

COMMENT L'OVAIRE VIEILLIT-IL?

par **Thao BUI** et **Sophie CHRISTIN-MAITRE** (Paris)

Le vieillissement ovarien se traduit par une déplétion folliculaire ainsi qu'une diminution de la qualité ovocytaire. La réserve ovarienne s'épuise progressivement essentiellement par apoptose ovocytaire mais aussi par le développement folliculaire. Les conséquences sont la diminution de la fertilité avec l'âge et la survenue d'une hypoestrogénie. Les premiers signes de vieillissement ovarien sont le raccourcissement des cycles ovariens, une augmentation du taux de grossesses gémellaires puis une absence de réponse ovarienne aux stimulations par les gonadotrophines. Ce vieillissement est déterminé notamment par une balance entre les gènes impliqués dans le maintien du pool de follicules et les gènes impliqués dans la perte folliculaire. L'ovocyte joue un rôle déterminant dans le devenir du follicule. Les méthodes d'exploration de la réserve ovarienne sont basées classiquement sur les dosages hormonaux, de FSH et d'estradiol à J3 du cycle. L'échographie pelvienne est utile pour le compte de follicules antraux au troisième jour du cycle. À ce jour, l'hormone anti-müllérienne (AMH) est le meilleur test de réserve folliculaire. Son dosage est indépendant du cycle. En pathologie, l'apoptose ovocytaire peut être accélérée par la radio-chimiothérapie, le tabagisme ou le syndrome de Turner. L'étude des mécanismes du vieillissement ovarien devrait permettre d'envisager des traitements pour préserver la réserve ovarienne.

Mots-clé : vieillissement ovarien, apoptose, ovocyte, hormone anti-müllérienne, infertilité

INTRODUCTION

Le vieillissement ovarien se définit par une réserve folliculaire qui diminue et une ovulation qui devient moins fréquente. La réserve folliculaire est maximale au cinquième mois de la vie intra-utérine. Ce phénomène de vieillissement est la conséquence de deux mécanismes, l'un conduisant à l'apoptose ovocytaire et folliculaire prédominant dans la vie fœtale et néo-natale, l'autre conduisant au développement folliculaire existant toute la vie jusqu'à épuisement du stock folliculaire au moment de la ménopause (1). Dès l'âge de 30 ans, l'activité ovarienne décline et ce phénomène s'accélère à partir de 38 ans. Progressivement, le taux de FSH s'élève et la sécrétion d'estradiol reste souvent élevée pendant plusieurs années. On observe initialement un raccourcissement des cycles menstruels, puis une irrégularité des cycles qui sont les témoins du vieillissement ovarien. Le stade suivant est caractérisé par l'épuisement folliculaire, signant la ménopause. La conséquence est la diminution progressive de la fertilité avec l'âge. Au cours de la vie d'une femme, l'épuisement de la réserve ovarienne est déterminé par un ensemble de facteurs génétiques et environnementaux.

L'objectif de cette revue est de présenter l'état de nos connaissances sur le vieillissement ovarien, en tentant de mettre en avant les principaux facteurs qui le régulent. Nous évoquerons les mécanismes physiologiques et pathologiques du vieillissement ovarien.

DESCRIPTION DU VIEILLISSEMENT OVARIEN PHYSIOLOGIQUE

La diminution du nombre des follicules au cours du vieillissement

Le vieillissement ovarien qui altère à la fois la folliculogénèse et la stéroïdogénèse est un phénomène inéluctable dans l'ovaire. Il existe au cours de la vie une déplétion folliculaire et une diminution de la qualité ovocytaire de manière physiologique. Le vieillissement

ovarien débute dès le cinquième mois de la vie intra-utérine chez la petite fille. À cette période, 6 à 7 millions de follicules primordiaux sont présents. Une décroissance progressive par un phénomène d'apoptose surviendrait dès la fin de la vie intra-utérine. Le nombre de follicules primordiaux à la naissance serait de 1 million, il atteindrait 300 000 à la puberté, 25 000 à l'âge de 37,5 ans pour aboutir à environ 1 500 à la ménopause, survenant en moyenne à l'âge de 51 ans. Un modèle mathématique a été développé par Faddy et coll., en 1995, pour décrire les taux de croissance et de mort des follicules dans les ovaires humains entre l'âge de 19 et de 50 ans. Ce modèle a été développé suite à une étude histologique de 52 ovaires normaux, réalisée par Alain Gougeon. La perte folliculaire serait biphasique, car elle s'accroît après l'âge de 37 ans (2). Un nouveau modèle a été proposé en 2008 par Hansen et coll., utilisant des techniques modernes d'évaluation du nombre de follicules chez des individus de 0 à 51 ans (figure 1). Cette étude a montré un déclin monophasique avec une perte progressive tout au long de la vie (3). Le groupe de Wallace a repris toutes les données histologiques de la littérature. Cette analyse estime que 95 % des femmes de 30 ans, possèdent moins de 12 % du stock initial de follicules et qu'à l'âge de 40 ans, il reste moins de 3 % du stock initial (4). Au total, près de 99,9 % des follicules primordiaux sont destinés à « mourir », puisqu'au maximum 400 follicules primordiaux atteignent le stade de follicule préovulatoire au cours de la vie d'une femme. Ainsi seule une partie infime de la réserve entre en croissance au cours de chaque cycle, les autres follicules restant au stade de quiescence ou follicules dormants. Cette période de quiescence peut être longue puisque chez la femme elle atteint environ 50 ans.

L'apoptose ou mort cellulaire programmée est observée tout au long de la vie reproductive et est indépendante du cycle. Elle résulte d'une cascade d'événements suite à un

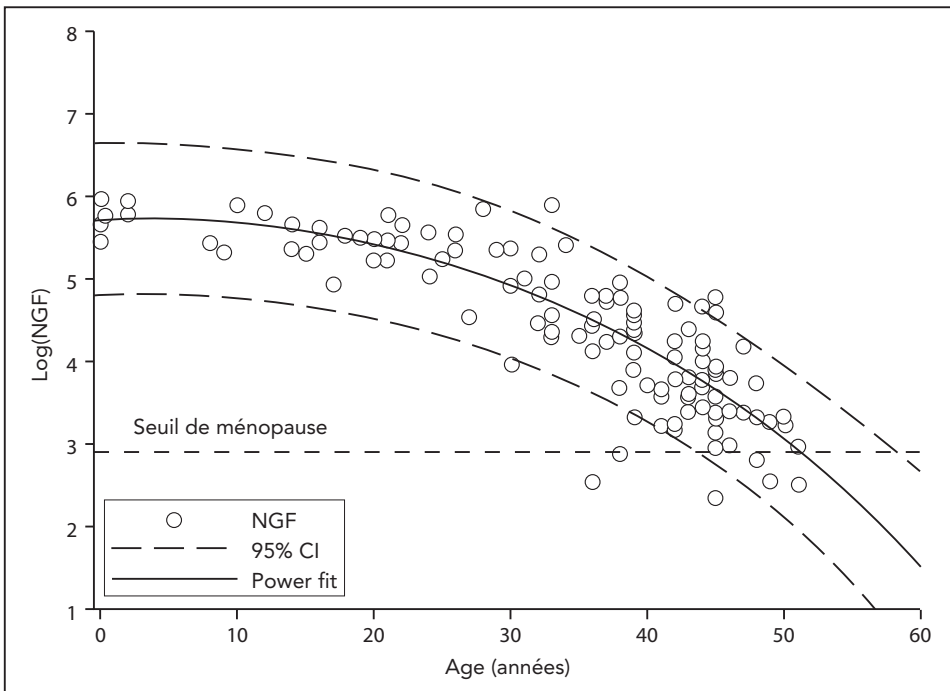


Figure 1. – La chute des follicules primordiaux en fonction de l'âge. [D'après Hansen et coll. (3)]

signal initial qui déclenche la cascade apoptotique. Dans la plupart des cas, la décision de survie ou d'apoptose est déterminée par un équilibre entre les signaux anti-apoptotiques et les signaux pro-apoptotiques au sein du follicule, aboutissant à l'activation de caspases effectrices qui sont des enzymes protéolytiques. Enfin, la phase de dégradation conduit à la destruction des protéines de structure et de fonction et finalement à la mort cellulaire. La FSH est la principale hormone anti-apoptotique. Ainsi, deux formes d'atrésie folliculaire ont été décrites: la première est une involution précoce de l'ovocyte dans les follicules pré-antraux, et la deuxième a pour cible les cellules de la granulosa des follicules antraux.

L'altération de la qualité ovocytaire liée à l'âge

Le vieillissement ovocytaire lié à l'âge se manifeste par des délétions de l'ADN mitochondrial mises en évidence par PCR sur des ovocytes de femmes « âgées ». La fréquence des aléas dans la formation du fuseau méiotique augmente avec l'âge, conduisant à la formation de cellules aneuploïdes expliquant l'augmentation du nombre de fausses couches spontanées avec l'âge (5). La plupart des auteurs s'accordent pour dire qu'il existe un processus de vieillissement du génome. D'autre part, l'ovaire subit les conséquences du vieillissement vasculaire: l'ovocyte est sensible à l'ischémie induite par la sclérose vasculaire. L'étude *in vitro* de cellules de la granulosa issues d'ovaires de femmes âgées de 40 à 45 ans montre une diminution de l'index mitotique et un accroissement du phénomène d'apoptose, comparativement aux cellules de la granulosa issues de femmes plus jeunes. Dans ces cellules, la synthèse des glycoprotéines, des stéroïdes et des facteurs de croissance est diminuée. Ainsi le dialogue entre l'ovocyte et les cellules de la granulosa qui l'entourent est altéré. Le groupe de Borup a comparé récemment les différences d'expression des gènes dans les ovocytes de femmes jeunes et les ovocytes de femmes plus âgées (6). Trois cent quarante deux gènes sont exprimés différemment en fonction de l'âge. Ils sont impliqués surtout dans les fonctions biologiques et pourraient représenter de futurs marqueurs du vieillissement ovarien.

Les manifestations cliniques et biologiques

La phase précoce du vieillissement ovarien est marquée par un raccourcissement des cycles menstruels, avec une baisse de la fertilité. Pendant cette période, les cycles sont souvent encore réguliers.

Sur le plan biologique, il existe une augmentation progressive du taux de FSH, lié à une libération diminuée d'inhibine B par l'ovaire. Les altérations de la FSH se manifestent au moment de la transition intercycle. En effet, à la fin de la phase lutéale, la chute de la progestérone et surtout de l'estradiol, induit une élévation transitoire de la FSH qui initie la croissance folliculaire du cycle suivant. L'augmentation progressive de la FSH induit un recrutement folliculaire plus rapide et une augmentation de l'estradiol, avec éventuellement des signes d'hyperestrogénie, comme une tension mammaire accrue. Ce taux croissant de FSH est responsable d'une maturation folliculaire accélérée et exagérée. Ainsi, les femmes aux alentours de 40 ans, ont une plus grande fréquence de grossesses gémellaires (7). Le stade ultérieur de vieillissement ovarien est la survenue de cycles irréguliers. Ce phénomène survient à un âge variable selon les femmes, en moyenne vers 45 ans.

La conséquence essentielle du vieillissement ovarien est la diminution de la fertilité qui débute à partir de 30 ans en moyenne. Différentes études ont estimé que l'infertilité précède d'environ 10 ans la survenue de la ménopause, soit vers un âge moyen de 41 ans, même si les cycles sont encore réguliers. Selon une étude prospective allemande, le taux cumulatif de grossesses en fonction de l'âge serait d'environ 95 % avant 25 ans, 90 % entre 25 et 35 ans et 73 % après 35 ans au bout de 9 cycles menstruels (8).

La ménopause, stade ultime du vieillissement ovarien est définie par une aménorrhée de plus de 12 mois et correspond à une perte complète de l'activité ovarienne cyclique. Le diagnostic est rétrospectif. Même si le nombre de follicules est trop faible pour maintenir une activité ovarienne, il persiste néanmoins quelques follicules fonctionnels comme en témoigne la sécrétion d'estradiol persistante qui disparaît progressivement dans la première année suivant la ménopause.

LES ARGUMENTS POUR UNE ORIGINE GÉNÉTIQUE DU VIEILLISSEMENT OVARIEN

Il existe différents arguments en faveur d'une origine génétique du vieillissement ovarien. Un premier est historique, car Pythagore avait déjà décrit une « impossibilité à procréer » à partir de l'âge de 49 ans chez la femme. Ce chiffre semble assez constant à travers les âges puisque l'âge de survenue de la ménopause reste aux alentours de 51 ans, dans les pays occidentaux. Cet âge est relativement stable malgré une augmentation de la durée de vie moyenne des femmes. Ce phénomène est spécifique de l'espèce humaine. En effet, dans beaucoup d'espèces, en particulier les chimpanzés, les animaux meurent peu de temps après l'arrêt de leur potentialité de reproduction (9). Le deuxième argument pour une origine génétique est qu'il existe une bonne corrélation entre l'âge de survenue de la ménopause d'une femme et sa mère, évaluée entre 30 et 85 % (10). Enfin, des études chez des jumelles ont permis d'évaluer par des calculs mathématiques que l'âge de la ménopause serait déterminé par le capital génétique pour environ 66 %. Une synthèse des facteurs génétiques impliqués dans l'âge physiologique de ménopause dans l'espèce humaine a été réalisée par Voorhuies et coll. (11). Les analyses de liaison (ou analyses de linkage) entre les régions chromosomiques transmises et l'âge de la ménopause chez des sœurs jumelles dans 165 familles, à l'aide de 417 marqueurs génétiques, ont permis d'identifier des régions chromosomiques potentielles : 9q21.3 et Xp21.3 et une région du chromosome 8 (12). Récemment, des études d'association du génome (*Genome-Wide Association Studies* ou GWAS) ont permis d'avancer dans la génétique des insuffisances ovariennes primitives (IOP). En effet, le séquençage du génome humain a permis le développement de nouveaux marqueurs, appelés SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*). Ils permettent d'identifier des variations ponctuelles polymorphes du génome. Des études d'associations qui consistent à comparer les polymorphismes uniques (SNPs) chez les patients et des témoins ont permis d'identifier deux régions 19q13.42 et 20p12.3 qui contiennent deux gènes candidats, les gènes BRKS1 et MCM (11). Des analyses supplémentaires sont nécessaires pour confirmer ces données.

Le troisième argument pour une origine génétique repose sur la description de nombreux modèles animaux, en particulier les modèles de souris transgéniques qui ont permis une meilleure connaissance des gènes potentiellement impliqués dans le vieillissement ovarien.

LES ACTEURS IMPLIQUÉS DANS LE VIEILLISSEMENT OVARIEN

Il est actuellement admis que la majorité des follicules de la réserve ovarienne est soumise à un système de répression qui permet que le pool de follicules « dormants » reste élevé, pendant de nombreuses années (13). Il faut distinguer parmi les acteurs, ceux impliqués dans la perte folliculaire et ceux impliqués dans le maintien du stock folliculaire. Certains sont synthétisés par l'ovocyte et d'autres par les cellules de la granulosa. Ainsi, une notion importante est que l'ovocyte n'est pas passif au cours de la folliculogé-

nèse mais qu'il joue au contraire un rôle crucial sur les premiers stades de développement folliculaire et le maintien du pool de follicules en synthétisant des molécules qui vont envoyer des messages aux cellules de la granulosa. Le dialogue ovocyte et cellules de la granulosa est important pour le vieillissement ovarien.

Facteur pro-apoptotique et anti-apoptotique: la famille bax-Bcl2

Un premier groupe de gènes impliqués dans la perte folliculaire est celui des gènes identifiés comme modulant l'apoptose. Les membres de la famille de Bcl2 codent pour des protéines mitochondriales qui donnent à la cellule, respectivement, un signal « pour la mort » ou un signal « pour la vie ». Schématiquement, le signal « pour la mort » va inter-agir avec les caspases puis les endonucléases qui vont couper l'ADN cellulaire et donc faire « mourir » la cellule (14). À titre d'exemple, l'inactivation du gène *bax* chez des souris préserve la réserve de follicules primordiaux et augmente la longévité de la fonction ovarienne (15). Cet exemple est le premier décrit induisant une prolongation de la vie ovarienne. Ainsi, le nombre de follicules primordiaux et de follicules primaires à la puberté mais aussi à un âge équivalent à la ménopause est statistiquement plus important chez les souris *bax* *-/-*. De plus, leurs follicules sont fonctionnels puisque les souris produisaient des estrogènes. Cependant, la fertilité de ces souris *bax* *-/-* « âgées » n'est pas conservée, même lorsqu'elles ont des traitements d'induction de l'ovulation (15). Il est à noter que ces souris ont présenté des tumeurs, en particulier des tumeurs surrenaliennes et cutanées. En revanche, l'inactivation du gène *Bcl2* accélère le phénomène d'apoptose ovarienne et induit un arrêt prématuré du fonctionnement de l'ovaire (16). Cependant, les protéines *bax* et *Bcl2* ne sont que deux membres au sein de la grande famille des protéines impliquées dans le phénomène d'apoptose. En effet, elles font partie d'une famille très vaste de protéines. Le rôle respectif de chacune des protéines de la famille *Bcl2* est encore mal élucidé, en particulier dans l'espèce humaine, d'autant plus que ces protéines ne sont pas spécifiques de l'ovaire. Il est nécessaire de souligner que ces protéines sont en grande partie impliquées dans la toxicité ovarienne de la chimiothérapie et de la radiothérapie. En effet, les souris invalidées pour le gène *bax*, lorsqu'elles sont traitées par de la chimiothérapie, présentent moins de diminution du nombre de leurs follicules primordiaux que les souris contrôles (17). L'ensemble de ces résultats suggèrent qu'il existe bien un équilibre entre facteurs pro-apoptotiques (*bax*) et anti-apoptotiques (*Bcl-2*, *Bcl-x*) déterminant la survie de l'ovocyte et donc du follicule.

Facteurs pro-apoptotiques : le système Fas-Fas ligand

Le couple Fas - Fas ligand est un autre couple impliqué dans le phénomène d'apoptose. Le gène Fas code pour un récepteur transmembranaire, et le ligand de Fas (Fas L) est une protéine homologue du TNF α . L'apoptose est induite lorsque Fas L se lie à Fas et active un « signal de mort ». Fas est présent dans l'ovocyte apoptotique (18). Ainsi, il est possible que l'expression de Fas par l'ovocyte détermine le sort futur du follicule.

Les facteurs de survie ovocytaire

Leur rôle a été établi car une mutation ou une suppression de ces gènes dans des modèles animaux induit une perte folliculaire accélérée et donc un vieillissement ovarien.

Le signal Kit-Kit -ligand

La protéine KIT est un récepteur à tyrosine kinase présent sur l'ovocyte et les cellules de la thèque. Le couple KIT, KIT-ligand possède dans les gonades fœtales un effet anti-apoptotique sur les cellules des follicules primordiaux, les ovogonies et les ovocytes. Dans

l'ovaire après la naissance, le couple KIT/KIT -ligand est impliqué dans la croissance folliculaire pour faire sortir les follicules du pool de follicules primordiaux et faire progresser la folliculogénèse au-delà du stade de follicule primaire. De plus, il protège les follicules préantraux du phénomène d'apoptose. Ainsi, ces deux protéines ont un rôle paracrine important lors de la folliculogénèse (19).

FOXL2

Foxl2 est un gène qui est muté dans un syndrome appelé blépharophimosis (BPES) qui associe une insuffisance ovarienne prématurée et des anomalies des paupières, dans l'espèce humaine (20). Le groupe de M Treier a décrit des souris invalidées pour ce facteur de transcription (21). Ces souris *Foxl2* *-/-* présentent une anomalie dans la différenciation des cellules de la granulosa. En effet, la transition des cellules de la granulosa de forme fusiforme en cellules cuboïdales n'a pas lieu, ce qui induit une absence de différenciation des cellules de la granulosa et de leur prolifération. Ainsi, il existe une altération dans la formation des follicules secondaires et donc une augmentation de l'atrésie folliculaire. Cette étude a montré que *Foxl2* joue un rôle important dans la croissance ovocytaire mais permet aussi de maintenir la quiescence folliculaire *in vivo* (21).

Le facteur GDF9

Parmi les signaux provenant de l'ovocyte, un signal important pour les cellules de la granulosa est le facteur GDF9 (*Growth Differentiation Factor 9*) qui appartient à la famille des TGF β (*Transforming Growth Factor β*). En effet, les souris invalidées pour le gène *gdf9* présentent un blocage de la maturation folliculaire au stade de follicule primaire (22). L'ovocyte devient hypertrophique, il est entouré de deux couches de cellules de la granulosa et la folliculogénèse est bloquée; l'atrésie survient. Ainsi, le gène *gdf9* codant pour la protéine GDF9 est crucial pour la maturation folliculaire, dans les premiers stades de la folliculogénèse (22).

La famille BMPs

Une autre famille de gènes impliqués dans les phénomènes de prolifération cellulaire et d'apoptose est la famille des BMPs (*Bone Morphogenic Proteins*) et de leurs récepteurs (23). Le gène *bmp15* code pour la protéine BMP15 qui est exprimée dans l'ovocyte. Les brebis de race Inverdale ont une mutation ponctuelle de ce gène. Les brebis hétérozygotes ont un taux augmenté d'ovulation, avec une augmentation du nombre de portées qui sont doubles ou triples, alors que les brebis homozygotes sont infertiles et présentent une insuffisance ovarienne prématurée (24). BMP15 diminue la sensibilité à la FSH pendant la phase de recrutement. Les brebis hétérozygotes ont ainsi plusieurs follicules dominants alors que les brebis homozygotes ont une maturation prématurée des follicules avec lutéinisation précoce. BMP15 a également un rôle dans la prolifération cellulaire des cellules de la granulosa (25).

L'hormone anti-müllérienne

L'hormone anti-müllérienne ou AMH appartient aussi à la famille des TGF β . L'AMH est impliquée dans la régression des canaux de Müller au moment de la différenciation sexuelle mais elle joue aussi un rôle dans le maintien des follicules ovariens. En effet, des études chez la souris ont montré que l'AMH régule le développement folliculaire car elle inhibe le recrutement des follicules primordiaux (26). Chez les souris invalidées pour le gène de l'AMH, il existe un épuisement folliculaire plus précoce que chez les souris contrôles. De plus l'AMH diminue la sensibilité des follicules en croissance à la FSH (27).

Les connexines

Les échanges entre l'ovocyte et les cellules de la granulosa se font par l'intermédiaire des gap-jonctions, formées par des protéines membranaires que sont les connexines. Parmi ces dernières, la connexine 37 a été étudiée chez la souris. Les souris invalidées pour la connexine 37 ont une infertilité par blocage de la maturation folliculaire (28). Ce modèle met donc en évidence l'importance de ces échanges. Leur perturbation est susceptible d'entraîner un vieillissement prématuré de l'ovaire.

La voie de signalisation PTEN-PI3K-Akt-Foxo3

La voie de signalisation PTEN-PI3K-Akt-Foxo3 joue un rôle important dans la régulation de l'activation des follicules primordiaux. Elle intervient notamment en régulant la croissance, la survie cellulaire et la progression du cycle cellulaire (29). L'activation de PI3K (phosphatidylinositol 3-kinase) est induite par des récepteurs de la protéine kinase en présence de facteurs de croissance (figure 2). PIK3 est une kinase qui va phosphoryler d'autres protéines, notamment PDK1 (phosphoinositide-dependent kinase 1) et Akt. Akt est phosphorylé et activé par PIK3 ou mTORC2 (*mammalian Target of Rapamycin Complex 2*). Akt est impliqué dans la survie et la croissance cellulaire en inactivant les cibles de cette voie, comme le facteur de transcription Foxo3, pro-apoptotique et TSC2 (*Tuberous Sclerosis Complex*), inhibiteur de mTORC1 (figure 2). PTEN (*Phosphatase with TENsin*), dont le gène est localisé sur le chromosome 10, est une enzyme qui a un rôle dans la régulation négative de la voie PI3K/Akt .

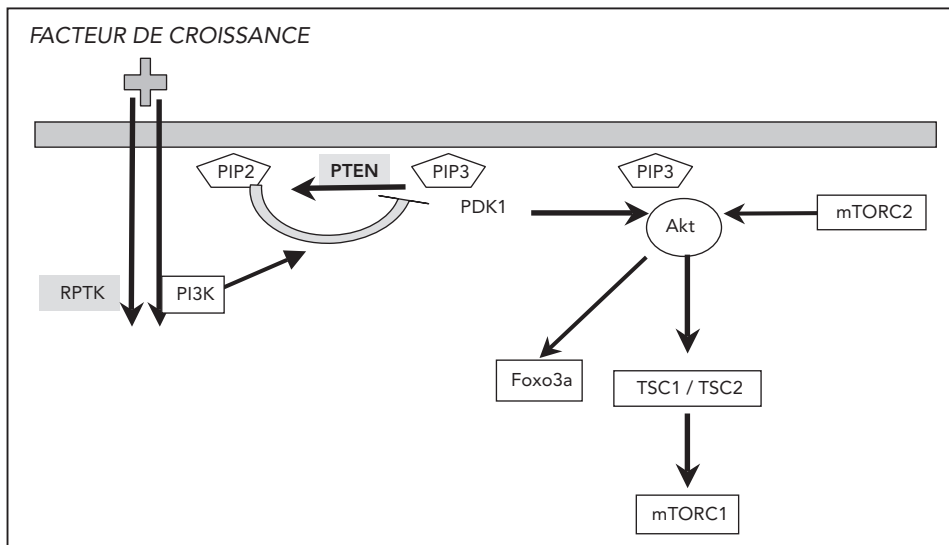


Figure 2. – La voie de signalisation PTEN-PI3K-Akt-Foxo3. D'après Reedy et coll. (13).
 PTEN : Phosphatase with TENsin; PI3K : phosphatidylinositol 3-kinase; RPTK : Récepteur Protéine Tyrosine Kinase; PIP2 : phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate; PIP3 : phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate; PDK1 : phosphoinositide-dependent kinase 1; mTORC : mammalian target of rapamycin complex; TSC : Tuberous Sclerosis Complex.

Les souris invalidées pour le gène PTEN ont une activation prématurée des follicules primordiaux (30). Une étude récente a mis en évidence *in vitro* une activation prématurée des follicules de réserve d'ovaires néonataux de souris, en présence d'un inhibiteur de PTEN et d'un activateur du peptide PI3K. De plus, la greffe de ces ovaires dans la capsule rénale de

souris adultes ovariectomisées et traitées par la FSH a permis une croissance folliculaire. Des fragments de cortex ovarien prélevés chez des patientes atteintes de cancer ont été exposés à un inhibiteur de PTEN, puis greffés à des souris, ce qui a permis un développement folliculaire jusqu'au stade préovulatoire (31). Ces résultats mettent en perspective un éventuel traitement de l'infertilité chez les femmes présentant une diminution de la réserve ovarienne et chez celles atteintes de cancer ayant effectué une cryopréservation ovarienne.

Le récepteur nucléaire SF1

Le récepteur nucléaire SF1 ou NR5A1 est un régulateur transcriptionnel majeur des gènes impliqués dans la régulation de l'axe gonadotrope, des gonades et des surrénales. Il semble avoir un rôle déterminant dans le développement et le fonctionnement de l'ovaire chez la souris. En effet, l'inactivation de SF1 dans les cellules de la granulosa chez la souris entraîne une infertilité et une hypotrophie ovarienne. Les ovaires présentent des follicules mais pas de corps jaune, témoignant d'une perturbation de l'ovulation. Dans l'espèce humaine, les mutations perte de fonction de SF1 ont été décrites chez des patients 46 XY présentant un désordre du développement sexuel avec ou sans insuffisance surrénalienne. Récemment, des mutations du gène *SF1* ont été identifiées chez les soeurs de ces patients et sont responsables d'une insuffisance ovarienne prématurée (32). Des études complémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre le rôle de SF1 dans le développement ovarien et le contrôle du capital folliculaire.

La FSH

La FSH joue un rôle important dans le phénomène d'apoptose. En effet, elle est considérée comme le principal facteur anti-apoptotique des follicules antraux précoces (33). Les souris FSH β $-/-$ présentent elles aussi un blocage de la maturation folliculaire et sont infertiles. L'histologie de leur ovaire montre une maturation folliculaire ne dépassant pas le stade de follicules primaires (33). Ainsi, à partir de la puberté, la FSH joue un rôle important dans le recrutement folliculaire mais aussi dans l'apoptose ovarienne.

COMMENT ÉVALUER LE VIEILLISSEMENT OVARIEN ?

Afin d'évaluer l'âge fonctionnel ovarien, les marqueurs les mieux validés sont le dosage concomitant de la FSH et de l'estradiol au troisième jour du cycle, le dosage de l'AMH à n'importe quel moment du cycle, et le compte des follicules antraux au troisième jour du cycle par une échographie pelvienne .

La FSH et l'estradiol

La mesure du taux de FSH au troisième jour de cycle sert de marqueur de réserve ovarienne en étant inversement proportionnel au nombre de follicules stimulables. Les seuils limites sont variables selon la technique de dosage utilisée. Il faut également tenir compte des variations de la FSH entre les cycles menstruels et d'un laboratoire à l'autre. Par ailleurs, l'interprétation du dosage de la FSH doit tenir compte du taux d'estradiol mesuré au troisième jour du cycle. En effet un taux de FSH normal peut être faussement rassurant si le taux d'estradiol est élevé. Cette augmentation de l'estradiol témoigne d'une insuffisance ovarienne débutante avec un raccourcissement de la phase folliculaire et donc d'un recrutement folliculaire précoce.

L'hormone anti-müllérienne

L'hormone anti-müllérienne (AMH) est sécrétée par les cellules de la granulosa des follicules vers la trente-sixième semaine dans l'ovaire fœtal et persiste jusqu'à la ménopause. Avec la diminution du nombre de follicules antraux, le taux d'AMH diminue progressivement pour devenir indétectable au moment de la ménopause (34). L'expres-

sion de l'AMH est absente des follicules de réserve mais est importante et homogène dans les follicules préantraux et dans les petits follicules antraux de 2 à 7 mm. Elle diminue lors de la croissance folliculaire et disparaît au stade de croissance folliculaire « FSH dépendante », au moment où le follicule devient sélectionnable.

En pratique clinique, l'AMH est un bon marqueur de la réserve ovarienne, puisque son taux est corrélé au nombre de follicules antraux. En effet, les études chez les femmes ayant une insuffisance ovarienne prématurée montrent une bonne corrélation entre l'AMH et le pool folliculaire. Chez ces patientes, le taux d'AMH et le nombre de follicules présents sont abaissés. De plus, lors des tentatives de fécondation *in vitro*, de nombreuses études ont montré que le taux d'AMH est corrélé au compte folliculaire antral et au nombre d'ovocytes obtenus après ponction ovarienne. Il semblerait que l'AMH soit un meilleur marqueur que la FSH ou que l'inhibine B en terme de prédiction de survenue d'une grossesse. Enfin, il s'agit du marqueur le plus précoce du vieillissement ovarien, puisque son taux diminue avec l'âge (34). Van Disseldorp et coll., ont même proposé un modèle de prédiction de l'âge de la ménopause en fonction du taux d'AMH et de l'âge de la femme (figure 3) (35). Ce modèle paraît un peu utopique, puisque, par exemple les patientes avec un syndrome des ovaires polykystiques ont un taux d'AMH élevé mais ne font pas pour autant de ménopause plus tardivement que la population générale. Cependant, à la différence des autres marqueurs de la réserve ovarienne, le dosage de l'AMH peut s'effectuer à n'importe quel moment du cycle car il ne fluctue pas au cours du cycle.

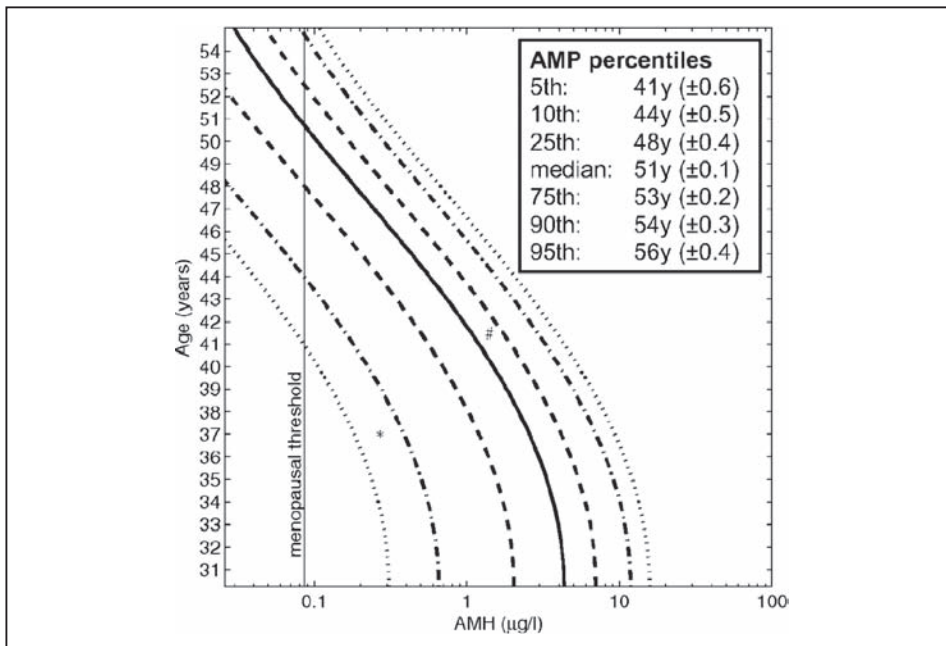


Figure 2. – **Modèle de prédiction de l'âge de la ménopause en fonction du taux d'AMH et de l'âge.**
[D'après Van Disseldorp et coll. (36)].

Le nombre de follicules antraux à J3 du cycle

L'échographie pelvienne réalisée au troisième jour du cycle peut être utile pour évaluer la réserve ovarienne. Il a été montré que le volume ovarien est corrélé à la réserve folliculaire mais cette corrélation n'est pas suffisamment bonne pour retenir le volume comme

marqueur de la réserve. Par contre, l'échographie permet de compter le nombre de follicules antraux de 2 à 10 mm. Après 40 ans, le premier signe de vieillissement ovarien est la diminution du nombre de follicule antraux de 1 à 5 mm (36). Hendriks et coll., ont publié une méta-analyse qui conclut que le compte des follicules antraux (CFA) est prédictif de la mauvaise réponse ovarienne et non du taux de grossesses en fécondation *in vitro* (37). En effet, un CFA inférieur ou égal à 10 est en faveur d'une mauvaise réponse à la stimulation (38). On parle ici de mauvaise réponse ovarienne quantitative car avoir un compte folliculaire bas ne signifie pas que la qualité folliculaire sera altérée (39). Il est à noter qu'il n'existe pas à ce jour de marqueur de la qualité ovocytaire.

LES PATHOLOGIES DU VIEILLISSEMENT OVARIEN OU INSUFFISANCE OVARIENNE PRÉMATURÉE

À côté des conditions physiologiques normales responsables du vieillissement ovarien, il existe des situations pathologiques où la diminution de la réserve ovarienne peut être due à une accélération de l'apoptose. Les exemples connus les plus fréquents sont la chimiothérapie, la radiothérapie, le tabac, et le syndrome de Turner.

Définition

L'insuffisance ovarienne prématurée (IOP) est définie comme étant une défaillance ovarienne périphérique caractérisée par une aménorrhée primaire ou secondaire survenant avant l'âge de 40 ans, associée à un taux de FSH supérieur à 40 mUI/l (40). La prévalence de l'IOP est de l'ordre de 1 à 3 % des femmes. L'IOP peut survenir selon trois mécanismes: une déplétion primitive du stock de follicules primordiaux décrite dans une maladie neurologique autosomique récessive rare et grave, l'ataxie-télangiectasie; un blocage de la maturation folliculaire (mutations des gènes *GDF-9* et *BMP15*, mutation inactivatrice du gène du récepteur de la FSH, polyendocrinopathie auto-immune, BPES syndrome) ou une apoptose accélérée liée aux traitements de chimiothérapie ou de radiothérapie, au tabac, ou dans le cadre du syndrome de Turner. Cependant, l'étiologie de l'IOP demeure inconnue dans 90 % des cas. Nous détaillerons ici les causes d'insuffisance ovarienne par accélération de l'apoptose, responsable du vieillissement ovarien.

La chimiothérapie et la radiothérapie

Les traitements par chimiothérapie et radiothérapie ont considérablement amélioré le pronostic des femmes jeunes atteintes de cancer. Il s'accompagne néanmoins souvent d'une altération de la fertilité et d'une insuffisance ovarienne prématurée, par accélération du processus d'apoptose. Les follicules primordiaux et les follicules antraux en croissance sont les cibles privilégiées de ces traitements.

La chimiothérapie

Les analyses histologiques de l'ovaire montrent un effet direct de la chimiothérapie sur le stock de follicules primordiaux, par une accélération de l'apoptose (41-42).

Le risque dépend du type de molécule, de sa dose et de l'âge au moment du traitement. Les patientes les plus jeunes pourront tolérer des doses plus fortes en raison d'une réserve folliculaire plus importante (43-44). Les agents alkylants sont les plus toxiques. Les effets gonado-toxiques sur l'ovaire ne sont pas de l'ordre du « tout ou rien » mais surviennent de manière aléatoire, rendant la récupération de la fonction ovarienne peu prévisible. Une aménorrhée temporaire peut s'installer suite à la destruction des follicules matures alors qu'un dommage aux follicules primordiaux sera responsable d'une insuffisance ovarienne prématurée (45). Quant à la sensibilité des follicules, elle varie selon leur stade de développement. Les follicules en croissance sont plus sensibles que les follicules primordiaux (46)

expliquant la moindre sensibilité des ovaires prépubertaires à la chimiothérapie. L'étude histologique des ovaires de femmes traitées met en évidence une fibrose du tissu ovarien et une destruction des follicules. La récupération ovarienne est liée à l'âge et à la durée du traitement. Elle est évaluée à 39-55 % chez les femmes de moins de 40 ans et à 0-11 % au-delà (46). La dose cumulative de substance cytotoxique déterminera le devenir de la fonction ovarienne (47).

La radiothérapie

L'irradiation abdominale ou pelvienne, voire même du corps entier, peut causer des atteintes ovariennes et utérines. Le degré de l'atteinte ovarienne est également fonction de la dose de l'irradiation, du protocole de fractionnement et surtout de l'âge au moment du traitement (48). Le nombre de follicules primordiaux présents lors du traitement déterminera la fertilité de la patiente. Les femmes les plus âgées ont un risque plus marqué d'insuffisance ovarienne (49). Lushbaugh et Casarett, en 1976, ont montré que chez les femmes âgées de moins de 40 ans, la dose d'irradiation de 20 Gy donne une insuffisance ovarienne complète, comparée à une dose de 6 grays chez les femmes plus âgées (50). Par exemple, la curiethérapie représente une dose de 15 grays. L'irradiation du corps entier conduit à une infertilité avec tout de même une influence positive du jeune âge sur la récupération éventuelle de la fonction ovarienne. L'addition d'une chimiothérapie augmente encore le risque d'insuffisance ovarienne prématurée.

Le tabac

Le tabac et les hydrocarbures aromatiques polycycliques, contenus par exemple dans les fuels et les plastiques peuvent induire une avancée de l'âge de la ménopause, en accélérant l'apoptose, par l'intermédiaire d'un récepteur appelé AHR pour (*Aryl Hydrocarbon Receptor*) (51).

Le syndrome de Turner

L'exemple le plus connu d'atrésie folliculaire accélérée dans l'espèce humaine est le syndrome de Turner. Le syndrome de Turner touche une fille sur 2500 à la naissance et résulte de l'absence partielle ou totale d'un chromosome X. Le stock folliculaire initial est normal à 18 semaines de gestation, mais il existe une accélération de l'atrésie folliculaire. La cause et le mécanisme de cette atrésie restent mal connus (52). Cette apoptose accélérée plus ou moins précoce est responsable à l'adolescence des différents tableaux cliniques et histologiques. L'appréciation de la quantité de follicules résiduels ainsi que de la qualité des ovocytes est difficile. Une étude initiale sur l'aspect histologique des ovaires de 8 fœtus 45X avortés après la vingtième semaine montre une réduction très nette du nombre d'ovogonies. L'organisation des cellules somatiques autour de l'ovocyte pour former le follicule primordial est absente. Cette étude montre qu'il existe un défaut de folliculogénèse (53). L'étude suédoise du groupe de Hovatta a porté sur les biopsies ovariennes réalisées lors de l'ovariectomie pour cryopréservation et a montré que parmi 57 adolescentes âgées de 8 à 19,8 ans, 26 % avaient des follicules ovariens lors de l'analyse histologique de leurs ovaires. La densité folliculaire est plus importante en cas de mosaïcisme, et est inversement proportionnelle au taux de FSH (55). La fonction ovarienne de la patiente avec un syndrome de Turner est donc complexe avec des formes ovariennes complètes ou modérées.

La dysgénésie gonadique dans le syndrome de Turner serait la conséquence d'une haplo-insuffisance de gènes spécifiques pour la plupart situés sur le chromosome X (BMP15, POF1, FMR1). Certains joueraient un rôle déterminant dans le maintien de la fonction ovarienne au cours de la vie.

CONCLUSION

L'ovaire vieillit de manière physiologique. Près de 99,9 % des follicules primordiaux vont s'atrophier par apoptose. La survie ou l'apoptose est déterminée par une balance entre des facteurs de survie et des facteurs pro-apoptotiques. Des études chez les femmes avec des insuffisances ovariennes prématurées devraient permettre de mieux identifier les gènes impliqués dans le vieillissement ovarien pathologique mais aussi physiologique. En effet, le nombre de gènes candidats associés au phénotype d'insuffisance ovarienne prématurée augmente rapidement. Leur rôle fonctionnel au niveau ovarien reste à définir. À ce jour, ni l'utilisation de la pilule estroprogestative, ni celle des antagonistes de la GnRH ne permettent de modifier l'âge de survenue de la ménopause. Des congélations d'ovaires ou d'ovocytes peuvent actuellement être proposées afin de préserver une fertilité ultérieure. Les premiers résultats de greffe de cortex ovarien ou d'utilisation d'ovocytes sont encourageants. Ils sont en plein développement et devraient progresser nettement dans les années à venir.

**Endocrinologie de la Reproduction,
Hôpital Saint-Antoine
184, rue du Faubourg Saint-Antoine
75012 Paris**

Adresse pour la correspondance : Professeur Sophie Christin-Maitre, adresse ci-dessus.
E-mail : thao.bui@sat.aphp.fr ; sophie.christin-maitre@sat.aphp.fr

HOW IS THE OVARY AGING?

by **Thao BUI** and **Sophie CHRISTIN-MAITRE** (Paris, France)

*Endocrinologie de la Reproduction, Hôpital Saint-Antoine, 184 rue du Faubourg Saint-Antoine
75012 Paris, France*

Abstract

Ovarian aging is characterized by a decrease in the quantity of follicles as well as the quality of oocytes. The ovarian reserve progressively decreases by two mechanisms, apoptosis as well as entry into the growth follicular phase. The major mechanism of follicular depletion remains apoptosis. The main consequence is a decrease of fertility with chronological age and hypoestrogenism. The first step of ovarian aging is characterized by a shortening of cycles, a higher rate of twin pregnancies, and later on the absence of ovarian response to gonadotropins stimulation. The ovarian aging is controlled by a balance between genes involved in the maintenance and genes involved in the loss of the follicular pool. The oocyte plays a central role in the future of the follicle. So far, the best methods in order to assess ovarian reserve are concomitant FSH and estradiol serum levels on day 3 of the cycle. Pelvic ultrasonography is useful in order to count the number of antral follicles on day 3 of a menstrual cycle. However, the best test of follicular reserve is so far, the antimüllerian hormone (AMH). Its level does not depend on the cycle. Accelerated causes of ovarian aging can be chemotherapy, radiotherapy, smoking or Turner syndrome. The study of the mechanisms underlying ovarian aging may uncover some treatments in order to preserve the ovarian reserve.

Key words : ovarian aging, apoptosis, oocyte, antimüllerian hormone

BIBLIOGRAPHIE

- 1. Gougeon A** : Regulation of follicular development in primates : facts and hypotheses. *Endocr Rev* 1996, **17** : 121-155. – **2. Faddy M., R.G. Gosden** : A mathematical model of follicle dynamics in the human ovary. *Hum Reprod* 1995, **10** : 770-775. – **3. Hansen K.R., N.S. Knowlton, A.C. Thyer, et al.** : A new model of reproductive aging : the decline in ovarian non-growing follicle number from birth to menopause. *Hum Reprod* 2008, **23** : 699-708. – **4. Wallace W.H.B., T.W. Kelsey** : Human ovarian reserve from conception to menopause. *PLoS One* 2010, **5** (1) : e8772. – **5. Miao Y.L., K. Kikuchi, Q.Y. Sun, et al.** : Oocyte aging : cellular and molecular changes, developmental and reversal possibility. *Hum Reprod Update* 2009, **15** : 573-585. – **6. Grondahl M.L., C. Yding Andersen, J. Bogstad, et al.** : Gene expression profiles of single human mature oocytes in relation to age. *Hum Reprod* 2010, **25** : 957-968. – **7. Beemsterboer S.N., R. Homburg, N.A. Gorter, et al.** : The paradox of declining fertility but increasing twinning rates with advancing maternal age. *Hum Reprod* 2006, **21** : 1531-1532. – **8. Gnath C., D. Godehardt, E. Godehardt, et al.** : Time to pregnancy : results of the German prospective study and impact on the management of infertility. *Hum Reprod* 2003, **18** : 1959-1966. – **9. Hawkes K** : How grandmother effects plus individual variation in frailty shape fertility and mortality : Guidance from human-chimpanzee comparisons. *PNAS* 2010, **107** : 8977-8984. – **10. Cramer D., H. Xu, B.L. Harlow** : Family history as a predictor of early menopause. *Fertil Steril* 1995, **64** : 740-745. – **11. Voorhies M., N. C. Onland-Moret, Y.T. van der Schouw** : Human studies on genetics of the age at natural menopause. *Hum Reprod Update* 2010, **16** : 364-377. – **12. Van Asselt K.M., H.S. Kok, H. Puetter, et al.** : Linkage analysis of extremely discordant and concordant sibling pairs identifies quantitative trait loci influencing variation in human menopausal age. *Am J Hum Genet* 2004, **74** : 444-453. – **13. Reddy P., W. Zheng, K. Liu** : Mechanisms maintaining the dormancy and survival of mammalian primordial follicles. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 2010, **21** : 96-103. – **14. Felici M.D., A.D. Carlo, M. Pesce, et al.** : Bcl-2 and Bax regulation of apoptosis in germ cells during prenatal oogenesis in the mouse embryo. *Cell Death Differ* 1999, **6** : 908-915. – **15. Perez G., J.L. Tilly** : Prolongation of ovarian lifespan into advanced chronological age by Bax deficiency. *Nat Genet* 1999, **21** : 200-203. – **16. Ratts V., J.A. Flaws JA, R. Kolp, et al.** : Ablation of bcl2 gene expression decreases the numbers of oocytes and primordial follicles established in the post-natal female mouse gonad. *Endocrinology* 1995, **136** : 3665-3668. – **17. Perez G., C.M. Knudson, L. Leykin, et al.** : Apoptosis-associated signalling pathways are required for chemotherapy-mediated female germ cell destruction. *Nat Med* 1997, **3** : 1228-1232. – **18. Dharma S., R.L. Kelkar, T.D. Nandedkar** : Fas and Fas ligand protein and mRNA in normal and atretic mouse ovarian follicles. *Reproduction* 2003, **126** : 783-789. – **19. Driancourt M., K. Reynaud, R. Cortvrint, et al.** : Roles of KIT and KIT LIGAND in ovarian function. *Rev Reprod* 2000, **5** : 143-152. – **20. De Baere E** : Role of FOXL2 impairment in syndromic and non syndromic premature ovarian failure (POF). *Ann Endocrinol* 2010, **71** : 214. – **21. Schmidt D., C.E. Ovitt, K. Anlag, et al.** : The murine winged-helix transcription factor Foxl2 is required for granulosa cell differentiation and ovary maintenance. *Development* 2004, **131** : 933-942. – **22. Elvin J., C. Yan, P. Wang, et al.** : Molecular characterization of the follicle defects in the growth differentiation factor 9 deficient ovary. *Mol Endocrinol* 1999, **13** : 1018-1034. – **23. Shimasaki S., R.J. Zachow, D. Li, et al.** : A functional bone morphogenetic protein system in the ovary. *Proc Natl Acad Sci* 1999, **22** : 7282-7287. – **24. Galloway S., K.P. McNatty, L.M. Cambridge, 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** : 279-283. – **25. Otsuka F., et al.** : Bone morphogenetic protein-15. Identification of target cells and biological functions. *J Biol Chem* 2000, **275** : 39523-39528. – **26. Durlinger A.L., A.P. Themmen.** : Anti Müllerian hormones inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary. *Endocrinology*, 2002, **143** : 1076-1084. – **27. Durlinger A.L., J.A. Visser, A.P. Themmen** : Regulation of ovarian function : the role of anti-Müllerian hormone. *Reproduction* 2002, **124** : 601-609. – **28. Simon A., D.A. Goodenough, E. Li, et al.** : Female infertility in mice lacking connexin 37. *Nature* 1997, **385** : 525-529. – **29. Cantley L.C** : The phosphoinositide 3-kinase pathway. *Science* 2002, **296** : 1655-1657. – **30. Reedy P., L. Lian, D. Adhikari, et al.** : Oocyte-Specific Deletion of Pten causes premature ovarian activation of the primordial follicle pool. *Science* 2008, **319** : 611-613. – **31. Jing Li, K. Kazuhiro, Y. Cheng, et al.** : Activation of dormant ovarian follicles to generate mature eggs. *Proc Nat Acad Sciences* 2010, **107** : 10280-10284. – **32. Lourenço D., R. Brauner, L. Lin, et al.** : Mutations in NR5A1 Associated with Ovarian Insufficiency. *N Engl J Med* 2009, **360** : 1200-1210. – **33. Chun A., K.M. Eisenhauer, S. Minami, et al.** : Hormonal regulation of apoptosis in early antral follicles : follicle stimulating hormone as a major survival factor. *Endocrinology* 1996, **137** : 1447-1456. – **34. De Vet A., J.S. Laven, F.H. de Jong, et al.** : Antimüllerian hormone serum levels : a putative marker for ovarian aging. *Fertil Steril* 2002, **77** : 357-362. – **35. Van Disseldorp J., Faddy M.J., Themmen A.P., et al.** : Relationship of serum antimüllerian hormone concentration to age at menopause. *J Clin Endocrinol Metab* 2008, **93** : 2129-2134. – **36. Scheffer G.J., F.J. Broekmans, M. Dorland, et al.** : Antral follicle counts by transvaginal ultrasonography are related to age in women with proven natural fertility. *Fertil Steril* 1999, **72** : 845-851. – **37. Hendriks D.J., J. Kwee, Bw Mol, et al.** : Ultrasonography as a tool for the prediction of outcome in IVF patients : a comparative meta-analysis of ovarian volume and antral follicle count. *Fertil Steril* 2007, **87** : 764-775. – **38. Jayaprakasan K., B. Campbell, J. Hopkisson, et al.** : A prospective, comparative analysis of anti-Müllerian hormone, inhibin-B, and three-dimensional ultrasound determinants of ovarian reserve in the prediction of poor response to controlled ovarian stimulation. *Ferti Steril* 2010, **93** : 855-864. – **39. Van Rooij I.A., F.J. Broekmans, C.C.**

Hunault, et al. : The use of ovarian reserve tests for the prediction of ongoing pregnancy in couples with unexplained female subfertility. *Reprod Biomed Online* 2006, **12** : 182-190. – **40. Beck-Peccoz P, L. Persani** : Premature ovarian failure. *Orphanet Encyclopedia* 2005, 1-7. – **41. Dror M** : Reproduction post-chemotherapy in young cancer patients. *Mol Cell Endocrinol* 2000, **169** : 123-131. – **42. Apperley J.F, N. Reddy** : Mechanisms and management of treatment-related gonadal failure in recipients of high dose chemoradiotherapy. *Blood Rev* 1995, **9** : 93-116. – **43. Meirrow D., D. Nugnet** : The effects of radiotherapy and chemotherapy on female reproduction. *Hum Reprod Update* 2001, **7** : 535-543. – **44. Wallace W.H.B., A. Blacklay, C. Eiser, et al.** : Developing strategies for long term follow up of survivors of childhood cancer. *BMJ* 2001, **323** : 271-274. – **45. Luttmann Singh K., M. Davies, R. Chatterjee** : Fertility in female cancer survivors : Pathophysiology, preservation and the role of ovarian reserve testing. *Hum Reprod Update* 2005, **11** : 69-89. – **46. Nicosia S.V., M. Matus-Ridley, A.T. Meadows** : Gonadal effects of cancer therapy in girls. *Cancer* 1985, **55** : 2364-2372. – **47. Falcone T., M. Attaran, M.A. Bedaiwy, J.M. Goldberg** : Ovarian function preservation in the cancer patient. *Fertil Steril* 2004, **81** : 243-257. – **48. Thompson A.B., H.O.D. Critchley, C.J.H. Helnar, et al.** : Late reproductive sequelae following treatment of childhood cancer and options for fertility preservation. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2002, **16** : 311-334. – **49. Lobo R.A** : Potential options for preservation of fertility in women. *N Engl J Med* 2005, **353** : 64-73. – **50. Lushbaugh C.C., G.W. Casarett** : The effects of gonadal irradiation in clinical radiation therapy : a review. *Cancer* 1976, **37** : 1111-1125. – **51. Matikainen T., T. Moriyama, Y. Morita, et al.** : Ligand activation of the aromatic hydrocarbon receptor transcription factor drives Bax-dependent apoptosis in developing fetal ovarian germ cells. *Endocrinology* 2002, **143** : 615-620. – **52. Weiss L** : Additional evidence of gradual loss of germ cells in the pathogenesis of streak ovaries in Turner's syndrome. *J Med Genet* 1970, **8** : 540-544. – **53. Reynaud K., R.Cortvrind, F. Verlinde, et al.** : Number of ovarian follicles in human foetuses with the 45 X karyotype. *Fertil Steril* 2004, **81** : 1112-1119. – **54. Borgström B., J. Hreinnsson, C. Rasmussen et al.** : Fertility preservation in girls with Turner syndrome : prognostic signs of the presence of ovarian follicles. *J Clin Endocrinol Metab* 2009, **94** : 74-80.

TRENTE-ET-UNIÈMES
JOURNÉES NICOLAS GUÉRITÉE D'ENDOCRINOLOGIE
ET MALADIES MÉTABOLIQUES

SE TIENDRONT LES

VENDREDI 25 ET SAMEDI 26 NOVEMBRE 2011

au Grand Amphithéâtre de la Faculté de Médecine des Saints-Pères
à Paris