovarienne prématurée, elle est retrouvée dans environ 3 % des cas d'insuffisance ovarienne sporadique et dans environ 12 % des cas d'insuffisance familiale (83, 84). Enfin, même chez des patientes qui conservent des cycles réguliers, il existe des stigmates de dysfonctionnement ovarien chez les patientes porteuses de la pré-mutation : leur taux de FSH est plus élevé que chez les témoins (85).

Des cas d'IOP ont été décrits chez des patientes 47XXX. Un autre gène candidat situé sur le bras court du chromosome X est le **gène *ZFX*** dont l'homologue murin est le gène *ZFX*. Les souris invalidées pour le gène *ZFX* ont une vie reproductive écourtée. L'examen histologique des ovaires révèle une réduction du nombre de cellules germinales (86). Néanmoins, aucune mutation du gène *ZFX* n'a été retrouvée chez des femmes atteintes d'insuffisance ovarienne prématurée.

En conclusion, lors de ces dix dernières années, certains cas cliniques de patientes avec une insuffisance ovarienne prématurée mais aussi de nombreux modèles animaux ont permis une meilleure connaissance des gènes nécessaires au maintien du fonctionnement de l'ovaire. Cependant, il reste à l'heure actuelle de grandes zones d'ombre puisque l'étiologie des insuffisances ovariennes prématurées reste inconnue dans plus de 90 % des cas dans l'espèce humaine. Des études génétiques en particulier sur les cas familiaux d'IOP devraient permettre d'identifier de nouveaux gènes cruciaux dans le fonctionnement ovarien.

BIBLIOGRAPHIE

1. Baker T. G. A quantitative and cytological study of germ cells in human ovaries. Proceedings of the Royal Society of London, 1963, *158*, 417-433.
2. Richardson S. J., Senikas V., Nelson J. F. Follicular depletion during the menopausal transition: evidence for accelerated loss and ultimate exhaustion. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1987, *65*, 1231-1237.
3. Monniaux D., Mandon-Pépin B., Monget P. L'atrésie follicu-

laire, un gaspillage programmé. *Médecine/sciences*, 1999, *15*, 157-166.
4. Ratts V., Flaws J., Kolp R., Sorenson C., Tilly J. Ablation of bcl-2 gene expression decreases the numbers of oocytes and primordial follicles established in the post-natal female mouse gonad. *Endocrinology*, 1995, *136*, 3665-3668.
5. Perez G., Robles R., Knudson C., Flaws J., Korsmeyer S., Tilly J. Prolongation of ovarian lifespan into advanced chronological age by Bax-deficiency. *Nat genet.*, 1999, *21*, 200-203.
6. McGee E., Hsueh A. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endoc. rev.*, 2000, *21*, 200-214.
7. Kuroda H., Terada N., Nakayama H., Matsumoto K., Kitamura Y. Infertility due to growth arrest of ovarian follicles in Sl/Slt mice. *Dev Biol.*, 1988, *126*, 71-79.
8. Dong J., Albertini D., Nishimori K., Kumar T., Lu N., Matzuk M. Growth differentiation factor-9 is required during early ovarian folliculogenesis. *Nature*, 1996, *383*, 531-535.
9. McGrath S, Esquela A, Lee S-J. Oocyte-specific expression of growth/differentiation factor-9. *Mol. Endocrinol.*, 1995, *9*, 131-136.
10. Aaltonen J., Laitinen M., Vuojolainen K. *et al.* Human growth differentiation factor 9 (GDF-9) and its novel homolog GDF-9B are expressed in oocytes during early folliculogenesis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1999, *84*, 2744-2750.
11. Carabatsos M., Elvin J., Matzuk M., Albertini D. Characterization of oocyte and follicle development in growth differentiation factor-9-deficient mice. *Dev. Biol.*, 1998, *203*, 373-384.
12. Elvin J., Yan C., Wang P., Nishimori K., Matzuk M. Molecular characterization of the follicle defects in the growth differentiation factor 9-deficient ovary. *Mol. Endocrinol.*, 1999, *13*, 1018-1034.
13. Yan C., Wang P., Demayo F. *et al.* Synergistic roles of bone morphogenetic proteine 15 and growth differentiation factor-9 in ovarian function. *Mol. Endocrinol.*, 2001, *15* (6), 854-866.
14. Galloway S., McNatty K., Cambridge L. *et al.* Mutations in an oocyte-derived growth factor gene (BMP15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner. *Nat. genet.*, 2000, *25*, 279-282.
15. Simon A., Goodenough D., Li E., Paul D. Female infertility in mice lacking connexin 37. *Nature*, 1997, *385*, 525-529.
16. Gougeon A. Regulation of ovarian follicular development in primates: facts and hypotheses. *Endoc. Rev.*, 1996, *17*, 121-155.
17. Elvin J., Clark A., Wang P., Wolfman N., Matzuk M. Paracrine actions of Growth Differentiation Factor-9 in the mammalian ovary. *Mol. Endocrinol.*, 1999, *13*, 1035-1048.
18. Otsuka F., Moore R., Shimasaki S. Biological function and cellular mechanism of bone morphogenenetic proteine-6 in the ovary. *J. Biol. Chem.*, 2001, *276* (35), 32889-32895.
19. Shimasaki S., RJ Z., Li D. *et al.* A functionnal bone morphogenetic protein system in the ovary. Proceedings of the Royal Society of London. 1999, *96*, 7282-7287.
20. YI S., Lapolt P., Yoon B., Chen J., Lu J., Lyons K., The type 1 BMP receptor BMPR1B is essential for female reproductive function. Proceedings of the Royal Society of London, 2001, *98* (14), 7494-7999.
21. Boder E. Ataxia-telangiectasia: some historic, clinical and pathological observations. *Birth Defects*, 1975, *11*, 255-270.
22. Miller M., Chatten J. Ovarian changes in ataxia telangiectasia. *Acta Paediatr. Scand.*, 1967, *56*, 559-561.
23. Savitsky K., Sfez S., Tagle D. *et al.* The complete sequence of the coding region of the ATM gene reveals similarity to cell cycle regulators in different species. *Hum. Mol. Genet.*, 1995, *4*, 2025-2032.
24. Barlow C., Hirotsune S., Paylor R. *et al.* Atm-deficient mice: a paradigm of ataxia telangiectasia. *Cell*, 1996, *86*, 159-171.
25. Manova K., Huang E., Angeles M. *et al.* The expression pattern of the c-kit ligand in gonads of mice supports a role for c-kit receptor in oocyte growth and in proliferation of spermatogonia. *Dev Biol.*, 1993, *157*, 85-99.
26. Ezoe K, holmes S, Ho L *et al.* Novel mutations and deletions of the KIT (steel factor receptor) gene in human piebaldism. *Am. J. Hum. Genet.*, 1995, *56*, 58-66.
27. Vainio S., Heikkila M., Kispert A., Chin N., McMahon A. Female development in mammals is regulated by Wnt-4 signalling. *Nature*, 1999, *397*, 405-409.
28. Takebayashi K., Takakura K., Wang H.-Q., Kimura F., Kasahara K., Noda Y., Mutation analysis of the growth differentiation factor-9 and -9B genes in patients with premature ovarian failure and polycystic ovary syndrome. *Fertil steril.*, 2000, *74*, 976-979.
29. Aittomäki K., Dieguez L., Pakarinen P. *et al.* Mutation in the Follicle-Stimulating Hormone receptor gene causes hereditary hypergonadotropic ovarian failure. *Cell*, 1995, *82*, 959-967.
30. Aittomäki K., Herva R., Stenman U. *et al.* Clinical features of primary ovarian failure caused by a point mutation in the follicle-stimulating hormone receptor gene. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1996, *81*, 3722-3726.
31. Whitney E., Layman L., Chan A., Lee P., Peak D., McDonough P. The follicle-stimulating hormone receptor gene is polymorphic in premature ovarian failure and normal controls. *Fertil steril.*, 1995, *64*, 518-524.
32. Layman L., Amde S., Cohen D., 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*, 300-302.
33. Conway G., Conway E., Walker C., Hoppner W., Gromoll J., Simoni M. Mutation screening and isoform prevalence of the follicle stimulating hormone receptor gene in woman with premature ovarian failure, resistant ovary syndrome and polycystic ovary syndrome. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*, 1999, *51*, 97-99.
34. Simoni M., Gromoll J., Nieschlag E The follicle-stimulating hormone receptor: biochemistry, molecular biology, physiology and pathophysiology. *Endoc. Rev.*, 1997, *18*, 739-773.
35. Beau I., Touraine P., Meduri G. *et al.*, A novel phenotype related to partial loss of function mutations of the follicle stimulating hormone receptor. *J. Clin. Invest.*, 1998, *102*, 1352-1359.
36. Touraine P., Beau I., Gougeon A. *et al.* New natural inactiviting mutations of the follicle-stimulating hormone receptor: correlations between receptor function and phenotype. *Mol. Endocrinol.*, 1999, *13* (11), 1844-1854.
37. Kumar T., Wang Y., Lu N., Matzuk M., Follicle stimulating hormone is required for ovarian follicle maturation but not for male fertility. *Nat. genet.*, 1997, *15*, 201-206.
38. Dierich A., Sairam M., Monaco L. *et al.* Impairing follicle-stimulating hormone (FSH) signaling *in vivo*: targeted disruption of the FSH receptor leads to aberrant gametogenesis and hormonal imbalance. PNAS, 1998, *95*, 13612-13617.
39. Abel M., Wootton A., Wilkins V., Huhtaniemi I., Knight P., Charlton H. The effect of a null mutation in the follicle-stimulating hormone receptor gene on mouse reproduction. *Endocrinology*, 2000, *141*, 1795-1803.
40. Danilovich N., Babu P., Xing W., Gerdes M., Krishnamurthy H., Sairam M., Estrogen deficiency, obesity and skeletal abnormalities in follicle-stimulating hormone receptor knockout (FORKO) female mice. *Endocrinology*, 2000, *141*, 4295-4308.
41. Latronico A., Anasti J., Arnhold I. *et al.* Testicular and ovarian resistance to luteinizing hormone caused by inactivating

mutations of the luteinizing hormone receptor gene. *NEJM*, 1996, *334*, 507-511.

42. Toledo S., Brunner H., Kraai J. *et al.* An inactivating mutation of the luteinizing hormone receptor causes amenorrhea in a 46 XX female. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1996, *81*, 3850-3854.
43. Kagimoto M., Winter J., Kagimoto K., Simpson E., Waterman M. Structural characterisation of normal and mutant steroid 17-alpha-hydroxylase genes: molecular basis of one example of combined 17-alpha-hydroxylase/17,20 lyase deficiency. *Mol. Endocrinol.*, 1988, *2*, 564-570.
44. Rabinovici J., Blankstein J., Goldman B., Rudak E., Dor Y., Pariente D. *In vitro* fertilization and primary embryonic cleavage are possible in 17alpha-hydroxylase deficiency despite extremely low intrafollicular 17beta-estradiol. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1989, *68*, 693-697.
45. Bose H., Sugawara T., Strass J., Miller W. The pathophysiology and genetics of congenital lipoid adrenal hyperplasia. *NEJM*, 1996, *335*, 1870-1878.
46. Morishima A., Grumbach M., Simpson E., Fisher C., Qin K. Aromatase dediciency in male and female siblings caused by a novel mutation and the physiological role of estrogens. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1995, *80*, 3689-3698.
47. Ahonen P., Myllärniemi S., Sipilä I., Perheentupa J. Clinical variation of autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy (APECED) in a series of 68 patients. *NEJM*, 1990, *322*, 1829-1836.
48. Betterle C., Greggio N., Volpato M. Autoimmune polyglandularsyndrome type 1. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1998, *83*, 1049-1055.
49. Aaltonen J., Björses P., Sankuijl L., Perheentupa J., Peltonen L. An autosomal locus causing autoimmune disease: auto-immune polyglandular disease type I assigned to chromosome 21. *Nat. genet.*, 1994, *8*, 83-87.
50. Nagamine K., Peterson P., Scott H. *et al.* Positional cloning of the APECED gene. *Nat. genet.*, 1997, *17*, 393-398.
51. Pearce S., Cheetham T., Imrie H. *et al.* A common and recurrent 13-bp deletion in the autoimmune regulator gene in British kindreds with autoimmune polyendocrinopathy type 1. *Am. J. Hum. Genet.*, 1998, *63*, 1675-1684.
52. Betterle C., Rossi A., Dalla Pria S. *et al.* Premature ovarian failure: autoimmunity and natural history. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*, 1993, *39*, 35-43.
53. Winqvist O., Gebre-Medhin G., Gustafsson J. *et al.* Identification of the main gonadal autoantigens in patients with adrenal insufficiency and associated ovarian failure. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1995, *80*, 1717-1723.
54. Arif S., Vallian S., Farzaneh F. *et al.*, Identification of 3beta-hydroxysteroideshydrogenase as a novel target of steroid cell autoantibodies: association of autoantibodies with endocrine autoimmune disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1996, *81*, 4439-4445.
55. Luborsky J., 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.
56. Chiauzzi V., Gigorraga S., Escobar M., Rivarola M., Charreau E. Inhibition of follicle-stimulating hormone receptor binding by circulating immunoglobulins. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1982, *54*, 1221-1228.
57. Anasti J., Flack M., Froehlich J., Nelson L. The use of recombinant gonaditropin receptors to search for immunoglobulin G mediated premature ovarian failure. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1995, *80*, 824-828.
58. Zlotogora J., Sagi M., Cohen T. The blepharophemosis, ptosis, and epicanthus inversus syndrome: delineation of two types. *Am. J. Hum. Genet.*, 1983, *35*, 1020-1027.
59. Oley C., Baraitser M. Blepharophimosis, ptosis, epicanthus inversus syndrome (BPES syndrome). *J. Med. Genet.*, 1988, *25*, 47-51.
60. Crisponi L., Deiana M., Loi A. *et al.* The putative fokhead transcription factor FOXL2 is mutated in blepharophimosis/ptosis/epicanthus inversus syndrome. *Nat. genet.*, 2001, *27*, 159-163.
61. De Baere E., Dixon M., Small K. *et al.* Spectrum of FOXL2 gene mutations in blepharophimosis-ptosis-epicanthus inversus (BPES) families demonstrates a genotype-phenotype correlation. *Hum. Mol. Genet.*, 2001, *10* (15), 1591-1600.
62. Horning S., Hoppe R., Kaplan H., Rosenberg S. Female reproductive potential after treatment for Hodgkin's disease. *NEJM*, 1981, *23*, 1377-1382.
63. Perez G., Knudson C., Leykin L., Korsmeyer S., Tilly J. Apoptosis-associated signaling pathways are required for chemotherapy-mediated female germ cell destruction. *Nat. med.*, 1997, 3 (11), 1228-1232.
64. Damewood M., Grochow L. Prospects for fertility after chemotherapy or radiation for neoplasic disease. *Fertil steril.*, 1986, *45*, 443-459.
65. Stillman R., Schinfeld S., Schiff I. Ovarian failure in long-term survivors of childhood malignancy. *Am. J. Obstet.*, 1981, *139*, 62-66.
66. Schlumberger M., De Vathaire F., Ceccarelli C. *et al.* Exposure to radioactive iodine-131 for scintigraphy or therapy does not preclude pregnancy in thyroid cancer patients. *J. Nucl. Med.*, 1996, 37 (4), 612-615.
67. Jick H., Porter J. Relation between smoking and age of natural menopause. Report from the Boston collaborative Drug Surveillance Program, Boston University Medical center. *Lancet*, 1977, *1*, 1354-1355.
68. Matikainen T., Perez G., Jurisicova A. *et al.* Aromatic hydrocarbon receptor-driven Bax gene expression is required for premature ovarian failure caused by biohazardous environmental chemicals. *Nat. genet.*, 2001, *28*, 355-360.
69. Kaufman F., Kogut M., Donnell G., Goebelsmann U., March C., Koch R. Hypergonadotropic hypogonadism in female patients with galactosemia. *NEJM*, 1981, *304*, 994-998.
70. Guerrero N., Singh R., Manatunga A., Berry G., Steiner R., Elsas Ln. Risk factors for premature ovarian failure in females with galactosemia. *J. Pediatr.*, 2000, *137* (6), 833-841.
71. Saenger P. Turner's syndrome. *NEJM*, 1996, *335*, 1749-1754.
72. Binder G., Koch A., Wajs E., Ranke M. Evaluation of « hidden Y-chromosome » in Turner's syndrome: a review of screening results. In: Albertsson-Wikland K., Ranke M., eds. Turner's syndrome in a life-span perspective: research and clinical aspects. Amsterdam: Elsevier, 1995, 25-32.
73. Singh R., Carr D. The anatomy and histology of X0 human embryos and fetuses. *Anat. Rec.*, 1966, *155*, 369-383.
74. 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*, 607-629.
75. Ogata T., Muroya K., Matsuo N. *et al.* Turner syndrome and Xp deletions: clinical and molecular studies in 47 patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2001, *86*, 5498-5508.
76. Krauss C., Turksoy R., Atkins L., Laughlin C., Brown L., Page D. Familial premature ovarian failure due to an interstitial deletion of the long arm of the X chromosome. *NEJM*, 1987, *317*, 125-131.
77. 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*, 123-131.
78. Therman E., Laxova R., Susman B. The critical region on the human Xq. *Hum. Genet.*, 1990, *85*, 455-461.

79. Bionc 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*, 533-541.
80. Prueitt R., Ross J., Zinn A. Physical mapping of nine Xq translocation breakpoints and identification of XPNPEP2 as a premature ovarian failure candidate gene. *Cytogenet. Cell Genet.*, 2000, *89*, 44-50.
81. Rousseau F., Heitz D., Biancanala V. *et al.* Direct diagnosis by DNA analysis of the fragile X syndrome of mental retardation. NEJM, 1991, 12, *325* (24), 1673-1681.
82. Allingham-Hawkins D., Babul-Hirji R., Chitayat D. *et al.* Fragile X premutation is a significant risk factor for premature ovarian failure: the International collaborative POF in fragile X study-preliminary data. *Am. J. Med. Genet.*, 1999, 2, *83* (4), 322-325.
83. Conway G., Payne N., Webb J., Murray A., Jacobs P. Fragile X premutation sceening in women with premature ovarian failure. *Hum. reprod.*, 1998, *13* (5), 1184-1187.
84. Marozzi A., Vegetti W., Manfredini E. *et al.* Association between idiopathic premature ovarian failure and fragile X premutation. *Hum. Reprod.*, 2000, *15* (1), 197-202.
85. Hundscheid R., Braat D., Kiemeney L., Smits A., Thomas C. Increased serum FSH in female fragile X premutation carriers with either regular menstrual cycles or on oral contraceptives. *Hum. Reprod.*, 2001, *16*, 457-462.
86. Luoh S., Bain P., Polakiewick R. *et al.* Zfx mutation results in small animal size and reduced germ cell number in male and female mice. *Dev.*, 1997, *124*, 2275-2284.

Séance du 19 septembre 2001