

CAHIER DE

# Formation

Biologie médicale

N°41

2008

---

## Le vieillissement hormonal

TOME 1



**BIOFORMA**

FORMATION CONTINUE DES BIOLOGISTES

---



*Chère Consœur, Cher Confrère,*

*Les études démographiques les plus récentes et les statistiques qui en découlent montrent à l'évidence un allongement significatif de l'espérance de vie, plus grande chez les femmes que chez les hommes.*

*Le vieillissement biologique s'étend en conséquence sur une période plus longue pendant laquelle des pathologies, autrefois peu fréquentes, deviennent monnaie courante.*

*Les variations des concentrations hormonales au sein des axes hypothalamus-hypophyse-ovaires ou testicules et surrénales indiquent bien souvent des pathologies latentes qui ont un retentissement présent et à venir sur le sujet âgé.*

*La distinction et la détermination des anomalies ou des conséquences du vieillissement hormonal, entraînent, après l'examen du patient par le clinicien, l'intervention du biopathologiste qui doit mener des investigations techniques sur l'activité des axes hormonaux impliqués.*

*Ce Cahier de Formation de Biologie Médicale, rédigé par une équipe de qualité indiscutable, sous la direction du Professeur Jean Fiet, apportera, à la plupart d'entre vous, une mise à jour des éléments de connaissances pratiques et théoriques nécessaires à votre activité professionnelle.*

*Bioforma vous permet ainsi d'assurer votre formation continue conventionnelle et vous souhaite bonne réception de cet ouvrage utile..*

*Recevez nos cordiales et confraternelles salutations.*

230, boulevard Raspail  
75014 Paris

Tél. 01.56.54.39.39  
Fax : 01.56.54.39.30

site internet : [www.bioforma.net](http://www.bioforma.net)  
E-mail : [bioforma@wanadoo.fr](mailto:bioforma@wanadoo.fr)

Association régie par la loi de 1901  
siret : 391 155 744 00025  
code APE : 8040

**Adrien BEDOSSA**  
Président

# Liste des auteurs

---

■ **Dr Jean-Louis Brérault**

*Endocrinologue. Ancien attaché à l'hôpital St Louis 75 010 Paris  
2, rue Alfred Maury, 77100 Meaux  
Tél : 01 60 09 39 81  
courriel : dr.jlb@wanadoo.fr*

■ **Dr Dominique Cornet**

*praticien-attaché des Hôpitaux de Paris, Clinique de la Muette,  
Médecine de la Reproduction, rue Nicolo 75116 Paris  
Tél : 01 56 91 08 56  
courriel : dr.dominique.cornet@wanadoo.fr*

■ **Pr Jean Fiet**

*Ex Chef du Service de Biochimie Hormonale, Hôpital St Louis, APHP Paris.  
INSERM IMRB U841 eq07, Centre de Recherches Chirurgicales, Faculté de Médecine  
8, rue du Général Sarrail, 94010 Créteil Cedex  
Tél : 01 49 81 35 58  
courriel : fiet@univ-paris12.fr et fiet.jean@wanadoo.fr*

■ **Dr Frank Giton**

*APHP CIB GHU Sud Henri Mondor ; INSERM IMRB U841 eq07  
Centre de Recherches Chirurgicales, Faculté de Médecine  
8, rue du Général Sarrail 94010 Créteil Cedex  
Tél : 01 49 81 35 58  
courriel : giton@univ-paris12.fr*

■ **Dr Alain Gougeon**

*DR Inserm, INSERM-865, ANIPATH, U.F.R. de médecine LYON - R.T.H. LAENNEC,  
7, rue Guillaume Paradin, 69372 Lyon cedex 08.  
Tel : 33 (0)4 78 77 10 51  
courriel : alain.gougeon@inserm.fr*

# **Le vieillissement hormonal**

## **TOME 1**

ouvrage réalisé sous la direction  
du Professeur J. Fiet

# PRÉFACE

---

En raison de l'allongement de la durée de la vie, la proportion de sujets âgés augmente continuellement dans la population générale.

Il est donc important de s'intéresser à la biologie du sujet âgé.

Nous décrivons et expliquons dans ce document, les variations des concentrations hormonales de plusieurs axes endocriniens au cours du vieillissement (testicules, surrénales, ovaires), en les confrontant aux méthodes de dosages correspondants.

**Le premier chapitre** est consacré **aux variations des hormones testiculaires**. Nous montrons que la testostérone biodisponible diminue bien plus rapidement et significativement que la testostérone totale ; ceci est une conséquence de l'augmentation de la protéine porteuse plasmatique, la SHBG ou SBP, au cours du vieillissement. Toutefois une grande variabilité des résultats est observée parmi les sujets âgés, certains d'entre eux présentant des concentrations de sujets jeunes. Nous rapportons des intervalles de valeurs «normales» ou de référence en fonction de l'âge, des hormones testiculaires, exprimées préférentiellement en percentiles, et dosées à l'aide des méthodes les plus exactes du moment. Nous proposons des valeurs «seuil» des concentrations plasmatiques basses de testostérone permettant au biologiste d'éclairer le clinicien sur la réalité d'un hypogonadisme suggéré par l'examen clinique et ainsi de mieux juger de la pertinence d'un traitement substitutif par des patch de testostérone, par exemple.

**Dans le deuxième chapitre sur les surrénales**, nous exposons les résultats d'une abondante littérature, en faveur de l'augmentation de la cortisolémie chez le sujet vieillissant comparée à celle du sujet jeune. Cette augmentation n'est pas évidente pour le biologiste et n'est pas traduite pratiquement par des normes de cortisolémie différentes chez le sujet âgé par rapport au sujet jeune, et pourtant cette hypercortisolémie du sujet âgé serait responsable, entre autre, du déclin de ses fonctions cognitives et de dépressions diverses. Elle est due à des modifications du «feed back» des glucocorticoïdes sur les récepteurs de l'hippocampe, et sera mieux détectée par les tests dynamiques.

Beaucoup plus connue, tout au moins médiatiquement, est la diminution dans le sang de la DHEA et de son sulfate avec l'âge, avec de fortes variations inter-sujets que nous rapportons, et qui ont fait spéculer (bien que non prouvé) que la DHEA était «l'hormone de jeunesse». Sa complémentation thérapeutique, avec des espoirs plutôt déçus chez l'homme (moins chez la femme), ne doit être envisagée qu'après des résultats de dosages plasmatiques franchement abaissés.

**Le chapitre 3** traite de la diminution des **androgènes chez la femme** au cours du vieillissement et de la relation des androgènes avec l'os, la composition corporelle et la libido.

---

Cependant, comme nous le rappelons, la mise en évidence de la diminution de la testostérone plasmatique totale (TT) par des méthodes immunologiques chez la femme et surtout de ses formes biodisponibles n'est pas simple, par suite d'un manque d'exactitude dans les zones basses des concentrations (TT<0.20 ng/ml). Il semble cependant indispensable d'apprécier avec exactitude l'hypotestostéronémie avant d'envisager un traitement substitutif par des dispositifs de transfert transcutané de testostérone mis récemment en vente.

**Le chapitre 4 traite du vieillissement ovarien.** Celui-ci s'exprime par des modifications coordonnées des concentrations des hormones ovariennes, telles que l'estradiol, l'inhibine B, la progestérone et l'hormone anti-mullérienne (AMH), ainsi que des gonadotrophines. Les modifications de ces hormones sont en relation étroite avec la diminution plus ou moins rapide selon les sujets de la réserve ovarienne en follicules primordiaux, et donc avec la fertilité des femmes.

C'est un sujet d'actualité. En effet, on observe dans les pays industrialisés un recul de l'âge de la première grossesse lié au progrès de la contraception associé au désir pour un grand nombre de femmes de s'engager dans une carrière professionnelle avant de mettre en route une première grossesse. Ce phénomène est accompagné par une baisse de la fertilité (les dosages des hormones ovariennes tels qu'ils sont rapportés dans ce chapitre montrent des modifications objectives dès 35 ans), d'où la nécessité d'un recours de plus en plus fréquent aux techniques d'aide médicale à la procréation.

Le deuxième phénomène est lié à l'influence de l'environnement proprement dit, et notamment du tabagisme qui est à l'origine d'un âge de survenue de la ménopause avancé de plusieurs années conduisant à une insuffisance ovarienne prématurée associée à une hypofertilité.

Nous rapportons également les modifications hormonales de la période de transition préménopausique permettant de comprendre les états cliniques correspondants, liés chronologiquement à l'hyperestrogénie puis à l'hypoestrogénie annonçant la ménopause confirmée, état final du vieillissement ovarien. Ses manifestations cliniques seulement effleurées ici, sont liées à l'effondrement des concentrations des hormones ovariennes.

Ce premier tome doit être suivi d'un second dans lequel seront envisagés particulièrement le vieillissement des hormones contrôlant l'homéostasie glucidique, des hormones de l'os, des hormones thyroïdiennes, des hormones de l'axe GH-IGF1, des hormones de l'eau et des électrolytes.

*Pr Jean Fiet*

# Liste des principales abréviations

---

17 OHP : 17-hydroxyprogestérone

17 OHPrég : 17-hydroxyprégnénolone

A :  $\Delta$ 4-androstènedione

CBT : testostérone biodisponible calculée

CG : cellules de la granulosa

CLU : cortisol libre urinaire

CRH : cortico releasing hormone

DHT : dihydrotestostérone

DXM : dexaméthasone

E1 : estrone

E2 : estradiol

FT : testostérone libre («free» testostérone )

GCMS : chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

OATP-B : système de transfert des sulfates

PDG : prégnandiol

POMC : pro opiomélanocortine

SE1 : sulfate d'estrone

SHBG : sex hormone binding globulin ou SBP

TBD : testostérone biodisponible

THDOC : tétrahydrodésoxycorticostérone

THE : tétrahydrocortisone

THF : tétrahydrocortisol

THS : tétra11désoxycortisol (tétracomposés)

TT : testostérone totale

## CHAPITRE I

### **Axe hypothalamus / hypophyse / testicules au cours du vieillissement** 15

J. Fiet - F. Giton

## CHAPITRE II

### **Viellissement de l'axe hypothalamus hypophyse surrénales chez l'homme et chez la femme** 65

J. Fiet

## CHAPITRE III

### **Androgènes chez la femme et vieillissement** 101

J. Fiet

## CHAPITRE IV

### **Le vieillissement ovarien** 139

J. Fiet - A. Gougeon - D. Cornet - J.L. Bréault



# SOMMAIRE

<b>CHAPITRE I - Axe hypothalamus/hypophyse/testicules au cours du vieillissement</b> .....	15
<b>Schéma d'ensemble de l'axe hypothalamus/hypophyse/testicules (HHT)</b> .....	17
Rétro-contrôle.....	17
<b>SCHÉMA DE SYNTHÈSE DES STÉROÏDES TESTICULAIRES</b> .....	18
<b>Vieillesse des hormones de l'axe hypothalamus/hypophyse/testicules (HHT)</b> .....	18
<b>POPULATION DE RÉFÉRENCE ÉTUDIÉE ET MÉTHODES DE DOSAGE</b> .....	18
Sélection des sujets.....	18
Heures de prélèvement.....	20
Bilan biologique standard.....	20
Dosages Hormonaux effectués.....	20
Population retenue pour la détermination des valeurs normales hormonales.....	20
Expression des résultats des dosages. Généralités sur les méthodes de dosages mises en œuvre.....	20
Mode statistique d'expression des résultats.....	20
Méthodes de dosage.....	21
<b>HORMONES DE L'AXE HHT ET VIEILLISSEMENT</b> .....	22
<b>Testostérone (TT)</b> .....	22
Principe du dosage.....	22
Résultats du dosage de la TT en fonction de l'âge.....	22
Variations nycthémérales de la TT chez le sujet jeune et chez le sujet âgé.....	24
Variabilité intersujets.....	24
Concernant les techniques de dosages commerciaux.....	24
Importance des valeurs seuils basses, pour le diagnostic de l'hypogonadisme en fonction de l'âge.....	25
<b>Tétestostérone biodisponible (TBD)</b> .....	26
Définition de la TBD.....	26
Dosage de la TBD.....	26
TBD et vieillissement.....	26
Variations nycthémérales de la TBD en fonction de l'âge.....	28
Variabilité intersujet.....	28
Influence de la qualité analytique du dosage de la TBD, sur les valeurs normales.....	28
Tentatives de Calcul de la TBD.....	28
<b>Testostérone libre ou non liée à des protéines</b> .....	30
<b>Conséquences de l'hypogonadisme chez l'homme âgé</b> .....	31
<b>Pertinence d'un traitement par la testostérone</b> .....	31
<b>SHBG ou Sex Hormone Binding Globulin</b> .....	31
Définition.....	31
Méthode de dosage de la SHBG.....	31

Variation des concentrations de SHBG avec l'âge .....	32
Variations circadiennes et variations intersujets.....	32
Importance du dosage de la SHBG chez l'homme âgé !!!, la TBD est plus informative que la TT .....	33
<b>DHT ou Dihydrotestostérone</b> .....	33
Origines de la DHT .....	33
Dosage de la DHT dans le sérum ou le plasma.....	33
Variations de la DHT du sérum au cours du vieillissement.....	34
<b>Δ4-Androstènedione (A)</b> .....	35
Origines de l' A .....	35
Dosage de l'A.....	35
Variations de l'A au cours du vieillissement.....	35
<b>LH (Hormone lutéinisante)</b> .....	36
Dosage de la LH.....	36
Variations au cours du vieillissement.....	36
<b>FSH (hormone folliculo-stimulante)</b> .....	38
Dosage de la FSH.....	38
Variations au cours du vieillissement.....	38
<b>Inhibine B (InB)</b> .....	39
Méthode de dosage .....	39
Variations des concentrations de l'InB au cours du vieillissement.....	39
<b>5-Androstènediol (5-diol)</b> .....	40
Origines .....	40
Variations des concentrations plasmatiques au cours du vieillissement.....	40
Particularités de l'androstènediol .....	40
<b>L'Estradiol (E2), et l'Estradiol biodisponible, l'Estrone (E1) et le Sulfate d'estrone (SE1)</b> .....	42
Origines .....	42
Dosage de E2 total .....	42
Dosage de E1 .....	42
Dosage de SE1 .....	43
Variations de E2, E1 et SE1 au cours du vieillissement et au cours du nyctémère .....	43
Variations de E2, E1 et SE1 au cours du nyctémère.....	46
<b>MECANISMES DU VIEILLISSEMENT DE L'AXE HHT</b> .....	46
Réduction de la capacité de synthèse de testostérone par les cellules de Leydig.....	46
Modifications de fonctionnement de l'hypothalamus liées à l'âge .....	46
<b>CONCLUSION</b> .....	48
<b>Annexes</b> .....	49
Détermination de la Testostérone biodisponible à partir des résultats des dosages de la Testostérone Totale et de la SHBG (ou SBP).....	49
<b>Bibliographie</b> .....	61

# SOMMAIRE

<b>CHAPITRE II - Vieillessement de l'axe hypothalamus hypophyse surrénale</b> <b>chez l'homme et chez la femme</b> .....	65
<b>Schéma d'ensemble de l'axe hypothalamus hypophyse surrénale</b> .....	67
<b>Rétro-contrôle</b> .....	67
<b>Schéma de synthèse des stéroïdes surrénaliens</b> .....	68
<b>Vieillessement et hormones surrénaliennes chez l'homme et chez la femme</b> .....	68
<b>LE CORTISOL</b> .....	68
Synthèse du cortisol dans les corticosurrénales .....	68
Cheminement métabolique du cortisol .....	70
<b>Cortisol plasmatique</b> .....	72
<b>Cortisolémie de base</b> .....	72
Taux de base de la cortisolémie totale .....	72
Cycle nyctéméral de la cortisolémie .....	73
Chez le sujet âgé .....	74
Cortisol libre plasmatique .....	76
<b>Test de stimulation par l'ACTH</b> .....	76
<b>Test de freinage minute par la Dexaméthasone (DXM)</b> .....	77
Vieillessement de l'axe HHS mis en évidence par le test à la DXM .....	78
<b>Test de stimulation par le CRH</b> .....	80
<b>Conclusion sur l'hypercortisolémie du sujet âgé</b> .....	82
<b>Hypercortisolémie et situations de stress codifiées</b> .....	82
<b>Hypercortisolémie et pathologie</b> .....	82
<b>Le cortisol libre urinaire ou CLU</b> .....	84
Sa provenance .....	84
Difficultés du dosage exact du CLU .....	84
CLU et vieillessement .....	84
<b>Le cortisol salivaire</b> .....	85
Cortisol salivaire et vieillessement hormonal .....	86
Cortisol salivaire et faculté d'apprentissage et mémoire récente .....	86
<b>DEHYDROEPIANDROSTERONE (DHEA) ET SULFATE DE DEHYDROEPIANDROSTERONE (SDHEA)</b> .....	86
<b>Diminution de la DHEA et du SDHEA au cours du vieillessement</b> .....	86
Dosages de la DHEA et du SDHEA dans le plasma ou le sérum .....	86
Variations au cours du vieillessement .....	87
Variabilité nyctémérale et vieillessement de la DHEA et du SDHEA .....	89
Variations intersujets en fonction du vieillessement .....	89
Variations en fonction du sexe .....	90
Stimulation de la DHEA et des autres androgènes et précurseurs par l'ACTH .....	91
Stimulation de la DHEA par le CRH .....	91

Précurseurs des androgènes et des corticoïdes au cours du vieillissement chez l'homme :	
Prégnénolone, Progestérone, 17-Hydroxyprégnénolone et 17-Hydroxyprogestérone .....	92
Mécanisme de la forte diminution des taux de la DHEA et de SDHEA au cours du vieillissement .....	92
Mécanismes d'action de la DHEA .....	93
Conclusions sur les variations opposées du cortisol et de la DHEA au cours du vieillissement .....	94
Conclusions concernant les variations opposées de la DHEA, du SDHEA et du cortisol au cours du vieillissement : traitement par le DHEA .....	94
Association de la DHEA et du SDHEA avec diverses pathologies .....	94
Intérêt thérapeutique potentiel du traitement substitutif par la DHEA chez les personnes âgées ou avec une insuffisance surrénale .....	95
Bibliographie .....	96
<b>CHAPITRE III - Androgènes chez la femme et vieillissement</b> .....	101
Au cours du vieillissement, y a-t-il des modifications des androgènes circulants chez la femme ? .....	102
Synthèse des androgènes chez la femme .....	103
Testostérone .....	106
<b>PRINCIPES DU DOSAGE DE LA TESTOSTERONE DU PLASMA CHEZ LA FEMME</b> .....	106
<b>VARIATIONS DE LA TESTOSTERONE AU COURS DU CYCLE MENSTRUEL</b> .....	108
<b>VARIATIONS DE LA TESTOSTERONE DU PLASMA AU COURS DU VIEILLISSEMENT</b> .....	109
Avant la ménopause .....	109
Pendant la période de transition .....	110
Au cours de la ménopause établie .....	110
Quelle est l'origine de la testostéronémie à la ménopause ? .....	112
A partir de la ménopause, les ovaires produisent ils encore des androgènes ? .....	112
Origine périphérique des androgènes chez la femme : relation avec l'indice de masse corporelle (IMC) .....	114
Sex Hormone Globulin ou SHBG, et fractions actives de la testostérone .....	115
<b>SHBG ET CONCEPT DES FORMES ACTIVES DE LA TESTOSTERONE</b> .....	115
<b>SHBG</b> .....	116
Dosage de la SHBG .....	116
Variations de la SHBG .....	116
Variations au cours du cycle menstruel .....	116
Variations depuis la puberté jusqu'à la ménopause .....	117
Variations pendant la période de transition .....	117
Variations au cours de la ménopause établie .....	118
Comment expliquer cette diminution de la SHBG à la ménopause ? .....	118
Importance de la détermination de la SHBG chez la femme !!! .....	118

# SOMMAIRE

<b>FRACTIONS ACTIVES DE LA TESTOSTERONE</b> .....	120
<b>Détermination des fractions actives de la testostérone</b> .....	120
<b>Détermination de la testostérone biodisponible (TBD)</b> .....	120
<b>Détermination de la testostérone libre ou non liée à des protéines</b> .....	120
<i>Principes des dosages de la testostérone libre ou FT</i> .....	120
Dosage de la FT par dialyse à l'équilibre après addition de testostérone tritiée .....	120
Dosage de la FT par dialyse à l'équilibre, par dosage ultrasensible de la testostérone dans le dialysat .....	121
Dosage par compétition avec un "analogue" radioactif de la testostérone .....	121
<i>Index de testostérone libre</i> .....	121
<i>Calcul de FT</i> .....	121
<b>Viellissement et formes actives de la testostérone</b> .....	122
<b>Viellissement et testostérone biodisponible</b> .....	122
<b>Viellissement et FT</b> .....	122
<b>Δ4-Androstènedione</b> .....	125
<b>ORIGINES DE LA Δ4-ANDROSTENEDIONE (A)</b> .....	125
<b>DOSAGES DE LA Δ4-ANDROSTENEDIONE (A)</b> .....	125
<b>Δ4-ANDROSTENEDIONE (A) ET CYCLE MENSTRUEL</b> .....	126
<b>VIEILLISSEMENT ET Δ4-ANDROSTENEDIONE</b> .....	126
<b>Sulfate de Dehydroepiandrosterone (SDHEA), et DHEA</b> .....	127
<b>ORIGINES</b> .....	127
<b>DOSAGES DE LA DHEA ET DU SDHEA</b> .....	128
<b>VARIATIONS NYCTHEMERALES DE LA DHEA</b> .....	128
<b>EVOLUTION DE LA DHEA ET DU SDHEA AU COURS DU VIEILLISSEMENT</b> .....	128
<b>Conséquences de la diminution des concentrations des androgènes au cours du vieillissement chez la femme</b> .....	130
<b>EFFETS DES ANDROGENES SUR LE SQUELETTE</b> .....	130
<b>EFFETS DES ANDROGENES SUR LA COMPOSITION CORPORELLE</b> .....	131
<b>EFFETS DES ANDROGENES SUR LA QUALITE DE VIE ET LA LIBIDO</b> .....	132
<b>De la nécessité du traitement de la femme par les androgènes ?</b> .....	132
<b>Bibliographie</b> .....	134

<b>CHAPITRE IV - Le vieillissement ovarien</b> .....	139
<b>Le vieillissement des fonctions exocrines</b> .....	140
<b>Diminution du nombre des follicules au cours du vieillissement</b> .....	140
<b>Différents stades de croissance des follicules dans les ovaires</b> .....	140
<b>Conséquences de la diminution de la réserve ovarienne sur la fécondité</b> .....	143
<b>Augmentation de la fréquence des avortements avec l'âge et diminution de la qualité des ovocytes</b> .....	144
<b>Réceptivité de l'endomètre</b> .....	144
<b>Déroulement du cycle menstruel</b> .....	145
<b>Maturation préovulaire et phase folliculaire</b> .....	145
<b>Concentrations des stéroïdes dans le liquide folliculaire au cours du cycle</b> .....	145
<b>Phase lutéale</b> .....	148
<b>Contrôle ovarien de la sécrétion des gonadotrophines</b> .....	149
<b>Variations hormonales plasmatiques au cours du cycle menstruel chez la femme jeune</b> .....	150
<b>Le vieillissement des sécrétions hormonales de l'ovaire</b> .....	152
<b>Vieillesse hormonal de l'axe HHO avant la périménopause</b> .....	153
<b>FSH</b> .....	153
<b>E2 et précurseurs E1 et SE1</b> .....	155
<b>Les inhibines</b> .....	157
<b>L'hormone anti-mullérienne (AMH) avant la périménopause</b> .....	160
<b>Comptage des follicules antraux par échographie transvaginale</b> .....	164
<b>Vieillesse de l'axe HHO à la périménopause et marqueurs du vieillissement hormonal</b> ....	165
<b>Définition de la périménopause</b> .....	165
<b>Variabilité des concentrations hormonales de l'axe HHO au cours de la périménopause</b> ....	166
<i>FSH et inhibine</i> .....	166
<i>Syndrome d'hyperestrogénie prédominante du début de la périménopause</i> .....	168
<i>Syndrome d'hypoestrogénie prédominante des dernières années de la périménopause</i> .....	170
<i>l'AMH</i> .....	170
<b>Hormones de l'axe HHO et ménopause</b> .....	171
<b>Conséquences de la carence en estrogènes</b> .....	175
<b>Carence en estrogènes et os</b> .....	175
<b>Carence en estrogènes et système cardiovasculaire</b> .....	175
<b>Carence en estrogènes et cerveau</b> .....	175
<b>Intérêt de la détermination des marqueurs de la réserve ovarienne pour prédire la fertilité d'une femme</b> .....	177
<b>La FSH</b> .....	177
<b>L'E2</b> .....	178
<b>L'inhibine B</b> .....	178

# SOMMAIRE

<b>L'AMH</b> .....	178
<b>Nombre de follicules antraux visibles à J3</b> .....	180
<b>Vieillesse ovarien prématuré</b> .....	181
<b>Définition</b> .....	181
<b>Classification physiopathologique</b> .....	181
<b>1<sup>er</sup> mécanisme :diminution de la réserve ovarienne</b> .....	181
<b>2<sup>ème</sup> mécanisme :dysfonctionnement folliculaire</b> .....	181
<i>Mutation du récepteur de la FSH</i> .....	181
<i>Déficits enzymatiques</i> .....	181
<i>Le blépharophimosis ou BPES</i> .....	182
<b>3<sup>ème</sup> mécanisme : accélération de l'apoptose</b> .....	182
<i>Causes auto-immunes</i> .....	182
<i>La chimiothérapie</i> .....	182
<i>La radiothérapie</i> .....	183
<i>L'iode radioactif</i> .....	183
<i>La galactosémie</i> .....	183
<i>Les anomalies du chromosome X</i> .....	183
<i>Causes environnementales</i> .....	184
<b>L'hormonologie de ces insuffisances ovariennes prématurées</b> .....	184
<b>Méthodes de dosage des hormones impliquées dans l'exploration de l'insuffisance ovarienne au cours du vieillissement</b> .....	185
<b>Gonadotrophines FSH et LH</b> .....	185
<b>Principes des dosages</b> .....	185
<b>Incertitudes sur l'exactitude des dosages des gonadotrophines</b> .....	185
<b>Dosage de l'estradiol (E2)</b> .....	189
<b>Dosages de l'estrone (E1) et du sulfate d'estrone (SE1)</b> .....	190
<b>Dosage de la progestérone</b> .....	190
<b>Dosage de l'AMH</b> .....	192
<b>Dosage de l'Inhibine B</b> .....	192
<b>Bibliographie</b> .....	193

**Axe hypothalamus/  
hypophyse/testicules  
au cours du vieillissement**

**J. Fiet - F. Giton**

**CHAPITRE I**



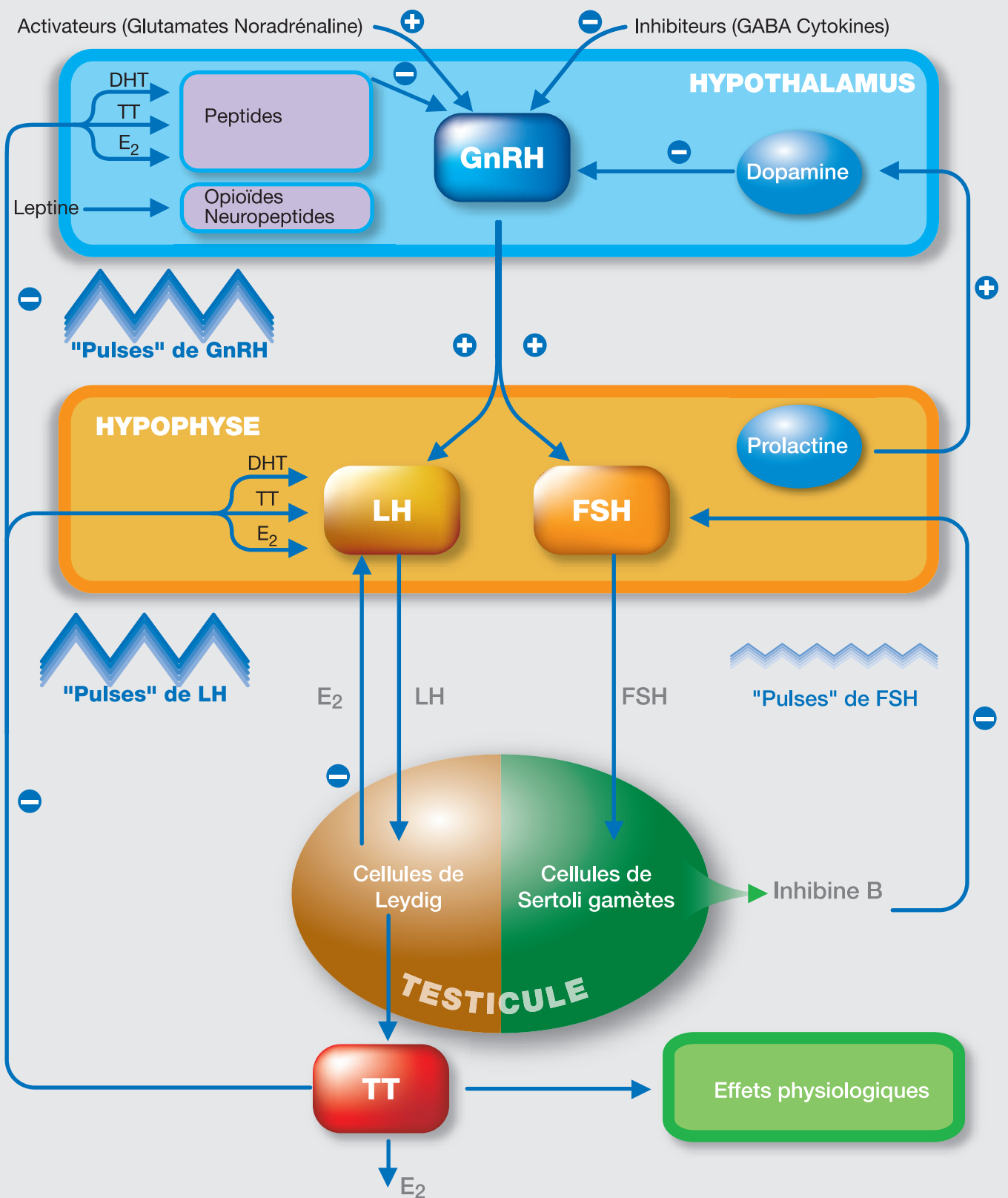


Figure 1 : Axe H-H-Testicule

# Schéma d'ensemble de l'axe hypothalamus/hypophyse/testicules (HHT) (Fig 1)

---

Le fonctionnement de l'axe HHT aboutit à la synthèse par la cellule de Leydig, essentiellement de **testostérone** et par le compartiment exocrine à la production de cellules germinales.

Schématiquement l'hypothalamus sécrète de façon pulsatile un petit peptide le **GnRH** qui est déversé dans les vaisseaux de la tige pituitaire, puis atteint l'hypophyse. Après fixation sur ses récepteurs, les cellules gonadotropes de l'hypophyse synthétisent 2 gonadotrophines, la **LH** et la **FSH**, formées de l'association d'une même chaîne  $\alpha$ , à une chaîne  $\beta$ LH et  $\beta$ FSH respectivement. La sécrétion de la **LH** est pulsatile et synchronisée de celle du **GnRH** (fig 1). La sécrétion de la **FSH** (dont la 1/2 vie est plus longue que celle de la **LH**), est plus stable et ses pulses sont difficilement discernables.

La pulsativité de sécrétion du **GnRH**, propriété intrinsèque des neurones à **GnRH** (Knobil, 1974), est indispensable à la synthèse des gonadotrophines **LH** et **FSH**, puisque l'administration en continu de **GnRH** entraîne l'arrêt de leur production (castration médicale).

Au niveau testiculaire, les gonadotrophines circulantes, **LH** et **FSH** se fixent sur des récepteurs spécifiques à 7 domaines transmembranaires couplés à des protéines G. Elles induisent une stimulation du système de signalisation intracellulaire.

La **LH** stimule la synthèse des stéroïdes gonadiques, conduisant à la **testostérone** et à ses métabolites par les cellules de Leydig (fig 1) La **FSH** contrôle la spermatogénèse et la synthèse d'**inhibine B** par les cellules de Sertoli (fig 1).

La **testostérone** est responsable, à la puberté, du développement des caractères sexuels secondaires (barbe, masses musculaires) et à l'âge adulte, à leur maintien. Mais les actions métaboliques sont multiples.

A l'âge adulte la sécrétion des gonadotrophines est stable, mais des pulses de **LH** sont discernables.

L'**inhibine B** constitue la plus importante hormone testiculaire non stéroïdienne circulante chez l'homme et agit quasi exclusivement sur la biosynthèse et la sécrétion de **FSH** par les cellules gonadotropes (fig 1) en la supprimant par rétro-contrôle.

## Rétro-contrôle

La **testostérone** exerce un rétro-contrôle négatif au niveau hypothalamique et hypophysaire, soit directement, soit après aromatisation en **estradiol** par une aromatasase, soit après réduction en **DHT** par une  $5\alpha$ -réductase.

Ce rétro-contrôle s'effectue par modulation de la réponse des cellules hypophysaires au **GnRH**, et par modulation de la fréquence de la sécrétion pulsatile du **GnRH** dans l'hypothalamus.

## SCHEMA DE SYNTHESE DES STEROIDES TESTICULAIRES (fig 2)

La synthèse s'effectue à partir du cholestérol. La chaîne latérale du cholestérol est scindée par desmolase. Il se forme de la **prégnénolone** laquelle est métabolisée soit dans la voie  $\Delta 5$  : avec formation successivement de **17-hydroxyprégnénolone**, de **DHEA** et de  **$\Delta 5$ -androstènediol** transformée en testostérone par une  $3\beta$ ol-déshydrogénase, soit dans la voie des  $\Delta 4$  : avec formation de **17-hydroprogestérone**, puis de  **$\Delta 4$ -androstènedione** transformée en testostérone par une 17-hydroxystéroïde déshydrogénase.

## Vieillesse des hormones de l'axe hypothalamus/hypophyse/testicules (HHT)

---

L'influence du vieillissement sur les concentrations des hormones de l'axe HHT est rapportée grâce à une étude sur une population de sujets âgés de 20 à 74 ans, sélectionnés dans la région Centre et Ouest de la France, en mettant en œuvre les techniques de dosages les plus exactes du moment (GCMS ou techniques immunologiques validées par rapport à la spectrométrie de masse). Les résultats de cette étude publiée seront confrontés à ceux de la littérature.

## POPULATION DE REFERENCE ETUDIEE ET METHODES DE DOSAGE

### Sélection des sujets

541 hommes volontaires, âgés de 20 à 74 ans, ont été recrutés dans un Centre de Santé (Institut Interrégional pour la santé, IRSA, 37521 La Riche) pour un bilan biologique standard. Les volontaires ayant un index de masse corporelle  $>29 \text{ kg/m}^2$  (IMC), ou souffrant de maladie chronique, diabète, cancer, maladie rénale, atteinte hépatique, maladie cardiaque ou pulmonaire, maladie inflammatoire chronique, infarctus du myocarde dans les 3 mois qui ont précédé le prélèvement n'ont pas été retenus. De même les sujets traités par un ou plusieurs médicaments connus pour perturber le fonctionnement de l'axe hypothalamus/hypophyse/testicules, tels que les androgènes, les agonistes du **GnRH**, les gonadotrophines, les antiandrogènes, les corticoïdes, le Synacthène, les drogues de la thyroïde, les antidépresseurs, les neuroleptiques réputés pour provoquer des hyperprolactinémies.

Ces sujets ont subi un toucher rectal qui s'est montré normal. Les sujets ont répondu par la négative à la recherche de symptômes urinaires. Aucun d'entre eux n'était traité par des médicaments pour l'hyperplasie bénigne de la prostate (HBP) ou pour un cancer de la prostate. Seulement 10 d'entre eux présentaient des signes évocateurs minimes d'une HBP.

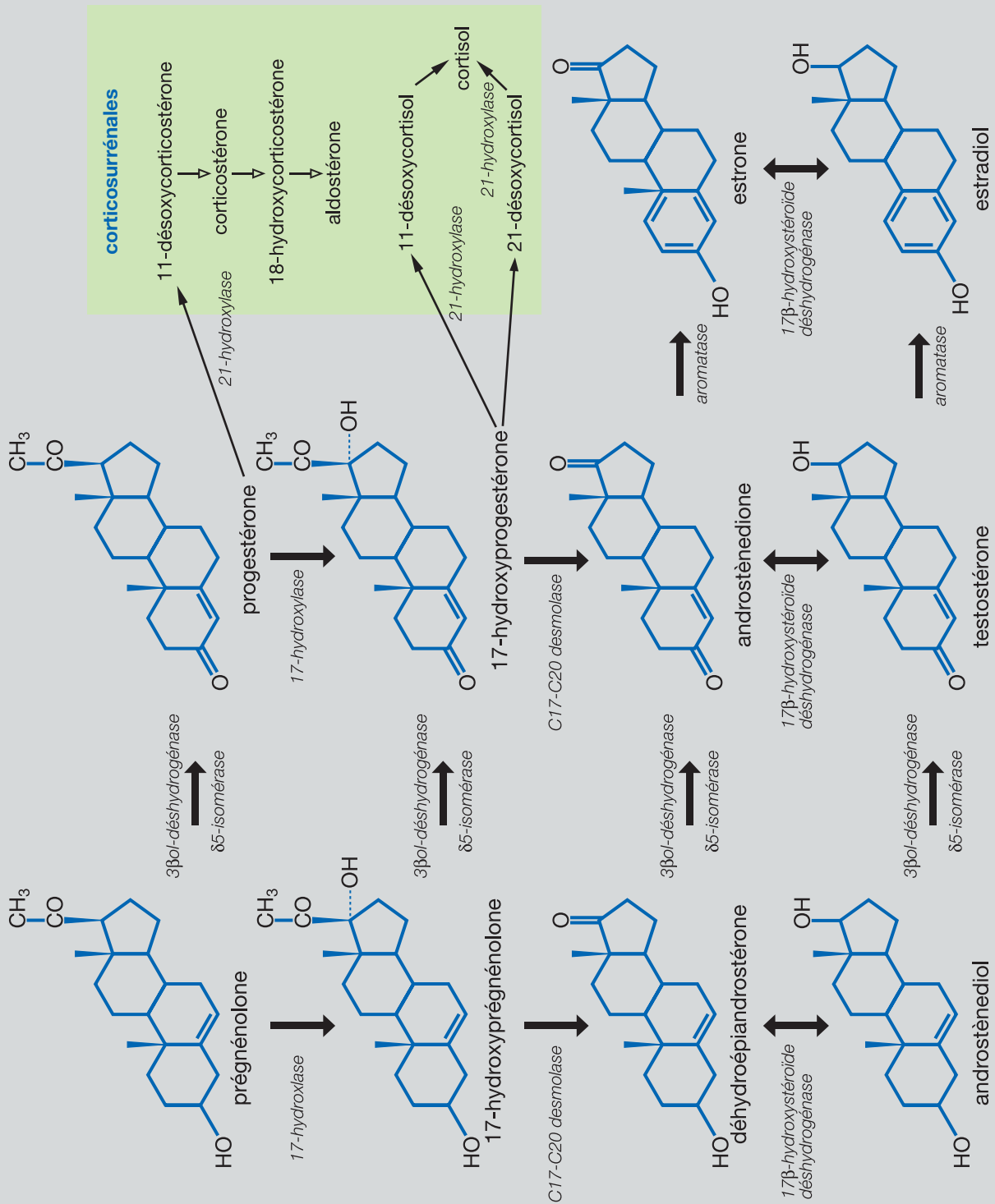


Figure 2 : Synthèse des androgènes et des estrogènes par le cellule de Leydig

## Heures de prélèvement

Les sujets ont été prélevés entre 8 heures et 10 heures, après 12 heures de jeûne. Le sérum ou le plasma a été séparé des globules rouges, puis soit traité immédiatement en vue de la détermination des paramètres biochimiques (voir ci-après), soit fractionné puis congelé en vue de la détermination des hormones.

## Bilan biologique standard

Tous les sujets ont subi un bilan biologique standard, avec détermination des paramètres suivants : glycémie, créatinine, triglycérides, gamma-glutamyltransférase, alanine L-amino-transférase, aspartate – L aminotransférase, numération et formule sanguine.

Un dosage de PSA par méthode immunoradiométrique (Cis biointernational) a permis d'exclure 5 sujets ayant une valeurs de PSA >3 ng/ml. Tous les sujets retenus pour les dosages hormonaux avaient un bilan biologique standard normal.

## Dosages Hormonaux effectués

Les dosages des hormones et protéines suivantes ont été réalisés : **testostérone totale (TT)**, **testostérone biodisponible (TBD)**, **Sex-hormone-binding-globulin (SHBG)**, **Albumine**, **Dihydrotestostérone (DHT)**,  **$\Delta$ 4-androsténone (A)**, **déhydroépiandrostérone (DHEA)**, **sulfate de déhydroépiandrostérone (SDHEA)**,  **$\Delta$ 5-androsténone diol (5-diol)**, **estradiol (E2)** **estrone (E1)**, **sulfate d'estrone (SE1)**, **FSH** et **LH**.

## Population retenue pour la détermination des valeurs normales hormonales

Sur les 541 sujets volontaires sains répondant favorablement à tous les critères biologiques standard et cliniques, 38 d'entre eux n'ont pas été retenus sur la base de taux de gonadotrophines trop élevés (>1.5 fois les limites normales supérieures) et de taux de testostérone totale <1.5 ng/ml.

Les valeurs normales des hormones et protéines impliquées dans le fonctionnement de l'axe hypothalamus/hypophyse/testicules, ont été finalement déterminées sur 503 patients âgés de 20 à 74 ans.

## Expression des résultats des dosages

### Généralités sur les méthodes de dosages mises en œuvre

### Mode statistique d'expression des résultats

Les méthodes des dosages influent sur les résultats des dosages et donc sur les valeurs normales. L'expression des normales varie également selon les auteurs. Théoriquement,

l'utilisation de la moyenne avec  $\pm 2$  écarts type englobe 95% de la population normale. Mais l'utilisation de ce mode d'expression très courant des valeurs normales suppose que la population étudiée présente une répartition normale gaussienne, or c'est rarement le cas. C'est la raison pour laquelle nous avons privilégié une expression non paramétrique des normales, qui n'implique aucune hypothèse quant à la distribution des données dans la population : ainsi les valeurs expérimentales sont rangées en ordre croissant, ce qui permet de leur affecter un rang. On détermine ainsi les valeurs selon les percentiles. Le percentile 2.5 (intervalle de confiance 95%) est l'échantillon de rang  $r$  tel que  $r=0.025(n+1)$  ou  $n$  est l'effectif. L'inconvénient pratique de l'établissement de ces normales exprimées en percentile est qu'il exige un nombre relativement élevé de sujets dans la population étudiée (au moins 100 sujets).

## **Méthodes de dosage**

Dans pratiquement tous les laboratoires d'analyses médicales, non spécialisés en hormonologie, les dosages de stéroïdes sont effectués actuellement par des techniques "directes" sur des autoanalyseurs. Les résultats obtenus par ces autoanalyseurs doivent être alors confrontés avec des techniques de référence impliquant la spectrométrie de masse ou bien des méthodes immunologiques réalisées après extraction et chromatographie (pour s'affranchir des problèmes de spécificité et des effets "matrices" inhérentes aux méthodes directes).

Les normales des stéroïdes rapportées dans ce manuscrit, sont issues de techniques par spectrométrie de masse après chromatographie en phase gazeuse (GCMS), ou de techniques immunologiques de référence, (pour les stéroïdes, avec extraction suivi de chromatographie sur Célite avant immunodosage) validées quand cela est possible (stéroïdes) par spectrométrie de masse.

# HORMONES DE L'AXE HHT ET VIEILLISSEMENT

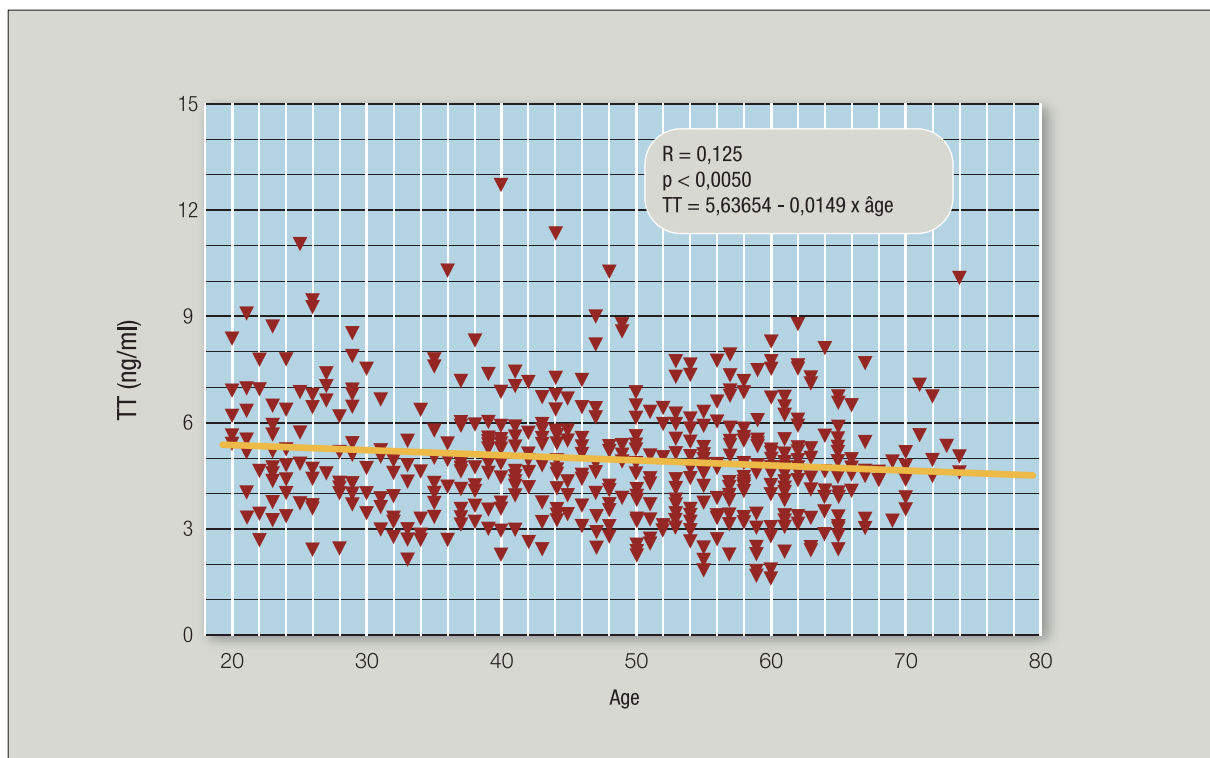
## Testostérone (TT)

### Principe du dosage

Le dosage de la **testostérone (TT)** a été effectué par méthode immunologique (Time-Resolved Fluorometric Assay ou TR-FIA) (Fiet et al. 2004) après extraction et chromatographie sur Célite d'une part et après chromatographie en phase gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (GCMS) (Labrie et al 2006 et Giton et al 2007) d'autre part. Les résultats ont été strictement identiques entre les 2 méthodes.

### Résultats du dosage de la TT en fonction de l'âge

**TT** diminue légèrement mais significativement en fonction de l'âge de 0.27% par année (fig 3). Chez le sujet âgé (>60 ans), **TT** est environ égale au 4/5 de la **TT** des sujets de 20 ans. Les percentiles 2.5 et 97.5 correspondent à des **TT** respectivement de 2.72 ng/ml et 9.29 ng/ml chez les sujets jeunes (20-39 ans) et de 2.39 ng/ml et 8.18 ng/ml chez les sujets âgés (60-74 ans) (tableau 1). Cette diminution de la **TT** en fonction de l'âge a été rapportée par des études transversales (Vermeulen 1991, Belanger et al, 1994, Ferrini et Barrett-Connor 1998, Nahoul & Roger 1990, Nankin & Calkins 1986) et par des études longitudinales (Morley et al, 1997, Harman et al, 2001, Feldman et al, 2002, Liu et al, 2007).



**Figure 3 : Diminution faible mais significative de la testostérone avec l'âge**  
(nmol/l = ng/ml x 3,472)

**Tableau 1 : Normales en percentiles de la TT (ng/ml), TBD (ng/ml) et de la SHBG (µg/ml), dans plusieurs groupes de sujets d'âge croissant.**

<b>Stéroïdes et SHBG</b>	<b>20-74 n=503</b>	<b>20-39 n=142</b>	<b>40-49 n=100</b>	<b>50-59 n=135</b>	<b>60-74 n=126</b>
TT 2.5	2,41	2,72	2,46	1,84	2,39
TT 5	2,67	2,73	2,81	2,36	2,5
TT 25	3,73	3,8	3,8	3,46	3,51
TT 50	4,73	4,82	4,91	4,5	4,63
TT 75	5,77	6,24	5,78	5,64	5,32
TT 95	7,77	8,53	8,66	7,33	7,61
TT 97.5	8,66	9,29	9,04	7,71	8,18
TBD 2.5	0,6412	0,8928	0,8015	0,6072	0,5778
TBD 5	0,729	1,0166	0,895	0,7106	0,6214
TBD 25	1,14	1,5675	1,2624	1,0116	0,904
TBD 50	1,464	1,892	1,6243	1,2475	1,2168
TBD 75	1,9116	2,4448	2,0368	1,5562	1,4872
TBD 95	2,7521	3,4529	2,592	2,3306	1,9936
TBD 97.5	3,074	3,642	2,816	2,5092	2,109
SHBG 2.5	1	0,9	0,8	1,4	1,4
SHBG 5	1,2	1	1	1,5	1,7
SHBG 25	2	1,6	1,8	2,1	2,3
SHBG 50	2,6	2,2	2,4	2,9	3
SHBG 75	3,4	2,8	3,1	3,7	3,5
SHBG 95	4,6	3,8	4,2	4,7	5,8
SHBG 97.5	5,3	4,5	4,5	5,1	6,1

Testostérone : nmol/l = ng/ml x 3,472

SHBG : nmol/l = µg/ml x 11,9



## Variations nycthémérales de la TT chez le sujet jeune et chez le sujet âgé

Les taux les plus élevés sont obtenus le matin, entre 8 h et 10 h (*Resko et Eik nes, 1966*). C'est l'heure à laquelle doit être effectué le prélèvement pour le dosage. Les taux diminuent dans l'après midi et la soirée (*fig 4*) et sont à 20 heures de l'ordre de 30-35% plus faibles que le matin. L'amplitude de ces variations nycthémérales diminuent avec l'âge (*fig 4*), (*Bremner et al, 1983*) et dans l'après midi les taux de TT des sujets âgés se rapprochent de ceux des sujets jeunes. Ceci explique en partie que, pendant des années, la diminution de la TT avec l'âge a été contestée, car les prélèvements étaient effectués à des heures variables au cours de la journée.

## Variabilité intersujets

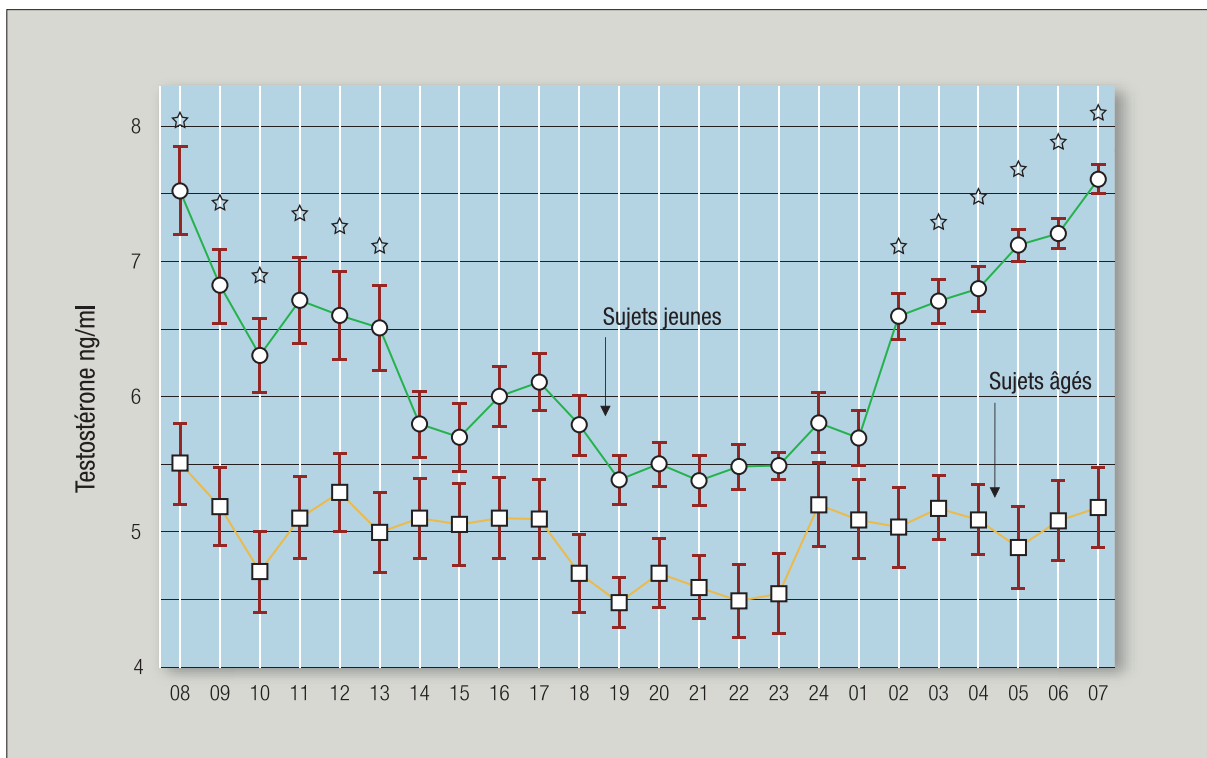
Une variabilité intersujet importante est observée à tous les âges (*fig 3*) puisque les valeurs extrêmes de 95% de la population normale sont chez les sujets jeunes de 2.72 ng/ml et 9.29 ng/ml et chez les sujets âgés de 2.39 ng/ml et 8.18 ng/ml.

Ainsi peuvent contribuer à cette variabilité :

- des sécrétions épisodiques ultradiennes (*Veldhuis et al, 1987*).
- des facteurs génétiques décrits à partir de jumeaux (*Meikle et al, 1988*)
- un indice élevé de masse corporelle (IMC), l'obésité tend à diminuer la TT. Cependant dans notre étude, les sujets ayant un IMC > 30 n'ont pas été retenus.
- des modes de vie : les fumeurs tendent à avoir des taux de TT de 10% plus élevés, l'abus d'alcool diminue la TT, une activité sportive modérée tend à augmenter la TT (*Tissandier et al, 2001*).
- des variations saisonnières n'expliquent pas vraisemblablement cette variabilité. Les résultats d'études de la testostérone en fonction de la saison ont conduit en effet à des résultats disparates.
- les variations nycthémérales ne peuvent être ici prises en compte car tous les prélèvements ont été effectués entre 8 et 10 H du matin.
- en plus des variations nycthémérales classiques au cours de la même journée, des variations intra-sujets, d'une semaine à l'autre ont été décrites (*Morley et al, 2002*). Ce qui a conduit en exploration clinique, à exiger au moins 2 prélèvements à 8 jours d'intervalle pour affirmer l'existence réelle d'un hypogonadisme.
- des variations ethniques ont été décrites. Cependant notre population n'est concernée que par des sujets caucasiens.
- des maladies aiguës (infarctus du myocarde, interventions chirurgicales) ou chroniques (un diabète, une insuffisance rénale, des états d'hypoxémie, des stress chroniques), les états d'hyperthyroïdie, la prise de certains médicaments (corticoïdes, neuroleptiques), diminuent la TT. Mais ces circonstances n'expliquent pas en principe la variabilité intersujet que nous rapportons, car les sujets de la population contrôle que nous avons étudiés, ont été sélectionnés entre autre sur l'absence de pathologie particulière et de traitement.

## Concernant les techniques de dosages commerciaux

Les autoanalyseurs d'immunoanalyse de la TT chez l'homme, conduisent généralement à des résultats proches de ceux obtenus par des méthodes de référence, donc proches de ceux rapportés ici. Une étude récente de comparaison du dosage de la TT par 10 immunoessais commerciaux par rapport à la GCMS, rapporte une bonne corrélation entre les résultats des



**Figure 4 : Variations nyctémérales de la testostérone**

immunoessais et la technique de référence GCMS (Taïeb et al, 2003). Cependant les médianes des 10 immunoessais diffèrent de celles obtenues par GCMS. D'après les auteurs (Taïeb et al, 2003), certains systèmes de dosage (Vitros, Vidas, Elecsys 2000, et RIA Immunotech) sous-estiment la **TT** tandis que l'ACS-180 et l'Autodelphia surestiment la **TT**, en particulier dans la zone limite conduisant au diagnostic d'hypogonadisme.

### Importance des valeurs seuils basses, pour le diagnostic de l'hypogonadisme en fonction de l'âge

Les valeurs seuils basses de **TT**, en dessous desquelles peut être évoqué un hypogonadisme biochimique, diminuent sensiblement avec l'âge. La valeur de **TT** aux 2.5 percentile, de 2.72 ng/ml (9.45 nmol/L) (tableau 1) dans le groupe de 142 sujets jeunes (valeur seuil proche de celle obtenue en calculant la moyenne moins 2.5 écart type (Morales & Lunenfeld, 2002) diminue à 2.39 ng/ml dans le groupe des 126 sujets de plus de 60 ans. De façon schématique :

#### Une testostéronémie < 2.50 ng/ml

est la valeur seuil inférieure en dessous de laquelle,  
un hypogonadisme doit être suspecté !!

C'est d'ailleurs la valeur qui a été admise par l'Endocrine Society aux USA, mais qui correspond à un niveau rencontré dans 1% de la population.

Compte tenu des variations intraindividuelles notables de la testostérone d'un jour à l'autre (Doering et al, 1975) la confirmation d'un taux anormalement bas de la **TT** est nécessaire par un nouveau dosage de contrôle 8 jours plus tard.

## Testostérone biodisponible (TBD)

### Définition de la TBD

Une fraction de 40% à 70% de la **testostérone totale TT** du plasma est liée fortement à une protéine de transport, la **SHBG** et est considérée comme inactive car cette fraction de la **testostérone** ne peut se dissocier aisément de la **SHBG** et par conséquent ne peut traverser les membranes des cellules (*Pardridge 1981*).

Par contre 30 à 60% de la **TT** est transportée par l'albumine et cette liaison testostérone-albumine est labile si bien que cette testostérone pourra se dissocier aisément de l'albumine et pénétrer à l'intérieur des cellules, au cours du transit du sang dans les capillaires. La **testostérone libre** non fixée à des protéines qui ne constitue que < 2% de la **TT** pénètre directement à l'intérieur des cellules.

L'ensemble **testostérone** liée à l'albumine + **testo libre** représente la **testostérone biodisponible (TBD)**. C'est la **testostérone active** qui pénètre facilement à l'intérieur des cellules (*Pardridge 1981*) (fig 5, 6).

### Dosage de la TBD

La **TBD** ou **testostérone** non liée à la **SHBG** est séparée de la **testostérone** liée à la **SHBG**, par précipitation de la **SHBG** (et donc de la testostérone liée à la **SHBG**) par l'addition au plasma ou sérum d'une solution saturée de sulfate d'ammonium.

Il y a 2 variantes : la méthode de Tremblay & Dune 1974, (*Loric et al, 1987*). C'est la méthode que nous avons utilisée (*Giton et al 2006,2007*). Elle consiste à incuber une dose traceuse de testostérone radioactive (tritiée) ajoutée au plasma, puis à précipiter la **testostérone** liée à la **SHBG** par une solution saturée de sulfate d'ammonium . On centrifuge. Après centrifugation , on compte la radioactivité dans le surnageant. On calcule ainsi le pourcentage (%) de **TBD**. En multipliant ce % par la concentration de **TT** précédemment dosée, on obtient la concentration de **TBD** en ng/ml.

L'autre variante du dosage de la **TBD**, ne met pas en œuvre de **testostérone** radioactive. Elle consiste à doser la testostérone par radioimmunologie dans le surnageant après précipitation de la **testostérone** liée à la **SHBG** par la solution saturée de sulfate d'ammonium (*Déchaud et al, 1989, Nahoul et al, 1990*).

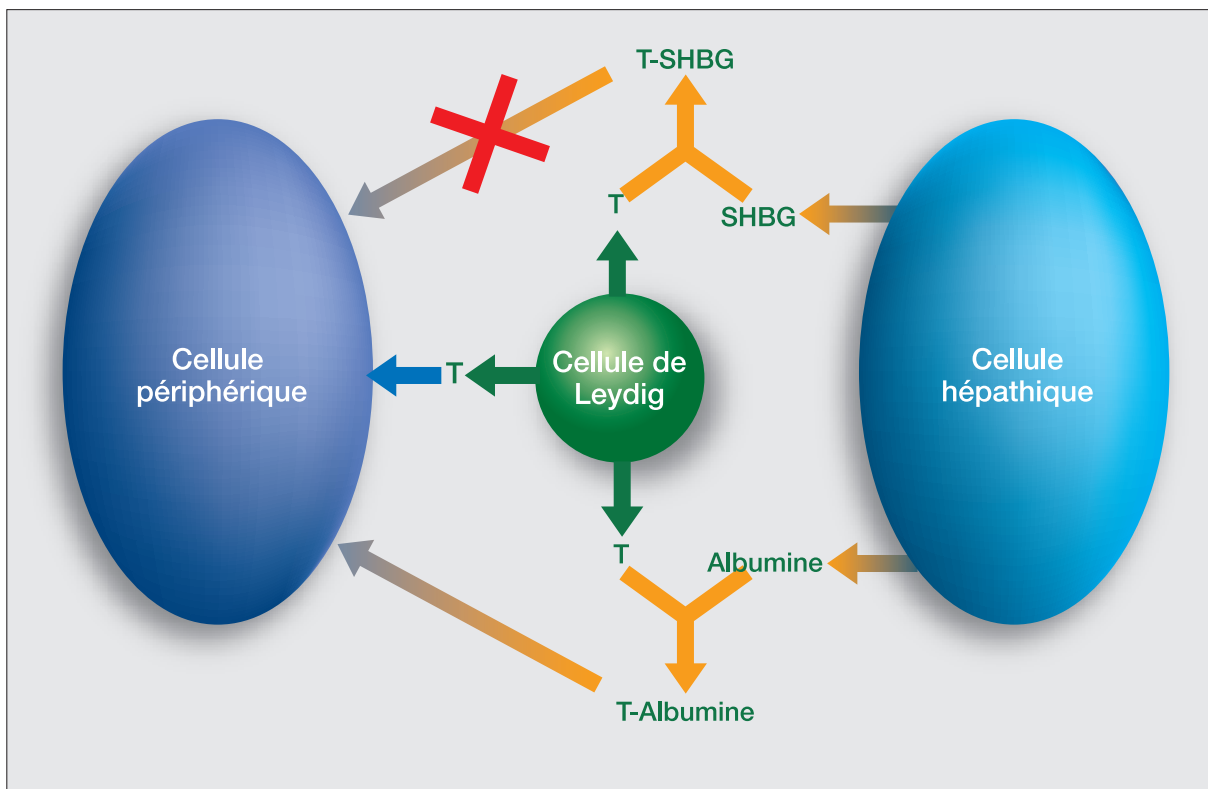
### TBD et vieillissement

Dans la population de 503 sujets, décrite précédemment, la **TBD** décroît très significativement en fonction de l'âge, à raison de 1.07% par année (fig 7), donc plus rapidement que la **TT**, comme cela a aussi été rapporté par d'autres auteurs (*Ferrini, & Barrett-Connor, 1998, Nahoul & Roger, 1990, Nankin & Calkins, 1986, Feldman, 2002*).

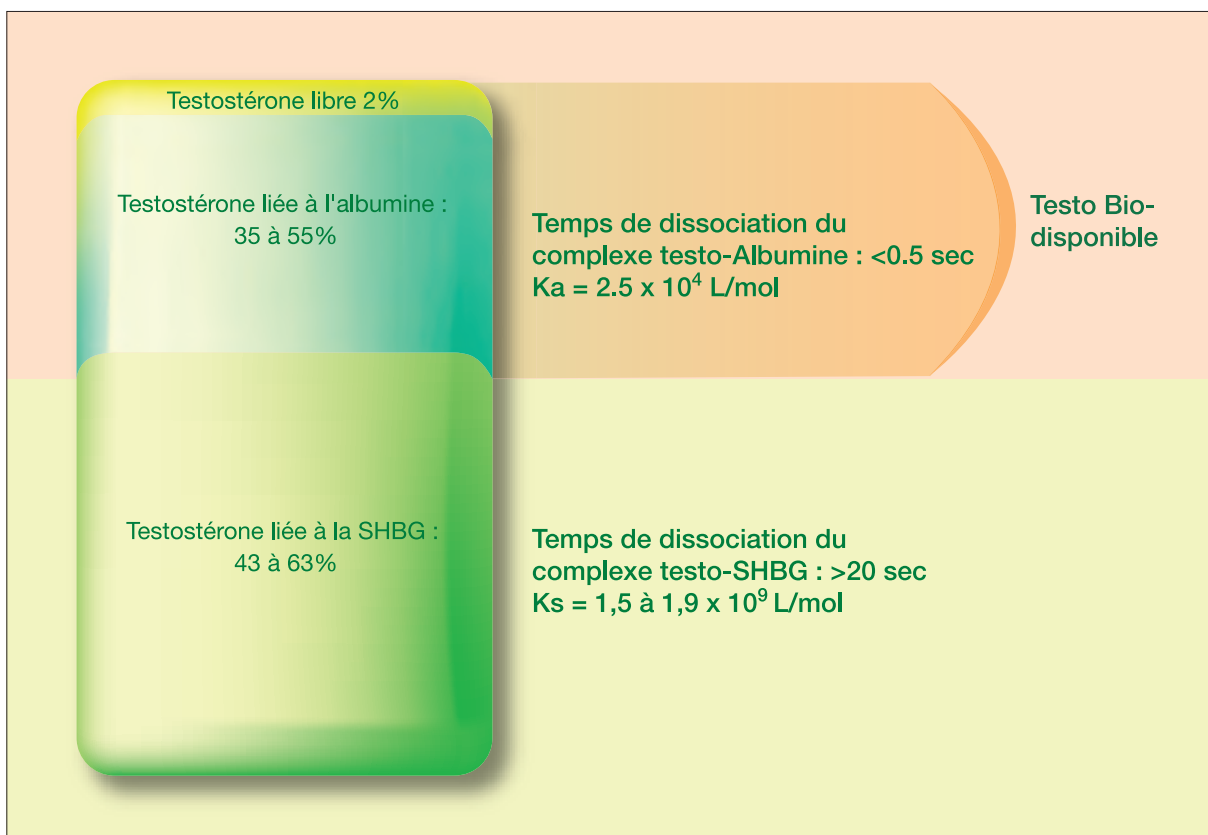
#### Normales de la TBD, intervalle 2.5 Percentiles—97.5 Percentiles

**Sujets jeunes (20-39 ans): 0.89 ng/ml ----3.46 ng/ml**

**Sujets âgés (50-74 ans) : 0.57 ng/ml ----2.11 ng/ml (tableau 1)**



**Figure 5 : Répartition de la TT dans le plasma en testostérone biodisponible (T libre + T liée à l'albumine) qui pénètre dans les cellules et testostérone liée à la SHBG qui ne pénètre pas dans les cellules**



**Figure 6 : Différentes formes de testostérone du plasma chez l'homme**

## Variations nyctémérales de la TBD en fonction de l'âge

La **TBD** comme la **TT** présente des variations nyctémérales et des taux plus élevés entre 8 h et 10 h que pendant l'après midi et la soirée tout au moins chez le sujet jeune. Ces variations sont en partie effacées chez le sujet âgé (*Tenover et al, 1987*).

## Variabilité intersujet

Une variabilité intersujet est observée à chaque âge (**fig 7**). Si bien que des sujets âgés peuvent présenter des concentrations de sujets jeunes. Ainsi près de 10% des sujets du groupe 60-74 ans présentent des taux de **TBD** dans la moitié supérieure des taux de **TBD** des sujets jeunes du groupe 20-39 ans.

La **TBD** est le meilleur marqueur hormonal pour le diagnostic de l'hypogonadisme, selon les recommandations de la Société pour l'Etude de l'Homme Agé (ISSAM), (*Morales & Lunenfeld, 2002*). Cependant quelle valeur doit être considérée comme valeur "seuil" pour diagnostiquer un hypogonadisme ? Les **TBD** diminuent avec l'âge : doit-on considérer la valeur "seuil" au percentile 2.5 en fonction de l'âge ? Les valeurs de **TBD** au percentile 2.5 varient avec l'importance du groupe étudié. Pour l'ensemble de la population des 503 sujets étudiés dans notre population de référence, la **TBD** au percentile 2.5 est de 0.64 ng/ml (elle est de 0.89 ng/ml dans le groupe des sujets jeunes et de 0.57 ng/ml dans le groupe des sujets âgés).

La valeur "seuil" de 0.70 ng/ml est une valeur de compromis, proche de celle rapportée par *Sih et al, 1997* et *Korenman et al, 1990*.

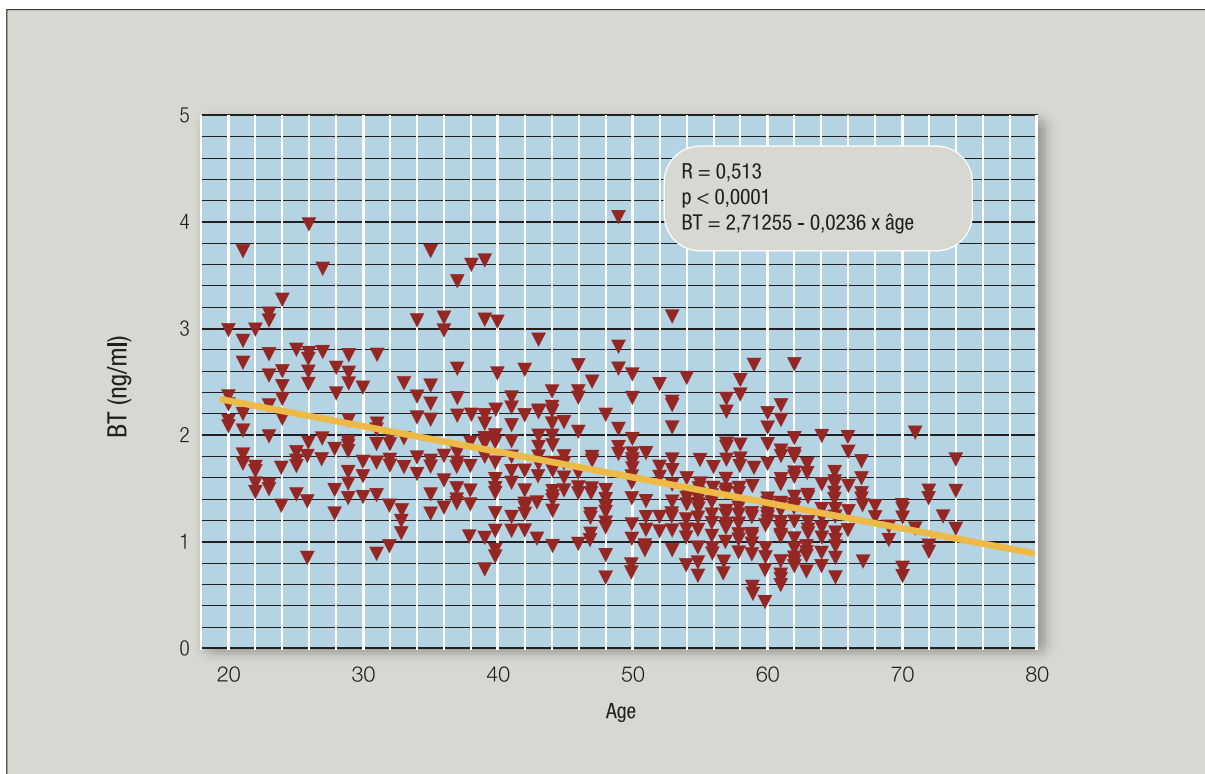
**Une TBD <0.70 ng/ml  
(présente dans 2.5% de la population normale adulte)  
est en faveur d'un hypogonadisme biochimique .**

## Influence de la qualité analytique du dosage de la TBD, sur les valeurs normales

Les valeurs normales obtenues dépendent, comme pour tout paramètre biologique, de la précision et de l'exactitude du dosage. La précision dans nos mains a été de 4.5%, 3.8% et 10% (*Giton et al, 2006*), selon le niveau du sérum de contrôle. A l'heure de l'utilisation des automates, la méthode de dosage que nous avons utilisée est considérée comme longue. Cependant cette méthode a été largement utilisée par de nombreux auteurs pendant des dizaines d'années, et a fourni des valeurs normales très proches de celles que nous rapportons ici et ceci contrairement à la **TBD** calculée selon la méthode de l'ISSAM accessible sur le site Web et qui conduit à des niveaux presque doubles de la **TBD** dosée. (voir ci-après).

## Tentatives de Calcul de la TBD

Comme les concentrations de **testostérone** liée à l'albumine vont dépendre des concentrations des molécules porteuses de la **testostérone**, essentiellement de la **SHBG**, pour laquelle la **testostérone** présente une affinité élevée avec une constante d'association  $K_{shbg}$  de l'ordre de  $10^9$  L/mole, plusieurs auteurs ont développé des équations basées sur les réactions d'équilibre de la testostérone avec la **SHBG** et avec l'Albumine pour laquelle la **testostérone** a une constante d'association faible de l'ordre de 2 à 3 x  $10^4$  L/mol seulement.



**Figure 7 : Diminution très significative de la testostérone biodisponible (BT ou TBD) avec l'âge.**

Le dernier calcul publié (*Vermeulen et al, 1999*) nécessitant seulement la connaissance des concentrations de **TT** et de **SHBG** (accessibles par de nombreux automates d'immunoanalyse) conduit à des valeurs de **TBD** 1.5 à 2 fois plus élevées que celles mesurées par tous les auteurs comme nous l'avons montré (*Giton et al 2006, 2007*). Il a été cependant mis sur le Web, et chacun peut calculer une **TBD** à partir des concentrations de la **TT**, et de la **SHBG** mesurées.

Cependant, on doit se poser des questions sur la validité de ce calcul, basé sur la loi d'action de masse entre 1 seul ligand, la **testostérone** et 2 protéines d'affinité, la **SHBG** et l'albumine. Car les constantes d'association de la testostérone avec la SHBG et avec l'albumine ne sont pas connues précisément. Plus d'une dizaine de  $K_{shbg}$  ont été publiées (elles varient d'un facteur 10 selon les auteurs, entre  $0.35 \times 10^9$  L/mol (*Rosner et Smith, 1975*) et  $4 \times 10^9$  L/mol (*O'Connor et al, 1973*) (*Giton et al, 2006, 2007*). *Vermeulen et al, 1999* ont choisi une  $K_{shbg}$  de  $1 \times 10^9$  L/mol. Il en résulte selon le choix des valeurs des constantes d'association  $K_{shbg}$  des résultats de testostérone biodisponible calculée très différents. En outre, l'hypothèse que seule la testostérone intervient dans le calcul est inexacte, car un autre stéroïde du plasma au moins, la  **$\Delta 5$ -androstènediol** non dosé couramment et dont les concentrations plasmatiques sont presque aussi élevées que celles de la testostérone se fixe également sur la **SHBG** avec la même affinité que la testostérone, comme nous l'avons rappelé (*Giton et al, 2007*).

Bien qu'il existe une corrélation entre la **TBD** calculée avec les  $K_{shbg}$  et  $K_{albumine}$  utilisées sur le site de l'ISSAM, et la **TBD** mesurée, l'utilisation du calcul de la **TBD** (dont les résultats sont le double de la **testostérone mesurée**), tel qu'il est fait sur le site de l'ISSAM avec les  $K_{shbg}$  de  $1 \times 10^9$  L/mol et  $K_{albumine}$  de  $3.6 \times 10^4$  L/mol, est à proscrire car il est basé sur trop d'hypothèses avérées inexactes (*Giton et al 2006, 2007*).

Ainsi, alors que les concentrations seuils de **TBD** permettant de faire le diagnostic d'un hypogonadisme se situent comme rapportées précédemment à 0.70 ng/ml, l'utilisation du calcul sur le site Web de l'Issam, conduit à une **TBD** calculée seuil correspondante de 1.52 ng/ml (Vermeulen 2005).

Cependant, nous avons pu calculer dans notre population d'hommes normaux, des concentrations de **testostérone biodisponible** dont les résultats sont proches (exactement ne différant pas plus de 30% des valeurs mesurées) selon la formule de Vermeulen (Vermeulen et al, 1999), mais en utilisant des constantes d'association  $K_{shbg}$  et  $K_{albumine}$  optimales respectivement de  $K_{shbg} = 1.9 \times 10^9$  L/mol et  $K_{albumine} = 2,5 \times 10^4$  L/mol (Giton et al, 2007). (voir annexe à la fin du chapitre).

## Testostérone libre ou non liée à des protéines

La **testostérone libre (FT)** ou non liée à des protéines est dosée par dialyse à l'équilibre. Cette méthode difficile est considérée comme une méthode de recherche.

Comme la testostérone biodisponible, la **FT** dépend des concentrations de la testostérone totale, et de la SHBG. Elle est en équilibre réversible avec la **SHBG** et avec l'albumine. Vermeulen et al, 1999, ont établi une équation qui permet de calculer la **FT**. Cependant, mais à un moindre degré que la testostérone biodisponible (**TBD**), le résultat du calcul dépend des valeurs des constantes d'association de la **TT** pour la **SHBG**,  $K_{shbg}$  et pour l'albumine  $K_{albumine}$ . Vermeulen et al, en choisissant les constantes d'association  $K_{shbg} = 1 \times 10^9$  L/mol et  $K_{albumine} = 3.6 \times 10^4$  L/mol, obtiennent des concentrations calculées de **FT** qui corrént avec **FT** mesurée par dialyse à l'équilibre, mais dont les résultats absolus sont trouvés environ une fois et demi plus élevés que les résultats de **FT** mesurés par dialyse à l'équilibre (Morley et al, 2002).

A titre indicatif, nous rapportons les valeurs de FT calculées dans notre population de référence de 503 hommes.

**Tableau : FT calculées à partir des dosages de la TT et de la SHBG.**

percentiles	2.5	5	25	50 (médiane)	75	90	97.5
FT nmol/l	0.1607	0.1963	0.2731	0.3493	0.4358	0.6189	0.6721

La médiane rapportée ici est similaire à celle publiée par d'autres équipes (Feldman et al, 2002).

Il est maintenant souhaitable, que d'autres comparaisons entre la **FT** calculée et la **FT** mesurée soient réalisées, Il s'agit de savoir si les constantes d'associations choisies sont les plus appropriées pour que le calcul fournisse des valeurs de **FT** les plus proches possibles des résultats obtenus par le dosage.

Les concentrations de **FT** calculées correspondant au Percentile 2.5, en faveur d'un hypogonadisme, ont été de 0.1607 nmol/L.

## Conséquences de l'hypogonadisme chez l'homme âgé

Cette diminution des concentrations de la **testostérone totale** et **biodisponible** particulièrement peut être accompagnée

- d'une diminution de la masse et de la force musculaire (*Frontera et al, 2000, Chow et al, 2005*), d'où la sarcopénie du sujet âgé.
- d'une réduction de la densité osseuse avec un risque augmenté de fractures de la hanche (*Wang et al, 2001*)
- d'une perte d'intérêt pour l'activité sexuelle (*Nilsson et al, 1995*),
- d'une diminution du bien être (*Barrett-Connor et al, 1999*),
- d'une diminution de l'orientation spatiale (*Mc Keever & Deyo, 1990*),
- de l'augmentation de la fréquence du syndrome métabolique, entre autres (*Rodriguez et al, 2007*).

## Pertinence d'un traitement par la testostérone

Chez le sujet jeune avec un hypogonadisme, le traitement par la testostérone apporte de grands bienfaits, négativant les symptômes cliniques liés à cet hypogonadisme.

Chez le sujet âgé présentant un hypogonadisme dont le diagnostic est basé sur l'**hypotestostéronémie totale** ou mieux **biodisponible** associé à un interrogatoire et à un examen clinique, on doit s'attendre à une amélioration des conséquences de l'hypogonadisme, comme cela a été montré (en particulier, une augmentation de la masse musculaire et de la force, une amélioration de la masse maigre et une diminution de la masse grasse, une augmentation de la densité osseuse, une amélioration des fonctions sexuelles, du bien être et de l'humeur (*Morley & Perry, 2003*). Ce traitement n'est débuté qu'après contrôle des taux de PSA.

## SHBG ou Sex Hormone Binding Globulin

### Définition

La **SHBG** ou Sex hormone binding globulin, appelée encore **SBP** ou Sex binding protein ou **TeBG** pour Testostérone estradiol binding globulin, synthétisée dans le foie est une protéine de transport des principaux stéroïdes endogènes gonadiques (*Dunn et al, 1981*), **testostérone**, **DHT** ou **dihydrotestostérone**, **estradiol**,  **$\Delta 5$ -androstènediol** pour lesquels elle présente les constantes d'association suivantes respectivement  $1,6 \times 10^9$  L/mol,  $5,5 \times 10^9$  L/mol,  $0,68 \times 10^9$  L/mol,  $1,5 \times 10^9$  L/mol.

### Méthode de dosage de la SHBG

La **SHBG** est dosée par méthode immunométrique mettant en jeu deux anticorps (un anticorps capteur et un anticorps détecteur) qui vont prendre en "sandwich" cette protéine. L'anticorps détecteur est marqué par une enzyme ou un radical susceptible d'émettre de la fluorescence (TRFIA) ou de la chimioluminescence, ou est marqué par de l'iode 125 radioactif. Il s'agit dans ce dernier cas d'une méthode immunoradiométrique. C'est cette méthode que nous avons choisie (kit de Cis biointernational Schering).



## Variation des concentrations de SHBG avec l'âge

Les concentrations de **SHBG** augmentent significativement avec l'âge (fig 8) et passent d'une médiane de 2.2 µg/ml à 20 ans à 3 µg/ml à 74 ans (tableau 1). La **SHBG** fixe la testostérone avec une forte affinité ( $k_{shbg} = 10^9$  L/mol) la rendant inapte à se dissocier rapidement et à pénétrer dans les cellules (Pardridge, 1981). Ainsi au cours du vieillissement, l'augmentation de la **SHBG** de 1% par an associée à la baisse de la production de testostérone de 0.27% par an, contribue à la diminution plus importante de la **TBD**, de 1.07% que la **TT**. Cette augmentation de la **SHBG** avec l'âge a été largement rapportée (Liu et al, 2007).

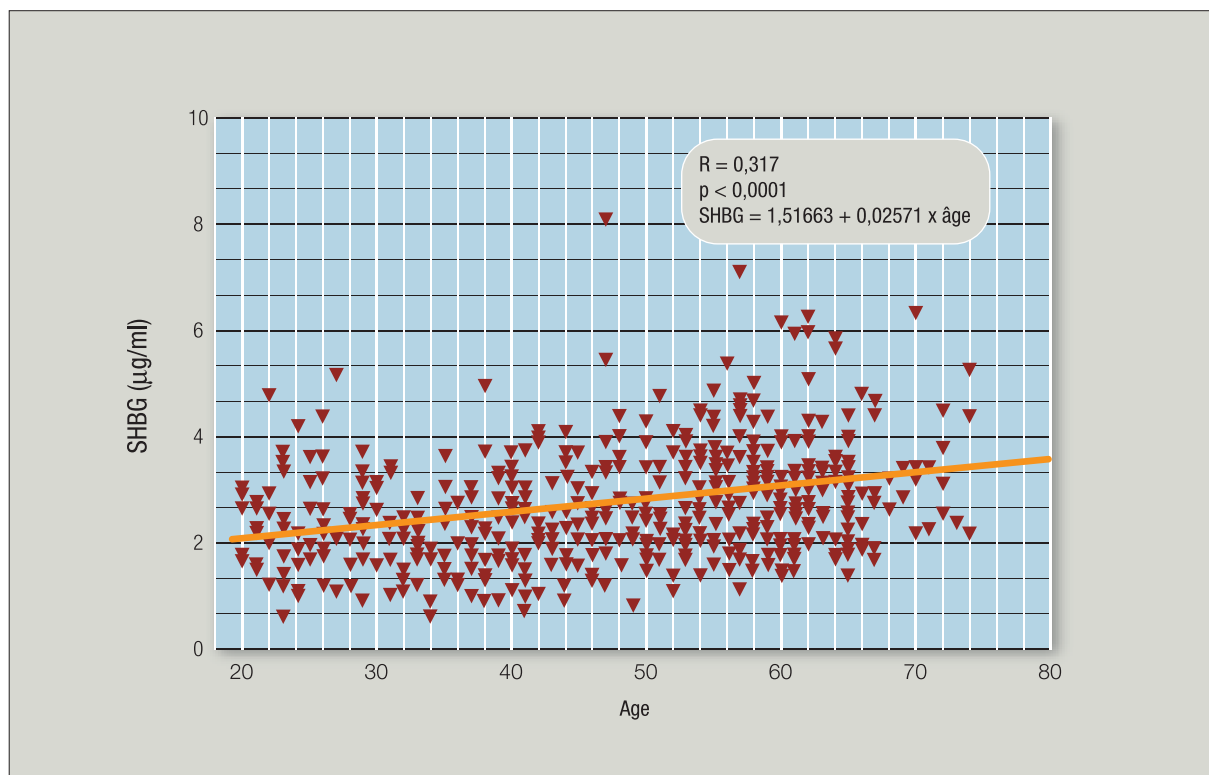
**Normales de la SHBG, intervalles 2.5 Percentiles---97.5 Percentiles**

**Sujets jeunes (20-39 ans) : 0.9 µg/ml---4.5 µg/ml**

**Sujets âgés (60-74 ans) : 1.4 µg/ml---6.1 µg/ml (tableau 1)**

## Variations circadiennes et variations intersujets

Contrairement à la **TT** et à la **TBD**, la **SHBG** présente peu de variations nycthémérales (Lewis et al, 2006). Par contre, les variations inter-sujets sont importantes (fig 8 et tableau 1). La **SHBG** est un marqueur de maladies métaboliques. Les concentrations de **SHBG** diminuent avec une augmentation de la résistance à l'insuline, et avec une augmentation du BMI, deux paramètres qui souvent tendent à augmenter avec l'âge. Inversement, une alimentation pauvre en protéine peut conduire à une augmentation de la **SHBG** ce qui est souvent le cas chez les personnes âgées (Longcope et al, 2000). Toutes ces situations se conjuguent pour expliquer les importantes variations intersujets.



**Figure 8 : Augmentation significative de la SHBG avec l'âge.**

(µg/ml x 11,9 = nmol/l)

## Importance du dosage de la SHBG chez l'homme âgé !!!, la TBD est plus informative que la TT

Le dosage de la **SHBG** associé à celui de la testostérone totale, permet de savoir quelle est la fraction de la testostérone totale réellement active, puisque c'est la **testostérone** non liée à la **SHBG** ou **testostérone biodisponible (TBD)** qui est active.

Le dosage de la **SHBG** est donc important à pratiquer pour déterminer l'"androgénicité" du sujet âgé. En pratique, chez le sujet âgé particulièrement, l'interprétation du dosage de la testostérone totale, nécessite que soit dosée la **testostérone biodisponible**, ou à la rigueur que la testostérone biodisponible soit calculée, **en mettant en œuvre des constantes d'association  $K_{shbg}$  et  $K_{albumine}$  qui permettront d'obtenir des résultats proches de ceux de la testostérone biodisponible mesurée (voir dans les Annexes, le moyen de déterminer la TBD par le calcul ou par le graphique, qui met en œuvre des constantes d'association optimisées)** comme déjà présentés, les résultats de dosage de la **testostérone biodisponible** calculés sur le site de l'ISSAM sont très supérieurs à ceux de la **testostérone** dosée, et ne doivent pas être considérés comme des résultats fiables. La détermination de la **testostérone biodisponible** par **son dosage** doit être réalisée (plutôt que son calcul), chaque fois que cela est possible.

Les graphiques présentés dans les Annexes, montrent que pour une même concentration de **TT**, la **testostérone biodisponible (CBT testostérone biodisponible calculée)** varie inversement en fonction de la **SHBG**. Ainsi, par exemple, pour une **TT** = 3 ng/ml (taux limite), avec un **SHBG** de 2 µg/ml, la **testostérone biodisponible** = 1 ng/ml et il n'y a pas d'hypogonadisme. Par contre pour la même **TT** = 3 ng/ml, quand **SHBG** = 4 µg/ml, la **testostérone biodisponible** = 0.60 ng/ml ce qui est en faveur d'un hypogonadisme.

## DHT ou Dihydrotestostérone

### Origines de la DHT

La **DHT** provient de la réduction de la **TT** par une  $5\alpha$ -réductase de type I ou II dans les tissus autres que les glandes endocrines, mais c'est également l'aboutissement de la séquence de la synthèse suivante : **DHEA** →  **$\Delta 4$ -androstènedione** → **androstanedione** → **DHT** par l'action séquentielle d'une  $3\beta$ ol-déshydrogénase, d'une  $5\alpha$ -réductase puis d'une  $17$ -hydroxystéroïde déshydrogénase. Il s'agit d'un métabolisme qui se situe en dehors des glandes endocrines, dans les différents territoires de l'organisme, et en particulier dans la peau et la prostate (C'est "l'Intracrinologie" de Labrie 1991).

Une faible proportion de **DHT** provient cependant également des cellules de Leydig (20%).

### Dosage de la DHT dans le sérum ou le plasma

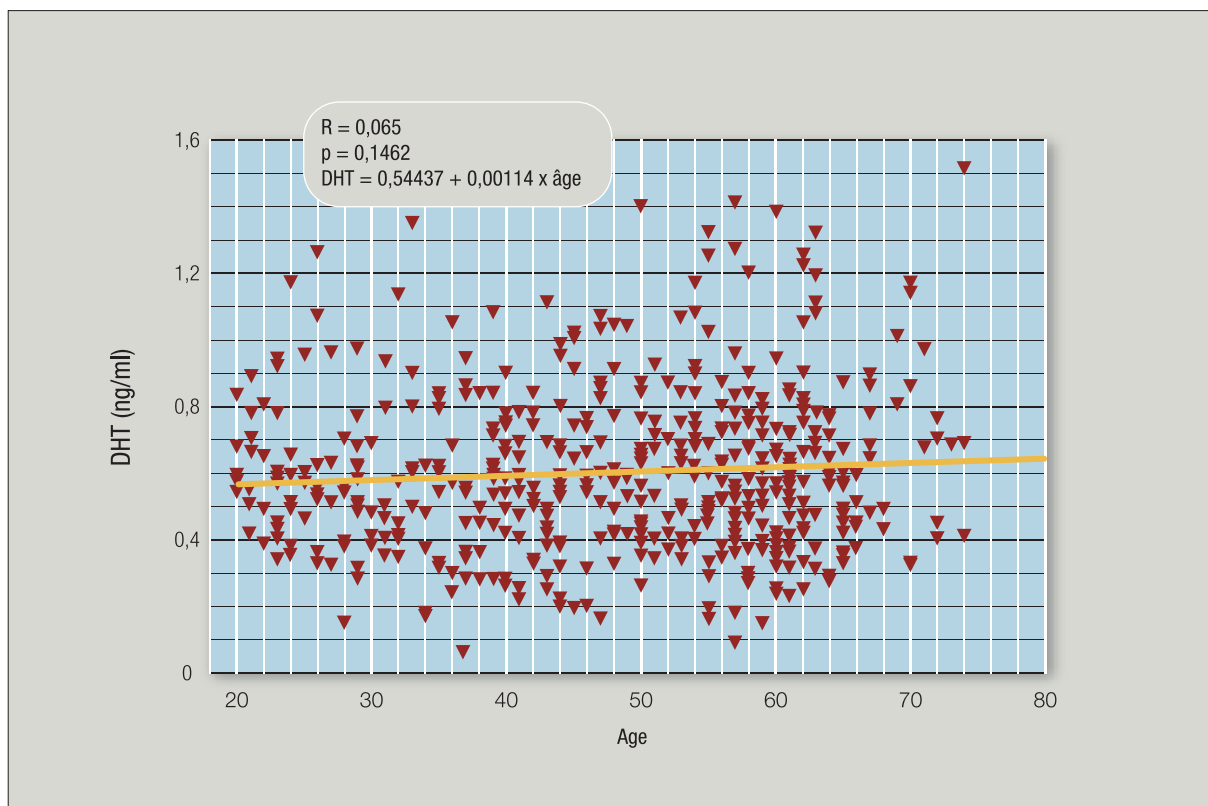
La **DHT** est mesurée par radioimmunologie, après séparation de la **TT** sur colonne de Célite ou sur Séphadex LH 20, cependant les dosages de référence sont effectués par GCMS, car les dosages par RIA même après chromatographie donnent des résultats 5 à 10% plus élevés que ceux obtenus par GCMS.

## Variations de la DHT du sérum au cours du vieillissement

Bien qu'une augmentation des concentrations semble survenir au cours du vieillissement d'après l'examen des percentiles (tableau 2) (fig 9) cette augmentation n'est pas significative, En accord avec d'autres auteurs, les concentrations de DHT du plasma ne varient pas au cours du vieillissement (Barrett-Connor et al, 1999, Belanger et al, 1994, Gray et al, 1994).

**Normales de la DHT. intervalles 2.5 Percentiles---97.5 Percentiles**

**Sujets de 20 à 74 ans : 0.19 ng/ml---1.11 ng/ml (tableau 2)**



**Figure 9 : Les concentrations de DHT du plasma ne varient pas avec l'âge**

**Tableau 2 : Normales de la DHT (ng/ml) en percentiles, dans plusieurs groupes de sujets d'âge croissant**

DHT	20-74 n=503	20-39 n=142	40-49 n=100	50-59 n=135	60-74 n=126
DHT 2.5	0,19	0,143	0,19	0,21	0,2
DHT 5	0,24	0,22	0,2	0,253	0,27
DHT 25	0,39	0,34	0,37	0,418	0,4
DHT 50	0,52	0,49	0,5	0,54	0,55
DHT 75	0,671	0,61	0,63	0,72	0,69
DHT 95	0,93	0,84	0,87	0,96	1,1
DHT 97.5	1,11	0,93	0,935	1,26	1,16

DHT : nmol/l = ng/ml x 3,448)

## **$\Delta$ 4-Androstènedione (A)**

### **Origines de l' A :**

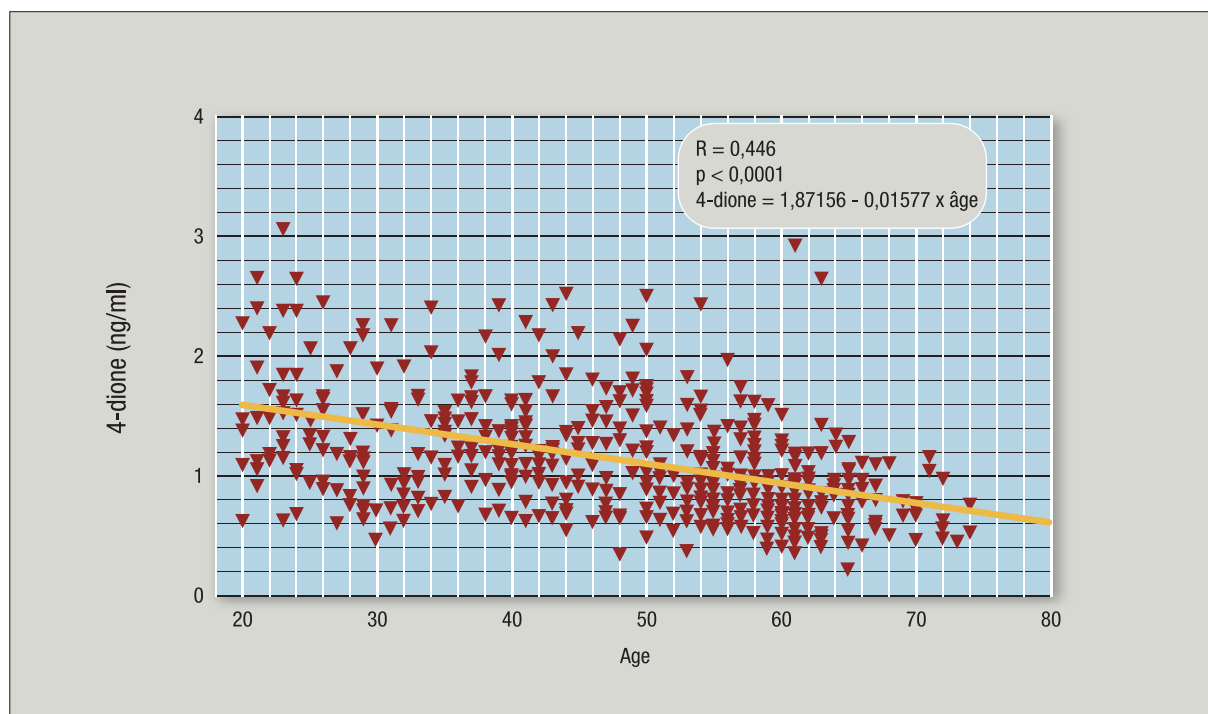
L'A est synthétisée pour moitié par les cellules de Leydig. Presque autant provient des surrénales et une petite fraction provient du métabolisme périphérique de la **DHEA**. Dans les cellules de Leydig, et dans les cellules de la zone réticulée des surrénales, l'A est synthétisée par l'action d'une  $3\beta$ ol-déshydrogénase-4-5 / 5-6 isomérase sur la **DHEA**, ou par l'action d'une C17-C20 desmolase sur la **17-hydroxyprogestérone** (fig 2).dont la chaîne latérale est ainsi coupée.

### **Dosage de l'A :**

Il est effectué par GCMS, radioimmunologie ou dosage immunologique non isotopique (Fiet et al 2001). Cependant les dosages immunologiques, que le tracer soit radioactif ou non radioactif exigent une étape de purification chromatographique avant l'étape de dosage proprement dite. Les concentrations obtenues avec une méthode "directe" sans phase de chromatographie préalable sont trouvées supérieures aux valeurs exactes.

### **Variations de l'A au cours du vieillissement (fig 10) et tableau 3**

Les concentrations plasmatiques de l' A diminuent dès l'âge de 20 ans jusqu'à 74 ans de 0.72% par an. La médiane de 1.25 ng/ml chez les sujets âgés de 20-39 ans chute à 0.77 ng/ml chez les sujets âgés (60-74ans) (fig 10) et tableau 3 (Labrie et al, 1997).



**Figure 10 : Les concentrations de  $\Delta$ 4-Androstènedione diminuent significativement avec l'âge**  
(A : nmol/l = ng/ml x 3,496)

L'A présente des variations circadiennes similaires à celles du **cortisol**, avec des concentrations plasmatiques maximales le matin entre 8 et 10 heures, heures au cours desquelles doivent être réalisés les prélèvements. Les concentrations diminuent ensuite au cours de la journée. (Fiet 1979, et Sjöberg et al, 1979).

**Normales de l'Androstènedione. intervalles 2.5 Percentiles---97.5 Percentiles**

**Sujets jeunes (20-39 ans) : 0.62 ng/ml---2.46 ng/ml**

**Sujets âgés (60-74 ans) : 0.4 ng/ml---1.44 ng/ml (tableau 3)**

**Tableau 3 : Normales en percentiles de la Δ4-Androstènedione (A)(ng/ml) dans plusieurs groupes d'âge croissant.**

	20-74 n=503	20-39 n=142	40-49 n=100	50-59 n=135	60-74 n=126
A 2.5	0,46	0,62	0,55	0,47	0,4
A 5	0,5	0,64	0,65	0,55	0,43
A 25	0,75	1	0,91	0,72	0,57
A 50	1,01	1,25	1,23	0,91	0,77
A 75	1,38	1,64	1,52	1,22	0,97
A 95	2,16	2,41	2,18	1,74	1,29
A 97.5	2,4	2,46	2,26	1,98	1,44

A : nmol/l = ng/ml x 3,496

## LH (Hormone lutéinisante)

### Dosage de la LH

Le dosage de la **LH** est réalisé par une méthode dite "sandwich". Classiquement l'anticorps capteur est accroché sur un support solide, et l'anticorps détecteur est marqué par l'iode 125 (dosage IRMA), ou par l'Europium (TR-FIA) ou le plus souvent par un élément susceptible de conduire à l'émission d'une fluorescence ou d'une chimioluminescence

Ce type de dosage est bien adapté aux autoanalyseurs d'immunoanalyse, comme la plupart des dosages "sandwich". Sa spécificité repose sur la qualité des anticorps mis en jeu.

### Variations au cours du vieillissement

Les concentrations de **LH** du plasma n'ont pas variées significativement dans notre population de référence au cours du vieillissement (fig11 et tableau 4). Il a été rapporté une élévation de la **LH** au cours du vieillissement (Tsitouras et Bulat, 1995), considérée secondaire à la diminution de la **TBD**, et du rétrocontrôle qu'elle impose. Cependant cette augmentation de la **LH** a été jugée modeste voir inexistante (Mitchell et al, 1995, Madersbacher et al, 1993 Vermeulen 1989, Morley et al, 1997), et elle pourrait être due à une diminution de la clairance de la **LH**.

L'absence d'élévation de la **LH** pourrait être imputée à une sécrétion insuffisante de GnRH par l'hypothalamus en réponse à une baisse de la testostérone, comme il est rapporté dans le

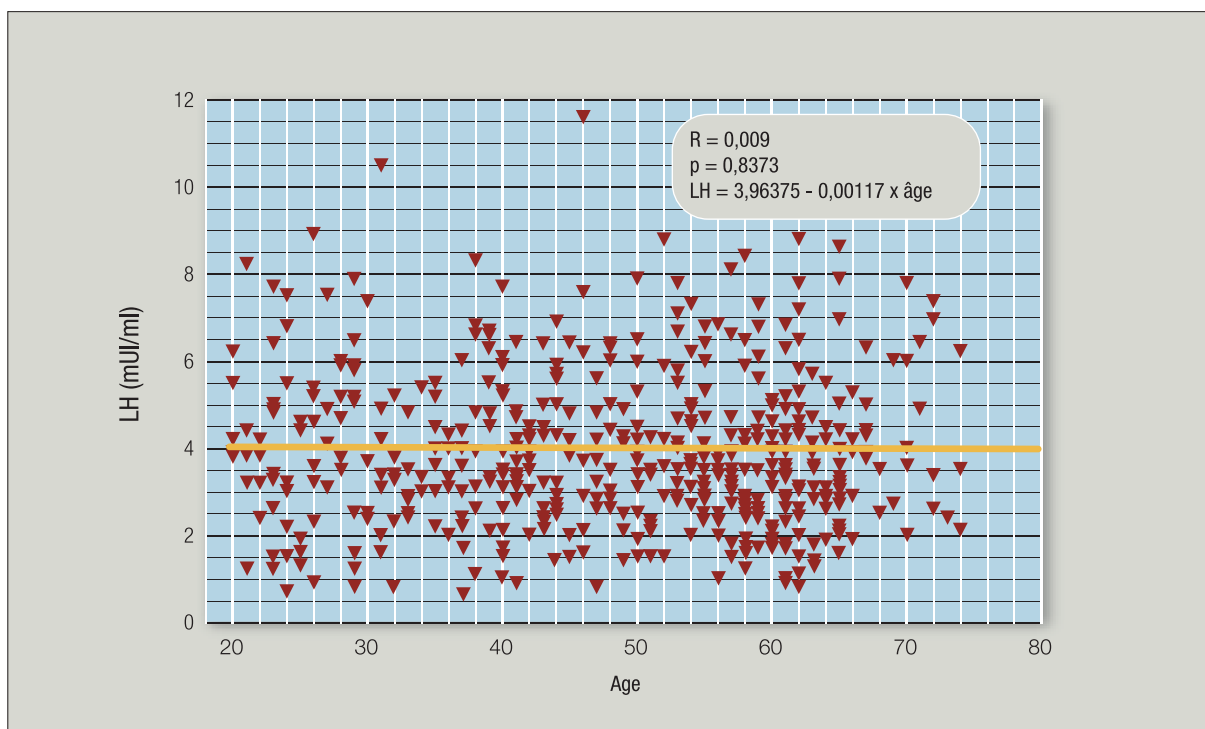


Figure 11 : Pas de variation significative de la LH avec l'âge.

Tableau 4 : Normales en percentiles de la FSH et de LH (UI/L) dans plusieurs groupes d'âge croissant.

	20-74 n=503	20-39 n=142	40-49 n=100	50-59 n=135	60-74 n=126
FSH 2.5	1,5	1,1	1,1	1,9	1,3
FSH5	1,8	1,4	1,7	2,3	2,1
FSH 25	3,4	2,8	3	4,4	4
FSH 50	5	4	4,4	5,7	5,9
FSH 75	7,1	5,6	6,9	8	7,7
FSH 95	10,9	9,3	10,3	11,5	11,1
FSH 95	11,6	10,5	10,4	11,9	11,6
LH2.5	1	0,8	0,8	1,5	1
LH5	1,5	1,2	1,4	1,6	1,4
LH25	2,6	2,6	2,6	2,7	2,6
LH50	3,7	3,8	3,7	3,6	3,6
LH75	4,9	5,2	4,8	4,7	4,7
LH95	7,3	7,7	6,4	7,1	7,4
LH 97.5	7,9	8,9	6,9	7,9	7,9

chapitre "Mécanisme du vieillissement hormonal". En fait les concentrations de la **LH** chez le sujet âgé peuvent être identiques à celles du sujet jeune, ou bien diminuées ou augmentées (*Veldhuis & Iranmanesh, 2005*).

Les concentrations normales limites chez les sujets âgés, selon nos dosages (réalisés avec le kit Immunotech-Beckman Réf IM 1381 avec un étalonnage effectué par rapport à l'International standard WHO 2 nd IS80 /552) sont comprises entre 1 UI/L (2.5 perc) et 7.9 UI/L (97.5 perc).

## **FSH (hormone folliculo-stimulante)**

### **Dosage de la FSH**

C'est le même type de méthode que celle utilisée pour le dosage de la **LH**. Il s'agit d'une méthode type "sandwich", immunométrique. La spécificité de cette méthode dépend de la qualité des anticorps mis en jeu.

Notons qu'un dosage biologique de la **FSH** bio-active est utilisé en recherche. Il est basé sur la mesure de la stimulation de l'activité aromatasique par la **FSH** sur des cellules de la granulosa in vitro (*Jia & Hsueh, 1986*).

### **Variations au cours du vieillissement**

Contrairement à la **LH**, nous rapportons une augmentation significative de la **FSH** au cours du vieillissement (**fig 12**) (**tableau 4**). La médiane augmente de 4UI/L, dans le groupe d'âge 20-39 ans à 5.9 UI/L dans le groupe d'âge 60-74 ans. Les valeurs limites normales chez les sujets âgés, selon nos dosages (réalisés avec le kit Immunotech-Beckman) sont comprises entre 1.3 UI/L (2.5 perc) et 11.6 UI/L (97.5 perc).

Cette augmentation de la **FSH** mesurée par méthode immunométrique est accompagnée d'une augmentation parallèle de la **FSH-bioactive** dans le sérum au cours du vieillissement (*Matzkin et al, 1991*), et le ratio **FSH** Immunométrique/**FSH-bioactive** est pratiquement constant.

L'augmentation de la **FSH** au cours du vieillissement est en relation négative avec les taux d'**inhibine B**, et donc indique une faillite progressive de la fonction des cellules de Sertoli. (voir le chapitre concernant les mécanismes du vieillissement).

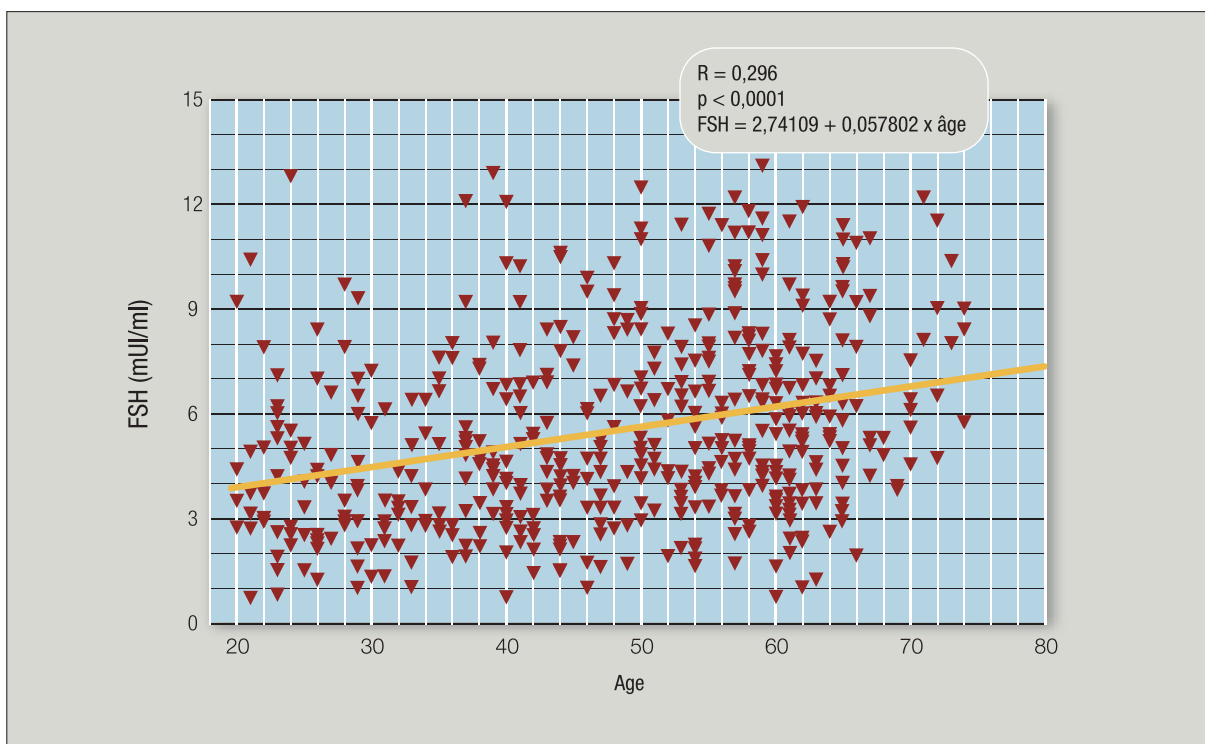


Figure 12 : Augmentation significative de la FSH avec l'âge.

## Inhibine B (InB)

### Méthode de dosage

Le dosage de l'inhibine B est effectué par méthode immunoenzymométrique (Ref : MCA 13/2 KZZ, laboratoire DSL).

### Variations des concentrations de l'InB au cours du vieillissement

L'InB est faiblement corrélée négativement à l'âge, mais plus fortement corrélée négativement avec la FSH.

La médiane de l'InB décroît avec l'âge surtout chez les adultes de <35 ans, les concentrations sériques sont stables entre 35 ans et 79 ans puis décroissent modestement au-delà. Cette diminution de l'InB est associée à une diminution du nombre des cellules de Sertoli et du volume testiculaire chez le sujet âgé (*Mahmoud et al, 2000*).

Les concentrations moyennes sont de : 213 ng/L entre 20 et 35/40 ans (n=42) et de 177 ng/L (n=115) au-delà de 75 ans (*Mahmoud et al, 2003*).

Comme la FSH croît au cours du vieillissement, les médianes des ratios **inhibine B/ FSH** et les interquartiles 25 - 75 percentiles de ces ratios pour les âges 20 - 40 ans sont de 57 (31-89), et de 18 (7-33) pour les âges >75 ans.



## 5-Androstènediol (5-diol)

### Origines

Le **5-diol** provient de la réduction de la **DHEA** (fig 2) par une 17 hydroxystéroïde déshydrogénase (isomère de type 3) dans la cellule de Leydig et dans les surrénales (à parties égales) mais également dans les tissus périphériques (Marwah et al, 2006). C'est un précurseur de la testostérone.

### Dosage de l'androstènediol

Il est réalisé par radioimmunologie, à l'aide d'anticorps anti 5-androstènediol-BSA après extraction du sérum suivi d'une étape de chromatographie avant la phase immunologique proprement dite (Nahoul et al, 1986 ; Belanger et al, 1994). Nous avons développé le dosage d'**androstènediol** par GCMS, ce qui nous a permis d'établir des normales (Giton et al, 2007).

### Variations des concentrations plasmatiques au cours du vieillissement

Comme la **DHEA** est le précurseur du **5-diol**, il n'est pas étonnant que les concentrations du **5-diol** décroissent au cours du vieillissement (fig 13) et tableau 5. En effet, cette décroissance atteint 1.04% par an. La médiane (et les valeurs extrêmes interquartiles) sont de 1.73 ng/ml (1.33-2.42) dans le groupe d'âge 20-39, et s'abaissent à 1.11 ng/ml (0.81-1.49) dans le groupe d'âge 60-74.

**Normales du  $\Delta$ 5-Androstènediol. intervalles 2.5 Percentiles---97.5 Percentiles**

**Sujets jeunes (20-39 ans) : 0.75 ng/ml---4.54 ng/ml**

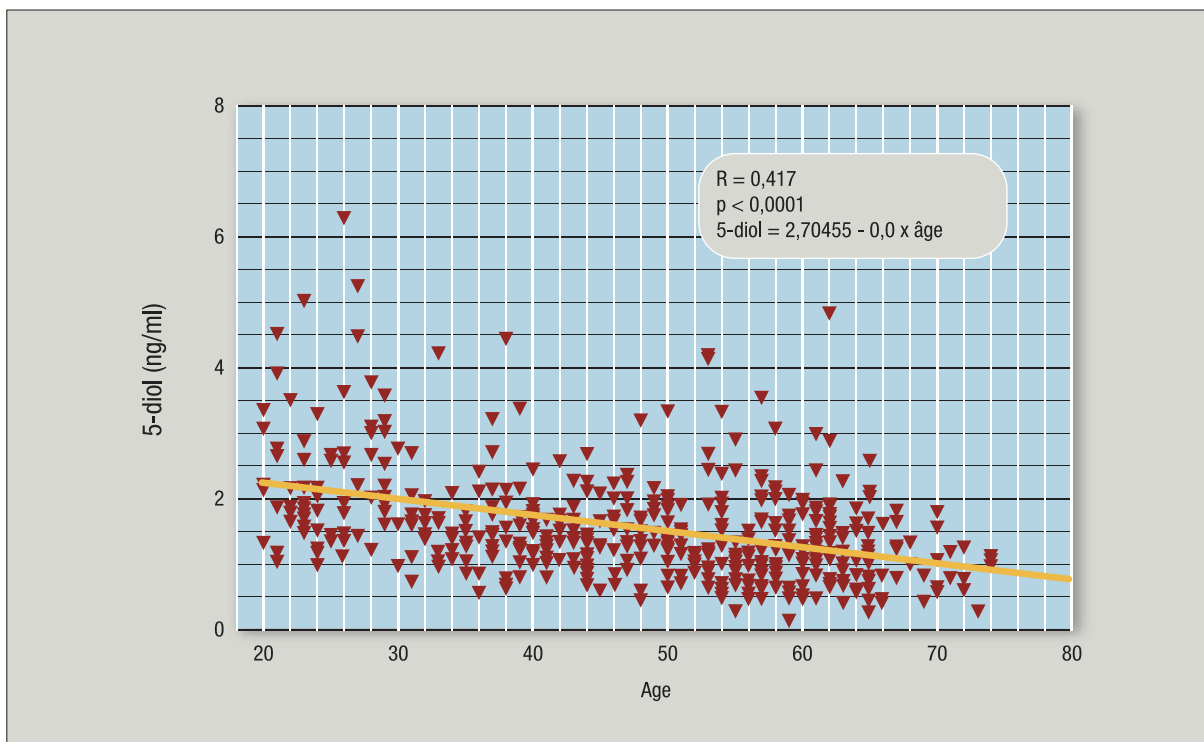
**Sujets âgés (60-74 ans) : 0.41 ng/ml---3 ng/ml (tableau 5).**

### Particularités de l'androstènediol

Ce stéroïde est dénommé "hermaphrodiol" car il est susceptible de se fixer à la fois sur des récepteurs des estrogènes et des androgènes.

En outre du fait de son affinité aussi élevée que la **testostérone** pour la **SHBG** (Dunn et al, 1981) et de sa concentration non négligeable dans le plasma, ce stéroïde intervient indirectement sur le taux de **TBD**. Chez le sujet jeune des taux plutôt élevés de **5-diol** tendent à déplacer la testostérone de sa liaison à la **SHBG** et à augmenter la fraction liée à l'albumine donc à augmenter la **TBD**. C'est l'inverse chez le sujet âgé dont les taux de **5-diol** sont abaissés. Ainsi l'augmentation de la **SHBG** et la baisse du **5-diol** conjuguent leurs effets pour abaisser la **TBD** chez le sujet âgé (Giton et al, 2007). C'est une raison supplémentaire qui nous conduit à rejeter l'utilisation du calcul de la **TBD** (issu du site web de l'Issam, qui est basé sur l'hypothèse que la **testostérone** est le seul ligand qui intervient dans le calcul de la **TBD**).

**Figure 13 : Diminution significative de l'Androstènediol avec l'âge**



$\Delta_5$ -diol : nmol/l = ng/ml x 3,44

**Tableau 5 : Normales en percentiles de la  $\Delta_5$ -Androstènediol (ng/ml) dans plusieurs groupes d'âge croissant**

	20-74 n=503	20-39 n=142	40-49 n=100	50-59 n=135	60-74 n=126
$\Delta_5$ -diol 2.5	0,47	0,75	0,6	0,4556	0,41
$\Delta_5$ -diol 5	0,5762	0,87	0,69	0,5	0,45
$\Delta_5$ -diol 25	1,02	1,33	1,16	0,88	0,81
$\Delta_5$ -diol 50	1,36	1,73	1,42	1,19	1,11
$\Delta_5$ -diol 75	1,85	2,42	1,76	1,66	1,49
$\Delta_5$ -diol 95	3,23	4,24	2,47	2,7	2,45
$\Delta_5$ -diol 97.5	4,154	4,54	2,69	3,36	3

$\Delta_5$ -diol : nmol/l = ng/ml x 3,44

## **L'Estradiol (E2), l'Estradiol biodisponible, l'Estrone (E1) et le Sulfate d'estrone (SE1)**

### **Origines**

E2 provient de l'aromatation de la **testostérone** par une aromatasase, ou de la réduction de l'**oestrone** (E1) par une 17 $\beta$ -hydroxystéroïde déshydrogénase (17 HSD type 1), ou de l'hydrolyse du **sulfate d'E2 (SE<sub>2</sub>)** par une sulfatase. Ces voies de production ont lieu dans les cellules de Leydig, les cellules surrénaliennes et les tissus périphériques dont le tissu adipeux, les os, les muscles, le foie et la prostate. La production à partir de **SE<sub>2</sub>**, est prédominante dans les tissus périphériques.

**E2** est transporté dans le plasma, d'une part sous forme liée à 2 protéines, la **SHBG** (cette liaison est de haute affinité ce qui rend **E2** indisponible pour les cellules), et l'albumine (cette liaison est de faible affinité, ainsi **E2** lié à l'albumine est biodisponible pour les cellules de l'organisme) et sous forme libre, en très faible %.

**E1** provient de l'aromatation de la  **$\Delta$ 4-androstènedione** par une aromatasase, ou de l'oxydation de **E2** par une 17 HSD type 2, 4, ou 6. ou par hydrolyse sulfatasique du **sulfate d'estrone SE1**. Ce métabolisme présent dans les glandes endocrines est également particulièrement important dans le tissu adipeux.

**SE1** provient de l'action d'une sulfotransférase sur l'**estrone**. Conjugué hydrosoluble de l'**E1**, c'est une forme de réserve des estrogènes.

### **Dosage de E2 total**

Le dosage de **E2** est réalisé dans le plasma ou sérum par immunologie, radioimmunologie ou immunocompétition sur autoanalyseur d'immunoanalyse, ou par GCMS. Cette dernière méthode est considérée comme la méthode de référence.

Elle a été utilisée pour comparer la sensibilité et l'exactitude de kits de dosages manuels et de dosages par autoanalyseur d'immunoanalyse qui sont sur le marché (Afssap).

Compte tenu des concentrations faibles circulantes de **E2** chez l'homme, ce dosage n'est pas facile. Un certain nombre de réactifs et de systèmes de dosage ont donné satisfaction, c'est-à-dire que l'exactitude et la sensibilité ont été jugées satisfaisantes par comparaison avec la méthode de référence par GCMS. Citons Bayer Diagnostic Estradiol 6 III, Cis Bio International EST-US-CT, Diasorin Estradiol2, Diasorin Spectria, Diasorin Spectria Sensitive, DPC Count-A-Count, DPC Double Antibody, DPC Immulite-2000, Roche Diagnostics Elecsys (Travail de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé, publié dans les Annales d'Endocrinologie Congrès de Strasbourg, 2005).

### **Dosage de E1**

Il est réalisé par méthode radioimmunologique, après extraction suivie d'une purification chromatographique sur célite. Ce dosage est délicat et nécessite un volume de sérum d'au moins 1.5 ml.

**E1** est maintenant avantageusement dosé par GCMS, dont la grande sensibilité et la spécificité permet d'utiliser un volume moindre de plasma ou de sérum. (*Labrie et al, 2006*).

## Dosage de SE1

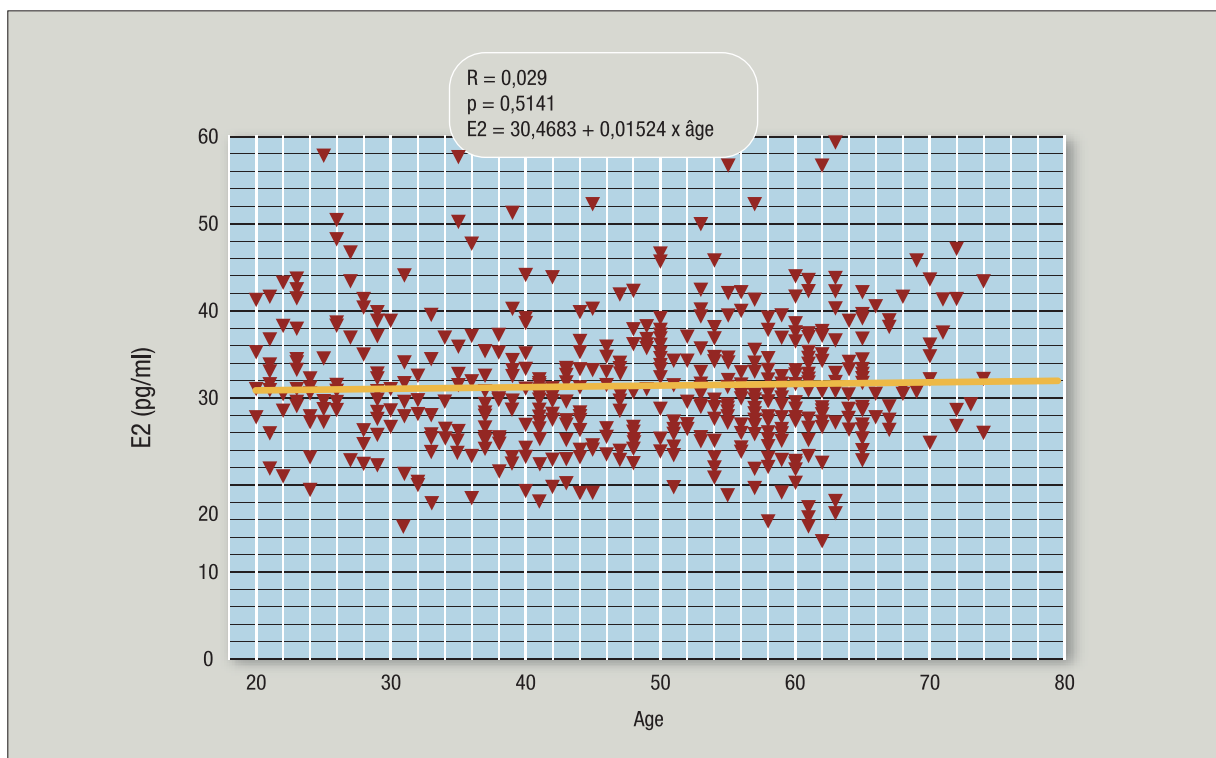
SE1 est dosé par immunocompétition de E1 libérée par hydrolyse enzymatique ou solvolysée, E1 étant séparée au préalable de E2 par chromatographie sur Célite. Le dosage du SE1 se fait également par immunocompétition avec un anticorps anti-SE1 (Giton et al 2002), après extraction et chromatographie pour séparer SE1 de SDHEA..

## Variations de E2, E1 et SE1 au cours du vieillissement et au cours du nycthémère.

Dans notre population de référence de 503 sujets, nous n'avons pas trouvé de variations significatives de ces 3 estrogènes au cours du vieillissement (fig 14-16 et tableau 6) en accord avec d'autres auteurs (Muller et al, 2003, Vermeulen et al, 2002, Bélanger et al, 1994, Giton et al, 2008). Ainsi les valeurs extrêmes, aux 2.5 et 97.5 percentiles englobant 95% de la population de 503 sujets normaux sont :

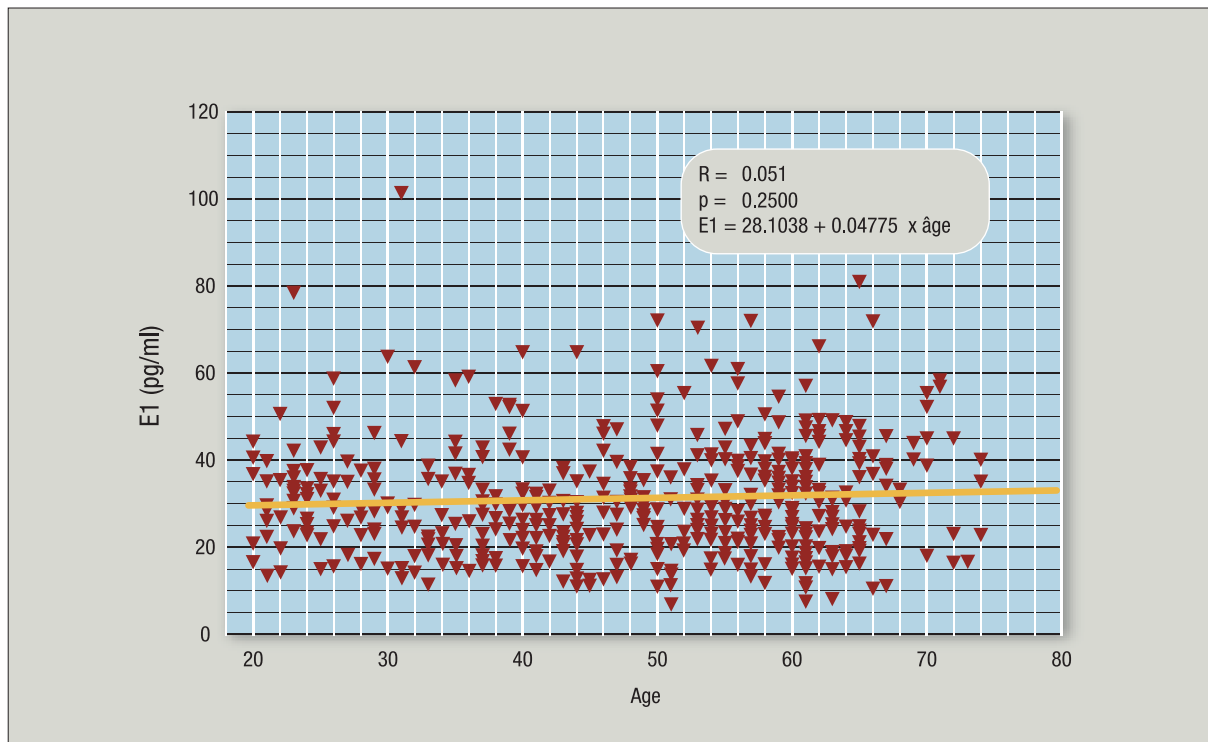
**de 17 et 46 pg/ml pour E2,  
11 et 61 pg/ml pour E1 et  
338 et 2416 pg/ml pour SE1**

Figure 14 : Pas de variation significative de E2 au cours du vieillissement.



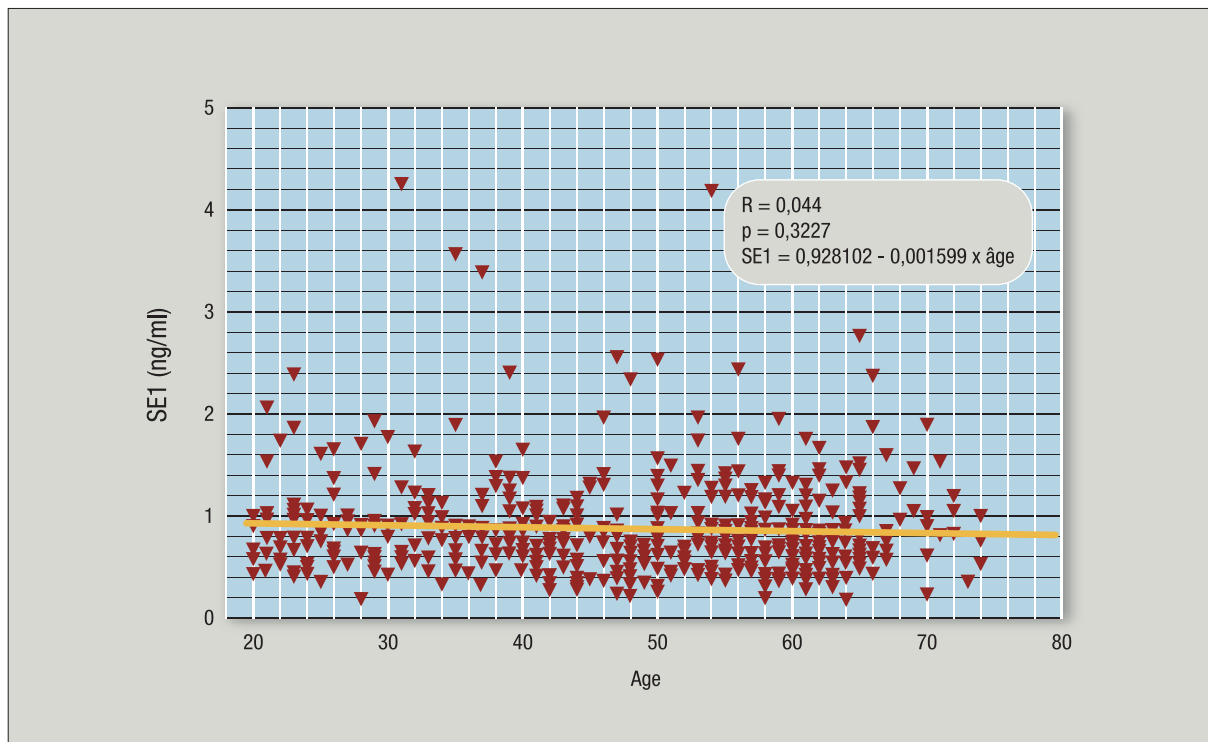
E<sub>2</sub> : pmol/l = pg/ml x 3,67

Figure 15 : Pas de variation significative de E1 avec l'âge



E<sub>1</sub> : pmol/l = pg/ml x 3,70

Figure 16 : Pas de variation significative de SE1 avec l'âge



SE<sub>1</sub> : pmol/l = pg/ml x 2,69

**Tableau 6 : Normales en percentiles de E2 , E1 et SE1 (pg/ml),dans plusieurs groupes d'hommes d'age croissant.**

<b>Stéroïdes</b>	<b>20-74 n=503</b>	<b>20-39 n=142</b>	<b>40-49 n=100</b>	<b>50-59 n=135</b>	<b>60-74 n=126</b>
E2 2.5	16,78	16,78	18,7	16,45	15,88
E2 5	18,88	18,88	19,7	20,25	16,94
E2 25	24,4	24,18	23,84	24,81	24,48
E2 50	28,63	28,4	28,59	28,14	29,49
E2 75	34,33	35,54	33,39	33,22	35,98
E2 95	42,97	45,81	40,61	43,31	43
E2 97.5	45,86	51,77	41,72	45,45	48,33
E1 2.5	11,53	13,94	11,11	11,53	10,15
E1 5	13,44	14,75	12,16	13,44	11,41
E1 25	21,62	22,26	19,65	21,65	19,95
E1 50	28,602	28,78	26,42	28,616	30,76
E1 75	37,3	36,71	32	37,94	40,04
E1 95	54,425	57,86	46,11	55,293	56,875
E1 97.5	60,88	60,88	47,73	61,509	65,751
E1Σ 2.5	338	393	266	350	281
E1Σ 5	394	489	324	418	371
E1Σ 25	643	703	521	610	658
E1Σ 50	885	986	768	824	895
E1Σ 75	1197	1255	1020	1196	1207
E1Σ 95	2034	2416	1610	1838	1869
E1Σ 97.5	2416	4000	1935	2296	2207

(Ces normales (*Giton et al, 2008*) établies dans une population caucasienne ne sont pas forcément exportables). Des taux plus élevés d'estrogènes ayant été récemment établis chez les américains d'origine africaine (*Rohrmann et al, 2007*).

Le **SE1** est très corrélé à **E1** et également significativement à **E2**.

Cependant, comme la **testostérone** décroît au cours du vieillissement, il en résulte une augmentation du ratio **E2/TT**, donc une augmentation relative des estrogènes totaux au cours du vieillissement

Du fait de l'augmentation de la **SHBG** avec l'âge, l'**estradiol biodisponible** va sensiblement diminuer au cours du vieillissement, mais cette diminution est moindre que la diminution de la **TBD**.

Cependant **E2 biodisponible** serait mieux corrélé à la densité minérale osseuse que la TBD chez l'homme (*Khosla S et al, 1998*).

### Variations de E2, E1 et SE1 au cours du nyctémère

Nous n'avons pas trouvé de variations significatives au cours du nyctémère de ces 3 estrogènes dans une population de 51 sujets normaux, bien qu'une diminution non significative de **E2** ait été remarquée (non publiée) entre 17 et 18 heures, sans doute en relation avec la diminution de la testostéronémie. (*Giton et al, 2008*). En outre bien que les sujets présentaient un BMI inférieur à 30, une corrélation à la limite de la significativité a été trouvée entre **E2** et le BMI des 503 sujets étudiés.

## MECANISMES DU VIEILLISSEMENT DE L'AXE HHT

Le testicule et l'hypothalamus sont impliqués dans le vieillissement de l'axe HHT.

### Réduction de la capacité de synthèse de testostérone par les cellules de Leydig

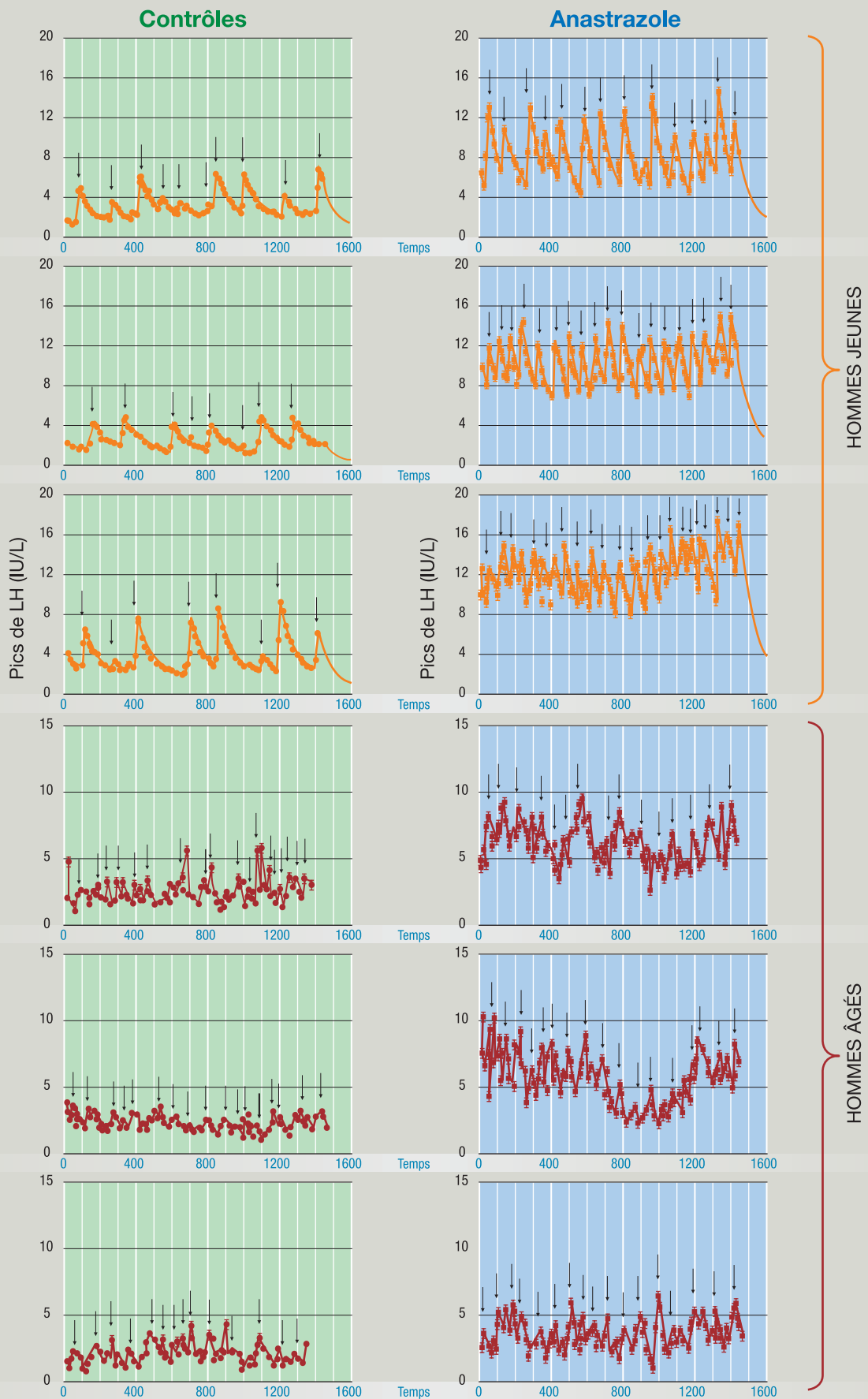
- Le nombre des cellule de Leydig est diminué au cours du vieillissement. (*Naeves et al, 1984*).
- Plusieurs auteurs ont rapporté une diminution de la concentration de la **TT** dans la veine spermatique chez le sujet âgé (*Hollander & Hollander 1958, Kent & Acone 1966, Baker 1977, Vermeulen 1972, Giusti 1975*).
- Les cellules de Leydig et donc la sécrétion de **testostérone** chez le sujet âgé sont moins sensibles à l'injection d'hCG (*Harman et al, 1980*) et à la **LH** (*Veldhuis et al, 2005*) que le sujet jeune (*Veldhuis et al, 2005*).

La diminution de la **TT** inconstante chez le sujet âgé, n'est pas seulement due à la diminution de la capacité sécrétoire du testicule.

### Modifications de fonctionnement de l'hypothalamus liées à l'âge

- On observe au cours du vieillissement, à l'état basal, malgré une conservation des pics de **LH**, reflet indirect des pics de **GnRH** (indosable dans le sang), une diminution de leur amplitude. Cette observation a été rattachée à une diminution de la sensibilité hypophysaire au rétro-contrôle par la **TT** (*Veldhuis et al, 1992*).
- L'injection pulsatile de **GnRH**, pendant 14 jours, provoquent chez les sujets jeunes et les sujets âgés, une même augmentation (amplitude et rythme) des pulses de **LH**. Ceci dédouane l'hypophyse de toute anomalie sécrétoire chez les sujets âgés. Mais malgré les mêmes pics de **LH**, les pics de **TT** sont plus petits chez les sujets âgés. Cette faillite de la synthèse de testostérone est corroborée par l'absence d'augmentation de **E2** et d'**inhibine B**, chez le sujet âgé (*Mulligan et al, 1999*).
- Après traitement par un inhibiteur de l'aromatase (Anastrozole), la diminution du feed-back par l'estradiol (**fig 17**), entraîne une augmentation de la **LH** chez les sujets âgés et chez les sujets

**Figure 17 : Détermination comparée des pics de LH, chez 3 hommes jeunes et 3 hommes âgés (prélèvements toutes les 10 minutes), d'une part non traités (contrôles) et d'autre part après inhibition de l'aromatase (Anastrozole). Entre autre, l'amplitude des pics de LH est moindre chez les sujets âgés, sous freinage de l'Anastrozole. (Veldhuis et al, 2005).**





jeunes. Cependant l'amplitude et donc la surface de ces pulses est diminuée chez les sujets âgés par rapport aux sujets jeunes. La quantité de **LH** produite par pic est donc diminuée. Il est supposé que chez les sujets âgés les bolus de **GnRH** libérés dans le système hypothalamo-hypophysaire en réponse à la diminution de **E2**, stéroïde essentiel au feed back sur l'hypothalamus, sont moindres que chez les sujets jeunes (*Veldhuis & Iranmanesh , 2005*).

- Après suppression du rétro-contrôle par la **testostérone** (par suppression de la synthèse des stéroïdes testiculaires par le Kétaconazole), l'analyse fine des pics de **LH** montre que les sujets âgés n'augmentent pas l'amplitude de leurs pics de **LH**, contrairement aux sujets jeunes. La quantité de **LH** produite par pic se trouve donc diminuée (*Veldhuis et al, 2005*). Il est supposé que chez les sujets âgés, les bolus de **GnRH** dans le système porte hypothalamo-hypophysaire en réponse à la baisse de **testostérone** sont moindres que chez les sujets jeunes, peut-être en rapport avec une diminution du nombre de neurones hypothalamiques à **GnRH**.

## CONCLUSION

La baisse de l'activité de l'axe **HHT** avec l'âge est presque inéluctable. Elle se manifeste par une diminution des concentrations de la **testostérone totale** et de **testostérone biodisponible** due à un vieillissement à la fois testiculaire et hypothalamique, Cependant de grandes variations individuelles sont constatées.

Il ressort de cette étude que la **SHBG** joue un rôle important dans la répartition des différentes formes de la **testostérone**. D'elle dépend en grande partie, la proportion de **testostérone** biodisponible.

Afin que le diagnostic d'hypogonadisme soit effectué au mieux, outre l'examen clinique et l'interrogatoire, le dosage de la **testostérone totale** (renouvelé au moins une fois quand le dosage initial est anormal), et le dosage de la **testostérone biodisponible** et ou de la **SHBG** sont indispensables.

Des résultats de ces dosages vont dépendre la confirmation d'un diagnostic d'hypogonadisme, qui peut conduire à un traitement substitutif.

Comme rapporté dans le document présent sur le vieillissement de l'axe **HHT**, le "calcul" de la **testostérone biodisponible** selon le site de l'ISSAM sur le Web, conduit à des résultats pratiquement doubles de ceux obtenus par dosage (avec des "normales" également deux fois plus élevées que celles rapportées dans la littérature) (*Giton et al, 2007*).

Dans la mesure de vos possibilités, il faut doser la **testostérone biodisponible**.

Dans l'éventualité où vous n'avez pas la possibilité de faire ce dosage, vous pouvez "calculer" la **testostérone biodisponible** à partir des résultats de vos dosages de **testostérone totale** et de **SHBG**. Et pour cela vous déterminerez par le calcul ou graphiquement, la testostérone biodisponible, comme cela est expliqué dans les "Annexes" du document page 45. Ces calculs et graphiques ont été réalisés en utilisant des constantes d'association "optimisées" (*Giton et al, Clinical Chemistry, 2007, 53 : 2160-2168*).

# Annexes

---

## Détermination de la Testostérone biodisponible à partir des résultats des dosages de la Testostérone Totale et de la SHBG (ou SBP).

Si vous ne pouvez pas effectuer le dosage de la testostérone biodisponible dans votre laboratoire, à la rigueur vous pouvez la calculer sur EXCEL ou bien la déterminer graphiquement à partir des résultats de testostérone totale et de la SHBG, comme il est proposé dans cette annexe du chapitre du "vieillessement de l'axe HH testicules"

Afin d'obtenir des concentrations de testostérone biodisponible aussi proches que possible des valeurs réelles obtenues par dosage, nous avons optimisé les constantes d'association de la testostérone pour la SHBG,  $K_S$ , et pour l'albumine  $K_A$ , (Giton *et al*, *Clinical Chemistry*, 2006, 52:474-481 et Giton *et al*, *Clinical Chemistry*, 2007, 53:2160-2168).

### 1. Calcul de la Testostérone Biodisponible

La testostérone biodisponible est calculée (TBD ou CBT) selon l'équation de Vermeulen (Vermeulen *et al*, *J Clin Endocrinol Metab*. 1999):

$$TBD = CBT = \frac{-b + \sqrt{-b^2 + 4aT}}{2K_S}$$

dans laquelle

$$a = (1 + K_A A) K_S$$
$$b = 1 + K_A A + K_S (SHBG - T)$$

Les valeurs optimisées de  $K_A$  et  $K_S$  mises en évidences sont

$$K_A = 2.5 \times 10^4 \text{ l/mol}$$

$$K_S = 1.9 \times 10^9 \text{ l/mol}$$

La concentration de l'albumine, considérée ici comme constante, est

$$A = 6.23 \times 10^{-4} \text{ mol/l}$$

On obtient ainsi

$$a = (1 + 2.5 \times 10^4 \times 6.23 \times 10^{-4}) \times 1.9 \times 10^9 = 31.49 \times 10^9 \text{ l/mol} = 31,49 \text{ l/nmol}$$

$$b = (1 + 2.5 \times 10^4 \times 6.23 \times 10^{-4}) \times 1.9 (SHBG - T) \text{ avec } b, SHBG \text{ et } T \text{ en nmol/l}$$

ou

$$b = (16.57 + 1.9 (SHBG - T)) \text{ avec } b, SHBG \text{ et } T \text{ en nmol/l}$$

Vous pouvez par l'utilisation du logiciel EXCEL, calculer la CBT en fonction des concentrations de testostérone totale et de la SHBG **que vous avez dosées dans votre laboratoire**. Nous présentons les différentes étapes du calcul avec un exemple : T=4 ng/ml et SHBG = 2 µg/ml.

Sur la première ligne, saisir le nom des colonnes.

	A	B	C	D	E	F	G
1	T (ng/ml)	T(nmole/l)	SHBG (µg/ml)	SHBG (nmol/l)	b	CBT (nmol/l)	CBT (ng/ml)

Sur la deuxième ligne du tableau, entrer la valeur de T mesurée (en ng/ml) : par exemple 4

A2		fx					
	A	B	C	D	E	F	G
1	T (ng/ml)	T(nmole/l)	SHBG (µg/ml)	SHBG (nmol/l)	b	CBT (nmol/l)	CBT (ng/ml)
2	4						

Pour que le logiciel effectue la conversion d'unités, il faut donner l'instruction suivante

DROITEREG		fx					
		=A2*1000/288.4					
	A	B	C	D	E	F	G
1	T (ng/ml)	T(nmole/l)	SHBG (µg/ml)	SHBG (nmol/l)	b	CBT (nmol/l)	CBT (ng/ml)
2	4	=A2*1000/288.4					

Après avoir entré cette formule, on voit apparaître dans la case B2 le résultat de l'opération demandée, soit ici 13.869255 (le nombre de chiffres significatifs dépend de la largeur de la colonne B)

C2		fx					
	A	B	C	D	E	F	G
1	T (ng/ml)	T(nmole/l)	SHBG (µg/ml)	SHBG (nmol/l)	b	CBT (nmol/l)	CBT (ng/ml)
2	4	13.86962552					

De la même manière, en case C2 saisir la valeur mesurée de SHBG ( en µg/ml) : par exemple 2 puis en case D2 la formule qui permet de passer des µg/ml aux nmole/l

DROITEREG		fx					
		=C2*1000/84					
	A	B	C	D	E	F	G
1	T (ng/ml)	T(nmole/l)	SHBG (µg/ml)	SHBG (nmol/l)	b	CBT (nmol/l)	CBT (ng/ml)
2	4	13.86962552	2	=C2*1000/84			

Après entrée de la formule, le résultat s'affiche et on obtient

E2		fx					
	A	B	C	D	E	F	G
1	T (ng/ml)	T(nmole/l)	SHBG (µg/ml)	SHBG (nmol/l)	b	CBT (nmol/l)	CBT (ng/ml)
2	4	13.86962552	2	23.8095238			

Dans la case E2, entrer la formule de calcul de b qui fait référence au contenu des cases D2 (SHBG) et B2 (T), ce qui donne :

DROITEREG		x ✓ fx =16.57+1.9*(D2-B2)					
	A	B	C	D	E	F	G
1	T (ng/ml)	T(nmole/l)	SHBG (µg/ml)	SHBG (nmol/l)	b	CBT (nmol/l)	CBT (ng/ml)
2	4	13.86962552	2	23.8095238	=16.57+1.9*(D2-B2)		

Après entrée, on obtient dans la case E2 la valeur numérique calculée de b soit :

F2		fx					
	A	B	C	D	E	F	G
1	T (ng/ml)	T(nmole/l)	SHBG (µg/ml)	SHBG (nmol/l)	b	CBT (nmol/l)	CBT (ng/ml)
2	4	13.86962552	2	23.8095238	35.45580675		

Pour obtenir le résultat de CBT ; il faut saisir la formule de calcul :

DROITEREG		x ✓ fx =((E2^2+4*31.49*B2)^0.5-E2)/(2*1.9)					
	A	B	C	D	E	F	G
1	T (ng/ml)	T(nmole/l)	SHBG (µg/ml)	SHBG (nmol/l)	b	CBT (nmol/l)	CBT (ng/ml)
2	4	13.86962552	2	23.8095238	35.45580675	=((E2^2+4*31.49*B2)^0.5-E2)/(2*1.9)	

puis valider. On obtient alors

G2		fx					
	A	B	C	D	E	F	G
1	T (ng/ml)	T(nmole/l)	SHBG (µg/ml)	SHBG (nmol/l)	b	CBT (nmol/l)	CBT (ng/ml)
2	4	13.86962552	2	23.8095238	35.45580675	5.093199538	

puis valider. On obtient alors

DROITEREG		x ✓ fx =F2*0.2884					
	A	B	C	D	E	F	G
1	T (ng/ml)	T(nmole/l)	SHBG (µg/ml)	SHBG (nmol/l)	b	CBT (nmol/l)	CBT (ng/ml)
2	4	13.86962552	2	23.8095238	35.45580675	5.093199538	=F2*0.2884

puis valider. On obtient alors

G3		fx					
	A	B	C	D	E	F	G
1	T (ng/ml)	T(nmole/l)	SHBG (µg/ml)	SHBG (nmol/l)	b	CBT (nmol/l)	CBT (ng/ml)
2	4	13.86962552	2	23.8095238	35.45580675	5.093199538	1.46887875

## Remarques importantes :

Il est possible que le logiciel Excel utilisé demande que les chiffres décimaux soient notés avec une virgule "," et non un point "." comme séparateur entre la partie entière et la partie décimale. Il est bien sûr possible de saisir directement dans le tableau, en case B2, la valeur de T mesurée en nmole/l

### Vous retrouverez les valeurs de CBT sur les graphiques des pages suivantes.

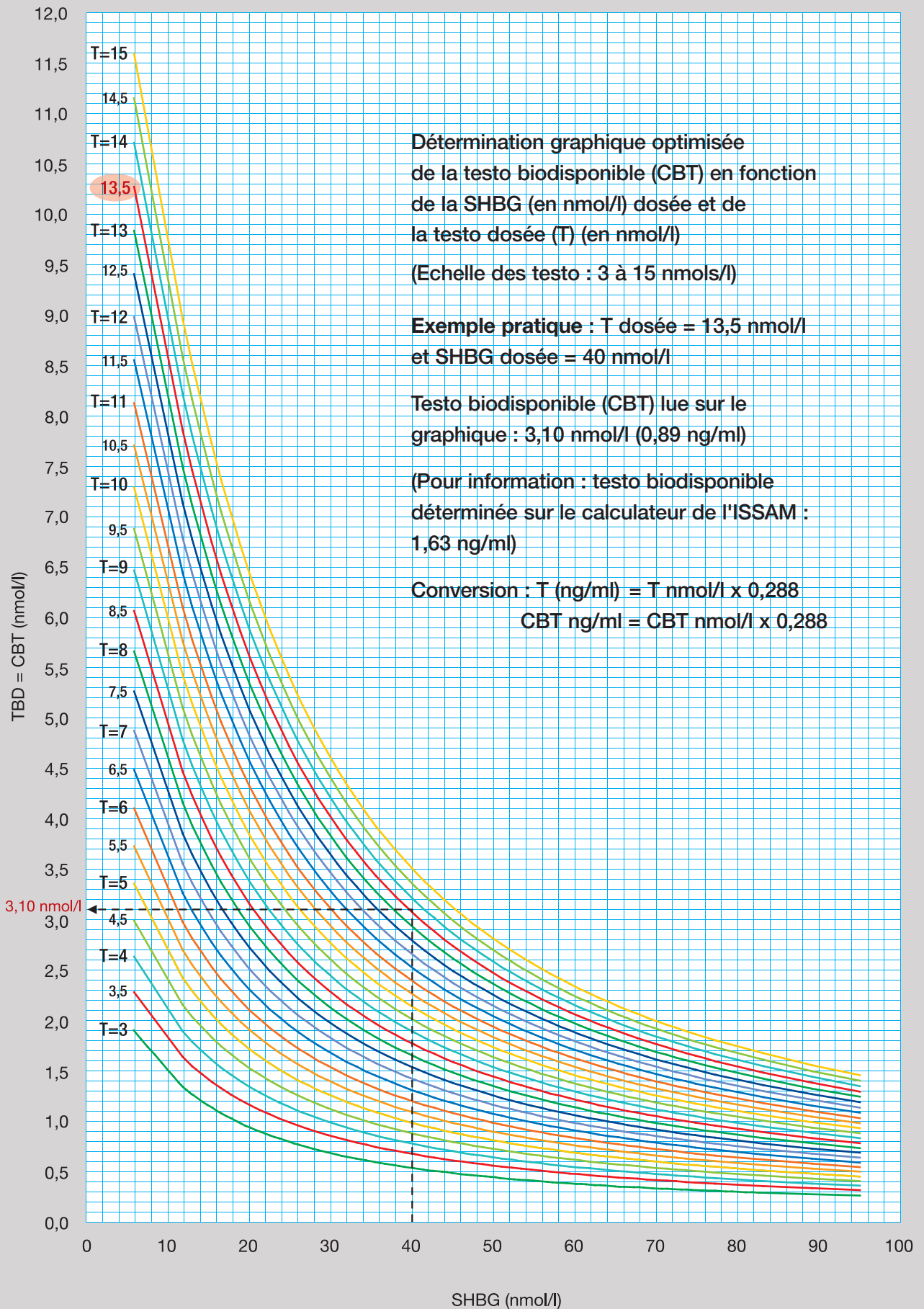
Le calculateur de l'Issam pour une testostérone totale de 4ng/ml et une SHBG de 2 µg/ml donne une testostérone biodisponible de 2.28 ng/ml, beaucoup trop élevée, comparée à la valeur de 1.46 ng/ml, obtenue avec des constantes d'association optimisées,  $K_s=1.9 \times 10^9$ L/mol et  $K_a=2.5 \times 10^4$ L/mol. (Le calculateur de l'Issam utilise des constantes d'association non optimisées,  $k_s=1 \times 10^9$ L/mol et  $K_a=3.6 \times 10^4$ L/mol.)

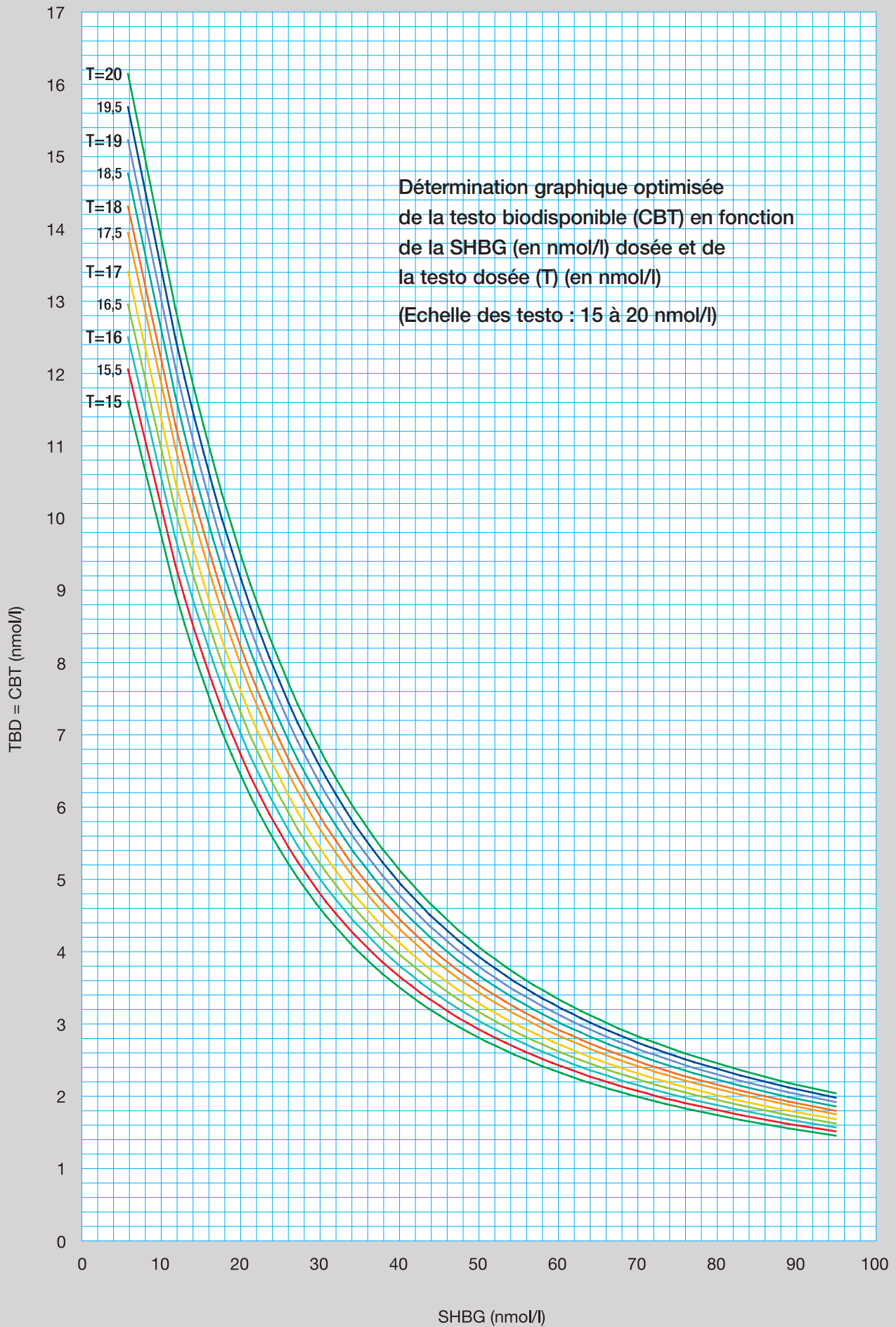
## 2- Détermination graphique

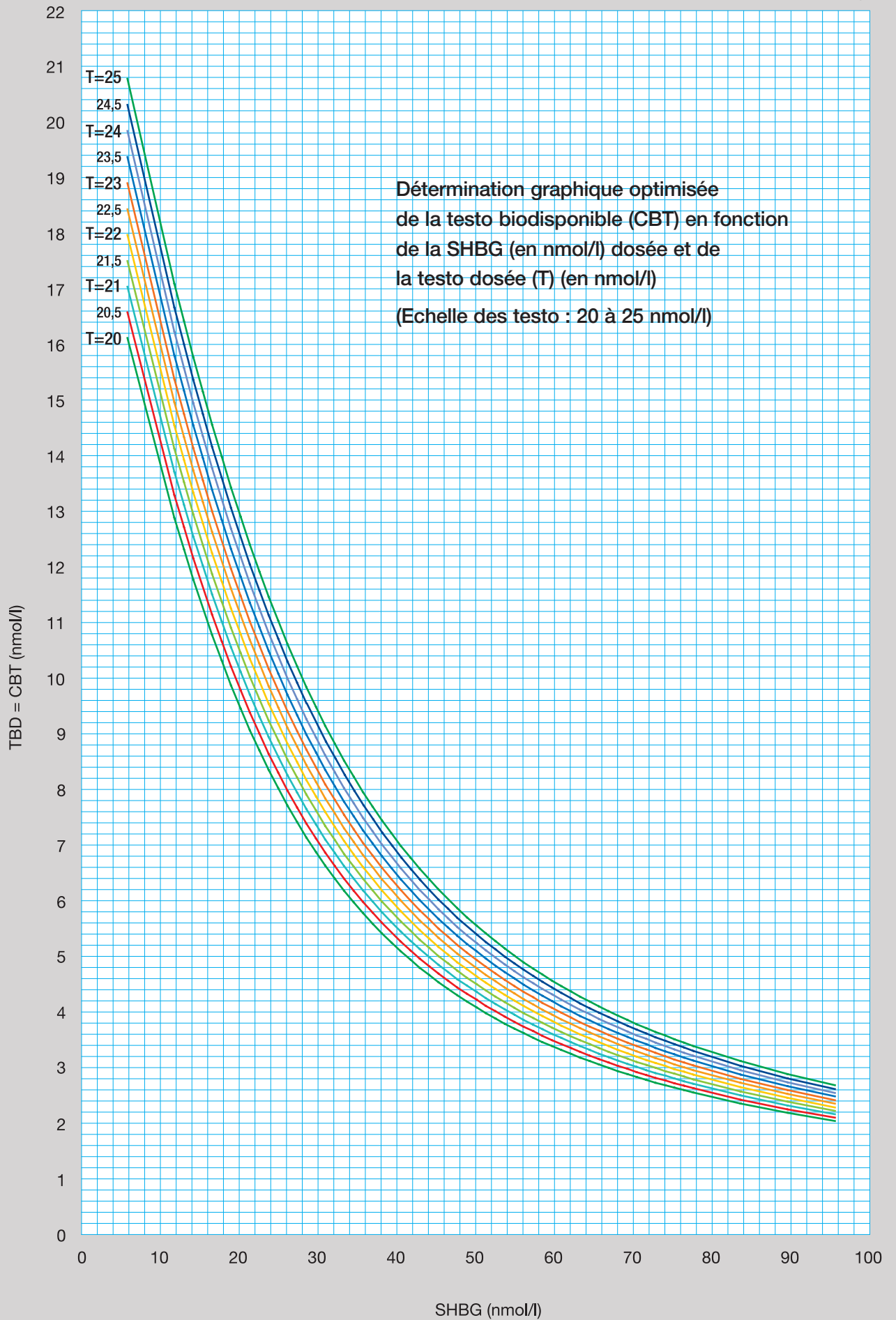
Nous avons tracé les courbes donnant la CBT en fonction de la SHBG pour toutes les valeurs de testostérone totale d'où un faisceau de courbes d'allure hyperbolique

En choisissant, la concentration de SHBG que vous avez obtenue par dosage, dans votre laboratoire, ainsi que la courbe de testostérone correspondant à la concentration de testostérone dosée, vous lisez la concentration de testostérone biodisponible CBT sur l'axe des ordonnées du graphique.

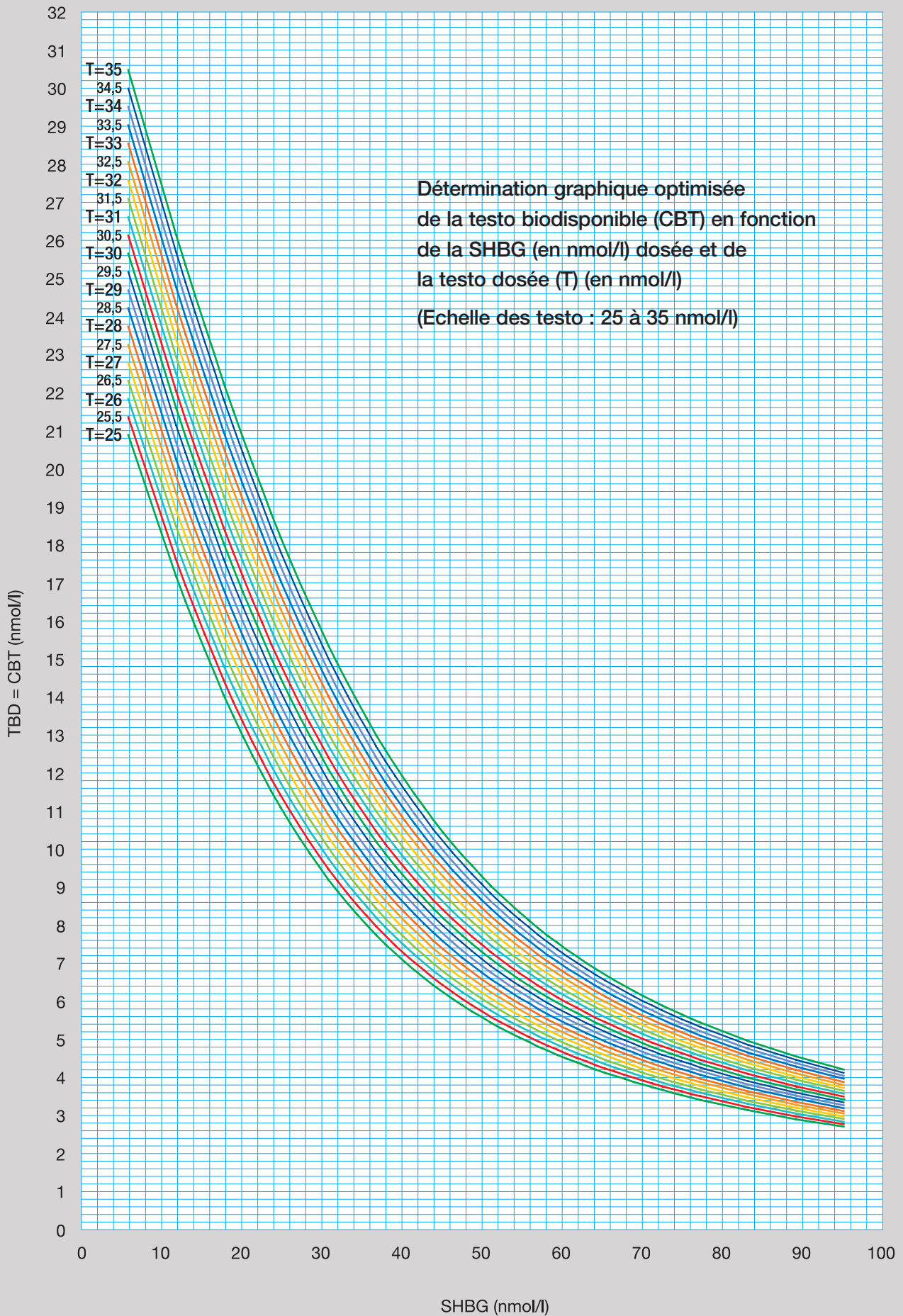
Deux séries de courbes sont proposées selon les unités que vous utilisez dans votre laboratoire. Avec l'exemple pris pour le calcul,  $T = 4$  ng/ml et  $SHBG = 2$  µg/ml, vous retrouvez sur le graphique la valeur de CBT de 1.46 ng/ml en ordonnée.

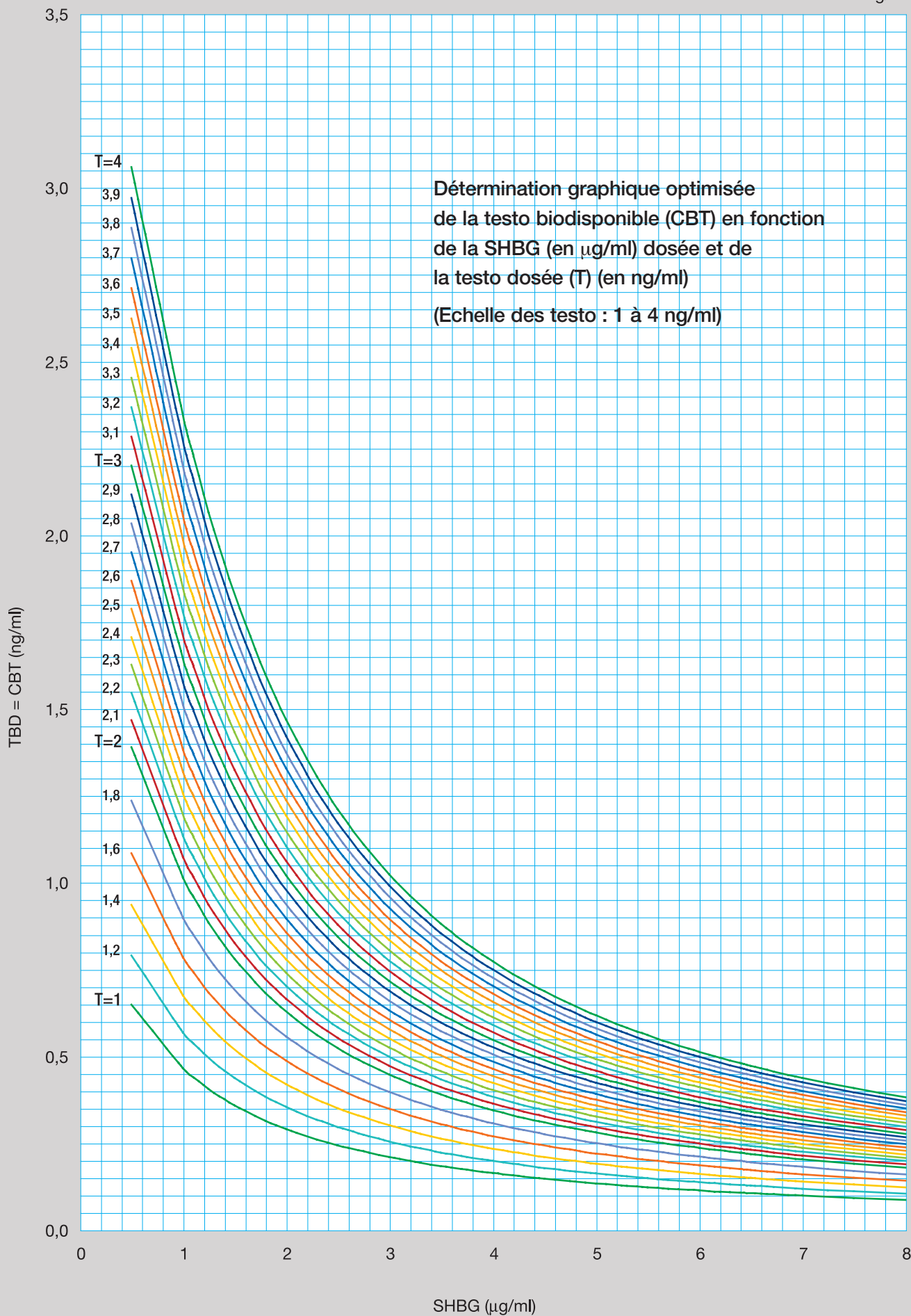


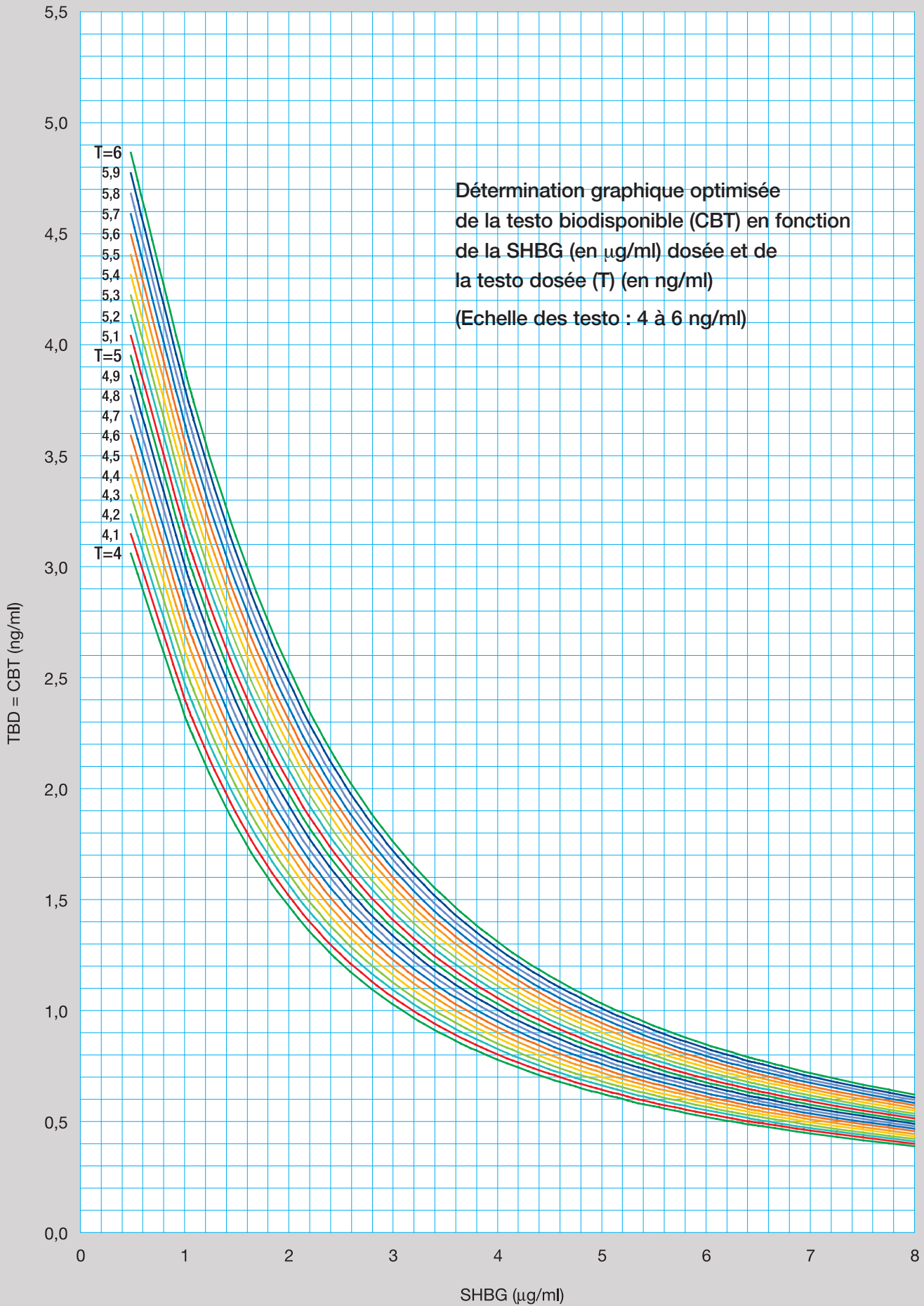


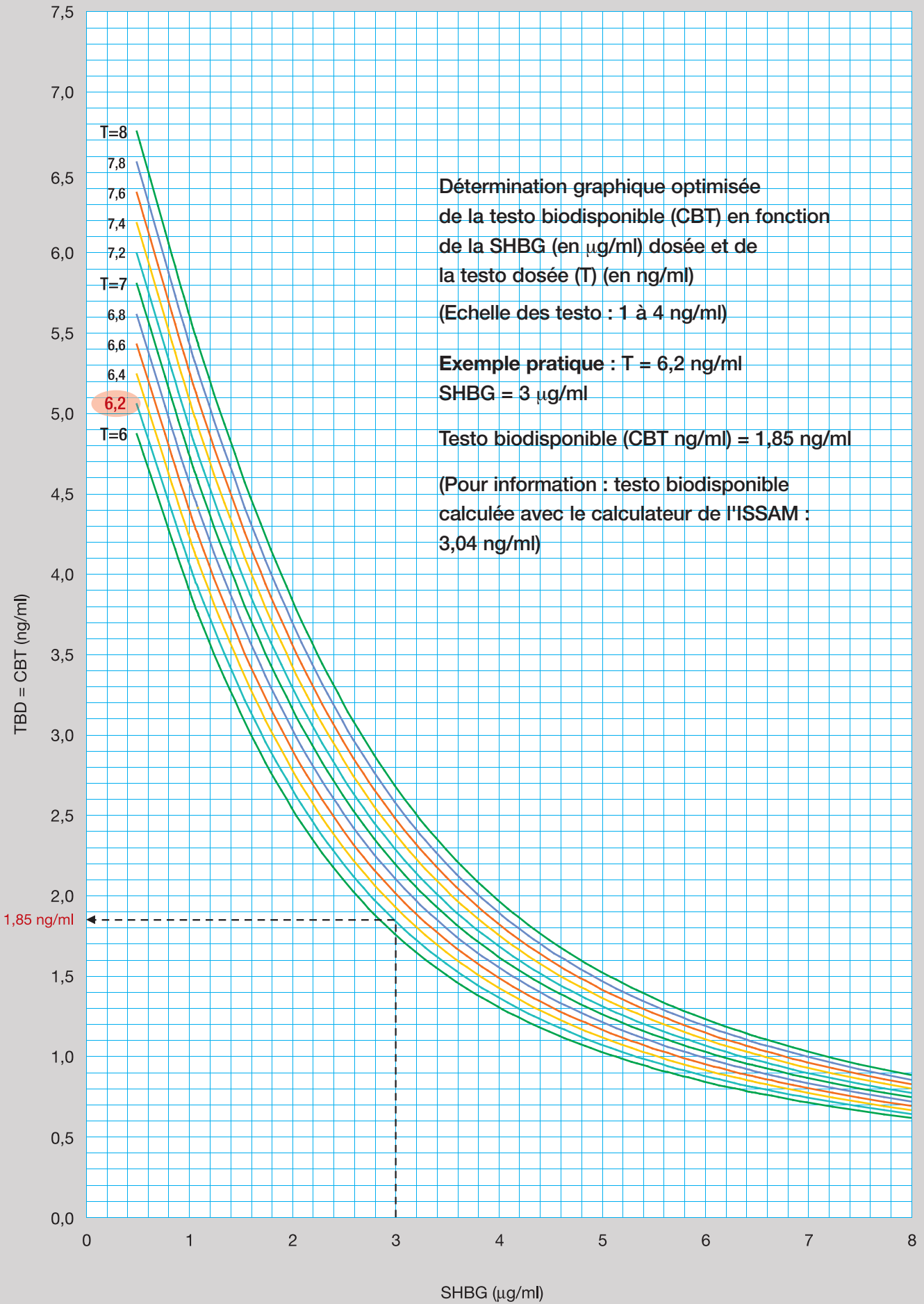


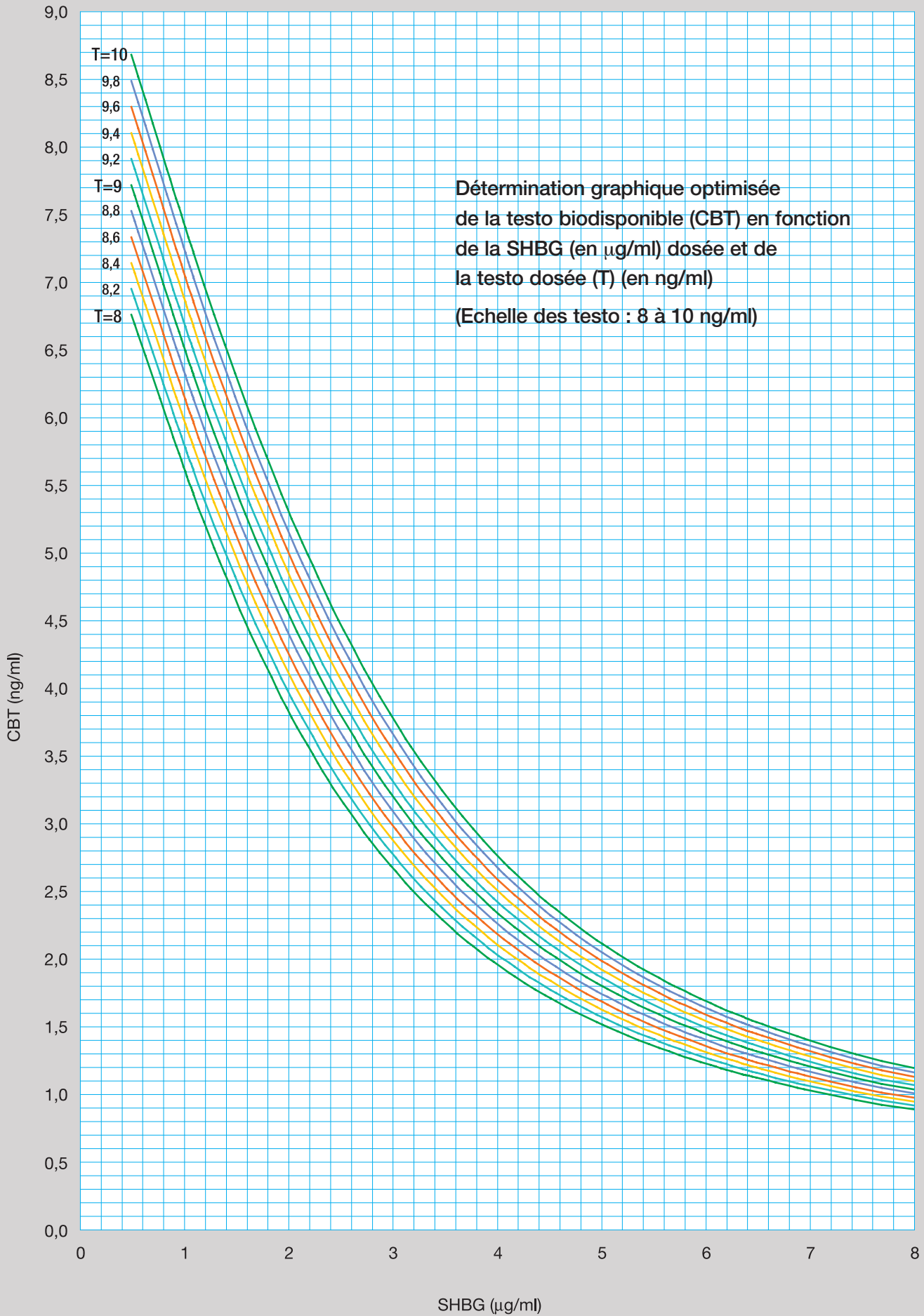












# Bibliographie

---

- Baker HWD, Burger HG, de Kretzer DM, Hudson B. Endocrinology of aging. Pituitary testicular axis. In James VHT, ed. *Pro 5th international congress of endocrinology*, Amsterdam, Holland, 1977, Excerpta Medica Foundation, 179-183.
- Barrett-Connor E, von Muhlen DG & Kritz-Silverstein D. Bio-available testosterone and depressive mood in older men. The Rancho-Bernardo Study. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999, 84:573-577.
- Bélanger A, Candas B, Dupont A, Cusan L, Diamond P, Gomez JL, Labrie. Changes in serum concentration of conjugated and unconjugated steroids in 40 -to 80 -year-old men. *J Clin Endocrinol Metab*, 1994, 79:1086-1090.
- Brambilla DJ, O'Donnell AB, Matsumoto AM, McKinlay JB. Intraindividual variation in levels of serum testosterone and other reproductive and adrenal hormones in men. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2007, 67:853-62.
- Bremner WJ, Vitiello MV, Prinz PN. Loss of circadian rhythmicity in blood testosterone levels with aging in normal men. *J Clin Endocrinol Metab*, 1983, 56:1278-1281.
- Chow LS, Nair KS. Sarcopenia of male aging. *Endocrinol Metab Clin N Am*, 2005, 34:833-852.
- Dechaud H, Lejeune H, Garoscio-Cholet M, Mallein R, Pugeat M. Radioimmunoassay of testosterone not bound to sex-steroid-binding protein in plasma. *Clin Chem*, 1989, 35:1609-1614.
- Doering CH, Kraemer HC, Brodie KH, Hamburg DA. A cycle of plasma testosterone in the human male. *J Clin Endocrinol Metab*, 1975, 40:492-500.
- Dunn JF, Nisula BC, Rodbard D. Transport of steroid hormones: binding of 21 endogenous steroids to both testosterone-binding globulin and corticosteroid-binding globulin in human plasma. *J Clin Endocrinol Metab*. 1981, 53:58-68.
- Feldman HA, Longcope C, Derby CA, Johannes CB, Araujo AB, Coviello AD, Bremner WJ, McKinlay JB. Age trends in the level of serum testosterone and other hormones in middle-aged men: longitudinal results from the Massachusetts Male Aging Study. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87 589-598.
- Ferrini RL, Barrett-Connor E; Sex hormones and age: a cross-sectional study of testosterone and estradiol and their bioavailable fractions in community-dwelling men. *Am J Epidemiol*, 1998, 147:750-754.
- Fiet J, Giton F, Ibrahim F, Valleix A, Galons H, Raynaud JP. Development of a highly sensitive and specific new plasma testosterone time-resolved fluoroimmunoassay in human. *Steroids*, 2004, 69:461-471.
- Fiet J, Giton F, Boudi A, Soliman H, Villette JM, Galons H. Development of a sensitive and specific nes plasma delta4-androstenedione time-resolved fluoroimmunoassay. *Steroids*, 2001, 66:609-614.
- Fiet J, Gourmel B, Villette JM, Brerault JL, Julien R, Cathelineau G, Dreux C. Simultaneous radioimmunoassay of androstenedione, dehydroepiandrosterone and 11-beta-hydroxyandrostenedione in plasma. *Horm Res*, 1980, 13:133-149.
- Fiet J. Mises au point de dosages radioimmunologiques de stéroïdes plasmatiques. Application à l'étude de l'hyperplasie congénitale des surrénales et de l'hirsutisme. Thèse de Doctorat es Sciences Pharmaceutiques Université René Descartes. ParisV. 1979.
- Frontera WR, Hughes VV, Fiatarone MA, Fielding RA. Ageing and skeletal muscle: a 12 year longitudinal study. *Journal of Applied Physiology*, 2000, 88:1321-1326.
- Giton F, Fiet J, Guéchet J, Ibrahim F, Bronsard F, Chopin D, Raynaud JP. Serum bioavailable testosterone : assayed or calculated? *Clin Chem*, 2006, 52:474-481.
- Giton F, de la Taille A, Allory Y, Galons H, Vacherot F, Abbou CC, Loric, S, Cussenot, O, Raynaud JP, Fiet J. Estrone sulfate (E1S), a prognosis marker for tumor aggressiveness in prostate cancer (PCa).. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2008, 109:158-167.
- Giton F, Urien S, Born C, Tichet J, Guéchet J, Callebert J, Bronsard F, Raynaud JP, Fiet J. Determination of bioavailable testosterone (non-SHBG-binding testosterone) in a population of healthy french men. Influence of androstenediol on testosterone binding to SHBG. *Clin Chem*, 2007, 53:2160-2168.
- Giton F, Valleix A, Boudou P, Villette JM, Bélanger A, Galons H, Fiet J. Specific radioimmunoassay of estrone sulfate. Application to measurement in male plasma. *J. Steroid Biochem Mol Bio*, 2002, 81:85-94.
- Giusti G, Gonnelli P, Borrelli D, Fiorelli G, Forti G, Pazzagli M, Serio M, 1975. Age-related secretion of androstenedione, testosterone and dihydrotestosterone by human testis. *Exp Gerontol*, 1975, 10:241-245.

- Gray A, Feldman HA, McKinlay JB, Longcope C. Age, disease, and changing sex hormone levels in middle-age men: results of the Massachusetts Male Aging Study. *J Clin Endocrinol Metab*, 1994, 73:1016-1025.
- Harman SM, Metter EJ, Tobin JD, Pearson J, Blackman MR. Longitudinal effects of aging on serum total and free testosterone levels in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, 86:724-731.
- Harman SM, Tsitouras PD. Reproductive hormones in aging men . Measurement of sex steroids, basal luteinizing hormone, and Leydig cell response to human chorionic-gonadotropin. *J Clin Endocrinol Metab*, 1980, 51:35-40.
- Hollander N, Hollander VT. The microdetermination of testosterone in human spermatic vein blood. *J Clin Endocrinol Metab*, 1958, 19:966-970.
- Jia XC, Hsueh AJ. Granulosa cell aromatase bioassay for follicle-stimulating hormone: validation and application of the method. *Endocrinology*, 1986,119:1570-1577.
- Kent JZ, Acone AB, Plasma androgens and aging. In : Vermeulen A. Exley D, eds. *Androgens in normal and pathological conditions*. Amsterdam : Excerpta Medica Foundation ; 1966:31-35.
- Khosla S, Melton LJ, Atkinson EJ, O'Fallon WM, Klee GG, Riggs BL. Relationship of serum sex steroid levels and bone turnover markers with bone mineral density in men and women: a key role for bioavailable estrogen. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998, 83:2266-2274.
- Knobil E. On the control of gonadotropin secretion in the rhesus monkey. *Prog Horm Res*. 1974, 30:1-46. Review
- Korenman SG, Morley JE, Mooradian AD, Davis SS, Kaiser FE, Silver AJ, Viosca SP, Garza D. Secondary hypogonadism in older men: its relation to impotence. . *J Clin Endocrinol Metab*, 1990, 71:963-969.
- Labrie F, Bélanger A, Bélanger P, Bérubé R, Martel C, Cusan L, Gomez J, Candas B, Castiel I, Chaussade V, Deloche C, Leclaire J. Androgen glucuronide instead of testosterone, as the new markers of androgenic activity in women. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2006, 99:182-188.
- Labrie F, Belanger A, Cusan L, Gomez JL, Candas B. Marked decline in serum concentrations of adrenal C19 sex steroid precursors and conjugated androgens metabolites during aging. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997, 82:2396-2402.
- Labrie F. Intracrinology. *Mol Cell Endocrinol*, 1991, 78:C113-118. Review.
- Lewis JG, Møpøert B, Shand BI, Doogue MP, Soole SG, Frampton CM, Elder PA. Plasma variation of corticosteroid-binding globulin and sex-hormone-binding globulin *Horm Metab Res*, 2006, 38:241-246.
- Liu PY, Bellin J, Meier C, Nguyen TV, Center JR, Leedman PJ, Seibel MJ, Eisman JA, Handelsman DJ. Age-related changes in serum testosterone and sex hormone binding globulin in Australian men: longitudinal analyses of two geographically separate regional cohorts. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92:3599-3603.
- Longcope C, Feldman HA, McKinlay JB, Araujo AB. Diet and sex hormone-binding globulin. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000, 85:293-296.
- Loric S, Guéchet J, Duron F, Aubert P, Giboudeau J. Determination of testosterone in serum not bound by sex-hormone-binding globulin: diagnostic value in hirsute women. *Clin Chem*, 1988, 34:1826-1829.
- Madersbacher S, Stulnig T, Huber LA, Schönitzer D, Dirnhofer S, Wick G, Berger P. Serum glycoprotein hormones and their free alpha-subunit in a healthy elderly population selected according to the SENIEUR protocol. Analyses with ultrasensitive time-resolved fluoroimmunoassays. *Mech Ageing Dev*, 1993, 71:223-233.
- Mahmoud AM, Goemaere S, De Bacquer D, Comhaire FH, Kaufman JM. Serum inhibine B levels in community-dwelling elderly men. *Clin Endocrinol*, 2000, 53:141-147.
- Mahmoud AM, Goemaere S, El-Garem Y, Van Pottelbergh I, Comhaire FH, Kaufman JM Testicular volume in relation to hormonal indices of gonadal function in community-dwelling elderly men *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88:179-184.
- Marwah A, Gomez FE, Marwah P, Ntambi JM, Fox BG, Lardy H Redox reactions of dehydroepiandrosterone and its metabolites in differentiating 3T3-L1 adipocytes: A liquid chromatographic-mass spectrometry study. *Arch Biochem Biophys*, 2006, 456:1-7
- Matzkin H, Braf Z, Nava D. Does age influence the bioactivity of follicle-stimulating hormone in men? *Age Ageing*, 1991, 20:199-205.
- McKeever WF & Deyo A. Testosterone, dihydrotestosterone and spatial task performance of males. *Bulletin of the Psychonomic Society*, 1990, 28:305-308.
- Meikle AW, Stringham JD, Bishop T, West DW. Quantitating genetic and non genetic factors influencing androgen production and clearance rates in men *J Clin Endocrinol Metab*, 1988, 67:104-109..

- Mitchell R, Hollis S, Rothwell C, Robertson WR. Age-related changes in the pituitary-testicular axis in normal men: lower testosterone results from decreased bioactive LH drive. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 1995, 42:501-507.
- Morales A, Lunenfeld B. Investigation, treatment and monitoring of late-onset hypogonadism in males. *Aging Male*, 2002, 5:74-86.
- Morley JE, Kaiser FE, Perry HM 3rd, Patrick P, Morley PM, Stauber PM, Vellas B, Baumgartner RN, Garry PJ. Longitudinal changes in testosterone, luteinizing hormone, and follicle-stimulating hormone in healthy older men *Metabolism*, 1997, 46:410-413,
- Morley JE, Patrick P, Perry III HM Evaluation of assays available to measure free testosterone. *Metabolism*, 2002, 51:554-559.
- Morley JE, Perry HM. Andropause : an old concept in new clothing. *Clin Geriatr Med*, 2003, 19: 507-528.
- Mulligan T, Iranmanesh A, Kerzner R, Demers LW, Veldhuis JD 1999 Two-week pulsatile gonadotropin releasing hormone infusion unmasks dual (hypothalamic and Leydig cell) defects in the healthy aging male gonadotropic axis. *Eur J Endocrinol.*, 1999, 141:257-266.
- Naeves WB, Johnson L, Porter JC, Parker CR, Petty CS. Leydig cell numbers, daily sperm production and gonadotropin levels in aging men. *J Clin Endocrinol Metab*, 1984, 59 :756-763.
- Nahoul K, Bournique B, Adeline J, Scholler R. Radioimmunoassay of 5-androstene-3beta-diol in plasma and in breast cyst fluid .*J Steroid Biochem*, 1986, 24: 835-842.
- Nahoul K, Roger M. Age-related decline of plasma bioavailable testosterone in adult men. *J Steroid Biochem*, 1990, 35:293-299.
- Nankin HR, Calkins JH. Decreased bioavailable testosterone in aging normal and impotent men. *J Clin Endocrinol Metab* , 1986, 63:1418-2140.
- Nilsson P, Loller L, Solkad K. Adverse effects of psychosocial stress on gonadal function and insulin levels in middle aged males. *Journal of Internal Medecine*, 1995, 237:479-483.
- O'Connor S, Baker HW, Dulmanis A, Hudson B. The measurement of sex steroid binding globulin by differential ammonium sulphate precipitation. *J Steroid Biochem*, 1973, 4:331-339.
- Partridge WM. Transport of protein-bound hormones into tissue in vivo. *Endocr Re*, 1981, 2:103-123.
- Pfeilschifter J, Scheidt-Nave C, Leidig-Bruckner G, Woitge HW, Blum WF, Wüster C, Haack D, Ziegler R. Relationship between circulating insulin-like growth factor components and sex hormones in a population-based sample of 50- to 80-year-old men and women. *J Clin Endocrinol Metab*, 1996, 81:2534-2540.
- Resko JA, Eik-nes KB Diurnal testosterone levels in peripheral plasma of human male subject. *J Clin Endocrinol Metab*, 1966, 26:573-576
- Rodriguez A, Muller DC, Metter EJ, Maggio M, Harman SM, Blackman MR, Andres R. Aging, androgens, and the metabolic syndrome in a longitudinal study of aging. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92:3568-3572.
- Rohrmann S, Nelson WG, Rifai N, Brown TR, Dobs A, Kanarek N, Yager JD, Platz EA. Serum estrogen, but not testosterone, levels differ between black and white men in a nationally representative sample of Americans. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92:2519-2525.
- Rosner W, Smith RN. Isolation and characterization of the testosterone-estradiol-binding globulin from human plasma. Use of a novel affinity column. *Biochemistry*, 1975, 14:4813-4820.
- Sih R, Morley JE, Kaiser FE, Perry HM 3rd, Patrick P, Ross C. Testosterone replacement in older hypogonadal men: a 12-month randomized controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997, 82:1661-1667.
- Sinha-Hikim I, Arver S, Beall G, Shen R, Guerrero M, Sattler F, Shikuma C, Nelson JC, Landgren BM, Mazer NA, Bhasin S. The use of a sensitive equilibrium dialysis method for the measurement of free testosterone levels in healthy, cycling women and in human immunodeficiency virus-infected women. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998, 83:1312-1318. Erratum in: *J Clin Endocrinol Metab* 1998 Aug;83(8):2959.
- Sjöberg B, de la Torre B, Hedman M, Falkay G, Diczfalusy E. Circadian variation in systemic hormone levels in healthy men *J Endocrinol Invest*, 1979, 2:134-137.
- Taieb J, Mathian B, Millot F, Patricot MC, Mathieu E, Queyrel N, Lacroix I, Somma-Delpero C, Boudou P. Testosterone measured by 10 immunoassays and by isotope-dilution gas chromatography-mass spectrometry in sera from 116 men, women, and children. *Clin Chem*, 2003, 49:1381-1395.



Tenover JS, Matsumoto AM, Plymate SR, Bremner WJ. The effects of aging in normal men on bioavailable testosterone and luteinizing hormone secretion : response to clomiphene citrate. *J Clin Endocrinol Metab*, 1987, 65:1118-1126.

Tissandier O, Pires G, Fiet J, Piette F Testosterone, dehydroepiandrosterone, insulin-like growth factor 1, and insulin in sedentary and physically trained aged men. *Eur J Appl Physiol*, 2001, 85:177-184.

Tremblay RR, Dude JY. Plasma concentrations of free and non-TeBG bound testosterone in women on oral contraception. *Contraception*, 1974, 10: 599-605.

Tsitouras PD, Bulat T. The aging male reproductive system. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 1995, 24:297-315.

Veldhuis JD, Iranmanesh A. Short-term aromatase-enzyme blockade unmasks impaired feedback adaptations in luteinizing hormone and testosterone secretions in older men. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, 90:211-218.

Veldhuis JD, King JC, Urban RJ, Rogol AD, Evans WS, Kolp LA, Johnson ML 1987 Operating characteristics of the male hypothalamo-pituitary-gonadal axis : pulsatile release of testosterone and follicle -stimulating hormone and their temporal coupling with luteinizing hormone. *J Clin Endocrinol Metab* , 1987, 65:929-941.

Veldhuis JD, Urban RJ, Lizarralde G, Johnson ML, Iranmanesh A. Attenuation of luteinizing hormone secretory burst amplitude is a proximate basis for the hypoandrogenism of healthy aging in men. *J Clin Endocrinol Metab*, 1992, 75:52-58.

Veldhuis JD, Zwart A, Mulligan T, Iranmanesh A Muting of androgen negative feedback unveils impoverished gonadotropin-releasing hormone/luteinizing hormone secretory reactivity in healthy older men *J Clin Endocrinol Metab*, 86:529 535

Vermeulen A, Hormonal cut-offs of partial androgen deficiency: a survey of androgen assays. *J Endocrinol Invest*, 2005, 28(Suppl 3):28-31.

Vermeulen A Androgens in the aging male. *J Clin Endocrinol Metab*, 1991, 73:221-224.

Vermeulen A Deslypere JP Kaufman JM 1989 Influence of antiopioids on luteinizing hormone pulsatility in aging men *J Clin Endocrinol Metab*, 1989, 68:68-72.

Vermeulen A, Verdonck L, Kaufman JM. A critical evaluation of simple methods for the estimation of free testosterone in serum. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999, 84:3666-3672.

Vermeulen A, Verdonck L, Rubens R. Testosterone secretion and metabolism in male senescence. *J Clin Endocrinol Metab*, 1972, 34:730-735.

Wang C, Swerdloff RS, Iranmanesh A, Dobs A, Snyder PJ, Cunningham G, Matsumoto AM, Weber T, Berman N. Effects of transdermal testosterone gel on bone turnover markers, and bone mineral density in hypogonadal men. *Clin Endocrinol*, 2001, 84:739-750.

Zumoff B, Strain GW, Kream J, O'Connor J, Rosenfeld RS, Levin J, Fukushima DK. Age variation of the 24-hour mean plasma concentrations of androgens, estrogens, and gonadotropins in normal adult men. *J Clin Endocrinol Meta*, 1982, 54: 534-538.

**Vieillessement  
de l'axe hypothalamus  
hypophyse surrénale  
chez l'homme  
et chez la femme**

**J. Fiet**

**CHAPITRE II**

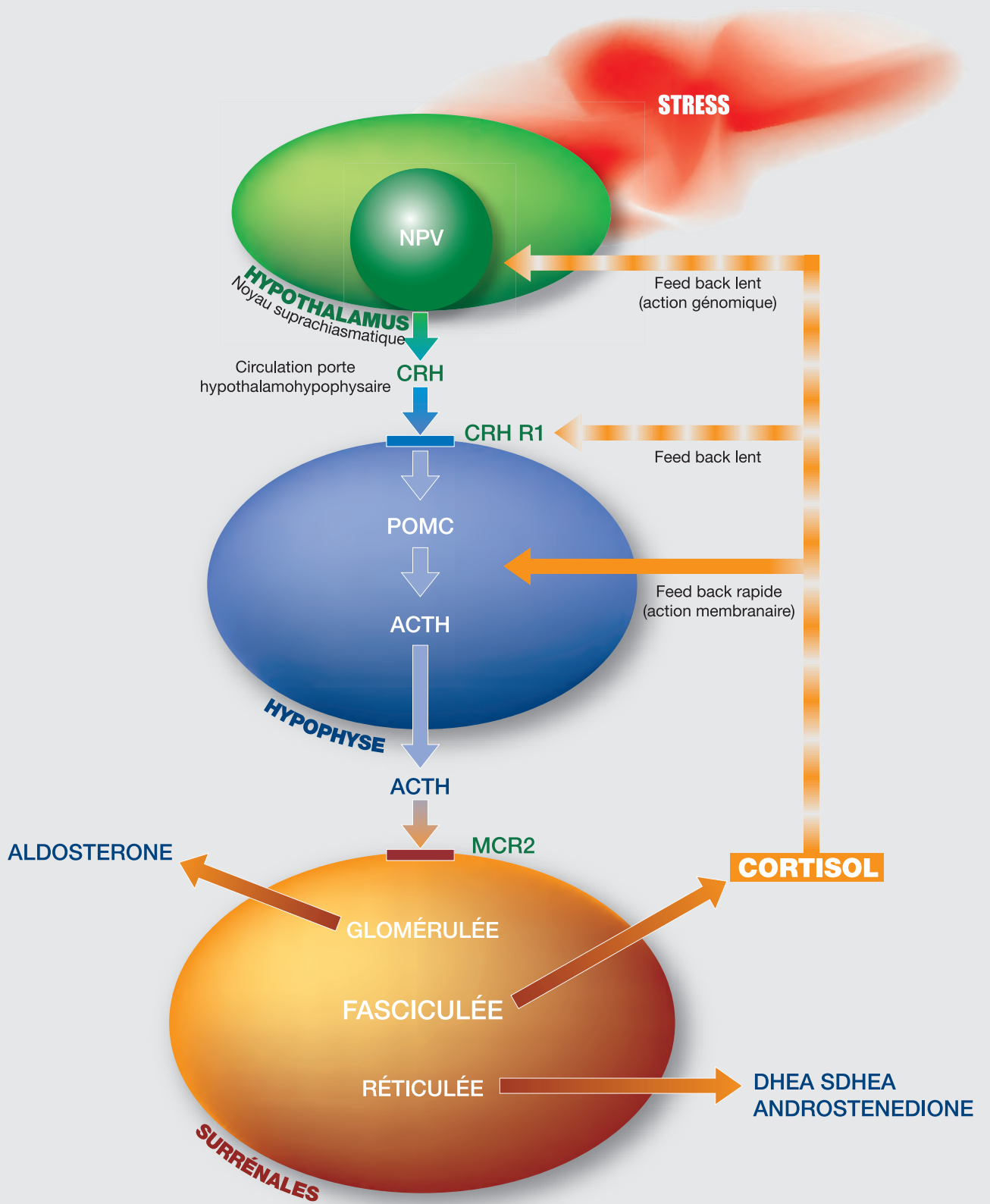


Figure 1 : Schéma d'ensemble de l'axe hypothalamus hypophyse surrénales

# Schéma d'ensemble de l'axe hypothalamus hypophyse surrénales

---

Le fonctionnement de l'axe hypothalamus-hypophyse-surrénales (HHS) aboutit à la synthèse du **cortisol** essentiellement mais également d'androgènes (**DHEA**) et de minéralocorticoïdes (**DOC** et **aldostérone**).

Les structures hypothalamiques (noyau paraventriculaire) sécrètent un peptide de 40 acides aminés la cortico-releasing-hormone (**CRH**) et de l'**AVP**. Ces hormones sont transférées par voie sanguine, via la tige pituitaire jusqu'aux cellules corticotropes de l'hypophyse. Après fixation sur des récepteurs, il se produit une coupure d'un gros peptide, la pro-opiomélanocortine (**POMC**) en plusieurs fragments peptidiques dont l'**ACTH** (39 acides aminés). L'**ACTH** déversé dans le système vasculaire, atteint les glandes corticosurrénales et après fixation sur des récepteurs membranaires, stimule la synthèse des divers stéroïdes surrénaliens : les **glucocorticoïdes**, par la zone fasciculée, les **minéralocorticoïdes** par la zone glomérulée et les **androgènes** surrénaliens par la zone réticulée.

## Rétro-contrôle (fig 1)

Le maintien de l'homéostasie des **glucocorticoïdes** s'effectue par des mécanismes de rétro-contrôle négatifs (Feed back, FB-) qui s'opposent à la production de **CRH** et d'**ACTH** et donc régule la synthèse du **cortisol** et ses précurseurs mais également celles des **androgènes** et des **minéralocorticoïdes**.

C'est le **cortisol** seul (et non les **androgènes surrénaliens**) qui en se fixant sur les récepteurs **glucocorticoïdes** (GR) et également **minéralocorticoïdes** (MR), va au niveau hypothalamo-hypophysaire, freiner la production de **CRH** et d'**ACTH** (FB-)

La fixation sur ces récepteurs d'un antagoniste tel que le RU 486, stimule la sécrétion de **cortisol**. Essentiellement, c'est le site de l'hippocampe qui provoque le feed-back ou rétro-contrôle.

Globalement, le rétro-contrôle négatif passe par une action génomique sur les récepteurs glucocorticoïdes et minéralocorticoïdes au niveau du noyau paraventriculaire, sur les neurones à **CRH**, à **AVP**, au niveau hypothalamique, et également par une action sur les récepteurs du **CRH** au niveau de l'hypophyse, limitant ainsi la production d'**ACTH**. Il s'agit d'un rétro-contrôle lent.

Un rétro-contrôle rapide, non génomique, a lieu sur les récepteurs membranaires des neurones à **CRH** et à **AVP** et au niveau hypophysaire limitant la production d'**ACTH**.

## Schéma de synthèse des stéroïdes surrénaliens. (fig 2)

Les voies métaboliques de synthèse des différents corticoïdes surrénaliens sont rapportées sur la figure (2).

Seront envisagés séparément le vieillissement des hormones glucocorticoïdes, des androgènes surrénaliens, le **cortisol** essentiellement et la **DHEA**. Le vieillissement de la  $\Delta_4$ -**Androsténedione** sera traité avec les axes gonadiques et celui de l'**Aldostérone** avec celui de l'eau et des électrolytes.

# Vieillesse et hormones surrénaliennes chez l'homme et chez la femme

---

## LE CORTISOL

### *Synthèse du cortisol dans les corticosurrénales. (Fig 2)*

Le **cortisol** est l'aboutissement d'une synthèse qui débute à partir du cholestérol, et dont les étapes principales sont : la **prégnénolone**, la **17 hydroxyprégnénolone**, la **17 hydroxyprogestérone**, le **11 désoxycortisol** puis le **cortisol**, avec implication des enzymes suivantes : la 17 hydroxylase, la 3 $\beta$ -hydroxy stéroïde déshydrogénase (3 $\beta$ -HSD), la 21-hydroxylase (21OH) et la 11-hydroxylase (11OH).

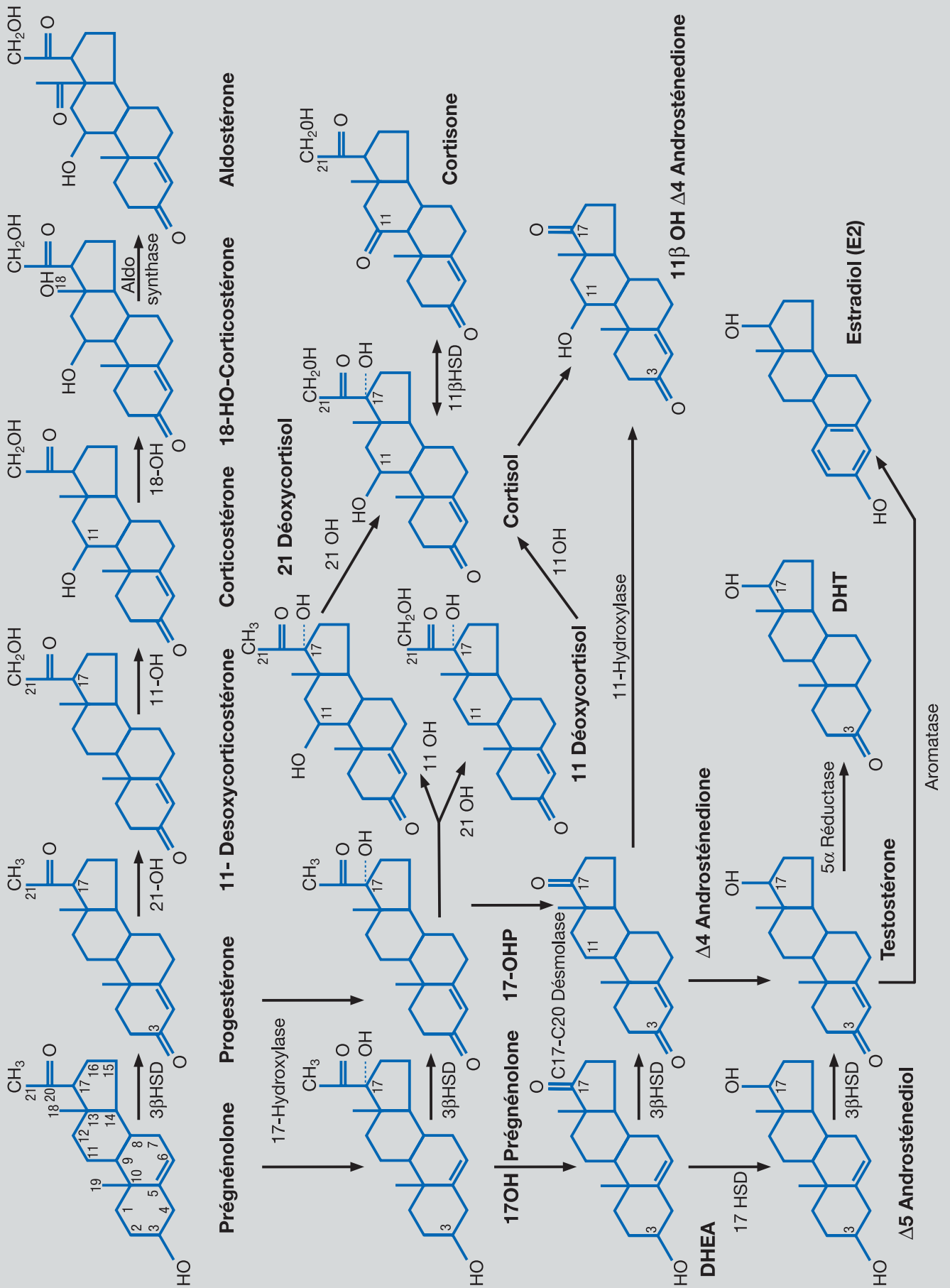


Figure 2 : Synthèse des stéroïdes surrénaliens

### **Cheminement métabolique du cortisol (fig 3)**

Dans le plasma le **cortisol** est fixé par affinité en partie sur une protéine porteuse spécifique, la **cortico-binding-globuline (CBG)** (80%), sur l'albumine (14%). Il se trouve également sous forme libre pour 6%. C'est ce **cortisol libre** qui est actif sur ses récepteurs (récepteurs glucocorticoïdes et minéralocorticoïdes). Dans différents territoires de l'organisme, le **cortisol** sera en équilibre réversible avec la **cortisone inactive**. Ainsi au niveau du rein (tubules rénaux), le **cortisol** est inactivé en **cortisone** par une enzyme la 11 $\beta$ -hydroxystéroïde déshydrogénase (11-HSD type II), laissant l'accès des récepteurs minéralocorticoïdes, libre pour l'**aldostérone**. Au niveau du foie la **cortisone** est réduite en cortisol par une autre enzyme la 11-HSD type I.

Hydrosoluble, le **cortisol libre** va passer aisément le filtre rénal et il sera dosé dans les urines sous forme de **cortisol libre urinaire (CLU)**. Il passe également dans les glandes salivaires, et il sera dosé dans la salive. Le **cortisol salivaire** représente une "image" du cortisol libre plasmatique, puisque la salive ne contient pas de protéines sur lesquelles le **cortisol** pourrait se fixer.

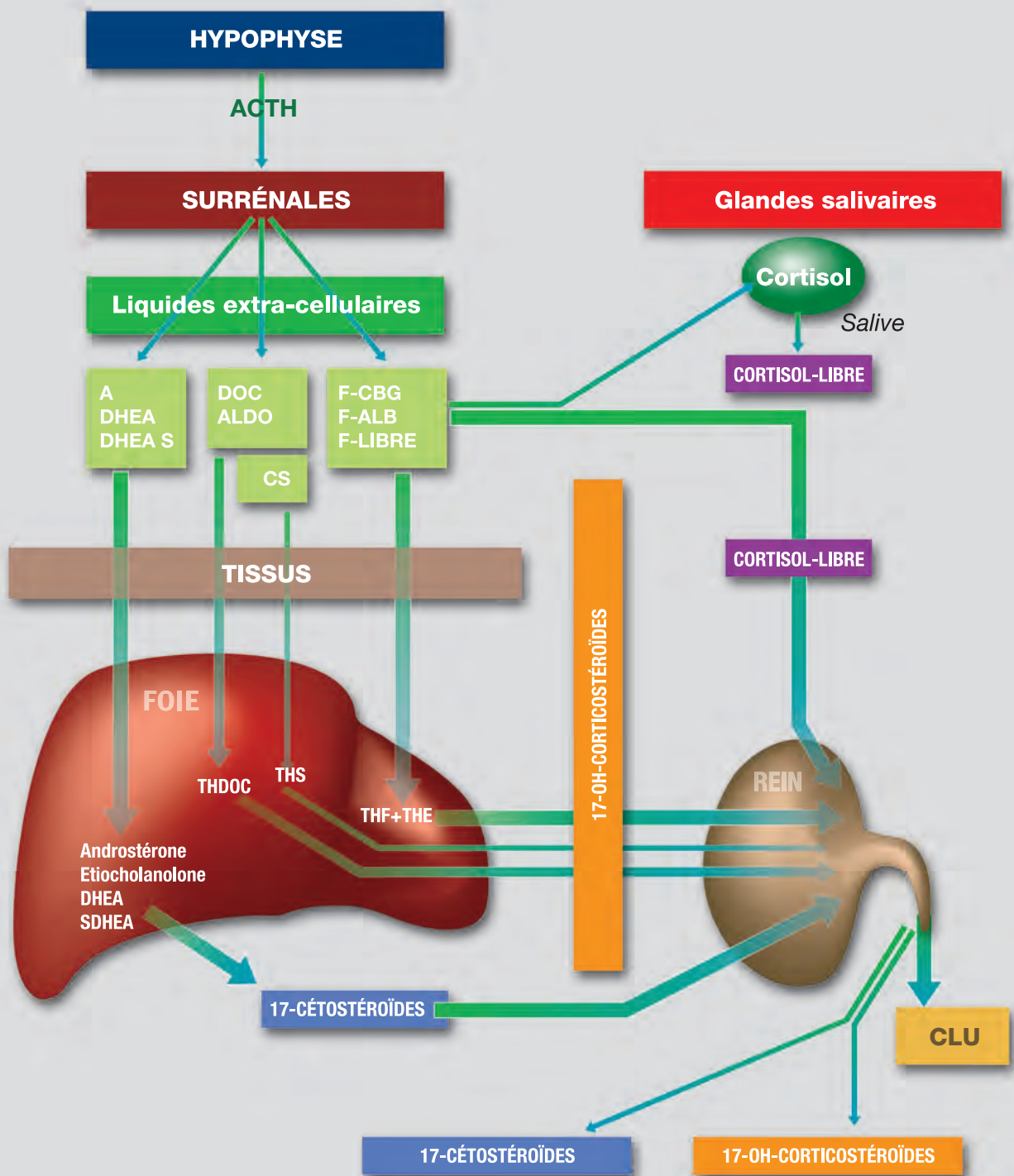
Le **cortisol** est métabolisé en particulier dans le foie en dérivés di, tétra et hexa hydrogénés qui après glucuroconjugaison sont éliminés dans les urines.

Ainsi le retentissement du vieillissement sur le **cortisol** sera-t-il étudié sur le cortisol circulant dans le plasma (cortisolémie), le **cortisol salivaire** et le **cortisol libre urinaire (CLU)**.

Le vieillissement des hormones de l'axe hypothalamus-hypophyse surrénale (HHS) concerne tous les étages de cet axe, les structures chargées de la sécrétion du **CRH**, de l'**ACTH**, et les corticosurrénales qui synthétisent les hormones surrénaliennes.

Le vieillissement des hormones surrénaliennes, outre le **cortisol**, concerne également ses précurseurs . la **progestérone**, la **17 hydroxyprogestérone, (17-OHP)**, le **11-désoxycortisol**, la **17 hydroxyprégnénone, (17 OH pré)** et les androgènes, la  **$\Delta$ 4-androstènedione, (A)**, la DHEA le **sulfate de DHEA**.

Les concentrations plasmatiques de la **17-OHP**, et **17 OHP** précurseurs du **cortisol** diminuent significativement au cours du vieillissement chez l'homme et chez la femme. (*Liu et al, 1990*).



F : Cortisol  
 DOC : 11-déoxycorticostérone  
 CS : composéS (11-déoxycortisol)  
 A : androsténedione

Figure 3 : Cheminement métabolique du cortisol, de la doc et des androgènes



# Cortisol plasmatique

## Cortisolémie de base

### Taux de base de la cortisolémie totale

Il est classique de considérer que la **cortisolémie** est soumise à des variations circadiennes. Les taux les plus importants sont trouvés entre 8h et 10h. Ils diminuent ensuite pour atteindre des valeurs minimales entre 20 h et 01 h le lendemain.

Plusieurs auteurs ont rapporté que la **cortisolémie** normale n'était pas influencée par l'âge ; (*Friedman et al, 1969, Blichert-Toft et al, 1975, Dean S et al, 1979*), ni par le sexe. Ainsi la normale de la cortisolémie selon la plupart des auteurs, et selon notre expérience est de :

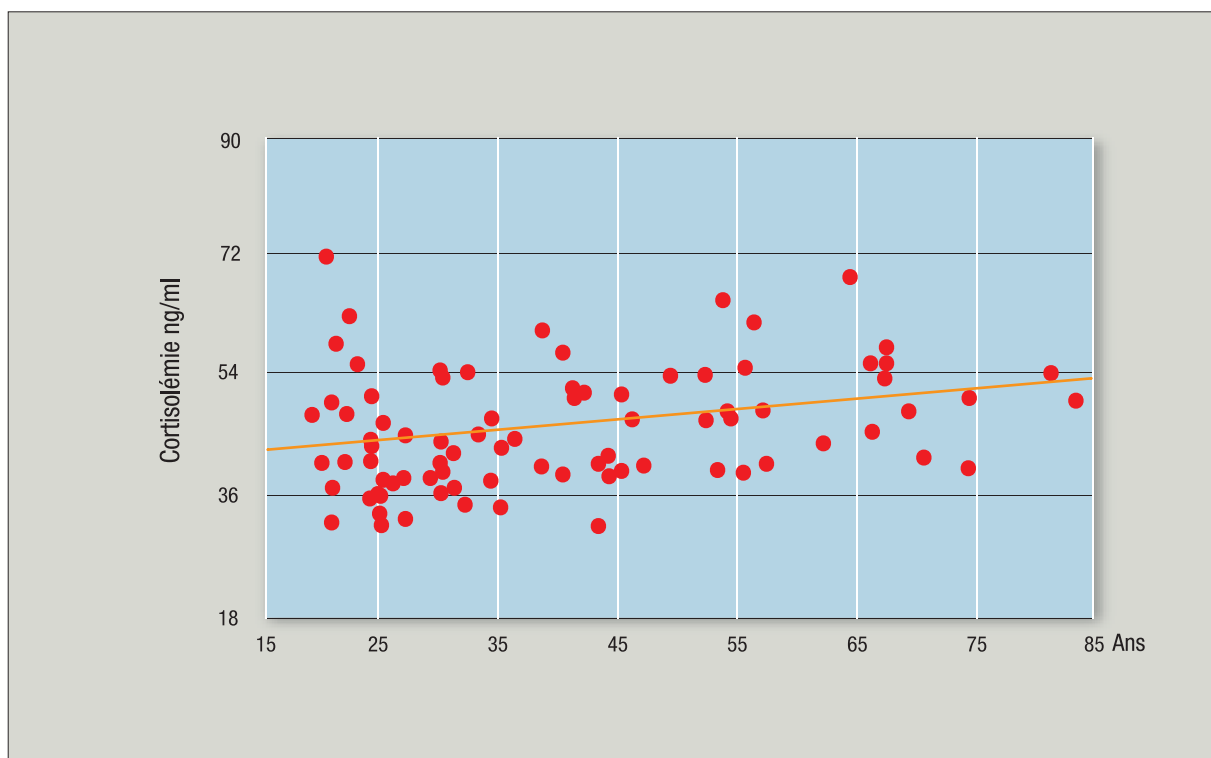
**70 à 250 ng/ml entre 8 et 10 h**

Par contre, la **cortisolémie** de l'après midi a été trouvée plus élevée chez le sujet âgé (70-86 ans) que chez le sujet jeune (Pavlov et al, 1986, Heuser et al, 1994).

Des études plus récentes effectuées sur un nombre conséquent de sujets, s'accordent pour trouver des **cortisolémies** plus élevées chez les sujets âgés.

### La cortisolémie augmente avec l'âge

*Van Cauter et al, 1996, (fig 4)*. sur 177 sujets (86 hommes et 91 femmes) âgés de 18 à 85 ans, non traités, avec un BMI normal, et prélevés toutes les 30 minutes pendant 24 heures, ont montré que la **cortisolémie moyenne** augmentait significativement avec l'âge. Ainsi la **cortisolémie basale** augmente de 20 à 50% entre 20 et 80 ans.



**Figure 4 : Variation de la cortisolémie moyenne au cours des 24 heures en fonction de l'âge chez l'homme** (*Van Cauter et al, 1996*)

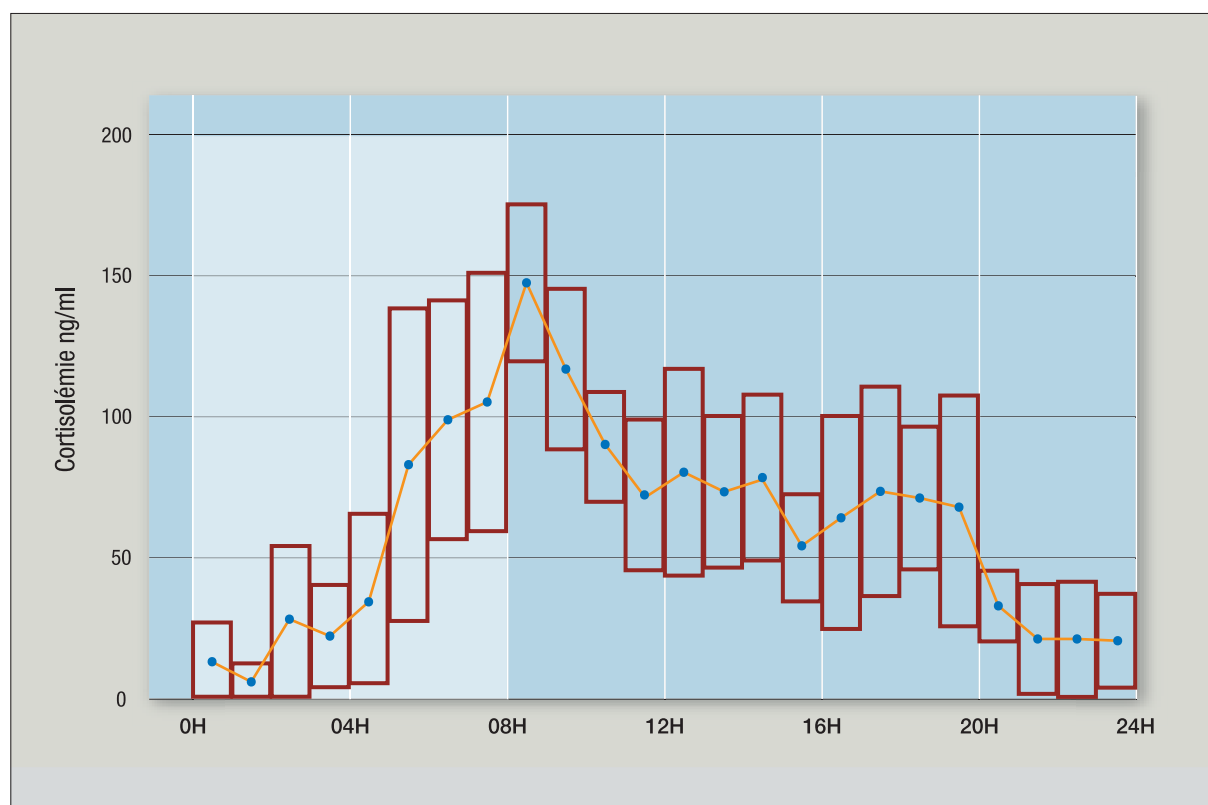
Plus récemment, *Laughlin GA et al, 2000* sur un nombre élevé de sujets, (847 hommes et 735 femmes), trouvent également des **cortisolémies** plus élevées chez les sujets âgés, et les femmes présenteraient des **cortisolémies** sensiblement plus élevées que les hommes particulièrement après la ménopause.

Les résultats rapportés ont été obtenus par des méthodes radioimmunologiques.

Par des méthodes non isotopiques, sur automate immunoanalyseur des **cortisolémies** plus élevées chez les sujets âgés ont été également rapportées (*Elmlinger MW et al, 2003*).

### Cycle nycthéral de la cortisolémie

Les variations de la **cortisolémie** au cours des 24 heures sont connues depuis longtemps (*Orth et al, 1967 Guignard et al, 1980*). Elles sont la conséquence des variations nycthérales du **CRH**, et de l'**ACTH**, déclenchées au niveau du noyau supra-chiasmatique. Si l'on dose la cortisolémie chez le sujet sain, à intervalles très rapprochés toutes les 20 minutes, on constate que les concentrations varient de façon saccadée, en dents de scie. Il s'agit d'une sécrétion pulsatile en phase avec la sécrétion du **CRH** et de l'**ACTH**. Les concentrations de la cortisolémie commencent à augmenter à 4 heures du matin, pendant le sommeil. Elles passent par une valeur maximale juste avant le réveil ou au réveil (de 7 à 9 heures), puis diminuent graduellement au cours de la journée pour devenir minimales juste avant l'endormissement (23 à 24 heures). La **figure 5** représente les concentrations de la cortisolémie obtenue en poolant 3 échantillons de volume identique recueillis toutes les 20 min (*Weitzman et al, 1971*).



**Figure 5 : Variation de la cortisolémie (moyenne  $\pm$  2SD) au cours du nycthéral**  
(*Weitzman et al, 1971*)

Les concentrations maximales du matin (70 à 250 ng/ml) s'abaissent :

**à moins de 50 ng/ml à minuit chez le sujet normal.**

L'intérêt de l'étude du cycle nyctéméral de la cortisolémie est double. D'une part en exploration endocrinienne classique, le dosage du **cortisol** à minuit montre la rupture du rythme circadien dans le syndrome de Cushing (taux de cortisolémie à minuit >75 ng/ml (*Papanicolaou et al, 1998*)) dans 95% des cas, d'autre part en recherche physiopathologique dans le cadre de l'étude physiopathologique du vieillissement et de ses pathologies.

**Chez le sujet âgé :** anomalies du rythme de la **cortisolémie** au cours du nyctémère.

L'étude fine du **cortisol** pendant le nyctémère en fonction de l'âge montre à l'évidence des anomalies du rythme au cours des 24 Heures (*Van Cauter et al, 1996*).

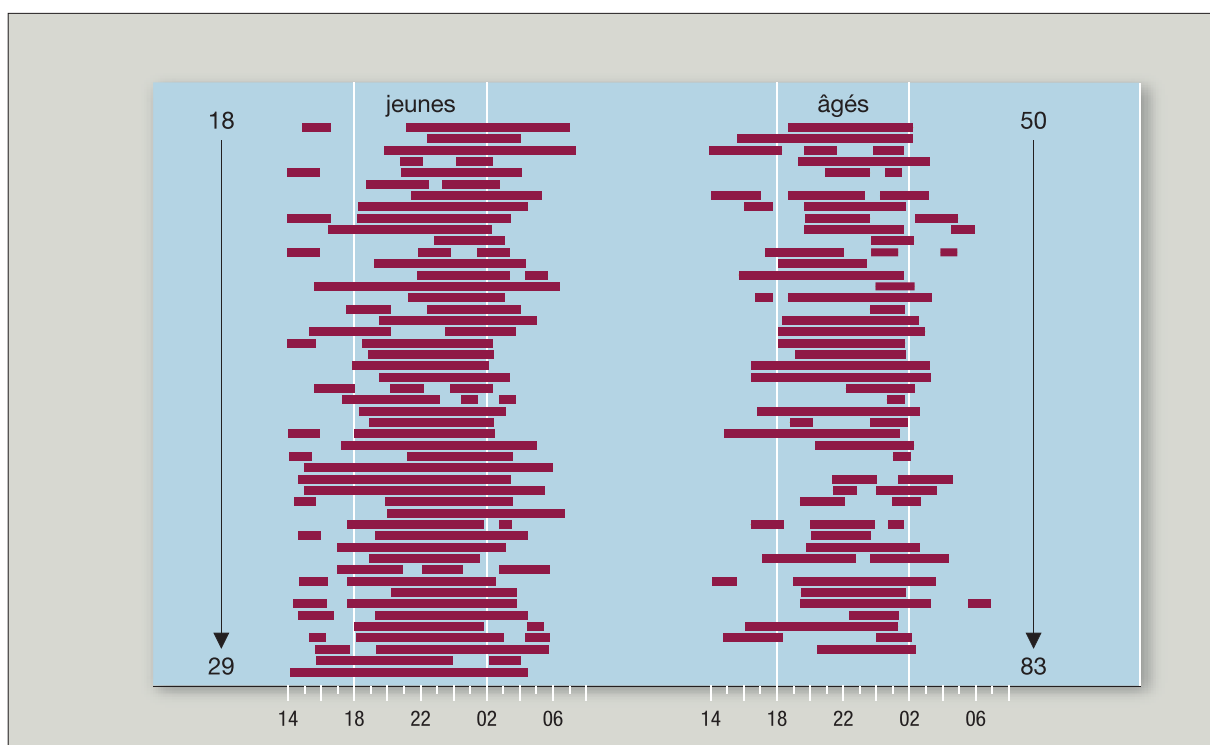
**Avec l'âge :** le nadir nocturne augmente. Après 70 ans, il est 3-4 fois plus haut que chez le sujet jeune.

Chez la femme, l'acrophase du matin augmente avec l'âge, ce qui n'est pas évident chez l'homme.

Le "timing" du cycle circadien du sujet âgé est différent : le début du nadir est avancé chez le sujet âgé, de même le début du cycle circadien est avancé de 3 heures (il est situé vers 3-4 heures du matin chez le jeune et plutôt 0 -1 heure chez le sujet âgé).

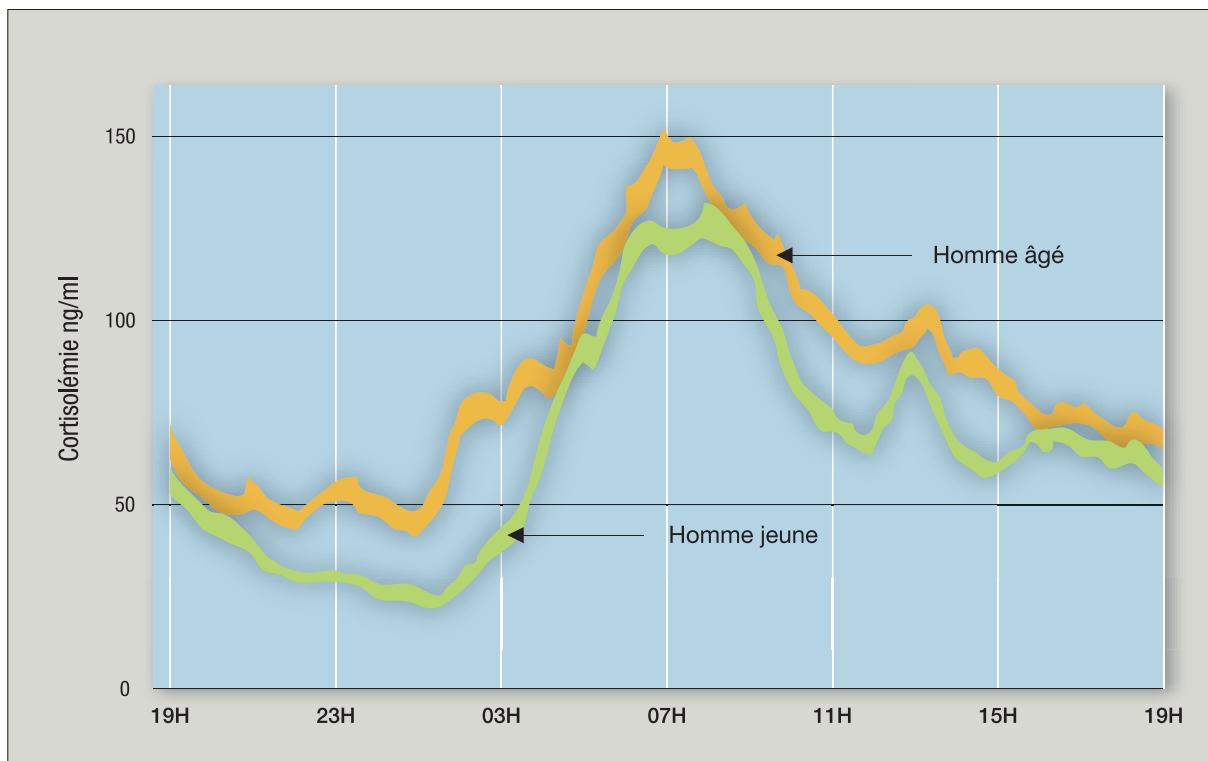
Le début de la période "quiescente" commence de plus en plus tard au cours du vieillissement, et se termine de plus en plus tôt. Si bien que sa durée diminue lorsque l'âge avance (*fig 6*).

Il y a une cohérence totale entre ces résultats qui montrent "in fine" que la cortisolémie est pratiquement toujours plus élevée chez le sujet âgé que chez le sujet jeune (*figures 7 et 8*).

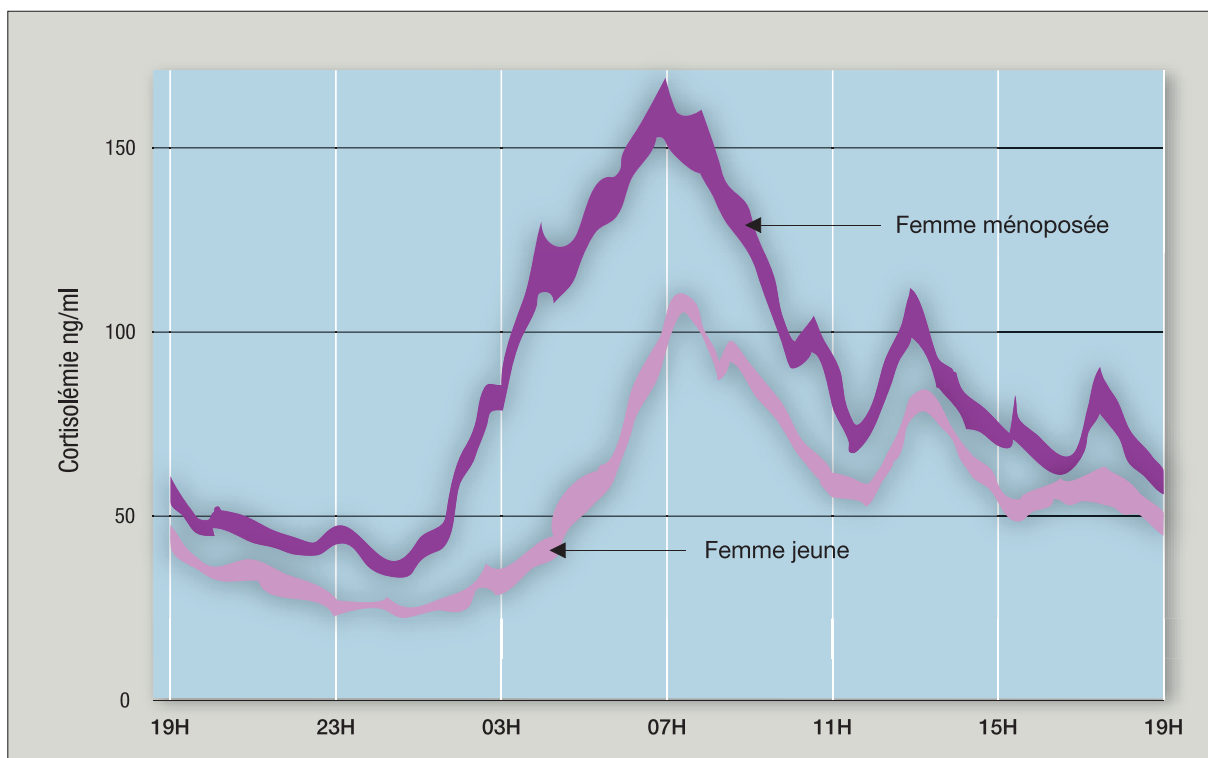


**Figure 6 : Périodes de quiescence** (représentées par les barres mauves) **comparées entre les sujets jeunes** (18-29 ans) **et les sujets âgés** (>50 ans) (*Van Cauter et al, 1996*)

L'imprégnation en **cortisol** chez la femme jeune est plus faible que chez l'homme et que chez la femme ménopausée.



**Figure 7 : Cycles nyctéméraux de la cortisolémie chez l'homme jeune (20-29 ans, n=29) et chez l'homme âgé (>50 ans, n=25) (van Cauter et al, 1996)**



**Figure 8 : Cycles nyctéméraux de la cortisolémie chez la femme jeune (20-29 ans, n=20) et chez la femme ménopausée (>50 ans, n=20) (van Cauter et al, 1996)**

Chez la femme, l'acrophase est moins élevée que chez l'homme, et le retour à la quiescence est plus rapide. Cette faculté de récupération, de mise au repos de l'axe HHS plus important chez la femme jeune que chez l'homme et chez la femme ménopausée est à relier à la moindre fréquence d'évènements cardio-vasculaires et de pathologies liées au stress chez la femme jeune.

*Ferrari et al 2000, 2004* ont rapporté également des modifications du rythme circadien du **cortisol**, avec globalement des niveaux plus élevés particulièrement pendant l'après midi et en fin de soirée et pendant la nuit, un aplatissement du cycle nyctémérale qui devient moins ample chez le sujet âgé que chez le sujet jeune. Ces modifications sont accentuées dans la démence sénile et dans l'Alzheimer.

Les modifications de la **cortisolémie** sont à comparer avec celles du **SDHEA** (voir ci après).

Chez le sujet âgé, la persistance de taux élevés de cortisol en particulier pendant la période nocturne, est à mettre en parallèle avec les taux élevés de **corticostérone** dosés chez les rats soumis à des stress répétés et associés à une perte neuronale dans l'hippocampe. Les taux élevés de **cortisol** entraînent des troubles de la mémoire.

Ainsi, le syndrome de Cushing, caractérisé par une hypercortisolémie est associé à une atrophie initialement réversible de l'hippocampe, avec une diminution de la résistance des neurones de l'hippocampe à l'ischémie, une augmentation de la sensibilité des neurones au glutamate, une involution des neurones, associés à des troubles de la mémoire

Ces troubles de la mémoire, nous les retrouvons chez le sujet âgé.

Le **cortisol** a un impact majeur sur l'humeur. Les malades atteints de Cushing sont déprimés. La prise de corticoïdes peut induire une euphorie initiale qui sera suivie d'une dépression.

Egalement cette diminution de la durée de la période "quiescente" de l'axe HHS est en relation avec des troubles du sommeil.

**Cortisol libre plasmatique** : le dosage du **cortisol libre** effectué par dialyse à l'équilibre est une méthode de recherche. Le **cortisol libre**, dosé sur des échantillons de plasma recueillis toutes les 30 minutes pendant 24 h et poolés, a été trouvé corrélé positivement avec l'âge (**fig 9**) (*Purnell et al, 2004*).

Dans une étude portant sur 189 sujets sains, mais âgés (55-80 ans), le cortisol libre "calculé" selon la méthode de Södergard ainsi que le **cortisol total**, ont été corrélés positivement, avec une détérioration des fonctions cognitives (*Kalmijn et al, 1998*).

## Test de stimulation par l'ACTH

Après un prélèvement de sang (t0) généralement pratiqué entre 8 et 9 heures, le test à l'**ACTH** consiste à injecter en IV ou IM, 250 µg de β-1-24 ACTH ou Synacthène, puis à prélever du sang, 30 minutes (t30) et le plus souvent 60 minutes après l'injection.

Le Synacthène stimule la synthèse de pratiquement tous les stéroïdes surrénaliens. Le **cortisol** est le stéroïde le plus fréquemment dosé. Les concentrations normales de **cortisol**, 60 minutes après l'injection sont comprises :

**Entre 220 ng/ml (5<sup>ème</sup> P\*) et 660 ng/ml (95<sup>ème</sup> P)**

Ce test est mis en œuvre pour explorer une insuffisance surrénalienne latente, en particulier lors de l'arrêt d'une corticothérapie. Le taux minimal de cortisolémie qui doit être atteint est de 200 ng/ml, ceci afin de s'assurer de l'absence d'une insuffisance surrénalienne.

\* : Percentile



**Figure 9 : Corrélation entre le cortisol libre plasmatique et l'âge chez l'homme et la femme (Purnell et al., 2004)**

### Au cours du vieillissement

Peu d'études concernent la réponse de la **cortisolémie** à l'**ACTH** chez le sujet âgé.

La mise en œuvre de plusieurs doses de Synacthène, montre des réponses identiques chez le sujet âgé par rapport au sujet jeune pour les doses 0.5 µg, et 250 µg. Seule une dose faible de 0.06 µg donne chez le sujet âgé une réponse significativement plus faible que chez le jeune, indiquant une diminution de sensibilité de la zone fasciculée à l'**ACTH** (Giordano et al, 2001).

La réponse de la **DHEA** est bien différente (voir plus loin).

### Test de freinage minute par la Dexaméthasone (DXM).

On retiendra les résultats suivants sur une population importante de sujets âgés de 55 à 80 ans (n=216), (102 hommes + 114 femmes), selon le test classique, c'est-à-dire une prise de 1 mg de DXM à 23 h,

suivi du dosage de la cortisolémie le lendemain matin à 8 h :

Cortisolémie post-DXM	% de la population
<18 ng/ml (50 nmol/L)	90%
18 à 50 ng/ml (50 à 140 nmol/L)	7.5%
>50 ng/ml (140 nmol/L)	2.5%

*D'après Huizenga et al 1998*

## **Vieillessement de l'axe HHS mis en évidence par le test à la DXM**

L'une des difficultés d'interprétation fine du test à la DXM chez les sujets normaux en fonction de l'âge, tient à la variabilité du métabolisme de la DXM. Il existe en effet une corrélation négative entre la **cortisolémie post-DXM** et les concentrations plasmatiques de la DXM (*Huizenga et al 1998*).

La dose de 1 mg classiquement utilisée dans l'exploration d'un syndrome de Cushing, est vraisemblablement trop élevée pour mettre en évidence au cours du vieillissement une variation de la sensibilité du mécanisme de rétro-contrôle de l'hypophyse + l'hypothalamus par les corticoïdes, chez les sujets normaux.

En effet la **cortisolémie post DXM** diminue lorsque la prise de DXM augmente de 0.25 mg jusqu'à 1 mg. Néanmoins plusieurs auteurs soit avec une dose plus faible de 0.5 mg soit classique de 1 mg, ont montré que le freinage de l'hypothalamus et/ou hypophyse diminuait avec le vieillissement, les concentrations de la **cortisolémie** étant trouvées plus élevées, chez les sujets âgés par rapport aux sujets jeunes (*Oxenkrug et al, 1983 ; Georgotas et al, 1986 ; Weiner et al 1987*).

Le test à la DXM, utilisé en psychiatrie, chez des patients présentant une dépression , ou d'autres troubles psychiatriques, montre comme chez les sujets sains une diminution du freinage de la **cortisolémie** plus importante chez les sujets âgés par rapport aux sujets plus jeunes (*Georgotas et al, 1986 ; Davis et al 1984 ; Greenwald et al, 1986*).

### **La diminution de la réponse du freinage par la DXM, extériorise une diminution de la sensibilité des structures hypothalamiques et de l'hippocampe au Feed-Back par les glucocorticoïdes chez le sujet âgé.**

Cette diminution du Feed back avec l'âge, serait due à une diminution au cours du vieillissement de la densité en récepteurs des **glucocorticoïdes** au niveau de l'hippocampe.

Une imprégnation excessive en **glucocorticoïdes**, ainsi que les stress répétés réduiraient la densité de ces récepteurs (*Sapolsky et al, 1986*).

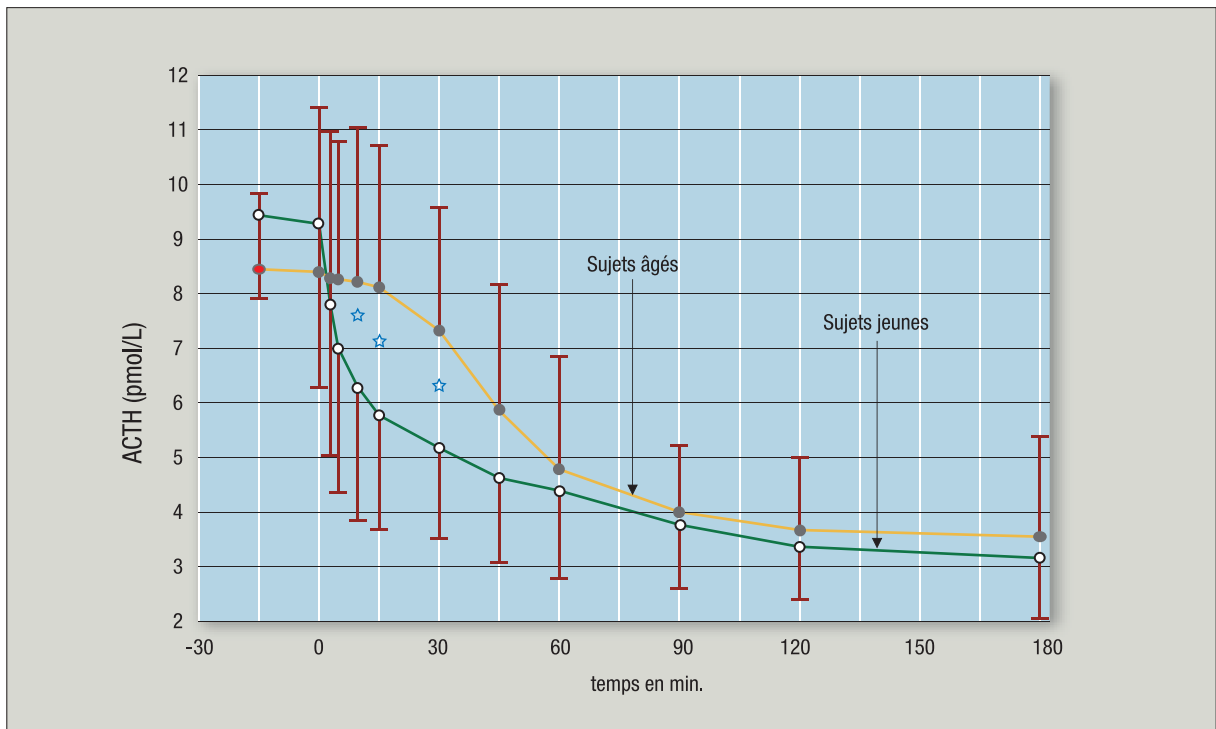
Compte tenu de la variabilité interindividuelle du métabolisme de la DXM, la diminution de la sensibilité au rétro contrôle par les **glucocorticoïdes** a été étudiée par l'administration **d'hydrocortisone**.

L'injection IV d'**hydrocortisone** (25 mg) entraîne un freinage de la sécrétion d'ACTH, que l'on trouve retardé chez le sujet âgé par rapport au sujet jeune (*Boscaro et al, 1998*), **fig 10**.

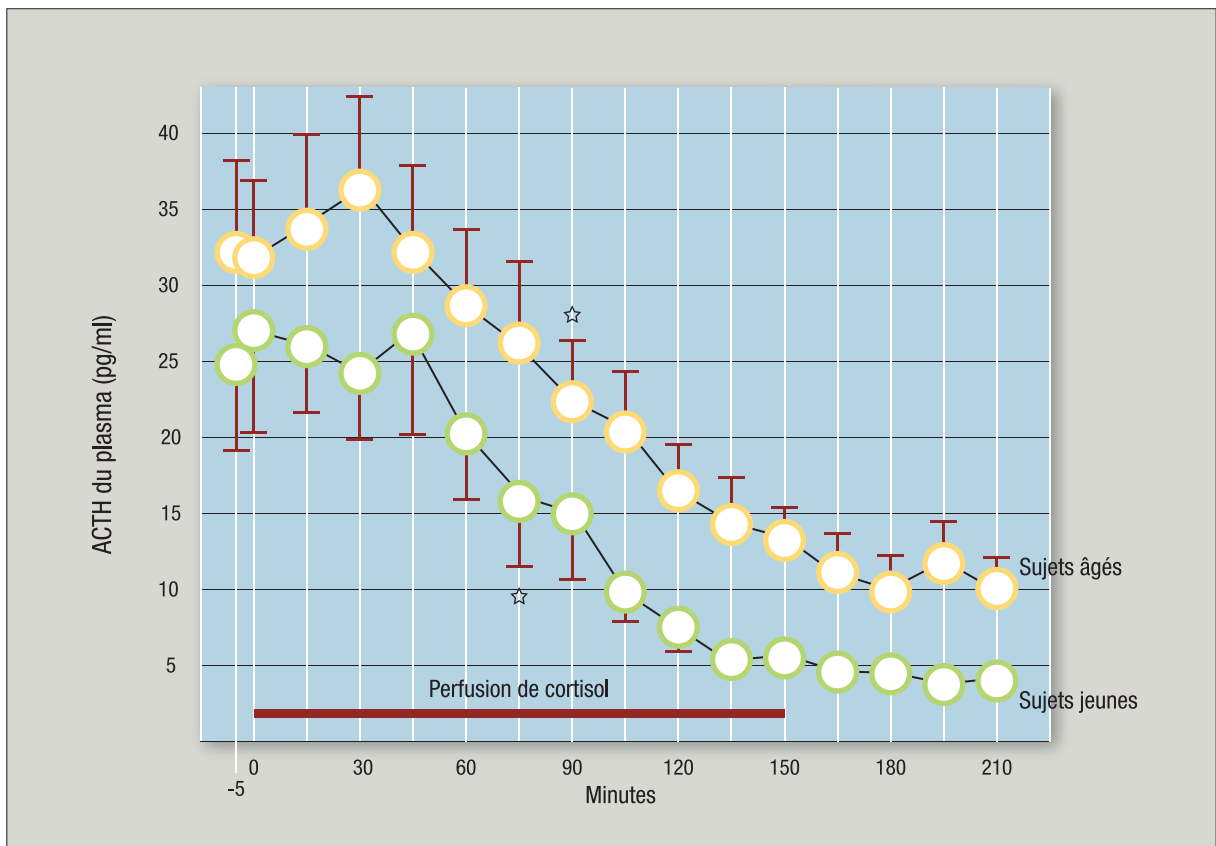
*Wilkinson et al, 1997* en injectant en perfusion pendant 4 heures de l'**hydrocortisone** le matin, chez des sujets âgés et des sujets jeunes, chez lesquels on a bloqué la sécrétion endogène de cortisol par l'administration de Métopirone (inhibiteur de la 11-hydroxylase), ont montré une plus grande latence de la diminution significative de l'**ACTH** chez les sujets âgés, par rapport aux sujets jeunes.

*Wilkinson et al, 2001*, ont confirmé plus récemment cette diminution de la sensibilité au Feed back des structures hypothalamo-hypophysaires chez le sujet âgé et ont montré que cette diminution était encore plus marquée en fin d'après midi (19 heures). Les concentrations d'**ACTH** restent plus élevées au cours du freinage par la perfusion de **cortisol** chez le sujet âgé (**fig 11**).

Ceci démontre que le Feed Back par le **cortisol** des structures hypothalamiques est moins efficace chez le sujet âgé que chez le sujet jeune, en particulier en fin d'après-midi.



**Figure 10 :** Réponse de l'ACTH à l'injection IV de 25 mg d'hydrocortisone chez 15 sujets âgés (65-88) et 15 sujets jeunes (18-26) (Boscaro et al, 1998)



**Figure 11 :** Concentration d'ACTH au cours de la suppression de la synthèse du cortisol par la Métopirone, et après perfusion de cortisol chez 9 sujets jeunes ( $28 \pm 1$ ) et 9 sujets âgés ( $74 \pm 1$ ) (Wilkinson et al, 2001)



## Test de stimulation par le CRH

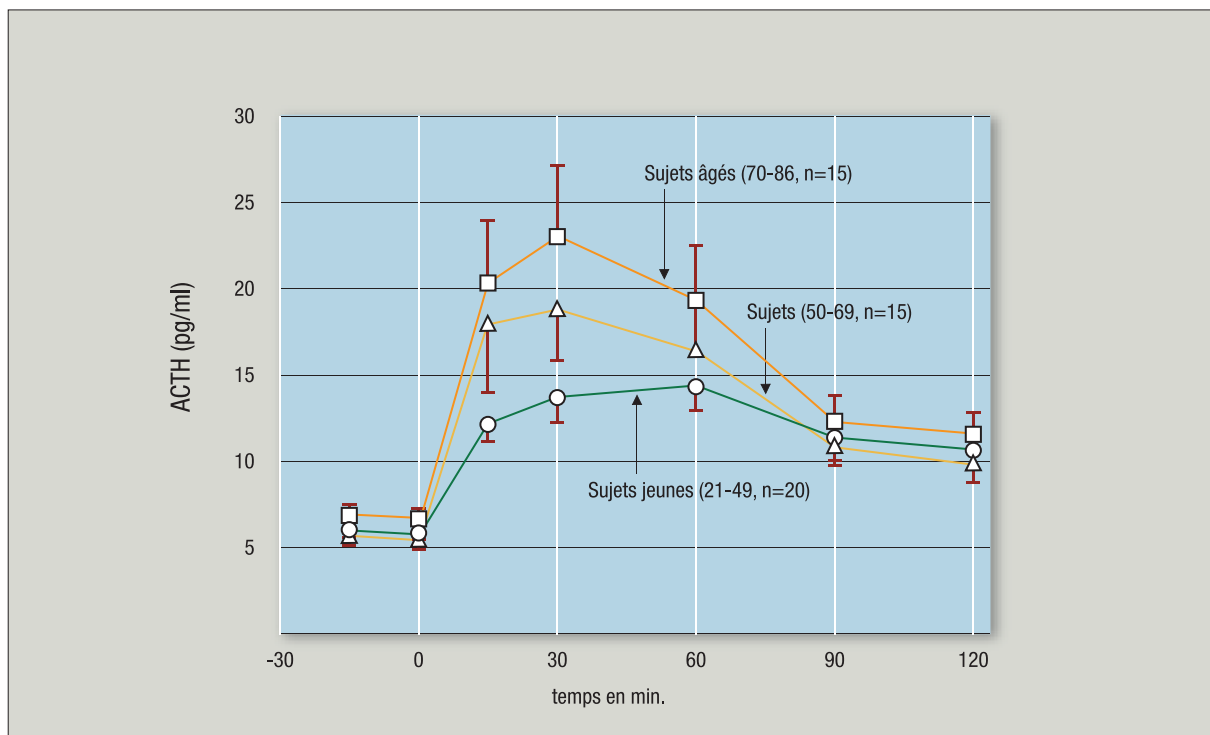
### Test au CRH

L'injection de **CRH** en IV, à raison de 1 µg/kg entraîne une augmentation de l'**ACTH**, du **cortisol** et d'autres hormones surrénaliennes dont la DHEA. Ces hormones sont dosées dans le plasma aux temps -15, 0, 15, 30, 45, et 60 minutes.

En exploration endocrinienne, ce test est généralement effectué en début de matinée, cependant la réponse varie peu avec l'heure de réalisation. Il est mis en œuvre pour faire le diagnostic différentiel entre Maladie de Cushing et sécrétion ectopique d'**ACTH**. Schématiquement, en cas de syndrome d'hypercorticisme, un accroissement des concentrations d'**ACTH** d'au moins 30% sera en faveur d'une maladie de Cushing (*Tabarin, 2000*) plutôt qu'un syndrome de sécrétion ectopique d'**ACTH**.

Le test au **CRH** a été appliqué pour explorer la réponse de l'axe HHS chez les sujets âgés comparés aux sujets jeunes.

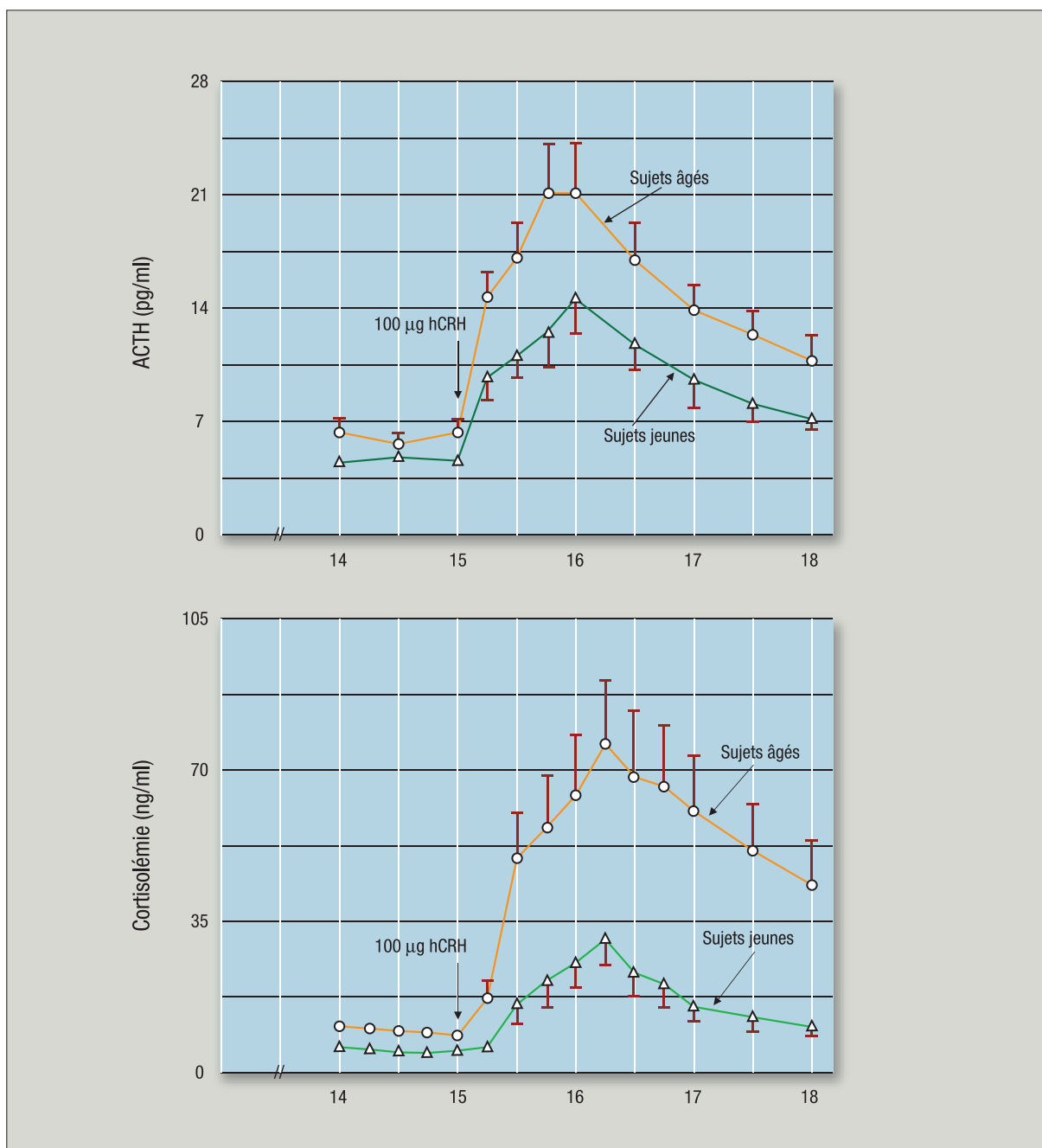
*Pavlov et al, 1986*, pratiquent le test au **CRH** à 18 heures après dosages de base, dans 3 groupes de sujets, jeunes (21-49), âgés (50-69), très âgés (70-86). Les concentrations d'**ACTH** et de cortisolémie en base et après injection de **CRH** sont trouvées d'autant plus élevées que les sujets sont âgés ([fig 12](#)). Cette réponse plus importante de l'**ACTH** et du **cortisol** sous **CRH** est cohérente avec la diminution de l'efficacité du rétro-contrôle exercée par les glucocorticoïdes chez le sujet âgé, comme déjà rapporté.



**Figure 12 : Réponse (moyennes ± SD) de l'ACTH du plasma à l'injection de CRH, dans 3 groupes de sujets d'âge croissant. (*Pavlov et al, 1986*)**

Par contre la réponse de la **DHEA** au **CRH** est moins élevée chez les sujets âgés.

Un test au **CRH** sensibilisé par la prise préalable de **DXM**, dans des populations de sujets âgés et jeunes des deux sexes (Heuser et al, 1994) conduit à des résultats similaires : chez les sujets âgés, la **cortisolémie post DXM** avant injection de **CRH** est plus élevée et la réponse de la cortisolémie au **CRH** est significativement plus importante (fig 13). Greenspan et al, 1993 rapportent que la réponse au **CRH** est la même chez les sujets âgés que chez les sujets jeunes, cependant la "récupération", c'est-à-dire un retour à la normale des concentrations d'**ACTH** et de **cortisol** est retardée et prolongée chez les sujets âgés.



**Figure 13 : Variation de l'ACTH et du cortisol plasmatique après injection de CRH à 15h et prise de 1,5 mg de DXM la veille au soir à 23h, chez 40 sujets âgés (69±3) et 20 sujets jeunes (34±8) (Heuser et al, 1994)**

## Conclusion sur l'hypercortisolémie du sujet âgé

### ***L'hypercortisolémie du sujet âgé ne fait aucun doute***

Les dosages et les tests dynamiques classiques de l'exploration hormonale de l'axe HHS montrent que chez la personne âgée, il existe une hyperréactivité accrue de l'axe HHS, vraisemblablement due à une diminution du rétro contrôle du **cortisol** sur les structures hypothalamiques. Ainsi comme nous l'avons détaillé dans les pages précédentes, les modifications de la régulation de l'axe HHS qui s'installent avec l'âge sont objectivées par :

- **une augmentation de la cortisolémie moyenne de 24 heures.**
- **Des modifications du rythme circadien avec des cortisolémies plus élevées en fin de soirée et pendant la nuit, une élévation des concentrations minimales du cortisol**
- **Une cortisolémie après freinage par la DXM plus élevée donc un freinage diminué**
- **Une concentration plus élevée d'ACTH après freinage par la DXM**
- **Une augmentation plus importante de l'ACTH et de la cortisolémie après injection de CRH**

Il en résulte une imprégnation exagérée par les corticoïdes de tout l'organisme.

### Hypercortisolémie et situations de stress codifiées

Cette réactivité accrue de l'axe HHS est mise en évidence lors de situations de stress proches de celles de la vie de tous les jours. Ainsi (*Transtadottir et al, 2004, 2005*) ont montré que les femmes âgées ( $64 \pm 1.4$ ), soumises à des tests psychologiques très codifiés et standardisés, développaient au cours du test, une **cortisolémie** significativement plus élevée et plus prolongée que celle de la femme jeune ( $27 \pm 2.8$ ). Cette hypercortisolémie de la femme âgée disparaissait lorsque celle-ci avait subi un entraînement de mise en forme contrôlé par une  $VO_2$  max identique à celle de la femme jeune.

Une métaanalyse récente (*Otte et al, 2005*) regroupant 45 études et comprenant 670 sujets jeunes ( $28 \pm 5$ ) et 625 sujets âgés ( $69 \pm 6$ ), soumis à des stress psychologiques ou pharmacologiques a montré une réponse significativement plus importante et plus prolongée aux stress avec des concentrations de **cortisol** significativement plus élevées chez les sujets âgés que chez les sujets jeunes. En outre la réponse aux stress était plus élevée chez la femme que chez l'homme.

### Hypercortisolémie et pathologie

Ce vieillissement de l'axe HHS est-il intrinsèque ou bien la conséquence de diverses pathologies plus fréquentes au cours du vieillissement ?

L'augmentation de la **cortisolémie** au cours d'études prospectives a été associée à l'évolution défavorable de ces pathologies.

Une augmentation de la réponse du **cortisol** a été associée :

- à une rechute précoce ou un pronostic sombre voire un suicide (*Coryell et Schlessler, 2001, Zobel et al, 2001*). chez des patients présentant une dépression en rémission

- à un déclin des fonctions cognitives, à un risque de décès dans les 4 ans, chez des patients atteints d'Alzheimer (Swanwick et al, 1996).

Ces résultats d'études longitudinales ont été confirmée par une pléthore d'études transversales, montrant une réponse exagérée de l'axe HHS dans :

- la maladie d'Alzheimer (Pascualy et al, 2000)
- la dépression (Gold & Chrousos, 2002)
- le diabète (Buffington et al, 1994)
- le syndrome métabolique (Reynolds et al, 2003)
- l'hypertension (al'Absi and Wittmers, 2003)
- des maladies cardiovasculaires (Reynolds et al, 2003)

Cause ou conséquence de la maladie ?

Ainsi dans la dépression ou dans la maladie d'Alzheimer, la réponse exagérée du **cortisol** peut refléter la détérioration des structures de l'hippocampe (site des récepteurs aux glucocorticoïdes), qui normalement inhibent la libération de **CRH** et donc du **cortisol** (Herman et al, 2003). Inversement, une imprégnation exagérée de l'organisme en glucocorticoïdes peut entraîner une "down regulation" des récepteurs aux glucocorticoïdes dans l'hippocampe, avec comme conséquence une diminution du Feed-back du **cortisol**. Une diminution du volume de l'hippocampe a été associé à une augmentation des **glucocorticoïdes** (Wolf et al, 2002).

De plus, le **cortisol** réduit la capture du glucose par le cerveau (de Leon et al, 1997), augmente la toxicité des glutamates dans l'hippocampe (McEwen et al, 2002), "down-régule" les récepteurs de la sérotonine dans le cerveau (De Kloet et al, 1998), ce qui augmente la vulnérabilité du cerveau .

En outre, les effets bien connus du **cortisol** sur le glucose, le métabolisme des lipides, et la pression sanguine (Sapolsky et al, 2000), peuvent contribuer au développement du syndrome métabolique, de maladie cardiovasculaire, d'hypertension et de diabète.

Le blocage de l'action des glucocorticoïdes a récemment conduit à une amélioration des performances intellectuelles et des tests cognitifs chez des sujets dont l'imprégnation cortisolique est classiquement admise.

Ainsi l'inhibition de la 11 $\beta$ -hydroxystéroïde déshydrogénase de type I par la carbenoxolone qui active la **cortisone** en **cortisol**, a conduit à une augmentation des performances cognitives de patients présentant un diabète de type 2. Des concentrations élevées de la 11 $\beta$ -hydroxystéroïde déshydrogénase de type I sont en effet présentes dans le système nerveux central et en particulier dans l'hippocampe.

Dans la maladie d'Alzheimer, le blocage des récepteurs des **glucocorticoïdes** (Pomara et al, 2002, Belanoff et al, 2002), par un antagoniste a conduit à des résultats intéressants.

## Le cortisol libre urinaire ou CLU

### Sa provenance

Le **cortisol libre urinaire** provient du passage par le filtre rénal du **cortisol libre**, (non lié à des protéines) du plasma.

Dans le sang, le **cortisol libre** du plasma représente la forme active du **cortisol total**. Mais il n'y est pratiquement que très rarement dosé, car son dosage fait appel à des techniques de dialyse à l'équilibre ou à des méthodes d'ultrafiltration. Le **cortisol libre** du plasma ne sera apprécié qu'indirectement par le dosage du **cortisol libre urinaire**, ou du **cortisol salivaire**.

### Difficultés du dosage exact du CLU

**Difficultés analytiques** : les urines contiennent des concentrations importantes de métabolites du cortisol, et d'autres stéroïdes. Les anticorps anticortisol croisent plus ou moins, avec ces différents stéroïdes. Il en résulte une interférence "globale" de l'ensemble de ces stéroïdes, qui se rajoute au taux réel du **cortisol urinaire** (*Morineau et al, 1997 ; Murphy, 1999*). D'où la nécessité avant immunodosage, de procéder à une purification par extraction par le dichlorométhane au moins, suivi au mieux par une chromatographie sur Célite ou Séphadex. Les techniques par CLHP, de même que les techniques mettant en œuvre la spectrométrie de masse, conduisent à des résultats plus spécifiques que les techniques dites "directes" (sans extraction et chromatographie).

**Difficultés de recueil correct des urines** : la difficulté principale du dosage du **CLU** est le recueil complet des urines de 24 heures. Le dosage simultané de la créatinine dans les urines est parfois effectué, afin d'exprimer le **CLU** par rapport à la créatinine urinaire éliminée.

En outre une variabilité d'élimination physiologique est constatée et doit conduire à effectuer le dosage au moins deux fois à quelques jours d'intervalle..

Nous proposons d'après notre expérience et la littérature :

**Une cortisolurie normale comprise entre 12 et 95 µg/24 heures (technique avec extraction suivie de chromatographie avant immunodosage)**

### CLU et vieillissement

Bien que le **CLU** soit un excellent examen pour effectuer un diagnostic d'hypercorticisme, puisqu'il intègre les variations de l'élimination du **cortisol libre plasmatique**, son dosage a été peu appliqué à l'étude du vieillissement de l'axe HHS, sans doute à cause des difficultés pratiques précédemment rappelées.

Pas de variations du **CLU** et des **17-hydroxystéroïdes** dans une population de sujets âgés, par rapport à des sujets jeunes, d'après *Barton et al, 1993*, alors qu'une augmentation du **6 bêta-hydroxycortisol**, métabolite du **cortisol** a été trouvée chez les sujets âgés.

Egalement pas d'augmentation significative du **CLU**, n'a été mise en évidence chez la femme âgée ( $54 \pm 24$  µg/24heures) comparée à la femme jeune ( $45 \pm 15$  µg/24heures) (*Carvalhoes-Neto et al, 2002*).

Par contre, une association significative a été rapportée entre l'augmentation du **CLU**, et une diminution de la performance lors de tests d'exploration de la mémoire chez le sujet âgé (Seeman et al, 1997).

Des travaux récents ont mis en évidence une augmentation du **CLU** dont les taux ont été corrélés à la gravité de symptômes d'épisodes dépressifs (Grant et al, 2007, Wedekind et al 2007).

Egalement récemment, une étude portant sur 881 participants, de moyenne d'âge 74 ans, vient de montrer que les sujets dépressifs avaient un **CLU** situé soit dans des valeurs élevées, > au 90<sup>ème</sup> percentiles, soit dans des valeurs basses <10<sup>ème</sup> percentiles. Les sujets ayant une cortisolurie basse présentaient une fragilité physique notoire que ne présentaient pas les sujets à **cortisolurie** élevée (Pennix et al, 2007).

## Le cortisol salivaire

Le **cortisol libre** du plasma passe dans la salive. Sa concentration dans la salive, est le reflet direct de la concentration plasmatique de la cortisolémie.

La concentration du **cortisol salivaire** est indépendante du flux salivaire.

Le dosage est effectué par immunocompétition, soit directement sur la salive (Laudat et al, 1988), soit après extraction par un solvant organique (Guéchet et al, 1982).

Le prélèvement a été grandement facilité par l'usage de Salivettes (Laboratoire Sartaedt).

Les concentrations du **cortisol salivaire** sont très parallèles aux concentrations de la cortisolémie au cours du nyctémère comme nous le rapportons sur le tableau ci-dessous, (Guéchet et al, 1982). Cependant les ratios des concentrations à 8h/concentrations à 24h du **cortisol salivaire** (10.4) sont beaucoup plus élevées que celles correspondantes du **cortisol plasmatique** (3.27). Donc le rythme circadien du **cortisol salivaire** (équivalent du **cortisol libre** du plasma), est beaucoup plus marqué que celui de la **cortisolémie** :

**Tableau 1 : variations comparées de la cortisolémie et du cortisol salivaire au cours du nyctémère, chez 8 hommes normaux, âgés de 18 à 40 ans, en ng/ml** (Guéchet et al, 1982).

horaires	8 h	12 h	16 h	20 h	24 h	04h
Salive	5.24 ± 2.5	1.52 ± 0.36	1.55 ± 0.79	0.59 ± 0.23	0.50 ± 0.43	0.75 ± 0.31
Plasma	167 ± 39	141 ± 46	110 ± 30	49 ± 19	51 ± 23	56 ± 26

Au cours des dernières années, le **cortisol salivaire** a acquis ses lettres de noblesse en exploration endocrinienne, car il permet le diagnostic du syndrome de Cushing par un simple prélèvement à 23 heures ou minuit. Un taux de **cortisol salivaire** à minuit <2 ng/ml permet d'éliminer un syndrome de Cushing, chez des patients présentant des signes évocateurs (Yaneva et al, 2004).

Mise à part son intérêt en exploration endocrinienne, le **cortisol salivaire**, a été appliqué pour explorer le fonctionnement de l'axe HHS chez le sujet âgé.

## Cortisol salivaire et vieillissement hormonal

Le dosage du **cortisol salivaire** a servi d'outil pour explorer l'axe HHS chez des patients présentant des altérations des fonctions cognitives.

## Cortisol salivaire et faculté d'apprentissage et mémoire récente

Compte tenu de sa facilité de prélèvement non stressant, le prélèvement de la salive est couramment pratiqué au cours de tests psychologiques, visant à explorer les capacités d'apprentissage, et de mémoire par exemple.

Dans une étude récente portant sur 1000 sujets âgés de 50 à 70 ans ("Baltimore memory study"), le **cortisol salivaire** de base d'une part et d'autre part la moyenne obtenue sur 7 prélèvements pratiqués au cours du déroulement d'un test "cognitif" ont été significativement plus élevés chez les sujets âgés ayant une fonction cognitive altérée. Ces résultats sont en accord avec la constatation qu'une dérégulation de l'axe HHS est un facteur de risque pour une altération des fonctions cognitives chez les personnes âgées (Lee et al, 2007).

Une étude longitudinale, avec des prélèvements salivaires au cours du nycthémère, une fois par an et 3 années de suite, a montré que les taux moyens du **cortisol salivaire** étaient en relation avec les résultats de test de mémoire, et que les taux de **cortisol salivaire** pouvaient prédire une dégradation des fonctions cognitives (Li et al, 2006).

## DEHYDROEPIANDROSTERONE (DHEA) ET SULFATE DE DEHYDROEPIANDROSTERONE (SDHEA)

Origines de la **DHEA** et du **SDHEA** : La **DHEA** et son sulfate sont synthétisés essentiellement dans les cellules réticulées des corticosurrénales, après scission de la chaîne latérale en C17 de la **17 HO prégnénolone**, par une C17-C20 desmolase, et de son sulfate (fig 2) Seulement <10% de la **DHEA** est formée dans les cellules de Leydig. Une conversion de **DHEA** en **SDHEA** est aussi importante au niveau hépatique où la **DHEA** sulfotransférase est fortement exprimée.

## Diminution de la DHEA et du SDHEA au cours du vieillissement

### Dosages de la DHEA et du SDHEA dans le plasma ou le sérum

La **DHEA** est dosée par RIA à l'aide d'anticorps anti DHEA-7-carboxyméthyl oxime/BSA, après extraction suivie de chromatographie (Fiet et al, 1980) ou après extraction seule suivie de l'étape immunologique avec un traceur iodé (kit Immunotech réf. IM 1138) ou par GCMS (Labrie et al, 2006 ; Giton et al, 2008). Les résultats que nous rapportons ici chez l'homme ont été obtenus par GCMS selon la technique de Labrie et al, 2006.

Le **sulfate de DHEA** chez l'homme a été dosé par radioimmunologie (kit RIA Immunotech IM0729). Ce dosage est effectué également classiquement sur les automates d'immunoanalyse.

## Variations au cours du vieillissement

La **DHEA** et son **sulfate** diminuent significativement au cours du vieillissement, comme cela a été largement rapporté dans la littérature et comme nous le montrons précisément au cours d'une étude récente dont nous décrivons le déroulement dans le chapitre concernant le vieillissement testiculaire, (figures 14, 15 et tableau 2). Ainsi les concentrations médianes de la **DHEA** et de la **SDHEA** respectivement de 6.34 ng/ml et 299 µg/100 ml dans le groupe d'âge 20-39 ans diminuent environ des 2/3 dans le groupe d'âge 60-74 et atteignent 2.33 ng/ml et 101 µg/100 ml. La diminution de la **DHEA** et du **SDHEA** sont de l'ordre de 1.5 % par an. L'ampleur de ces diminutions au cours du vieillissement a été largement rapportée au cours des dernières années (Orentreich et al, 1984, 1992 ; Bélanger et al, 1994 ; Vermeulen et al, 1996 ; Labrie et al, 1997). Plus récemment, le profil de diminution du **SDHEA** comparé chez l'homme et la femme a été rapporté dans une étude américaine portant sur 857 hommes et 735 femmes non traitées par les **estrogènes**. (Laughlin & Barrett-Connor, 2000)

Chez la femme, la **DHEA** décroît également très significativement au cours du vieillissement (Liu et al, 1990).

**Tableau 2 : variations en percentiles des concentrations de la DHEA (ng/ml) et du SDHEA (µg/100 ml) chez 503 hommes normaux en fonction de l'âge (Giton et al, 2007).**

Percentiles	20-74 n=503	20-39 n=142	40-49 n=100	50-59 n=135	60-74 n=126
DHEA 2.5	0,97	2,93	1,566	0,94	0,85
DHEA 5	1,2789	3,12	2,08	1,38	0,8787
DHEA25	2,58	4,98	3,69	2,23	1,54
DHEA 50 (médiane)	4,02	6,34	4,8	3,19	2,33
DHEA 75	6,18	9,57	7,1514	4,54	3,31
DHEA 95	11,83	14,19	9,69	7,41	5,6
DHEA 97.5	13,33	15,84	10,0833	8,3	6,42
SDHEA 2.5	44	131	60	50	29
SDHEA 5	54	142	87	55	34
SDHEA 25	111	225	145	98	62
SDHEA 50 (médiane)	170	299	198	132	101
SDHEA 75	270	393	288	189	151
SDHEA 95	427	546	428	268	243
SDHEA 97.5	511	640	528	379	309



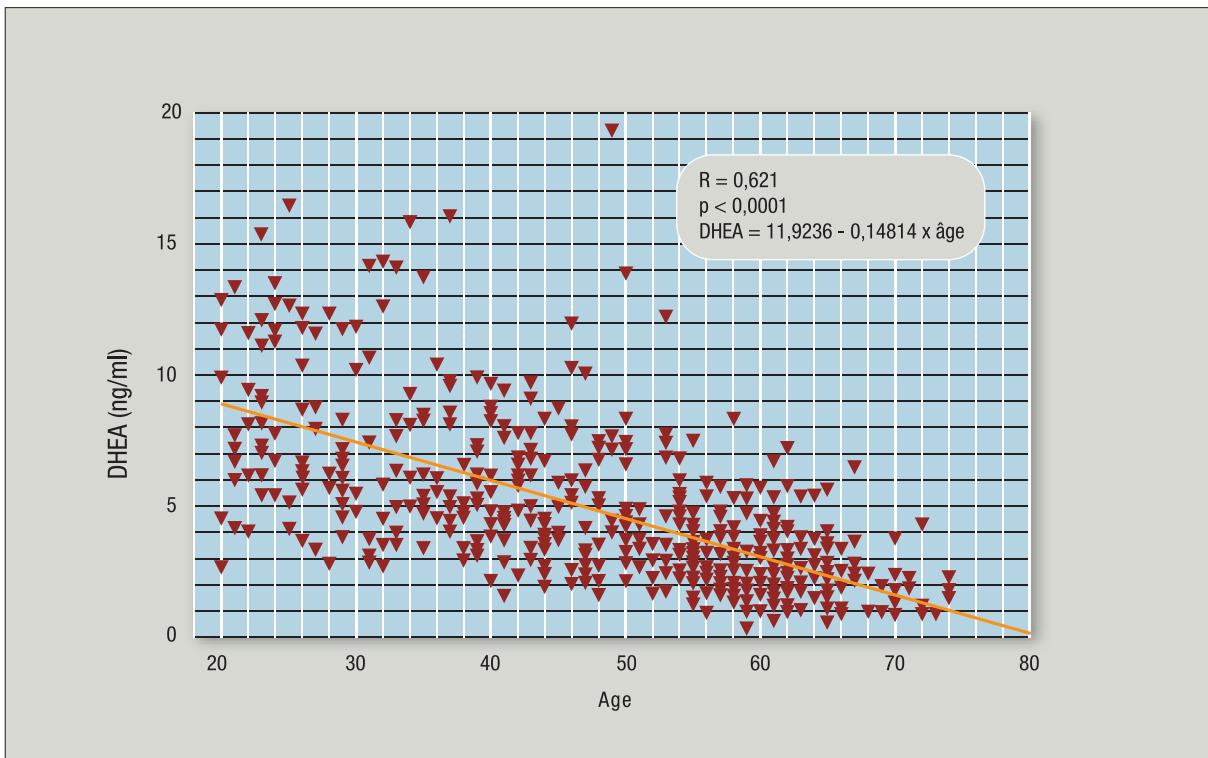


Figure 14 : Variation de la DHEA chez l'homme en fonction de l'âge (Giton et al, 2007)

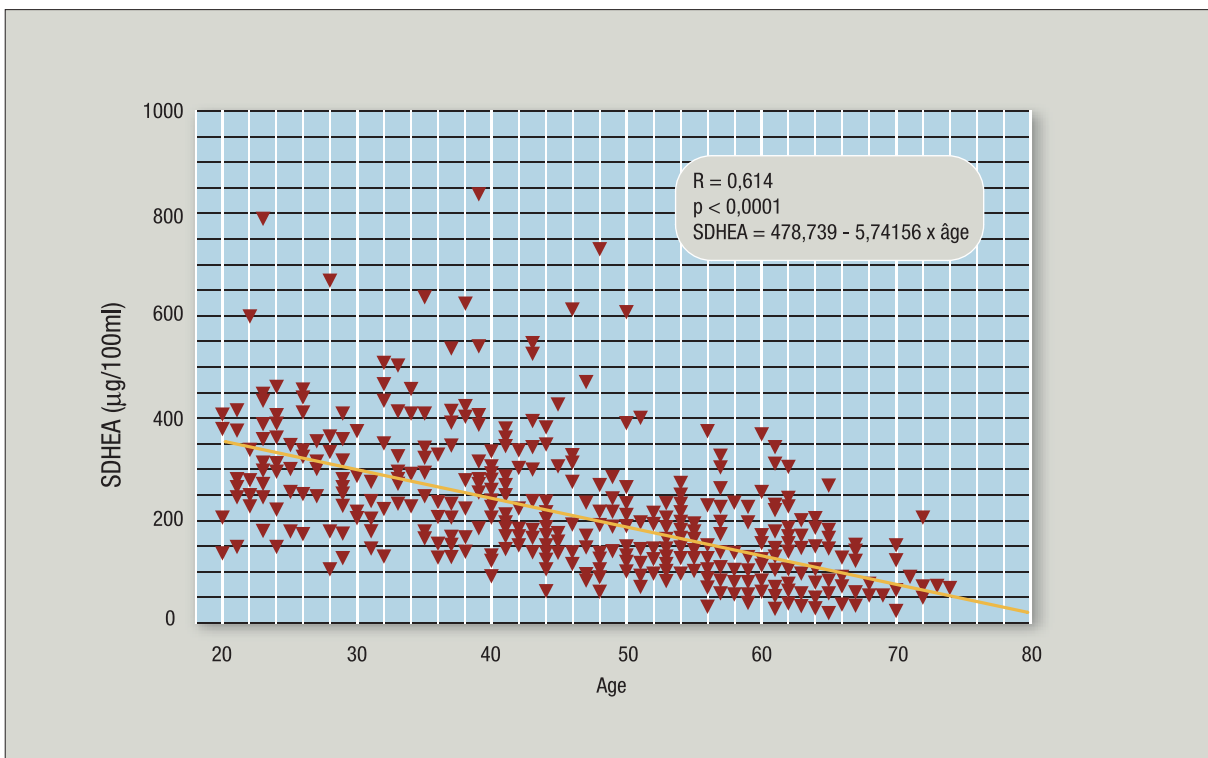


Figure 15 : Variation de la SDHEA chez l'homme en fonction de l'âge (Giton et al, 2004)

Nous remarquons que les concentrations du **SDHEA** sont de l'ordre de 500 à 1000 fois plus élevées que celle de la **DHEA libre**. C'est le stéroïde dont les concentrations dans le plasma sont les plus élevées (10 à 20 fois celles du **cortisol**). Son métabolisme est lent (MCR 15 litres/jour) comparé à celui de la **DHEA libre** (MCR 2000 litres/jour).

## Variabilité nycthémérale et vieillissement de la DHEA et du SDHEA

La **DHEA** présente des variations nycthémérales très marquées comme celles du **cortisol**, avec des valeurs maximales le matin entre 8 et 10 h et minimales le soir (*Fiet, 1979*). Les dosages sont généralement effectués sur des prélèvements du matin (entre 8 et 10h).

Au cours du vieillissement, ces variations circadiennes sont atténuées chez les femmes âgées par rapport aux femmes jeunes (*Liu et al, 1990*).

Comparativement, le **SDHEA** par suite de son métabolisme lent ne présente que des variations nycthémérales minimales chez le sujet jeune, et inexistantes chez le sujet âgé (*Montanini et al, 1988*).

## Variations intersujets en fonction du vieillissement

Les ratios des concentrations des 97.5 percentiles/ 2.5 percentiles augmentent avec l'âge. Ainsi, pour la **DHEA**, le ratio chez les hommes jeunes (20-39) est de 15.84/2.93 ([tableau 2](#)) soit de 5.40 et chez les hommes âgés (60-74) il est de 6.42/0.85 (tableau ) soit 7.55.

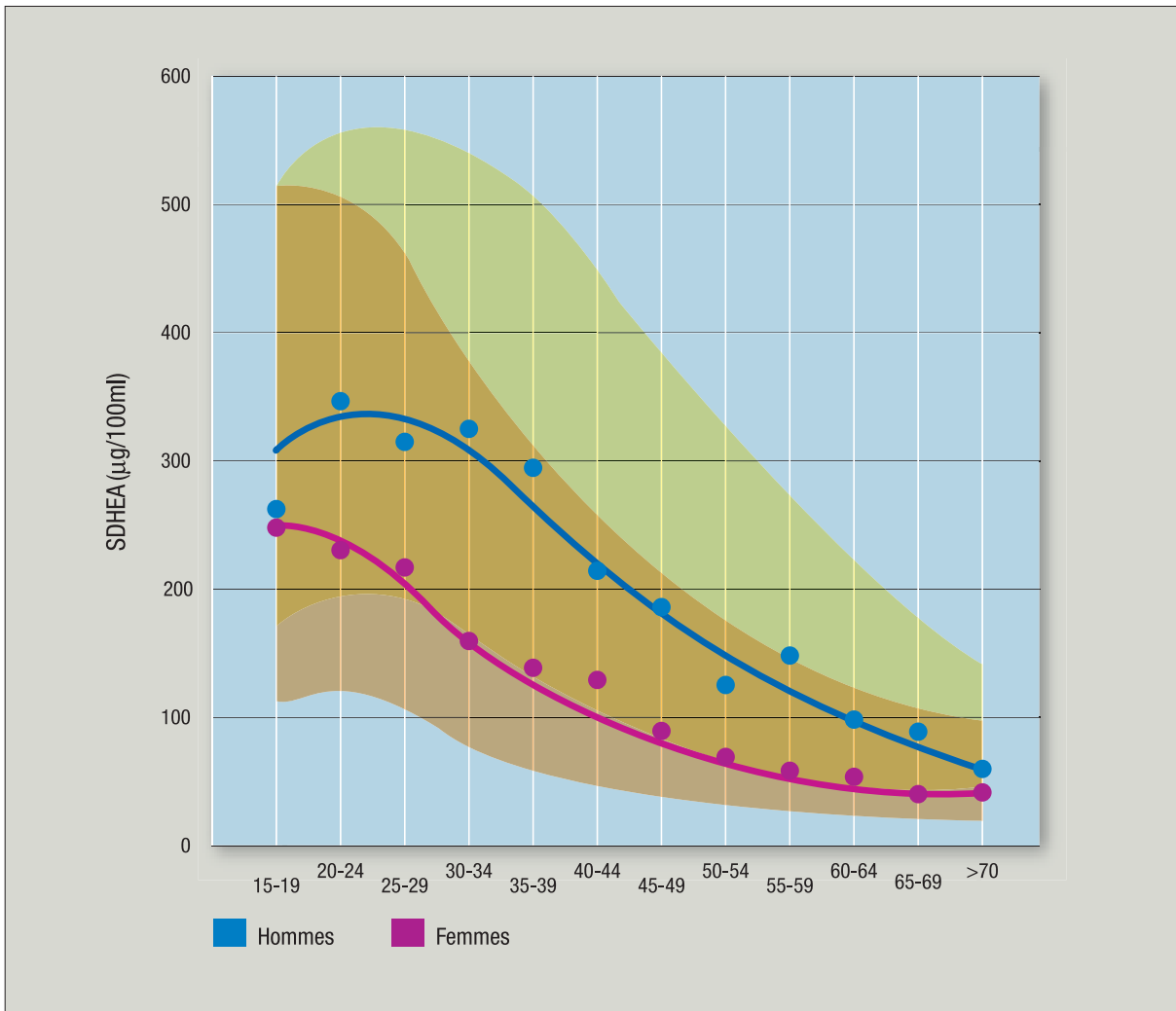
Pour le **SDHEA**, ce ratio augmente encore plus de 4.88 chez les sujets jeunes jusqu'à 10.65 chez les sujets âgés (*Giton et al, 2007*).

Le mode de vie peut influencer sur les taux de **DHEA** et de **SDHEA**. Ainsi les fumeurs présentent des taux de **SDHEA** plus élevés que les non fumeurs. L'activité physique régulière augmente significativement **DHEA** et **SDHEA** du sérum, comme nous l'avons rapporté en comparant des sujets âgés (60-70 ans) qui depuis plus de 10 ans menaient régulièrement une activité sportive d'endurance (vélo, marche, natation, jogging) régulière à des sédentaires (*Tissandier et al, 2001*). Des études épidémiologiques ont montré des relations inverses entre les taux de **SDHEA** sériques et plusieurs états morbides dont la fréquence augmente avec l'âge, tels que les cancers, les maladies cardiovasculaires, les dysfonctionnements neurologiques (*Barrett-Connor et al, 1986 ; Trivedi et al, 2001*).

Ainsi, la variabilité intersujet importante des taux sériques de **SDHEA** que l'on observe particulièrement chez le sujet âgé apparemment normal pourrait être mise sur le compte par exemple, de modes de vie, d'activité physique, d'habitude alimentaire variables (*Ravaglia et al, 1996*), voire d'états morbides variables.

## Variations en fonction du sexe

Les normales du **SDHEA** que nous rapportons chez l'homme ([tableau 2](#)), sont très similaires à celles publiées par *Orentreich et al, 1984*, cependant chez la femme normale les taux qui décroissent également avec l'âge, ne représentent plus que 50 à 70% des taux trouvés chez l'homme ([figure 16](#)) (*Orentreich et al, 1984; Laughlin et al, 2000*).



**Figure 16 : Variation de la SDHEA en fonction de l'âge, chez l'homme et chez la femme** (*Orentreich et al, 1984*)

## Stimulation de la DHEA et des autres androgènes et précurseurs par l'ACTH

La **DHEA** contrairement à sa forme conjuguée, le **SDHEA**, est très sensible à l'**ACTH**.

L'injection de Synacthène, par voie IV ou IM entraîne une augmentation de la **DHEA** et de pratiquement tous les stéroïdes surrénaliens (Vermeulen et al, 1982, Giordano et al, 2001, Parker et al, 2000). Cependant, parmi les stéroïdes surrénaliens, l'augmentation des  $\Delta 5$  stéroïdes (**DHEA** et ses précurseurs tels que la **prégnénolone** et la **17-hydroxyprégnénolone**) est moindre chez les sujets âgés que chez les sujets jeunes contrairement aux  $\Delta 4$  stéroïdes (tels que la **progestérone**, la **17-hydroxyprogestérone**, et la  **$\Delta 4$ -androstènedione**) qui présentent pratiquement la même augmentation après Synacthène chez les sujets âgés et chez les sujets jeunes). Cette augmentation de la **DHEA** est fonction de la dose de Synacthène injectée. A très faible dose de 0.06  $\mu\text{g}$  de Synacthène, on n'observe pas d'augmentation significative de la **DHEA** chez les sujets âgés.

## Stimulation de la DHEA par le CRH

La stimulation par le **CRH** provoque une augmentation moins marquée de la **DHEA** chez les femmes âgées que chez les femmes jeunes (Liu et al, 1990). De même chez l'homme âgé, on obtient une augmentation moindre de la **DHEA** après **CRH** que chez le sujet plus jeune (Fig 17) (Pavlov et al, 1986).

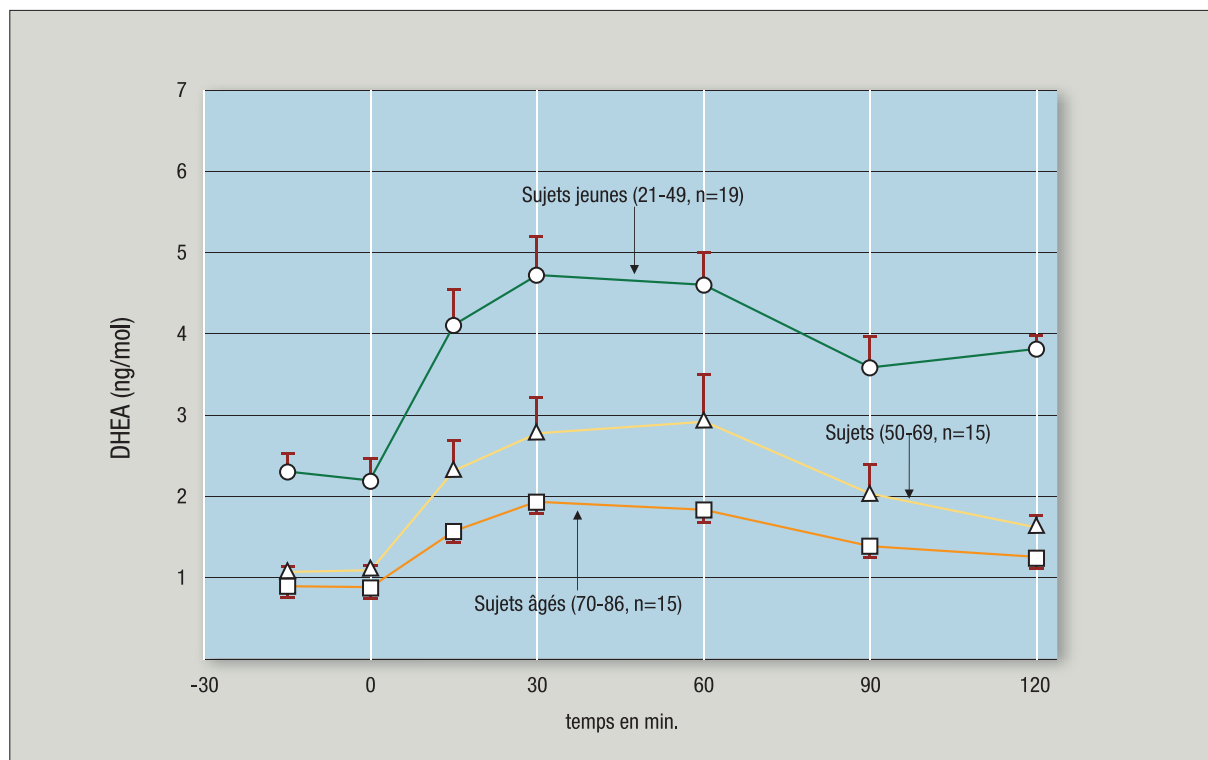


Figure 17 : Réponses de la DHEA du plasma à l'injection de CRH dans 3 groupes de sujets d'âge croissant (Pavlov et al, 1986)

## Précurseurs des androgènes et des corticoïdes au cours du vieillissement chez l'homme : Prégnénolone, Progestérone, 17-Hydroxyprégnénolone et 17-Hydroxyprogestérone

La **prégnénolone** et la **17-hydroxyprégnénolone** sont secrétées à la fois par les surrénales et les testicules, alors que la **17-hydroxyprogestérone** est synthétisée essentiellement par les testicules. Il est probable que la diminution des concentrations de la **17-hydroxyprogestérone** dans le plasma chez l'homme soit associée à celle de la testostérone au cours du vieillissement ; Dans une étude portant sur plus de 2000 hommes, considérés en bonne santé et âgés entre 40 et 80 ans, *Bélangier et al, 1994*, ont mis en évidence une diminution significative de la **17-hydroxyprogestérone** (13.5%), une diminution faible de la **prégnénolone** (7%) mais l'absence de diminution de la **progestérone** et de la **17-hydroxyprégnénolone**, selon les résultats rapportés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 3 : Variations de la prégnénolone (Prég) et de la 17-hydroxyprogestérone (17-OHProg) au cours du vieillissement chez l'homme.**

Conc en ng/ml	40 ans	50 ans	60 ans	70 ans	80 ans
Prég.	1.88 ± 0.07	1.74 ± 0.04	1.61 ± 0.02	1.49 ± 0.03	1.39 ± 0.05
17-OHProg.	2.69 ± 0.10	2.33 ± 0.05	2.01 ± 0.03	1.74 ± 0.04	1.51 ± 0.05

## Mécanisme de la forte diminution des taux de la DHEA et de SDHEA au cours du vieillissement

La forte décroissance des concentrations de **DHEA** par rapport à son précurseur immédiat, la **17-hydroxyprégnénolone**, est à mettre sur le compte d'une forte diminution de l'activité de la C17-C20 desmolase au cours du vieillissement, alors que l'activité de la 17-hydroxylase est peu modifiée (*fig 2*).

*Liu et al, 1990*, ont également rapporté chez la femme, une diminution importante de l'activité C17-C20 desmolase chez les femmes ménopausées en comparaison avec les femmes non ménopausées.

Une diminution de la 3 $\beta$ ol déshydrogénase chez le sujet âgé par rapport au sujet jeune est également probable.

Ces modifications métaboliques concernant les androgènes surrénaliens, sont à mettre en relation avec les modifications histomorphométriques des surrénales que l'on constate après autopsie. En effet on constate une diminution très significative de l'épaisseur de la zone réticulée chez les sujets âgés par rapport aux sujets jeunes. Par contre l'épaisseur de la zone fasciculée + la zone réticulée est sensiblement plus importante chez le sujet âgé. Le ratio de l'épaisseur de zone glomérulée + zone fasciculée / zone réticulée est de 1.81 en moyenne chez le sujet jeune et de 3.29 chez le sujet âgé (*Parker et al, 1997*). Egalement, de nombreux foyers microhémorragiques sont observés dans les surrénales des sujets âgés (*Ferrari & Mantero, 2005*), en relation avec la plus grande fréquence d'incidentalomes surrénaliens.

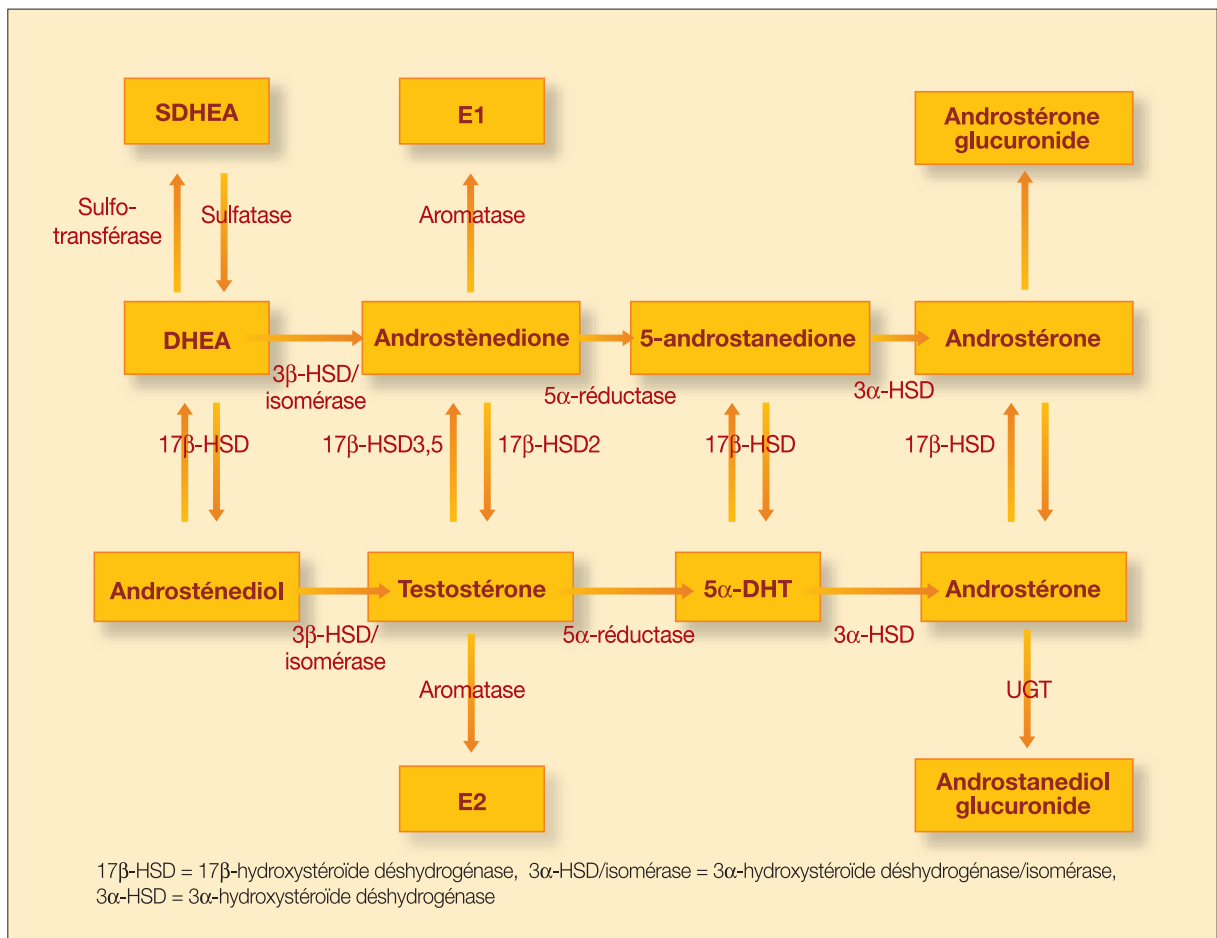
## Mécanismes d'action de la DHEA

*L'essentiel des effets de la DHEA résulte de sa conversion en stéroïdes sexuels, la testostérone et l'estradiol chez l'homme et chez la femme (Young et al, 1997).* La synthèse des androgènes et des estrogènes est réalisée à l'intérieur de pratiquement toutes les cellules des tissus périphériques (tissu adipeux, prostate, tissu mammaire, cerveau, foie, peau), qui possèdent l'équipement enzymatique nécessaire ( $3\beta$ -HSD,  $17\beta$ -HSD,  $5\alpha$ -réductase, aromatasé sulfatase, sulfotransférase, etc) (fig 18). Cette synthèse illustre le concept d' "intracrinologie" développé par Labrie, 2004, l'activation, l'action et le métabolisme des stéroïdes s'effectuent dans la même cellule des tissus périphériques.

*Les effets androgéniques* de la **DHEA**, s'extériorisent par : une augmentation de la libido (particulièrement chez la femme), un bien être physique et psychique, une augmentation de la masse musculaire, une augmentation de l'épaisseur cutanée.

*Les effets estrogéniques* de la **DHEA** se manifestent par une action bénéfique sur l'os, une augmentation de l'épithélium vaginal, une augmentation de la sensibilité à l'insuline.

*La DHEA en tant que neurostéroïde* : la **DHEA** influence l'activité nerveuse en interagissant avec les récepteurs des neurotransmetteurs dont le N-méthyl-D- aspartate (NMDA) récepteur, le récepteur de l'acide  $\gamma$ -aminobutyrique (Bergeron et al, 1996 ;Majewska et al, 1990 ; Demirgoren et al,1991).



**Figure 18 : La DHEA comme source de testostérone et d'estrogènes dans les tissus périphériques.**

*Action directe via un récepteur hypothétique lié à la membrane des cellules vasculaire.* La **DHEA** possède des sites de liaison de haute affinité dans les lymphocytes T humains (*Okabe et al, 1995*). Des sites de liaison de haute affinité ont été récemment localisés dans les cellules endothéliales bovines (*Liu & Dillon, 2002*). Il a été montré également que la **DHEA** activait la NO synthase des cellules endothéliales et qu'elle stimulait la kinase I (ERK-1) dans les cellules du tissu musculaire lisse des vaisseaux, suggérant une action directe sur un récepteur des cellules vasculaires (*Williams et al, 2002*).

## **Conclusions sur les variations opposées du cortisol et de la DHEA au cours du vieillissement**

Au cours du vieillissement normal, la diminution de la **DHEA** et du **SDHEA** est associée à une augmentation de la cortisolémie (surtout pendant la nuit), et le ratio de **DHEA/cortisol** diminue dans le plasma. Cette augmentation est retrouvée dans le liquide céphalo rachidien (*Guazzo et al, 1996*). La diminution de ce ratio est accentuée chez les patients atteints de démence sénile ou de dépression (*Ferrari et al, 2000 ; de Bruin et al, 2002*). Compte tenu des actions antiglucocorticoïdes de la **DHEA**, cette diminution de la **DHEA** associée à l'augmentation du **cortisol** accentue l'effet délétère du **cortisol** sur les fonctions cérébrales.

## **Conclusions concernant les variations opposées de la DHEA, du SDHEA et du cortisol au cours du vieillissement : traitement par le DHEA**

### **Association de la DHEA et du SDHEA avec diverses pathologies**

Plusieurs études épidémiologiques ont montré une corrélation inverse entre les taux de **SDHEA** et la survenue d'infarctus du myocarde (*Barrett-Connor et al, 1986*) chez l'homme au cours du vieillissement. Dans une cohorte de 622 sujets âgés de >65 ans, une mortalité dans un délai de 2 à 4 ans, a été associée à des taux de **SDHEA** situés dans le quartile inférieur (< au 25<sup>ème</sup> percentiles) des valeurs normales du **SDHEA** (*Berr et al, 1996*). Une étude plus récente sur plus de 2000 sujets, hommes et femmes, a montré un taux de mortalité significativement plus important chez les hommes (mais pas chez les femmes) ayant des concentrations de **SDHEA** situées dans le quartile inférieur des normales (*Trivedi et al, 2001*).

Le **SDHEA** apparaît comme un marqueur non spécifique de plusieurs pathologies. Citons de façon non exhaustive : le lupus érythémateux disséminé, et certains rhumatismes. Dans certaines maladies chroniques, tout se passe comme si la diminution de la synthèse de la **DHEA** (avec diminution du **SDHEA** du plasma) s'effectuait au bénéfice de la synthèse du **cortisol** (avec élévation de la cortisolémie). Des taux bas de **SDHEA** pourrait indiquer la présence de maladie non encore apparente. Également, nous avons mentionné l'association de taux abaissés de **DHEA** avec des dépressions majeures.

## Intérêt thérapeutique potentiel du traitement substitutif par la DHEA chez les personnes âgées ou avec une insuffisance surrénale

Nous avons vu que la **DHEA** et le **SDHEA** dans le plasma diminuaient au cours du vieillissement. Or le vieillissement est marqué, entre autre, par une diminution de la masse musculaire, une atrophie cutanée, une ostéoporose, une susceptibilité plus grande aux infections, une augmentation du nombre des cancers, autant de signes et pathologies qui pourraient en partie être androgéno ou estrogéno-dépendants.

Si la diminution de la **DHEA** avec l'âge est reliée aux symptômes du vieillissement, un traitement substitutif par la **DHEA** pourrait paraître logique.

- Cependant la *supplémentation en DHEA de sujets âgés normaux hommes et femmes* n'a donné que des résultats limités. La prescription de 50 mg/j dans une population de 140 hommes et 140 femmes (*étude DHEAge ; Beaulieu et al, 2000*), a provoqué une petite augmentation de la testostérone et de l'estradiol. Les modifications ont été notables essentiellement chez les femmes, avec une augmentation du turn over osseux chez les femmes de plus de 70 ans, une amélioration du statut cutané, avec une augmentation de l'épaisseur de l'épiderme, et un accroissement de la libido.
- Il est possible que les sujets de cette étude étaient "trop normaux". Un grand nombre d'études (plus de 3000 références) ont été effectuées avec des résultats mitigés, dans des pathologies et des situations cliniques très diverses (citons le lupus érythémateux disséminé, la maladie d'Alzheimer, diverses dépressions, des rhumatismes, l'ostéoporose, des problèmes cutanés, le syndrome métabolique, l'augmentation de la résistance à l'insuline).
- Moins contestable est l'intérêt de la supplémentation en **DHEA**, chez les patients, patientes en particulier en insuffisance surrénalienne ou antéhypophysaire.

*Dans l'insuffisance surrénalienne*, le remplacement des sécrétions surrénaliennes manquantes par seulement le **cortisol** et l'**aldostérone** n'est pas suffisant. L'ajout à ces médicaments, de doses orales de 25-50 mg de **DHEA** permet en restaurant les concentrations physiologiques de **DHEA**, et de **testostérone**, d'améliorer le bien être, de diminuer la fatigue, et augmente la force musculaire (*Arlt et al, 1999 ; Hunt et al, 2000*).



# Bibliographie

---

al'Absi M, Wittmers LE . Enhanced adrenocortical responses to stress in hypertension-prone men and women. *Ann Behav Med.* 2003 Winter;25:25-33.

Arlt W, Callies F, van Vlijmen JC, Koehler I, Reincke M, Bidlingmaier M, Huebler D, Oettel M, Ernst M, Schulte HM, Allolio B. Dehydroepiandrosterone replacement in women with adrenal insufficiency. *N Engl J Med.* 1999, 341:1013-1020.

Barrett-Connor E, Khaw KT, Yen SSC. A prospective study of dehydroepiandrosterone sulfate, mortality, and cardiovascular disease. *N Eng J Med,* 1986, 315:1519-1524.

Barton RN, Horan MA, Weijers JW, Sakkee A N, Roberts NA, Van Bezooijen CF. Cortisol production rate and the urinary excretion of 17-hydroxycorticosteroids, free cortisol, and 6 beta-hydroxycortisol in healthy elderly men and women. *J Gerontol,* 1993, 48:M213-218.

Baulieu EE, Thomas G, Legrain S, Lahlou N, Roger M, Debuire B, Faucounau V, Girard L, Hervy MP, Latour F, Leaud MC, Mokrane A, Pitti-Ferrandi H, Trivalle C, de Lacharrière O, Nouveau S, Rakoto-Arison B, Souberbielle JC, Raison J, Le Bouc Y, Raynaud A, Girerd X, Forette F. Dehydroepiandrosterone (DHEA), DHEA sulfate, and aging : contribution of the DHEAge study to a sociobiomedical issue. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2000, 97:4279-4284.

Bélanger A, Candas B, Dupont A, Cusan L, Diamond P, Gomez JL et al Changes in serum concentration of conjugated and unconjugated steroids in 40- to 80-year-old men. *J Clin Endocrinol Metab,* 1994, 79:1086-1090.

Belanoff JK, Rothschild AJ, Cassidy F, DeBattista C, Beaulieu EE, Schold C, Schatzberg AF. An open label trial of C-1073 (mifepristone) for psychotic major depression . *Biol Psychiatry,* 2002, 52: 386-392.

Bergeron R, de Montigny C, Debonnel G. Potentiation of neuronal NMDA response induced by dehydroepiandrosterone and its suppression by progesterone : effects mediated by sigma receptor. *Journal of Neuroscience,* 1996, 16:1193-1202.

Berr C, Lafont S, Debuire B, Dartigues JF, Baulieu EE. Relationships of dehydroepiandrosterone sulfate in the elderly with functional, psychological, and mental status, and short-term mortality: a French community-based study. *Proc Natl Acad Sci U S A,* 1996, 93:13410-13415.

Blichert-Toft M Secretion of corticotrophin and somatotrophin by the senescent adenohypophysis in man. *Acta Endocrinol,* 1975, (Suppl 195) (Copenh) 78:81

Boscaro M, Paoletta A, Scarpa E, Barzon L, Fusaro P, Fallo F, Sonino N. Age-related changes in glucocorticoid fast feedback inhibition of adrenocorticotropin in man. *J Clin Endocrinol Metab ,* 1998, 83:1380-1383.

Buffington CK, Givens JR, Kitabchi AE. Enhanced adrenocortical activity as a contributing factor to diabetes in hyperandrogenic women. *Metabolism,* 1994, 43: 584-590.

Carvalhoes-Neto N, Ramos LR, Vieira JG, Kater CE. Urinary free cortisol is similar in older and younger women. *Exp Aging Res,* 2002, 28:163-168.

Coryell W, Schlessler M. The dexamethasone suppression test and suicide prediction. *Am J Psychiatry,* 2001, 158: 748-753.

Davis KL, Davis BM, Mathe AA, Mohs RC, Rothpearl AB, Levy MI, Gorman NK, Berger P. Age and the dexamethasone suppression test in depression. *Am J Psychiatry,* 1984, 141:872-874.

De Bruin VM, Vieira MC, Rocha MN, Viane GS. Cortisol and dehydroepiandrosterone sulfate plasma levels and their relationship to aging, cognitive function, and dementia. *Brain Cogn,* 2002, 50(2):316-323.

De Kloet ER, Vreugdenhil E, Oitzl MS, Joels M. Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocr Rev,* 1998, 19: 269-301.

De Leon MJ, McRae T, Rusinek H, Convit A, De Santi S, Tarshish C, Golomb J, Volkow N, Daisley K, Orentreich N, McEwen B. Cortisol reduces hippocampal glucose metabolism in normal elderly, but not in Alzheimer's disease. *J Clin Endocrinol Metab,* 1997, 82: 3251-3259.

Dean S, Felton SP. Circadian rhythm in the elderly : a study using a cortisol-specific radio-immunoassay. *Age Ageing,* 1979, 8:243-245.

- Demingoren S, Majewska MD, Spivak CE, London ED. Receptor binding and electrophysiological effect of dehydroepiandrosterone sulfate, an antagonist of the GABAA receptor. *Neuroscience*, 1991, 45:127-135.
- Elmlinger MW, Dengler T, Weinstock C, Kuehnel W. Endocrine alterations in the aging male. *Clin Chem Lab Med*, 2003, 41:934-941.
- Ferrari E, Arcaini A, Gornati R, Pelanconi L, Cravello L, Fioravanti M, Solerte SB, Magri F. Pineal and pituitary-adrenocortical function in physiological aging and in senile dementia. *Exp Gerontol*, 2000, 35: 1239-1250.
- Ferrari E, Mirani M, Barili L, Falvo F, Solerte SB, Cravello L, Pini L, Magri F. Cognitive and affective disorders in the elderly : a neuroendocrine study. *Arch Gerontol Geriatr Suppl*, 2004, (9): 171-182.
- Ferrari M, Mantero F. Male aging and hormones: the adrenal cortex. *J Endocrinol Invest*. 2005;28(11 Suppl Proceedings):92-95. Review
- Fiet J, Gourmel B, Villette JM, Brerault JL, Julien R, Cathelineau G, Dreux C. Simultaneous radioimmunoassay of androstenedione, dehydroepiandrosterone and 11-beta-hydroxyandrostenedione in plasma. *Horm Res*, 1980, 13:133-149.
- Fiet J. Mises au point de dosages radioimmunologiques de stéroïdes plasmatiques. Application à l'étude de l'hyperplasie congénitale des surrénales et de l'hirsutisme. Thèse de Doctorat es Sciences Pharmaceutiques Université René Descartes. ParisV. 1979.
- Friedman M, Green MF, Sharland DE. Assessment of hypothalamic-pituitary-adrenal function in the geriatric age group. *J Gerontol*, 1969, 24:292-297.
- Georgotas A, McCue RE, Kim OM, Hapworth WE, Reisberg B, Stoll PM, Sinalko E, Fanelli C, Stokes PE. Dexamethasone suppression in dementia, depression, and normal aging. *Am J Psychiatry*, 1986, 143:452-456.
- Giordano R, Di Vito L, Lanfranco F, Broglio F, Benso A, Gianotti L, Grottoli S, Ghigo E, Arvat E. Elderly subjects show severe impairment of dehydroepiandrosterone sulphate and reduced sensitivity of cortisol and aldosterone response to the stimulatory effect of ACTH (1-24). *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2001, 55: 259-265.
- Giton F, de la Taille A, Allory Y, Galons H, Vacherot F, Soyeux P, Abbou CC, Loric S, Cussenot O, Raynaud JP, Fiet J. Estrone sulfate (E(1)S), a prognosis marker for tumor aggressiveness in prostate cancer (PCa). *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2008, 109:158-167.
- Giton F, Urien S, Born C, Tichet J, Guéchet J, Callebret J, Bronsard F, Raynaud JP, Fiet J. Determination of bioavailable testosterone (non-SHBG-binding testosterone) in a population of healthy french men. Influence of androstenediol on testosterone binding to SHBG. *Clin Chem*, 2007, 53:2160-2168.
- Gold PW, Chrousos GP. Organization of the stress system and its dysregulation in melancholic and atypical depression: high vs low CRH/NE states. *Mol Psychiatry*. 2002, 7: 254-275.
- Grant MM, Friedman ES, Haskett RF, Riso LP, Thase ME. Urinary free cortisol levels among depressed men and women: differential relationships to age and symptom severity? *Arch Womens Ment Health*, 2007, 10:73-78.
- Greenwald BS, Mathe AA, Mohs RC, Levy MI, Johns CA, Davis KL. Cortisol and Alzheimer's disease. II. Dexamethasone suppression, dementia severity, and affective symptoms. *Am J Psychiatry*, 1986, 143:442-446.
- Guazzo EP, Kirkpatrick PJ, Goodyer IM, Shiers HM, Herbert J. Cortisol, dehydroepiandrosterone (DHEA) and DHEA sulfate in the cerebrospinal fluid of man: relation to blood levels and the effects of age. *J Clin Endocrinol Metab*, 1996, 81:3951-3961.
- Guéchet J, Fiet J, Passa Ph, Villette JM, Gourmel B, Tabuteau F, Cathelineau G, Dreux C. Physiological and pathological variations in saliva cortisol. *Horm Res*, 1982, 16: 357-364.
- Guignard MM, Piesques PC, Serrurier BD, Merino DB, Reinberg AE. Circadian rhythms in plasma levels of cortisol, dehydroepiandrosterone, 4-androstenedione, testosterone and dihydrotestosterone of healthy young men. *Acta Endocrinol* 1980, 94:539-545.
- Herman JP, Figueiredo H, Mueller NK, Ulrich-Lai Y, Ostrander MM, Choi DC, Cullinan WE. Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. *Front Neuroendocrinol*, 2003, 24:151-180.
- Heuser IJ, Gotthardt U, Schweiger U, Schmider J, Lammers CH, Dettling M, Hoosboer F. Age-associated changes of pituitary-adrenocortical hormone regulation in humans: importance of gender. *Neurobiol Aging*. 1994, 15: 227-231.

- Huizenga NA, Koper JW, De Lange P, Pols HA, Stolk RP, Grobbee DE, De Jong FH, Lamberts SW. Interperson variability but intraperson stability of baseline plasma cortisol concentrations, and its relation to feedback sensitivity of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis to a low dose of dexamethasone in elderly individuals. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998, 83: 47-54.
- Hunt PJ, Gurnell EM, Huppert FA, et al. Improvement in mood and fatigue after dehydroepiandrosterone replacement in Addison's disease in a randomized double blind trial. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000, 85:4650-4656.
- Kalmijn S, Launer LJ, Stolk RP, de Jong FH, Pols HAP, Hofman A, Breteler MMB, Lamberts SWJ. A prospective study on cortisol, dehydroepiandrosterone sulfate, and cognitive function in the elderly. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998, 83: 3487-3492.
- Labrie F, Bélanger A, Bélanger P, Bérubé R, Martel C, Cusan L, Gomez J, Candas B, Castiel I, Chaussade V, Deloche C, Leclaire J. 2006 Androgen glucuronide instead of testosterone, as the new markers of androgenic activity in women *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2006, 99:182-188.
- Labrie F, Belanger A, Cusan L, Gomez JL, Candas B. Marked decline in serum concentrations of adrenal C19 sex steroid precursors and conjugated androgens metabolites during aging. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997, 82: 2396-2402
- Labrie F. Adrenal androgens and intracrinology. *Semin Reprod Med.*, 2004, 22:299-309. Review
- Laudat MH, Cerdas S, Fournier C, Guiban D, Guilhaume B, Luton JP. Salivary cortisol measurement : a practical approach to assess pituitary-adrenal function. *J Clin Endocrinol Metab*, 1988, 66:343-348.
- Laughlin GA, Barrett-Connor E. Sexual dimorphism in the influence of advanced aging on adrenal hormone levels: the Rancho-Bernardo study. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000, 85: 3561-3568.
- Lee BK, Glass TA, McAtee MJ, Wand GS, Bandeen-Roche K, Bolla KI, Schwartz BS. Associations of salivary cortisol with cognitive function in the Baltimore memory study. *Arch Gen Psychiatry*, 2007, 64: 810-818.
- Li G, Cherrier MM, Tsuang DW, Petrie EC, Colasurdo EA, Craft S, Schellenberg GD, Peskind ER, Raskind MA, Wilkinson CW. Salivary cortisol and memory function in human aging. *Neurobiol Aging*, 2006, 27: 1705-1714.
- Liu CH, Laughlin GA, Fisher UG, Yen SS 1990 Marked attenuation of ultradian et circadian rhythms of dehydroepiandrosterone in postmenopausal women: evidence for a reduced 17-20-desmolase enzymatic activity *J Clin Endocrinol Metab* ,1990, 71:990-996.
- Liu D, Dillon JS. Dehydroepiandrosterone activates endothelial cell nitric-oxide synthase by a specific plasma membrane receptor coupled to Galpha (i2,3). *J of Biol Chem*, 2002, 277:21379-21388.
- Majewska MD, Demirgoren S, Spivak CE, London ED. The neurosteroid dehydroepiandrosterone sulfate is an allosteric antagonist of the GABAA receptor. *Brain Research* ,1990, 526:143-146.
- Mc Ewen BS. Sex, stress and the hippocampus: allostasis, allostatic load and the aging process. *Neurobiol Aging*, 2002, 23: 921-939.
- Montanini V, Simoni M, Chiossi G, Baraghini GF, Velardo A, Baraldi E, Marrama P Age-related changes in plasma dehydroepiandrosterone sulphate, cortisol, testosterone and free testosterone circadian rhythms in adult men. *Horm Res*, 1988, 29: 1-6.
- Morineau G, Gosling J, Patricot MC, Soliman H, Boudou P, Al Halnak A, Le Brun G, Bréault JL, Julien R, Villette JM, Fiet J. Convenient chromatographic prepurification step before measurement of urinary cortisol by radioimmunoassay. 1997, 43:786-793.
- Murphy BE. Lack of specificity of urinary free cortisol determinations: why does it continue? *J Clin Endocrinol Metab*.1999, 83:2258-2259.
- Okabe T, Haji M, Takayanagi Rn et al. Up-regulation of high-affinity dehydroepiandrosterone binding activity by dehydroepiandrosterone in activated human T lymphocytes. *J Clin Endocrinol Metab*, 1995, 80:2993-2996.
- Orentreich N, Brind JL, Rizer RL, Vogelmann JH. Age changes and sex differences in serum dehydroepiandrosterone sulfate concentrations throughout adulthood *J Clin Endocrinol Meta*, 1984, 59:551-555.
- Orth DN, Island DP, Liddle GW. Experimental alteration of the circadian rhythm in plasma cortisol (17-OHCS) concentration in man. *J Clin Endocrinol Metab*, 1967, 27:549-555.
- Otte C, Hart S, Neylan TC, Marmar CR, Yaffe K, Mohr DC. A meta-analysis of cortisol response to challenge in human aging: importance of gender. *Psychoneuroendocrinology*, 2005, 30:80-91.

- Oxenkrug GF, Pomara N, McIntyre IM, Branconnier RJ, Stanley M, Gershon S 1983 Aging and Cortisol resistance to suppression by Dexamethasone: a positive correlation *Psychiatry Res*, 1983, 10:125-130.
- Papanicolaou DA, Yanovski JA, Cutler GB, Chrousos GP, Nieman LK. A single midnight serum cortisol measurement distinguishes Cushing's syndrome from pseudo-Cushing states. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998, 83: 1163-1167.
- Parker CR Jr, Slayden SM, Azziz R, Crabbe SL, Hines GA, Boots LR, Bae S. Effects of aging on adrenal function in the human: responsiveness and sensitivity of adrenal androgens and cortisol to adrenocorticotropin in premenopausal and postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000, 85:48-54.
- Parker CR, Mixon RI, Brissie RM, Grizzle WE Aging alters zonation in the adrenal cortex of men. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997, 82:3898-3901.
- Pascualy M, Petrie EC, Brodtkin K, Peskind ER, Wilkinson CW, Raskind MA. Hypothalamic-pituitary-adrenocortical and sympathetic nervous system responses to the cold pressor test in Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry*, 2000, 48:247-254.
- Pavlov EP, Harman SM, Chrousos GP, Loriaux DL, Blackman MR Responses of plasma corticotrophin, cortisol, dehydroepiandrosterone to ovine corticotrophin-releasing hormone in healthy aging men. *J Clin Endocrinol Metab*, 1986, 62:767-772.
- Penninx BW, Beekman AT, Bandinelli S, Corsi AM, Bremmer M, Hoogendijk WJ, Guralnik JM, Ferrucci L. Late-life depressive symptoms are associated with both hyperactivity and hypoactivity of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Am J Geriatr Psychiatry*, 2007, 15:522-529.
- Pomara N, Doraiswamy PM, Tun H, Ferris S. Mifepristone (RU 486) for Alzheimer's disease. *Neurology*, 2002, 58:1436.
- Purnell JQ, Brandon DD, Isabelle LM, Loriaux DL, Samuels MH 2004 Association of 24-hour cortisol production rates, cortisol-binding globulin, and plasma-free cortisol levels with body composition, leptin levels, and aging in adult men and women. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89: 281-287.
- Ravaglia G, Forti P, Maioli F, Boschi F, Bernardi M, Pratelli L, Pizzoferrato A, Gasbarrini G. The relationship of dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) to endocrine-metabolic parameters and functional status in the oldest-old. Results from an Italian study on healthy free-living over-ninety-year-olds. *J Clin Endocrinol Metab*, 1996, 81:1173-1178.
- Reynolds, RM, Syddall HE, Walker BR, Wood PJ, Phillips DI. Predicting cardiovascular risk factors from plasma cortisol measured during oral glucose tolerance tests. *Metabolism*, 2003, 52: 524-527.
- Salposky RM, Krey LC, McEwen BS 1986 The neuroendocrinology of stress and aging: the glucocorticoid cascade hypothesis. *Endocr Rev*, 1986, 7:284-301.
- Sapolsky RM, Romero LM, Munck AU. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrin Rev*, 2000, 21: 55-89.
- Seeman TE, McEwen BS, Singer BH, Albert MS, Rowe JW. Increase in urinary cortisol excretion and memory declines: Mac-Arthur studies of successful aging. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997, 82:2458-2465.
- Swanwick GR, Coen RF, Walsh JB, Coakley D, Lawlor BA. The predictive value of hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysfunction in Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry*, 1996, 39: 976-978.
- Tabarin A. La Maladie de Cushing. *Endocrinologie et Métabolisme*. Ipsen/Biotech. Ed John Libbey. 2000, 1-209.
- Tissandier O, Pires G, Fiet J, Piette F Testosterone, dehydroepiandrosterone, insulin-like growth factor 1, and insulin in sedentary and physically trained aged men. *Eur J Appl Physiol*, 2001, 85:177-184.
- Traustadóttir T, Bosch PR, Cantu T, Matt KS. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis response and recovery from high-intensity exercise in women : effects of aging and fitness. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89:3248-3254.
- Traustadóttir T, Bosch PR, Matt KS. The HPA axis response to stress in women: effects of aging and fitness. *Psychoneuroendocrinology*, 2005, 30:392-402.
- Trivedi DP, Khaw KT. Dehydroepiandrosterone sulfate and mortality in elderly men and women. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, 86:4171-4177.
- Van Cauter E, Leproult R, Kupfer DJ. Effects of gender and age on the levels and circadian rhythmicity of plasma cortisol. *J Clin Endocrinol Metab*, 1996, 81:2468-2473.
- Vermeulen A, Deslypere JP, Schelfhout W, Verdonck L, Rubens R 1982 Adrenocortical function in old age: response to adrenocorticotropin stimulation. 1982, 54: 187-191.

- Vermeulen A, Kaufman JM, Giagulli VA. Influence of some biological indexes on sex hormone binding globulin and androgen levels in aging or obese males. *J Clin Endocrinol Metab*, 1996, 81: 1821-1826.
- Wedekind D, Preiss B, Cohrs S, Ruether E, Huether G, Adler L. Relationships between nocturnal urinary cortisol excretion and symptom severity in subgroups of patients with depressive episodes. *Neuropsychobiology*, 2007, 56:119-122.
- Weitzman ED, Fukushima D, Nogeire C, Roffwarg H, Gallagher TF, Hellman L. Twenty-four hour pattern of the episodic secretion of cortisol in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab*, 1971, 33:14-22.
- Wilkinson CW, Peskind ER, Raskind MA. Decreased hypothalamic-pituitary-adrenal axis sensitivity to cortisol feedback inhibition in human aging. *Neuroendocrinology*, 1997, 65: 79-90.
- Wilkinson CW, Petrie EC, Murray SR, Colasurdo EA, Baskind MA, Peskind ER. Human glucocorticoid feedback inhibition is reduced in older individuals: evening study. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, 86:545-550.
- William MR, Ling S, Dawood T, et al. Dehydroepiandrosterone inhibits human vascular smooth muscle cell proliferation independent of ARs and ERs. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87:176-181.
- Wolf OT, Convit A, de Leon MJ, Caraos C, Qadri SF. Basal hypothalamo-pituitary-adrenal axis activity and corticotropin feedback in young and older men : relationships to magnetic resonance imaging-derived hippocampus and cingulate gyrus volumes. *Neuroendocrinology*, 2002, 75: 241-249.
- Yaneva M, Mosnier-Pudar H, Dugué MA, Grabar S, Fulla Y, Bertagna X. Midnight salivary cortisol for the initial diagnosis of Cushing's syndrome of various causes. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89: 3345-3351.
- Young J, Couzinet B, Nahoul K, Brailly S, Chanson P, Baulieu EE, Schaison G. Panhypopituitarism as a model to study the metabolism of dehydroepiandrosterone (DHEA) in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997, 82:2578-2585..
- Zobel AW, Nickel T, Sonntag A, Uhr M, Holsboer F, Ising M. Cortisol response in the combine dexamethasone/CRH test as predictor of relapse in patients with remitted depression. A prospective study. *J Psychiatr Res*, 2001,35: 83-94.

# **Androgènes chez la femme et vieillissement**

*J. Fiet*

CHAPITRE III

# Au cours du vieillissement, y a-t-il des modifications des androgènes circulants chez la femme ?

---

Y a-t-il des modifications de la concentrations des androgènes circulants chez la femme au cours du vieillissement. Quels sont les androgènes concernés ? Quelle est l'ampleur de ces modifications. Des récepteurs des androgènes ont été décrits dans de nombreux territoires de l'organisme chez la femme (peau, os, structures cérébrales) comme chez l'homme. On connaît l'action des concentrations excessives des androgènes sur la peau responsables d'hyperandrogénie, d'hirsutisme, d'action sur les centres hypothalamo hypophysaires et leur retentissement ovariens (ovaires polykystiques par exemple). Y a-t-il des manifestations cliniques accompagnant le manque d'androgènes ? Si oui, il est très important de connaître les valeurs normales chez la femme pendant la période d'activité sexuelle puis pendant la ménopause.

Le terme "androgène" englobe des androgènes véritables tels que la **testostérone** et la **dihydrotestostérone** (DHT) actifs sur leurs récepteurs, les précurseurs des androgènes tels que la **déhydroépiandrostérone** (DHEA) et le **sulfate de déhydroépiandrostérone** (SDHEA), la  **$\Delta$ 4-androstènedione** (A), ainsi que les métabolites des androgènes parmi lesquels l'**androstaniol**, l'**androstérone** et leur dérivés glucuroconjugués sont les principaux représentants.

L'origine des androgènes chez la femme est triple, ovarienne, surrénalienne, périphérique, mais l'importance relative des organes producteurs varie selon l'androgène, et la période de la vie.

L'action des androgènes chez la femme passe en partie par leur transformation en estrogènes. Au cours du vieillissement, les concentrations des androgènes vont subir des variations liées au vieillissement des organes formateurs. Dans le chapitre "vieillesse des hormones surrénaliennes", une diminution très significative de la **DHEA** et de son **sulfate** dans le plasma chez la femme est décrite mais nous y apporterons quelques additifs. Cependant peu de travaux concernent les autres androgènes, tels que la **testostérone** la  **$\Delta$ 4-androstènedione**, et les **glucuronides** au cours du vieillissement.

Les concentrations des androgènes chez la femme, au cours du vieillissement (en fait à partir de 20 ans) seront examinées, avec un esprit critique, car ces concentrations dépendent beaucoup des méthodes de dosage mis en œuvre pour leur détermination.

# Synthèse des androgènes chez la femme

La synthèse des androgènes emprunte les mêmes voies métaboliques, dans les ovaires ou les surrénales. Le cholestérol est transformé en **prégnénolone** après plusieurs étapes de scission de sa chaîne latérale. La **prégnénolone** est transformée en **progestérone**. Ces 2 stéroïdes sont hydroxylés par une 17-hydroxylase en respectivement **17-hydroxyprégnénolone** et **17-hydroxyprogestérone**, lesquels par scission de leur chaîne latérale en C17 donnent la **DHEA**, et la  **$\Delta^4$ -androstènedione**. L'action d'une 17 $\beta$ -hydroxy stéroïde déshydrogénase, transforme la **DHEA** en  **$\Delta^5$ -androstènediol** et la  **$\Delta^4$  androstènedione** en **testostérone**. Les  $\Delta^5$  stéroïdes, **17-hydroxyprégnénolone**, **DHEA**, et  **$\Delta^5$  androstènediol** sont transformés en  $\Delta^4$ -stéroïdes, la **17-hydroxy progestérone**, la  **$\Delta^4$  androstènedione**, la **testostérone**. Dans les ovaires, la synthèse des androgènes (précurseurs des estrogènes) se fait sous le contrôle de la **LH**, dans les cellules des thèques et le stroma. Ces androgènes seront ensuite aromatisés dans la granulosa, en **estrone** et **estradiol**, grâce à une aromatase dont l'activité est stimulée par la **FSH** (fig 1). Dans les corticosurrénales, cette synthèse des androgènes dépend de la stimulation par l'**ACTH**. dans la zone réticulée. (voir le schéma de synthèse fig 2).

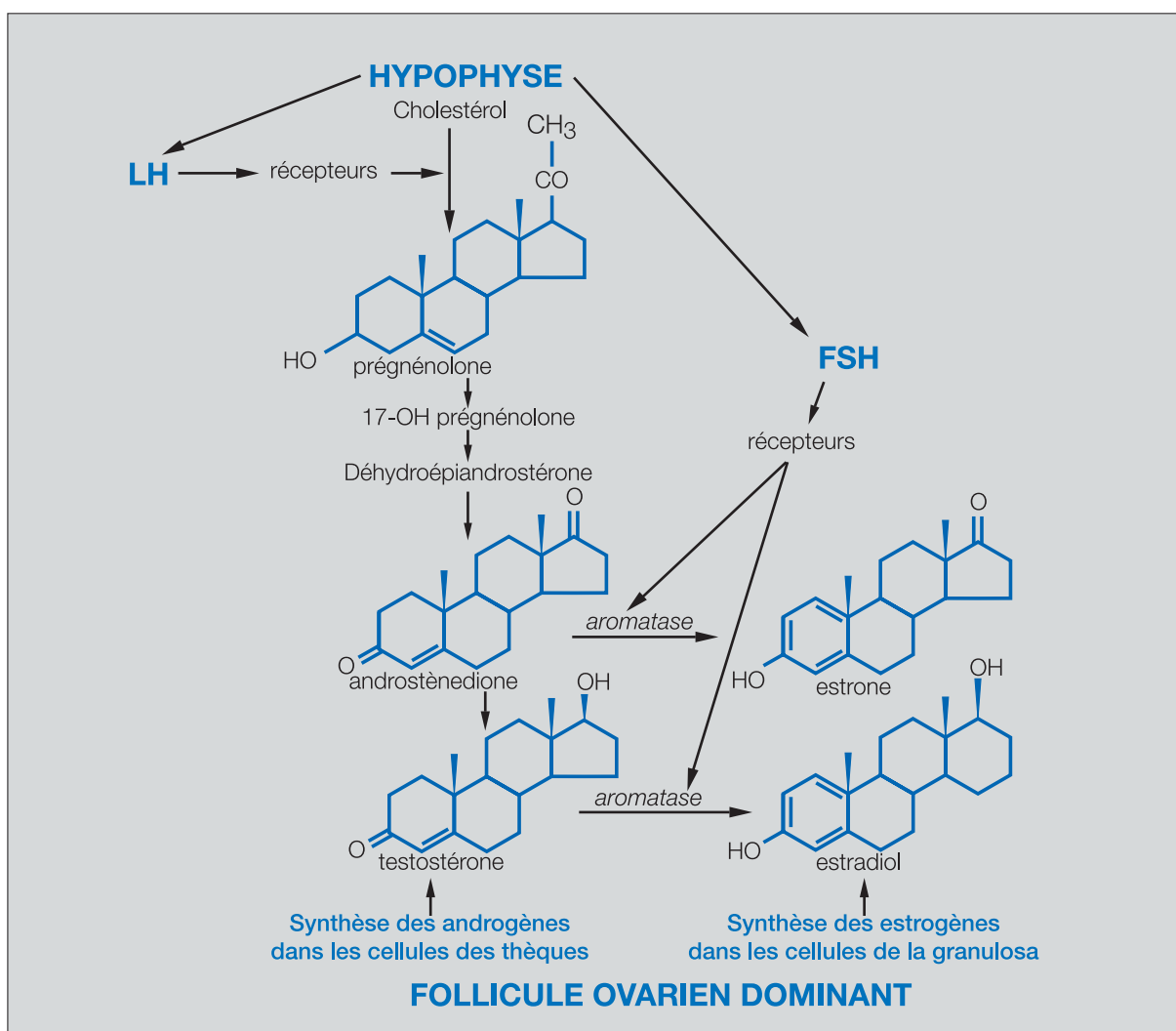
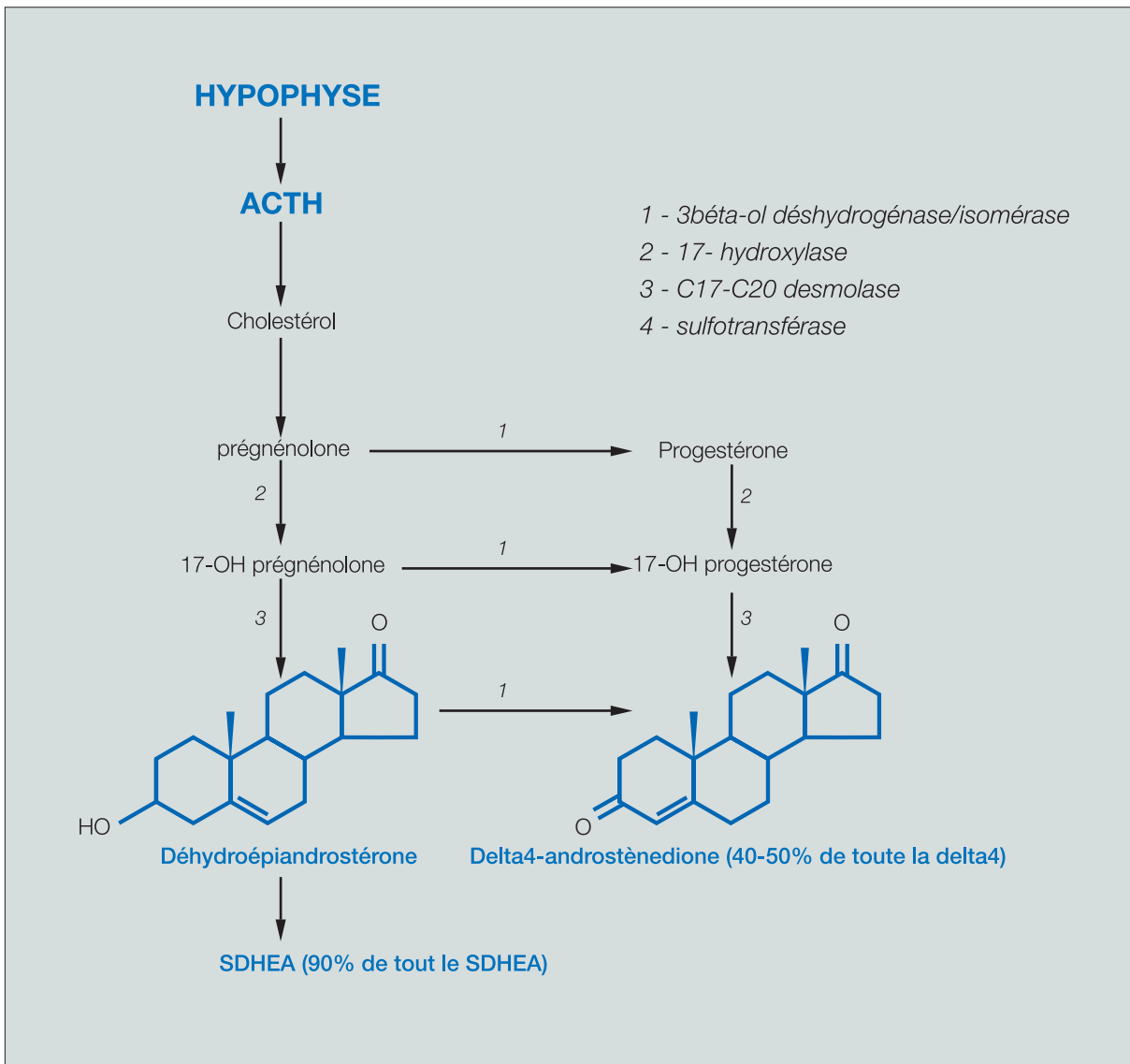


Figure 1 : Synthèse des androgènes dans les ovaires.





**Figure 2 : Synthèse des androgènes surrénaliens dans la zone réticulée.**

Dans les tissus cibles périphériques, les androgènes présents dans le sang et provenant des organes formateurs, pénètrent dans les cellules, dans lesquelles ils vont subir un métabolisme particulier conduisant entre autre à la formation de **dihydrotestostérone** ou DHT, qui agit sur les récepteurs des androgènes. Ces androgènes vont être ensuite inactivés en glucuronides et sulfates hydrosolubles (fig 3) dans les tissus périphériques.

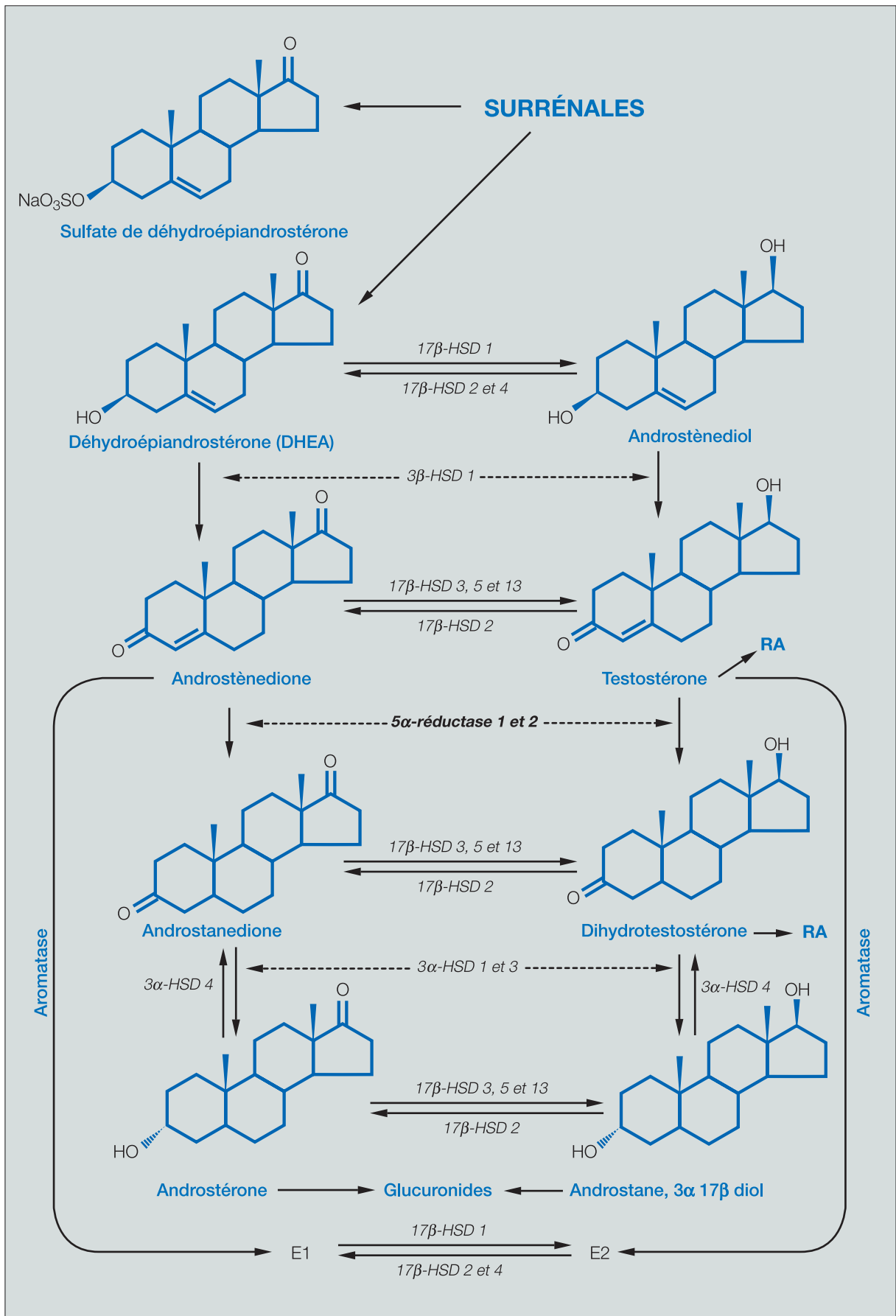


Figure 3 : Métabolisme périphérique des androgènes

# Testostérone

---

## PRINCIPES DU DOSAGE DE LA TESTOSTERONE DU PLASMA CHEZ LA FEMME

Le dosage de la **testostérone** totale est réalisé par immunocompétition, mettant en œuvre un antiserum antitestostérone, un traceur constitué par de la **testostérone tritiée** ou de la **testostérone** marquée par l'iode 125, (radioimmunologie) ou de la **testostérone** marquée par un radical susceptible d'être détecté par immunofluorescence, ou par chimioluminescence, ou de la **testostérone** marquée par une enzyme (méthodes non isotopiques).

L'une des difficultés du dosage de la **testostérone** dans le plasma chez la femme est due à la présence d'autres stéroïdes structurellement proches de la **testostérone** (comme la **dihydrotestostérone** ou **DHT**), de concentration chez la femme voisine de la **testostérone** et qui interfèrent même avec les meilleurs anticorps antitestostérone. Ce fait était déjà connu dès les années 1970, et les publications initiales du dosage ont mis en œuvre une étape de purification avec extraction et chromatographie avant le radioimmunos dosage proprement dit de la **testostérone** (*Abraham et al, 1972*). Cette technique a été pérennisée jusqu'à maintenant dans les laboratoires spécialisés dans le domaine des stéroïdes (*Fiet et al, 1994, 2004, Guéchet, 2000*), car elle permet d'obtenir des résultats très spécifiques, pratiquement comparables à ceux de la GCMS (chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse), (*Fiet et al, 2004*). Cependant, cette technique isotopique qui exige une certaine expertise dans la préparation des colonnes de chromatographie non commerciales est considérée comme trop longue par la plupart des laboratoires.

Actuellement, la plupart des dosages de la **testostérone** en France tout au moins, sont effectués sur autoanalyseurs, par des méthodes non isotopiques, directement sur le sérum ou le plasma, sans purification préalable. Ces techniques souffrent d'un manque de spécificité, due au manque de spécificité des anticorps, et à l'effet "matrice".

Cet état de fait reconnu depuis longtemps, a cependant été réactualisé par un groupe de biologistes français. Ces auteurs ont comparé des résultats de dosage effectués, par GCMS (la méthode de référence) à des résultats obtenus sur plusieurs automates d'immunoanalyse (*Taïeb et al, 2003*), et quelques méthodes RIA "directes" n'impliquant pas dans leur procédure, une étape de purification par chromatographie avant l'immunodosage proprement dit. Le coefficient de corrélation entre chacune des méthodes étudiées et la GCMS n'est pas très bon ([tableau1](#)). L'étendue des valeurs normales chez la femme, proposée par chacune de ces méthodes est très large ([tableau 2](#)). Ces méthodes dites "directes" manquent de spécificité et donc d'exactitude, en particulier pour les taux faibles de **testostérone** du plasma chez la femme. Un jugement sévère a été rapporté récemment concernant les méthodes "directes", affirmant que en dessous de concentrations inférieures à 1.50 ng/ml, les résultats obtenues ne sont "ni analytiquement, ni cliniquement" utiles (*Boots et al, 1998, Stanczyk et al, 2003, Rosner et al, 2007*) ; cette opinion s'applique aux dosages de la **testostérone** chez la femme.

**Tableau 1. Dosages de la testostérone chez la femme.** Les résultats obtenus (moyenne sur 57 échantillons) par des méthodes «directes» sont significativement plus élevés que ceux de la méthode de référence (GCMS) (cc : coefficient de corrélation). (Taieb et al, 2003)

GCMS :	0.63 ng/ml
ARCHITECT ABOBT :	1ng/ml et cc= 0.80
ACS180 BAYER DIAGNOSTICS :	1.23 ng/ml et 0.84
IMMUNO 1 BAYER DIAGNOSTICS :	0.80 ng/ml et 0.68
VIDAS BIO-MERIEUX :	0.63 ng/ml et 0.75
IMMULITE 2000 :	1.58 ng/ml et 0.57
VITROS ECI ORTHO:	0.63 ng/ml et 0.76
AUTODELFIA PERKIN ELMER :	1.46 ng/ml et 0.78
ELECSYS 2010 ROCHE :	0.46 ng/ml et 0.72
RIA IMMUNOTECH BECKMAN	0.78 ng/ml et 0.78
RIA COUNT-A-COUNT DPC	0.80 ng/ml et 0.80

Extrait de «Testosterone measured by 10 immunoassays and by isotope-dilution gas chromatography-mass spectrometry in sera from 116 men,women, and children. Clinical Chemistry 49, 1381-1395, 2003.

**Tableau 2. Etendues variables des valeurs normales de la testostérone chez la femme, selon l'analyseur ou la méthode (en ng/ml et en nmoles/l.).** (Taieb et al, 2003)

ARCHITECT ABOBT	0.15-0.70 (0.52-2.43)
ACS 180 BAYER DIAGNOSTICS	0.14-0.80 (0.50-2.6)
IMMUNO 1 BAYER DIAGNOSTICS	0.08-0.83 (0.28-2.88)
VIDAS BIO-MERIEUX	0.10-0.90 (0.35-3.12)
IMMULITE 2000	0.49-1.20 (1.70-4.16)
VITROS ECI ORTHO	0.06-0.83 (0.19-2.67)
AUTODELFIA PERKIN ELMER	ND-1.05 (ND-3.7)
ELECSYS 2010 ROCHE	0.06-0.84 (0.22-2.9)
RIA IMMUNOTECH BECKMAN	0.07-0.65 (0.24-2.25)
RIA COUNT-A-COUNT DPC	0.04-0.79 (0.14-2.77)
<b>RIA ou TR-FIA, extraction +chromato sur célite</b>	<b>0.10-0.60 (0.34-2.08)</b>

Extrait de : Testosterone measured by 10 immunoassays and by isotope-dilution gas chromatography-mass spectrometry in sera from 116 men,women, and children. Clinical Chemistry 49, 1381-1395, 2003.

Il est rapporté que les méthodes impliquant une extraction, suivie d'une séparation chromatographique avant la phase terminale de spectrométrie de masse (GCMS) sont les méthodes qui permettent d'approcher au mieux les résultats exacts (Rosner et al, 2007).

Cependant, au cours de plusieurs études épidémiologiques portant sur plusieurs milliers de femmes, les laboratoires ont pratiqué le dosage de la **testostérone** par une technique RIA "directe" (Davison et al, 2005) ou sur des automates d'immunoanalyse, par exemple l'ACS 180. Dans ce cas les résultats généralement plus élevés que ceux obtenus avec une technique de référence mais corrélés avec celle-ci, ont été considérés informatifs par les auteurs. Pour un laboratoire, il est évidemment important de n'utiliser que le même automate tout le long de l'étude, et dans le cadre de l'exploration clinique au cas par cas de bien déterminer ses valeurs normales, ce qui est en pratique très difficile.

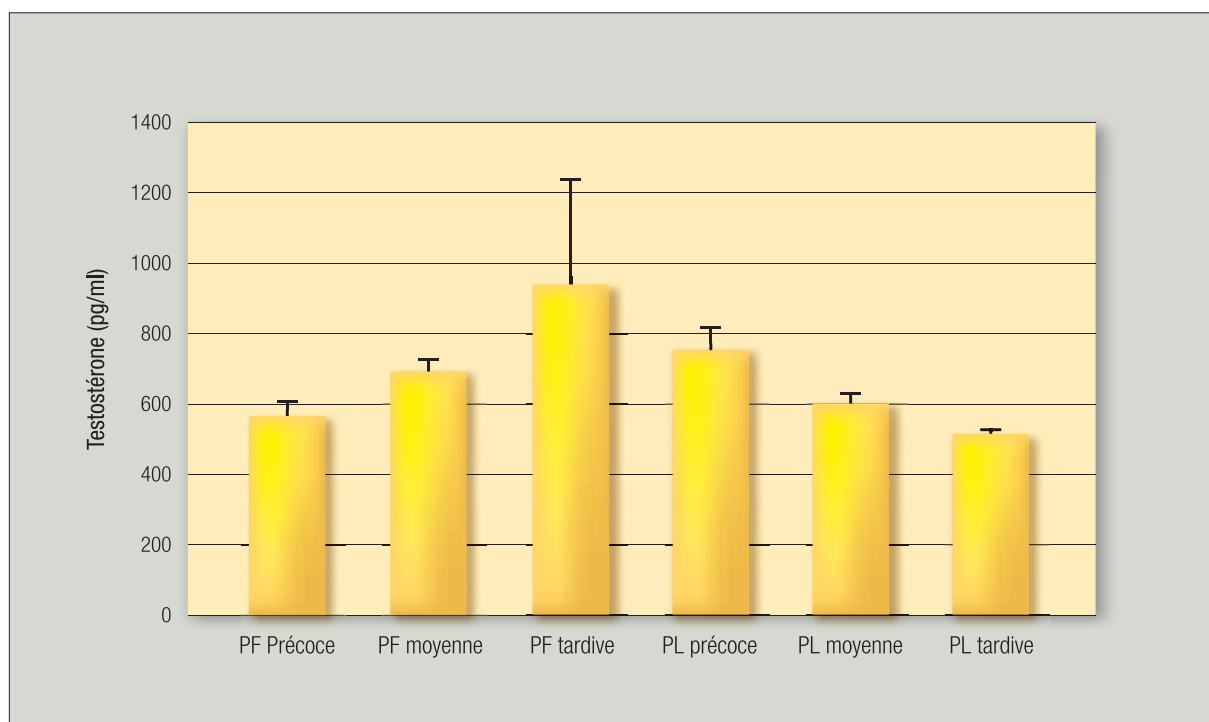
## VARIATIONS DE LA TESTOSTERONE AU COURS DU CYCLE MENSTRUEL

A partir de la puberté, et avant la ménopause, la **testostérone** est formée pour 25% par les ovaires, 25% par les corticosurrénales, et pour 50% dans les tissus périphériques.

Les androgènes ovariens synthétisés dans le stroma et également dans les cellules des thèques des follicules en croissance, et en particulier par le follicule dominant, sont les substrats à partir desquels vont être formés les estrogènes par aromatisation sous l'action d'une aromatase elle-même stimulée par la FSH.

Les concentrations des androgènes en particulier la **testostérone**, mais également la  **$\Delta$ 4-androstènedione**, vont augmenter dans les derniers jours de la phase folliculaire, pour culminer au moment de l'ovulation, puis décroître progressivement pendant la phase lutéale.

Les concentrations moyennes de la **testostérone** 0.30 à 0.35 ng/ml pendant la première moitié de la phase folliculaire et la deuxième moitié de la phase lutéale, augmentent de 20% au moment de l'ovulation. (Judd et al, 1976). Des concentrations de 0.44 ng/ml ont été rapportées par Sinha-Hikim et al, 1998, 3 jours avant le pic de LH. Cette augmentation a été retrouvée plus récemment mais à des niveaux plus élevés par la mise en œuvre de technique RIA "directe" (Massafra et al, 1999) moins spécifique. Ainsi les concentrations de **testostérone** selon l'auteur culminent à 0.90 ng/ml au moment de l'ovulation (fig 4).



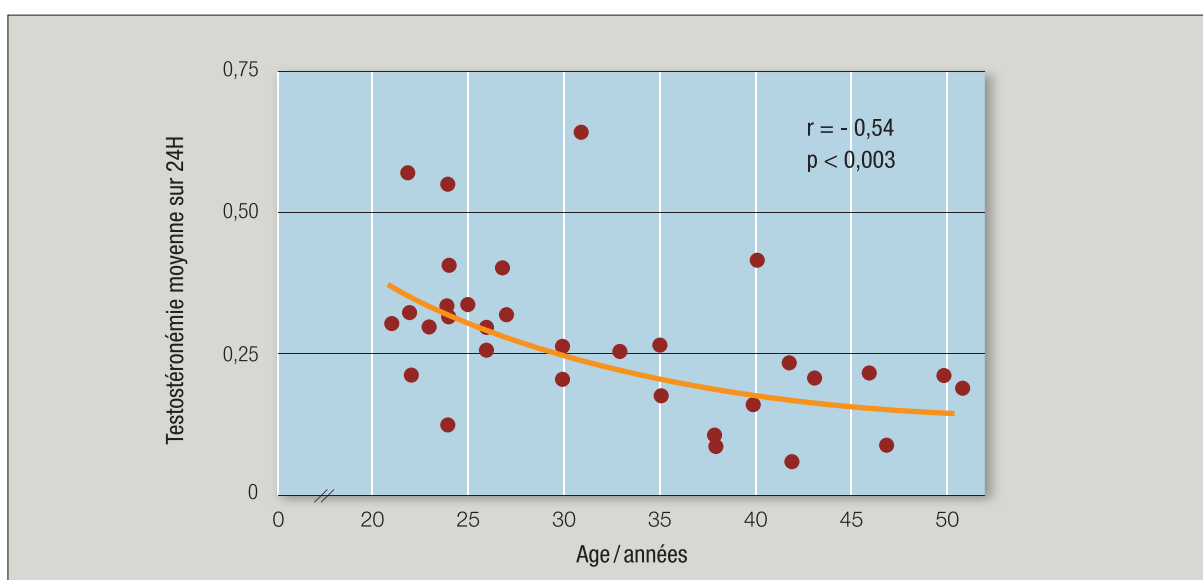
**Figure 4 : Testostéronémies au cours du cycle menstruel (RIA "directe").**  
PF = phase folliculaire ; PL = phase lutéale. (Massafra et al, 1999)

## VARIATIONS DE LA TESTOSTERONE DU PLASMA AU COURS DU VIEILLISSEMENT

### Avant la ménopause

**Avant la ménopause :** la **testostéronémie** diminue au cours des années comme l'ont particulièrement bien montré *Zumoff et al, 1995 (fig 5)* et *Guay et al, 2004*, sur des prélèvements effectués dans les 8 premiers jours de la phase folliculaire du cycle (**Tableau 3**).

Cette diminution au cours du vieillissement, a été également décrite par des dosages de **testostérone** (et de  **$\Delta 4$ -androstènedione**) dans la période périovulatoire (*Mushayandebvu et al, 1996, Massafra et al, 1999*).



**Figure 5 :** Variations de la testostéronémie moyenne de 24 H (RIA avec chromatographie) chez 33 femmes non ménopausées. (*Zumoff et al, 1999*)

**Tableau 3 :** Concentrations de la testostérone plasmatique avant la ménopause.

Références	Âges	Nb de sujets	Techniques	Résultats.(moy) ng/ml
Labrie et al, 2006	30-35	47	GCMS	0.18 ± 0.05
Vermeulen et al, 1976	18-25	15 cycles	RIA avec extraction	0.44
Fiet et al, 1994	26-35	20	RIA avec extraction et chromatographie	0.28 ± 0.14
Zumoff et al, 1995	21-51	33 femmes prélevées toutes les 20 minutes pdt 24 h	RIA et chromato sur Célite	0.37 à 21 ans 0.18 à 40 ans <b>Il s'agit de concentrations moyennes au cours des 24h</b>
Guay et al, 2004	20-39 30-39 40-49	17 23 30	RIA "directe"	0.51 0.48 0.32

Une dispersion notable des concentrations est à mettre en relation avec la nature des techniques mises en œuvre, la GCMS conduisant aux valeurs les moins élevées.

La **testostérone** a été particulièrement étudiée pendant la phase de transition précédant l'état de ménopause, ainsi que pendant les mois et quelques années qui suivent la dernière menstruation.

## **Pendant la période de transition**

Alors que, au cours de la dernière année précédant la dernière menstruation, on observe une diminution nette de l'**estradiol**, accompagnée d'une augmentation des gonadotrophines **FSH** et **LH**, les changements concernant les concentrations des androgènes sont plus complexes. Nous rapportons les résultats de plusieurs auteurs.

- *Burger et al, 2000* ne trouvent pas de variations de la **testostéronémie** au cours d'une étude longitudinale portant sur 172 femmes âgées de 45 à 55 ans. Les femmes non ménopausées d'âge moyen 51 ans avaient une **testostéronémie** moyenne de 0.40 ng/ml (5<sup>ème</sup> P : 0.17 ng/ml et 95<sup>ème</sup> P : 0.69 ng/ml) (dosages effectués avec l'ACS 180).

- *Longcope et al, 1986*, également n'a pas trouvé de variations de la **testostérone** au cours des 80 premiers mois qui suivent la dernière menstruation. Cependant, Les auteurs reconnaissent que la **testostérone** totale (RIA avec extraction) chez la femme ménopausée est significativement inférieure (0.18 ng/ml) à la **testostérone** mesurée en début de phase folliculaire chez la femme jeune (0.29 ng/ml).

- *Bancroft & Cawood, 1996*, rapportent une diminution graduelle de la **testostérone** au cours de la période de transition entre l'état de préménopause, périménopause, et ménopause établie, avec des taux respectivement de 0.28 ng/ml, 0.25ng/ml, et 0.20 ng/ml.

- *Lasley et al, 2002*, ont déterminé la **testostérone** (technique ACS180), l'**estradiol** et le **Sulfate de DHEA** (SDHEA) chez 3300 femmes âgées entre 42 et 54 ans, au cours d'une étude longitudinale. Les femmes encore réglées ont été prélevées dans les 5 premiers jours du cycle. La diminution de la **testostérone** a été trouvée significativement corrélée à la diminution bien connue du **SDHEA**. On peut alors se poser la question de l'origine ovarienne ou surrénalienne de la **testostérone** au cours de la ménopause ?

- *Ranevik et al, 1995*, également au cours d'une étude longitudinale, chez 160 femmes ont dosé tous les ans la **testostérone** totale (technique RIA avec extraction), pendant les 30 mois qui ont précédé et les 96 mois qui ont suivi la dernière menstruation. La **testostéronémie** au cours des mois de préménopause (0.45ng/ml) diminue jusqu'à des concentrations moyennes de 0.35 ng/ml. Les concentrations mesurées en pré ou en ménopause sont relativement stables.

## **Au cours de la ménopause établie**

L'ovariectomie bilatérale chez la femme jeune entraîne une diminution de 50 % de la testostéronémie, et de 20 % chez la femme ménopausée (*Judd, 1976, Laughlin et al, 2000*).

La **testostéronémie** chez la femme ménopausée à distance de la phase de transition est significativement abaissée quelles que soient les méthodes de dosages mises en œuvre ([tableau 4](#)).

**Tableau 4 : Comparaison des concentrations moyennes de la testostéronémie avant et pendant la ménopause.**

Références	Âges	Nb de sujets	Techniques	Résultats (moy) ng/ml
Labrie et al, 2006	30-35 55-65	47 477	GCMS	0.18 ± 0.05 0.14 ± 0.07
Vermeulen et al, 1976	18-25 51-65	15 cycles	RIA avec extraction	0.44 0.29
Lukanova et al, 2004	44.7 57.6	177 443	RIA avec extraction	0.27 0.18

Egalement, *Adly et al, 2006* rapportent des concentrations moyennes de 0.20 ng/ml (age de 60 à 67 ans, et technique RIA avec chromatographie), et *Lee et al, 2008* (age moyen 70.8 ans, et technique RIA "directe") des concentrations moyennes de 0.27 ng/ml.

**Il semble donc probable que la testostéronémie chez la femme diminue au cours du vieillissement.**

Cependant certains auteurs (*Labrie et al, 1997, Laughlin et al, 2000*), rapportent une absence de diminution de la **testostéronémie** chez les femmes ménopausées, ou une réaugmentation de la **testostéronémie** (*Chakravarti et al, 1976*) à partir de plusieurs années après la baisse transitoire de la **testostéronémie** dans les 5 premières années qui suivent l'installation de la ménopause.

Une étude récente portant sur 595 sujets d'âge compris entre 18 et 75 ans (*Davison et al, 2005*), technique RIA "directe" validée selon les auteurs contre une technique RIA avec chromatographie), montre une diminution de la **testostérone** tout le long de la vie. (**tableau 5**), cependant cette diminution a lieu essentiellement avant la ménopause.

**Tableau 5 : Évolution des concentrations moyennes de la testostérone au cours de la vie.**

Age (années)	18-24	25-34	35-44	45-54	55-64	65-75
Nombre de sujets	22	97	153	140	74	109
Moyennes (ng/ml)	0.45	0.32	0.27	0.21	0.19	0.20

Compte tenu de notre expérience (avec la technique RIA avec extraction et chromatographie sur Célite, développée surtout **dans l'optique clinique de diagnostic d'une hyperandrogénie**, (*Fiet et al, 1994*), ainsi que des résultats rapportés dans la littérature (*Chu et Lobo, 2004*).

**La testostéronémie moyenne au cours du cycle menstruel est de 0.30 ng/ml en début de cycle dans les 5 premiers jours de la phase folliculaire, avec un prélèvement entre 8 et 10 H. Les concentrations limites inférieures et supérieures sont respectivement de 0.20ng/ml et de 0.60 ng/ml.**

**Au moment de la ménopause établie, la testostéronémie moyenne est de l'ordre de 0.20 ng/ml.**

**Lea patientes ayant eu une ovariectomie ont des concentrations inférieures à 0.10 ng/ml.**

Les patientes traitées par les estrogènes ont des concentrations de **testostérone** totale plus élevées, par suite de l'augmentation de la **SHBG**. Dans cette situation, la **testostérone biodisponible** et la fraction libre sont diminuées et ce sont ces dosages qui préférentiellement devront alors être effectués pour mieux rendre compte des fractions réellement actives de la **testostérone**.



## Quelle est l'origine de la testostéronémie à la ménopause ?

Compte tenu de la diminution des concentrations du **sulfate de déhydroépiandrostérone** au cours du vieillissement et de sa corrélation avec la **testostéronémie** (Lasley et al, 2002) d'une part, et d'autre part de la persistance d'un cycle nyctéméral de la **testostérone**, de la  **$\Delta$ 4-androstènedione**, (Vermeulen et al, 1976) (fig 6) chez la femme ménopausée, il est vraisemblable que la **testostérone** circulante et la  **$\Delta$ 4-androstènedione** aient une origine, en partie surrénalienne. Qu'en est-il de son origine ovarienne, voire périphérique ?

## A partir de la ménopause, les ovaires produisent-ils encore des androgènes ?

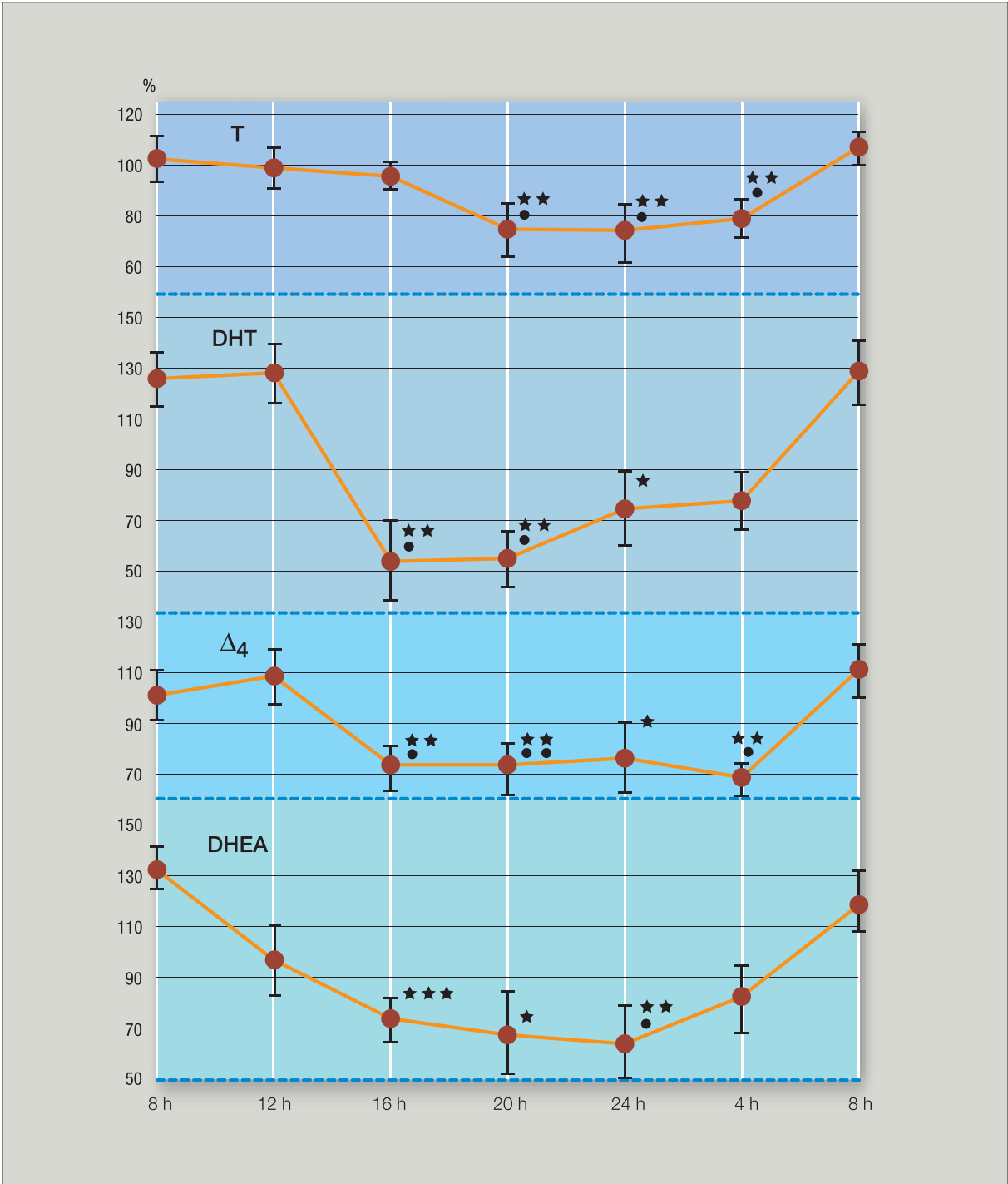
Les avis divergent. Couzinet et al, 2001, en s'adressant à des femmes ménopausées en insuffisance surrénalienne complète ont montré que les concentrations de **testostérone** et de  **$\Delta$ 4-androstènedione** étaient très faibles. Chez ces patientes ayant subi une ovariectomie, la recherche par immunocytochimie sur le tissu ovarien des enzymes du métabolisme des stéroïdes (enzyme de clivage de la chaîne du cholestérol,  $3\beta$ -hydroxystéroïde déshydrogénase, P450-17hydroxylase) a été négative, de même que la recherche des récepteurs des gonadotrophines **FSH** et **LH**.

Cependant, il a été rapporté que les glucocorticoïdes donnés à ces patientes en insuffisance surrénalienne inhibaient la production des stéroïdes ovariens, invalidant en partie le modèle.

De nombreux auteurs ont montré qu'une sécrétion d'androgènes persistait à la ménopause. Ainsi Vermeulen, 1976, Laughin GA et al, 2000, Davison et al, 2005, Fogle et al, 2007, ont montré que l'ovariectomie bilatérale chez la femme ménopausée diminuait la  **$\Delta$ 4-androstènedione**, et les différentes formes de **testostérone** (totale, biodisponible et libre). Après dosage dans les veines surrénaliennes chez la femme ménopausée, un gradient de **testostérone**, de  **$\Delta$ 4-androstènedione** a été mis en évidence par rapport au sang périphérique (Sluijmer et al, 1995, et Fogle et al, 2007). La stimulation par l'**hCG** entraîne chez la femme ménopausée une augmentation de la **testostérone** (Vermeulen, 1976), ce qui serait le témoin de la persistance d'une sécrétion d'androgènes. Enfin des méthodes très sensibles de RT-PCR ont mis en évidence dans le tissu ovarien l'expression de plusieurs enzymes du métabolisme des stéroïdes (enzyme de clivage de la chaîne latérale du cholestérol, de la  $3\beta$ -hydroxystéroïde déshydrogénase, de la 17-hydroxylase), bien que cette expression soit diminuée par rapport à l'ovaire prélevé avant la ménopause.

Par conséquent, il y a de nombreux arguments pour affirmer que :

**une production d'androgènes d'origine ovarienne (par les cellules interstitielles du stroma) persiste à la ménopause**, bien que cette production soit diminuée.



**Figure 6 : Variations nycthémerales de la testostérone (T), de la DHT, de la  $\Delta_4$ -andros-tènedione ( $\Delta_4$ ), de la DHEA, chez la femme ménopausée. (Vermeulen, 1976)**

## Origine périphérique des androgènes chez la femme : relation avec l'indice de masse corporelle (IMC)

Au cours du vieillissement, chez la femme ménopausée, la prise de poids avec une augmentation de l'IMC (poids en Kg/taille en m<sup>2</sup>) due à l'augmentation de la graisse sous cutanée abdominale et de la graisse intra abdominale, au détriment de la masse maigre, conduit à une augmentation significative de la production d'androgènes. Une corrélation positive est en effet rapportée entre l'IMC et les concentrations de **testostérone totale**, de **testostérone libre** et de  **$\Delta 4$ -androstènedione** (Lukanova et al, 2004) (fig 7). Il a été montré que le tissu adipeux par l'action des différents enzymes du métabolisme des stéroïdes qu'il contient, l'aromatase, la 17 $\beta$ -hydroxystéroïde déshydrogénase type 5, entre autres, synthétise, des **estrogènes**, et de la **testostérone** à partir de la  **$\Delta 4$ -androstènedione**. En outre, l'excès de tissu adipeux entraîne par l'intermédiaire d'un accroissement de production d'insuline et d'IGF1, une diminution de la SHBG d'où une augmentation des formes actives de la **testostérone non liées à la SHBG**, la **testostérone libre** et la **testostérone biodisponible** (Metabolic consequences of overweight, underweight and physical activity/inactivity. In Weight Control and Physical Activity, edn 1, ch4, pp 53-82, Eds H Vainio & F Bianchini. Lyon. France: IARC Press, 2002).

Cette augmentation de la concentration des androgènes dans l'obésité sera à prendre en compte dans l'interprétation des dosages des androgènes.

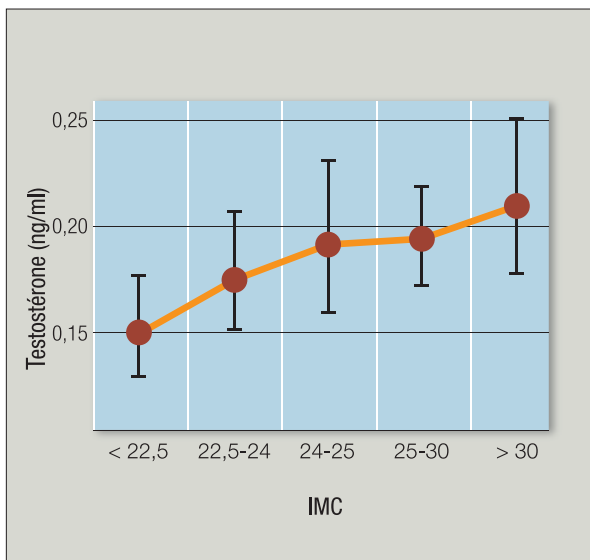


Figure 7 : Augmentation de la testostérone en fonction de l'IMC chez la femme ménopausée. (Lukanova et al, 2004)

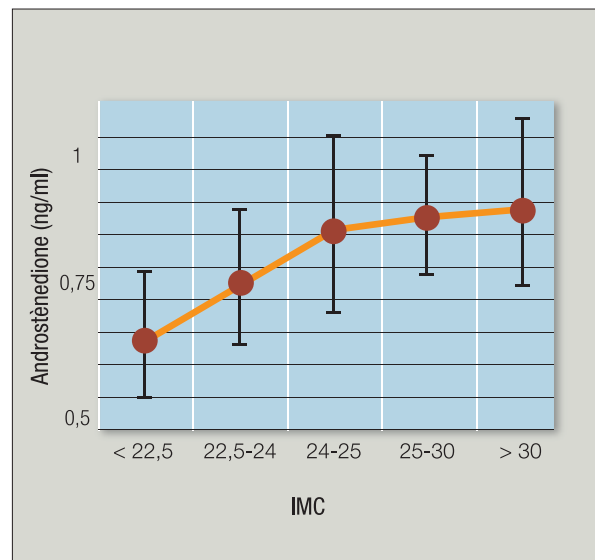


Figure 8 : Augmentation de la  $\Delta 4$ -androstènedione en fonction de l'IMC, chez la femme ménopausée. (Lukanova et al, 2004)

# Sex Hormone Globulin ou SHBG, et fractions actives de la testostérone

## SHBG ET CONCEPT DES FORMES ACTIVES DE LA TESTOSTERONE

La **SHBG**, glycoprotéine homodimérique (fig 9) du plasma synthétisée essentiellement par le tissu hépatique, fixe avec une forte affinité la **testostérone** (constante d'association :  $0.5$  à  $2 \times 10^9$  L/mol), et la rend inactive pour les tissus selon la théorie de Pardridge (Pardridge, 1988), puisque le temps de 1/2 dissociation est  $>20$  sec, ce qui est supérieur au temps de transit du sang dans les capillaires.

Environ 66% de la testostérone totale dosée dans le plasma, est fixée sur cette globuline. Le reste de la **testostérone**, dans le plasma est transportée par l'albumine, et seulement environ 1% de la **testostérone** n'est pas fixé sur des protéines, c'est la **testostérone libre**.

La liaison de la **testostérone** à l'albumine est faible, et la constante de dissociation est de l'ordre de  $1$  à  $4 \times 10^4$  L/mol. Il en résulte que la **testostérone liée à l'albumine** peut facilement s'en détacher (temps de dissociation  $<1$  sec, inférieur au temps de transit dans les capillaires) et se retrouver libre et passer facilement à l'intérieur des cellules, comme le fait la **testostérone libre**

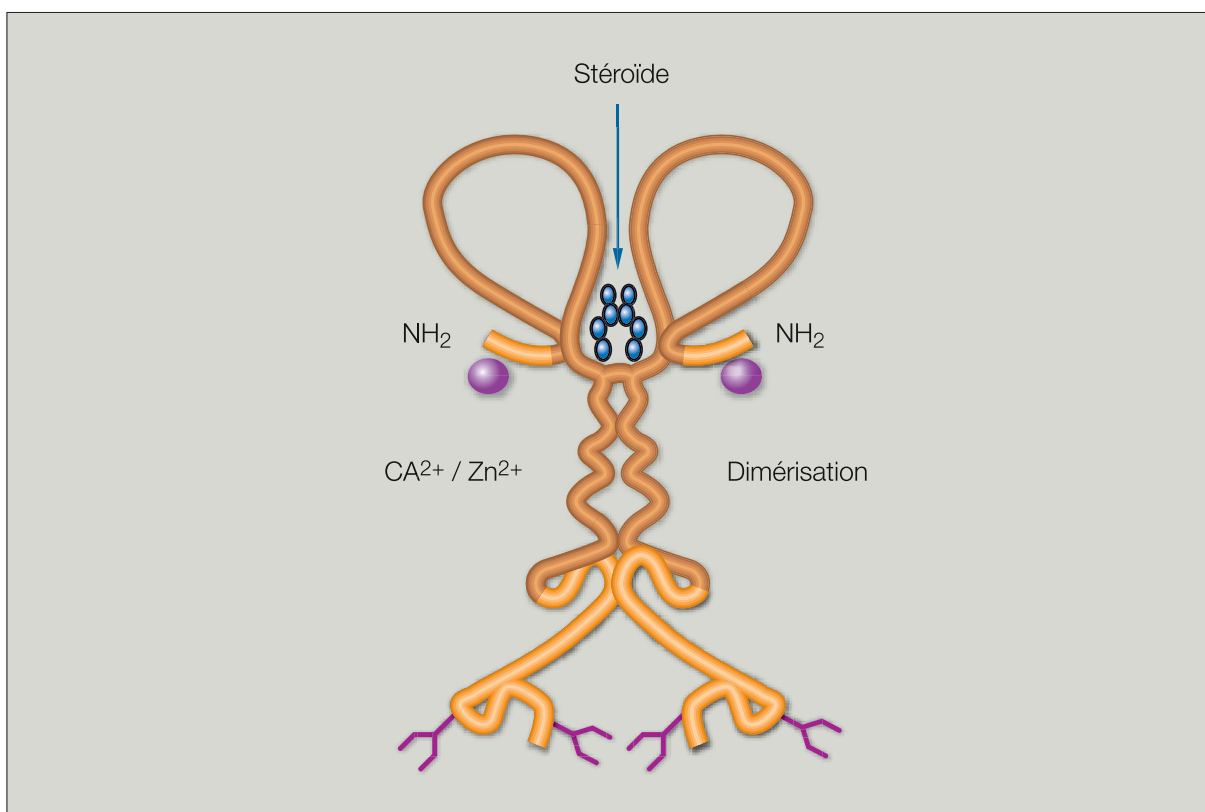


Figure 9 : Représentation schématique du dimère de la SHBG. (Hammond et al, 1995)

non fixée sur des protéines. L'ensemble **testostérone libre** + **testostérone liée à l'albumine** constitue ce qu'on appelle la **testostérone biodisponible** (pour les tissus) (**TBD**).

**La concentration de la SHBG est importante à connaître, pour comprendre la pénétration de la testostérone dans les différents tissus.**

Pour un même taux de **testostérone**, selon le concept de Partridge, la **testostérone** sera d'autant plus active et pénétrera dans les tissus, que la concentration de **SHBG** sera faible, et que par conséquent la concentration de **testostérone biodisponible** sera élevée (voir les courbes des variations de la **TBD** en fonction de la **SHBG** et de la **testostérone**, dans les "annexes" du dossier sur le vieillissement de l'axe HH-testicules).

Cependant bien que ce concept de la **testostérone biodisponible** soit globalement admis, depuis les travaux de Rosner (2006), il a été rapporté (*Khosla, 2006*) que la **SHBG** pouvait au contraire faciliter la pénétration des stéroïdes dans certains tissus.

De nombreux états physiologiques, nutritionnels ou morbides ou des traitements influent sur la synthèse et la concentration de **SHBG**. Ainsi les **hormones thyroïdiennes** (et les états d'hyperthyroïdie), les **estrogènes** augmentent la **SHBG** et inversement, les **androgènes**, les **glucocorticoïdes**, l'**insuline**, l'**hormone de croissance**, et l'obésité diminuent la **SHBG** plasmatique.

La concentration de la **SHBG** chez la femme est deux fois plus élevée que chez l'homme.

## SHBG

### Dosage de la SHBG

Initialement déterminée par sa capacité de liaison de la **testostérone**, la **SHBG** a été purifiée et des anticorps spécifiques ont été préparés.

Le dosage de la **SHBG** est actuellement effectué par méthode "sandwich". La molécule de **SHBG** est enserrée entre un anticorps capteur et un anticorps détecteur, marqué par une enzyme ou un groupement chimique susceptible de générer un signal fluorescent ou de chimioluminescence, ou bien marqué par l'iode 125. Dans ce cas on parle de dosage immunoradiométrique.

De très nombreux dosages sont effectués sur des plateformes d'immunoanalyse. La qualité des dosages reposent entièrement sur la spécificité des anticorps. Les résultats des dosages semblent comparables

### Variations de la SHBG

#### Variations au cours du cycle menstruel

A notre connaissance aucune variation des concentrations de **SHBG** n'a été trouvée au cours du déroulement du cycle menstruel (*Mushayandebvu et al, 1996*) si ce n'est une augmentation à peine significative dans la phase lutéale, en relation avec les concentrations plus élevées d'**estradiol**. Une étude sur un très grand nombre de sujets n'a pas trouvée de variation significative (45 à 47 nmol/L), quel que soit le jour de prélèvement dans les 8 premiers jours du cycle (*Randolph et al, 2003*)

## Variations depuis la puberté jusqu'à la ménopause

Peu de rapports sur les variations de la **SHBG** concernent cette période de la vie. Nous rapportons (tableau 6) les concentrations moyennes de **SHBG** obtenues dans 3 groupes d'âge différents (Guay et al, 2004):

**Tableau 6 : Variations de la SHBG de la puberté à la ménopause.** (Guay et al, 2004)

20-39 ans (n=12)	30-39 ans (n=23)	40-49 ans (n=20)
51 nmol/L $\pm$ 7 (SEM)	48.5 $\pm$ 4 (SEM)	52.7 $\pm$ 5 (SEM)

- D'après Mourad et al, 2007 (équipe de Pugeat), les concentrations moyennes de **SHBG** chez les femmes avant la ménopause sont de : **48  $\pm$  13 nmol/L**.

- Randolph et al, 2003, dans une étude américaine sur un nombre important de femmes (2930), d'âge moyen 46.3 ans, avec un IMC moyen de 28 et prélevées dans les premiers jours du cycle menstruel, rapportent une concentration moyenne de **SHBG** de 45 nmol/L.

En fait, les normales des dosages vont dépendre particulièrement de l'état nutritionnel, de l'IMC, et du statut hormonal.

## Variations pendant la période de transition

(dans les années qui précèdent la dernière menstruation et dans les premières années de la ménopause).

- Gershagen et al, 1989, Ranevik et al (1995) au cours d'études longitudinales respectivement, chez 17 et 160 femmes, rapportent une diminution de la **SHBG** pendant la période de transition (tableau 7).

**Tableau 7 : Variations des concentrations de la SHBG au moment de la période de transition.**

Mois par rapport à la dernière menstruation	13-18 mois avant	1-6 mois avant	13-24 mois après	85-96 mois après
$\mu$ g/ml et nmol/L	4.3 et 46.2	4 et 43	3.7 et 39.8	3.5 et 37.6

- *Burger et al, 2002*, rapporte une diminution nette de la **SHBG** au cours de la période de transition (fig 10). Les niveaux moyens de **SHBG**, 4 ans avant la date des dernières menstruations de 83.8 nmol/L décroissent à 54.5 nmol/L à la date de la dernière menstruation, puis à 47.7 nmol/L 2 ans après la dernière menstruation, soit une diminution de 43% sur 6 années. Comme les auteurs n'observent pas de variation dans les concentrations de la **testostéronémie**, une augmentation de l'index de testostérone libre a été rapportée.

La prise en compte de l'IMC n'a pas eu lieu, chez ces femmes entrant en ménopause, or la **SHBG** indépendamment de l'âge décroît très significativement en fonction de l'IMC (*Ranevik et al, 1995, Lukanova et al, 2004, Burger et al, 2000*), (fig 11), et la diminution de la **SHBG** peut ne pas être étrangère à la prise de poids souvent associée à cette période de la vie.

### Variations au cours de la ménopause établie

- *Lukanova et al, 2004*, dans un effectif de 319 femmes, âgées de 57.6 ans en moyenne, avec un IMC de 25.7 en moyenne et prélevées à distance de leur passage en ménopause, rapportent des taux de **SHBG** de 42.5 nmol/L, taux qui sont significativement ( $p < 0.02$ ) inférieurs à ceux trouvés chez 171 femmes, âgés de 44.7 ans, non ménopausées, avec un IMC de 24.2.

- D'après l'équipe de Pugeat (*Mourad et al, 2007*), les concentrations de la **SHBG** chez la femme ménopausée sont de **36 nmol/L ± 8**, concentrations très inférieures à celles trouvées par la même équipe chez la femme non ménopausée.

Les concentrations de la **SHBG** chez la femme jeune décroissent au cours de la vie. Mais cette diminution se situe essentiellement au moment du passage en ménopause.

**Les concentrations de la SHBG chez la femme ménopausée sont inférieures à celles mesurées chez la femme en activité sexuelle.**

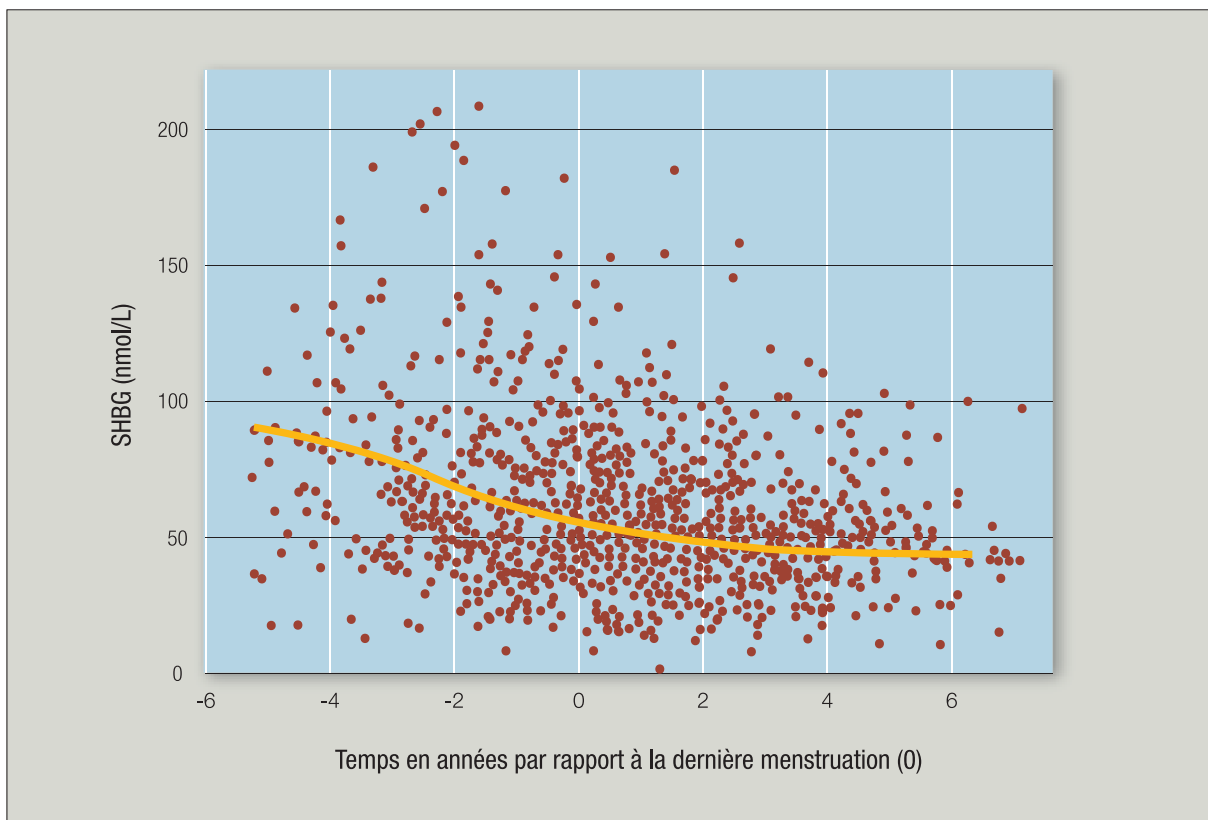
### Comment expliquer cette diminution de la SHBG à la ménopause ?

Au moment de l'installation de la ménopause, l'arrêt de l'ovulation cyclique, entraîne une chute brutale de la production des **estrogènes** par les ovaires, l'**estradiol** diminue de plus de 95%. Les concentrations d'**estradiol** après l'installation de la ménopause sont mesurées à des niveaux de quelques pg/ml. Cette hypoestrogénie majeure est responsable de la diminution de la synthèse de **SHBG** par le foie.

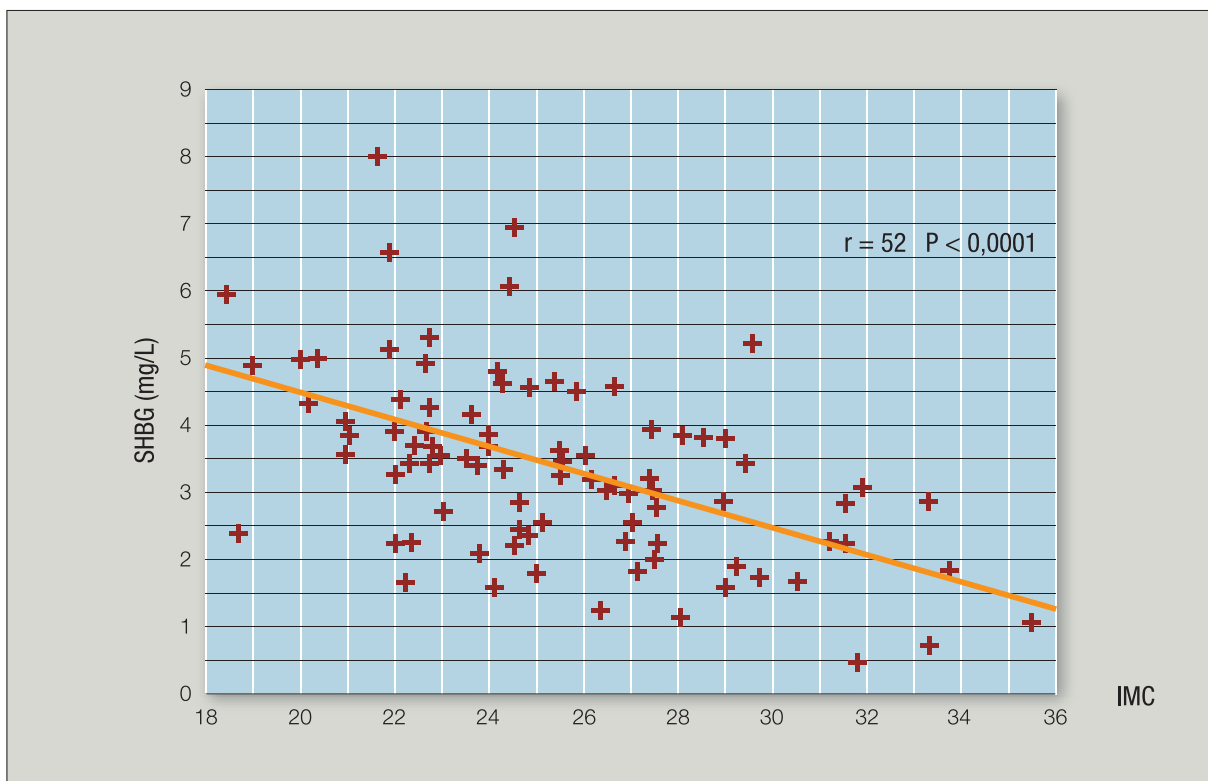
### Importance de la détermination de la SHBG chez la femme !!!

**Comme chez l'homme, il est très important de doser la SHBG chez la femme pour explorer l'imprégnation androgénique réelle.**

Puisque de nombreux facteurs physiologiques, nutritionnels (un régime végétarien augmente la **SHBG**), voire médicamenteux vont influencer les taux plasmatiques de **SHBG**, il en résultera des concentrations très variables des formes actives de la **testostérone** qui sont en relation inverse avec les concentrations de la **SHBG**.



**Figure 10 : Diminution de la SHBG au cours de la période de transition.** (*Burger et al, 2002*)



**Figure 11 : Corrélation négative entre l'IMC et la SHBG chez des femmes ménopausées (37 à 96 mois après la dernière menstruation).** (*Rannevik et al, 1995*)



## FRACTIONS ACTIVES DE LA TESTOSTERONE

### Détermination des fractions actives de la testostérone

#### Détermination de la testostérone biodisponible (TBD)

Le dosage de la **TBD** consiste à précipiter la **testostérone** liée à la **SHBG**, par une solution saturée de sulfate d'ammonium, après incubation du sérum ou du plasma en présence de  $^3\text{H}$  testostérone purifiée (Tremblay et al, 1974, Loric et al, 1988, Giton et al, 2007, 2008). Après centrifugation on mesure dans le surnageant la radioactivité non liée à la **SHBG**. Cette radioactivité représente la **testostérone liée à l'albumine + la testostérone libre** (non liée à des protéines). On calcule ensuite le % de testostérone non liée à la **SHBG**, et en multipliant ce % par la concentration de **testostérone totale**, on obtient la concentration de **TBD** (fig 12).

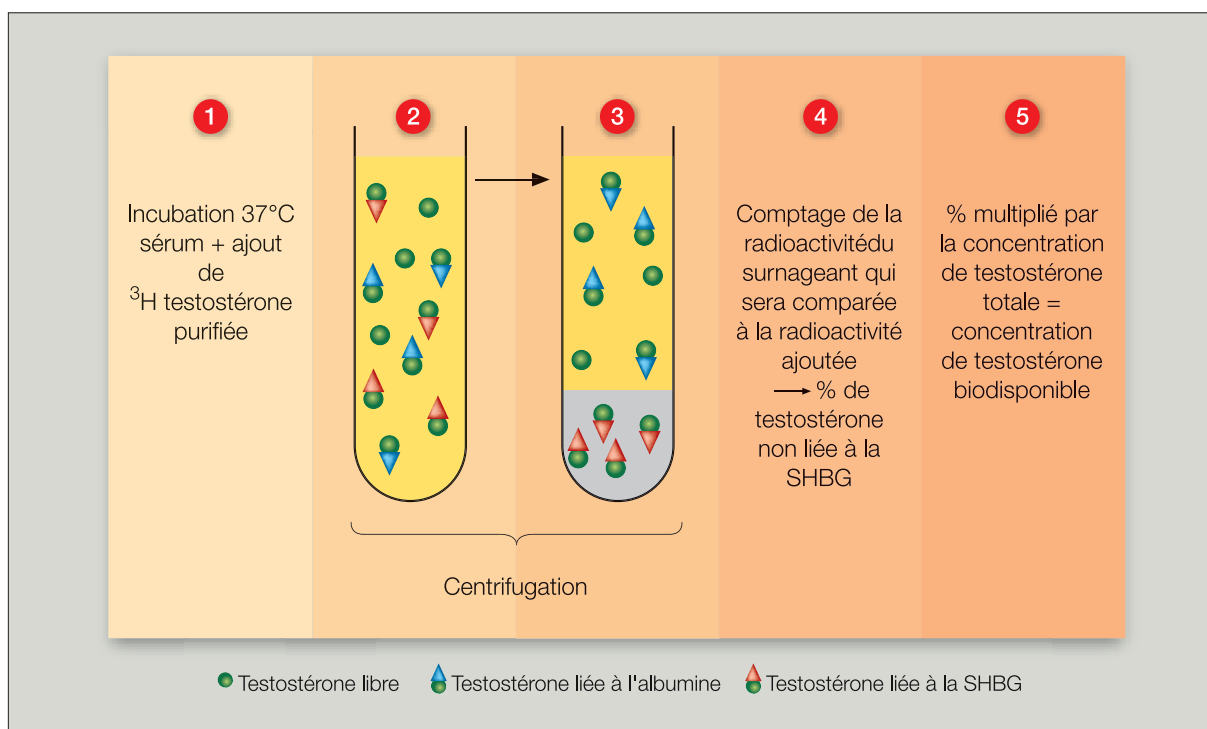


Figure 12 : Dosage de la testostérone biodisponible : différentes étapes.

#### Détermination de la testostérone libre ou non liée à des protéines

Cette détermination se fait par dosage ou par calcul

#### Principes des dosages de la testostérone libre ou FT

##### Dosage de la FT par dialyse à l'équilibre après addition de testostérone tritiée.

On procède à une dialyse à l'équilibre du sérum auquel on a ajouté de la  $^3\text{H}$  testostérone purifiée, contre un tampon phosphate qui est placé du côté opposé à la membrane de dialyse à 37°C. Le % de **FT** est calculée à l'équilibre. La concentration de **FT** est obtenue en multipliant le % de **FT** (à l'équilibre de dialyse) par la concentration de **testostérone totale**. C'est la méthode de référence, mais sa réalisation a la réputation d'être peu aisée.

## Dosage de la FT par dialyse à l'équilibre, par dosage ultrasensible de la testostérone dans le dialysat

Après dialyse, la **testostérone** (sans traceur radioactif) est dosée par radioimmunologie. Ce dosage qui doit être ultrasensible, met en œuvre un anticorps anti-testostérone très dilué, et un traceur  $^{125}\text{I}$ ode testostérone (*Sinha-Hikim et al, 1998*).

## Dosage par compétition avec un "analogue" radioactif de la testostérone

Cet analogue ne se lie pas à la **SHBG** et entre en compétition avec la **FT** du sérum pour les sites de l'anticorps dont l'affinité a été choisie pour que la **testo liée à l'albumine** et liée à la **SHBG** ne soit pas reconnue par cet anticorps. Cette méthode techniquement simple, conduit à des résultats de **testostérone libre** beaucoup plus faibles que ceux obtenus par la méthode de dialyse à l'équilibre avec addition de  $^3\text{H}$  testostérone. Elle est très critiquée et maintenant non recommandée (*Swerdloff et Wang, 2008*).

## Index de testostérone libre

C'est le rapport **testostérone totale** (nmol)/**SHBG** (nmol) multiplié par 100. Il ne nécessite que le dosage de la **testostérone totale** et celui de la **SHBG**. Ce ratio corrèle bien avec la **FT** (*Miller et al, 2004*), mais apporte moins d'informations que la **FT** ou la **TBD**.

## Calcul de FT

**FT** se déduit par le calcul dans une équation du second degré, directement issue de la loi d'action de masse telle que :  $(1 + K_a A) K_s \times (FT)^2 + (1 + K_a A + K_s (shbg - T)) \times (FT) - T = 0$ , et  $TBD = FT (1 + K_a A)$ .

L'un des problèmes est que les  $K_s$  et  $K_a$  ne sont pas connues dans le sérum. Leurs valeurs numériques varient selon les auteurs d'un facteur 10.

Nous avons montré chez l'homme que la détermination de la **TBD** par le calcul, avec le choix non adéquate de constantes d'association, conduisait à des valeurs égales au double des résultats du dosage (Vieillessement de l'axe Hypothalamus-hypophyse-Testicules).

*Vermeulen et al, 1999*, puis *Miller et al, 2004*, ont trouvé une bonne corrélation entre la **FT** mesurée par dialyse à l'équilibre et la **FT** calculée selon l'équation de *Vermeulen et al, 1999*. Cependant *Miller et al* en 2004, plutôt partisans de ce procédé, néanmoins trouvent par le calcul des résultats qui diffèrent de 20% de ceux obtenus par le dosage. Une bonne corrélation au cours d'une comparaison de 2 méthodes n'est pas synonyme d'exactitude.

En outre, compte tenu des difficultés techniques de la méthode de dialyse à l'équilibre qui sert de référence pour valider le calcul, il semble raisonnable de penser que les résultats du calcul devant être validés par plusieurs équipes, qui pratiquent la dialyse à l'équilibre.

Mais, compte tenu des difficultés de la méthode de dialyse à l'équilibre, le calcul de la **FT** est utilisé par beaucoup, comme nous le rapportons, sans être certain de l'exactitude des résultats puisque les résultats de ce calcul n'ont été contrôlés que par un nombre confidentiel d'équipes.

Il ne faut pas oublier également que les résultats du calcul dépendent évidemment de l'exactitude des dosages de la **testostérone totale** et de la **SHBG**.

## Viellissement et formes actives de la testostérone

### Viellissement et testostérone biodisponible

La plupart des déterminations de la **TBD** qui chez la femme ne représente que 20 à 30% de la **testostérone totale**, ont été réalisées par dosage par précipitation, de la **SHBG** par une solution saturée de sulfate d'ammonium selon les méthodes dérivées de celle de Tremblay et Dude, 1974 (Loric et al, 1987, Giton et al, 2007, 2008). Un résumé des résultats est rapporté dans le [tableau 8](#).

**Tableau 8 : concentrations de la testostérone biodisponible au cours du vieillissement.**

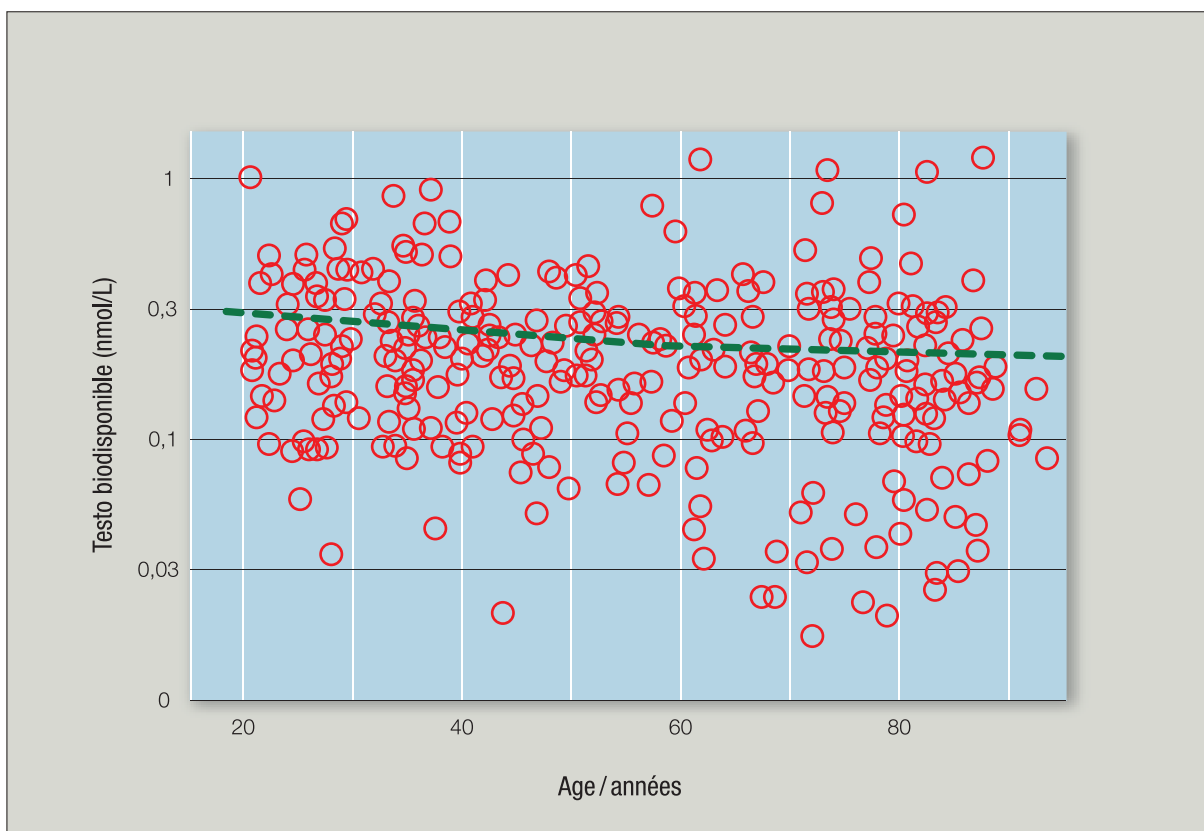
Références	Résultats (moyenne)	Age et nombre de sujets	Remarques
Cho et al, 2008	0.9 nmol/l (259 pg/ml)	19-33 ans, 11 sujets	Les taux élevés de testo totale, moy=0.92 ng/ml (obtenus avec une méthode "directe") expliquent ces taux élevés de TBD.
Loric et al, 1988	0.10 nmol/l	20-45 ans, n=15 sujets	Dosage testo totale avec extraction et chromato Célite
Khosla et al, 1998	0.3 nmol/l à 0.2 nmol/l (86 pg/ml à 57 pg/ml)	20-85 ans, 304 sujets	Une diminution faible mais significative est observée au cours du vieillissement. Dosage de la testo totale avec extraction et chromato Célite
Barrett-Connor et al, 2000	0.12 nmol/l (34 pg/ml)	227 femmes ménopausées	Dosage testo totale avec extraction et chromatographie
Laughlin et Barrett-Connor, 2000	0.14 nmol/l (40 pg/ml)	74 ans, 438 sujets,	Dosage testo totale avec extraction et chromatographie
Pfeilschifter et al, 1996	0.17 nmol/l (48 pg/ml)	55-80, 263 sujets	Dosage testo totale avec extraction et chromatographie

Les concentrations de **TBD** qui sont le résultat du dosage du pourcentage de **testostérone non liée à la SHBG** multiplié par le taux de **testostérone totale**, dépendent par conséquent de l'exactitude du dosage de la **testostérone totale**, comme on peut s'en rendre compte sur le [tableau 8](#). La mise en œuvre de techniques de dosage de la **testostérone totale** les plus spécifiques (avec chromato) conduisent à des concentrations de **TBD** les moins élevées. **Cependant une diminution faible mais significative de la testostérone biodisponible est observée au cours du vieillissement (fig 13).** Les concentrations normales de la testostérone biodisponible chez la femme non ménopausée sont comprises entre 6 et 70 pg/ml (Guéchet et al, non publiée, technique de Loric et al, 1988).

### Viellissement et FT

Cette détermination s'effectue par dosage ou par calcul à partir de la concentration de **testostérone totale** et de la concentration de la **SHBG**. (voir précédemment)

Nous rapportons dans le [tableau 9](#) les taux de **testostérone libre** au cours du vieillissement.



**Figure 13 : Variation de la testostérone biodisponible mesurée chez la femme au cours du vieillissement.** (Khosla et al, 1998)

**Tableau 9 : concentrations de la testostérone libre au cours du vieillissement.**

Références	Résultats (moyenne)	Age et nombre de sujets	Remarques
Sinha-Hakim et al, 1998	12.8 pmol/l (3.7 pg/ml)	30-45 ans 34 sujets	Ces résultats ont été obtenus par dosage dans le dialysat de la testo totale par RIA ultrasensible.
Rinaldi et al, 2002	A-4.7 pmol/l (1.35pg/ml) B-4.21 pmol/l (1.21 pg/ml)	20 femmes ménopausées	A-FT obtenue par le calcul après dosage testo totale et dosage SHBG. B- FT obtenue par dialyse à l'équilibre
Lukanova et al, 2004	-12.3 pmol/l avant la ménopause -9 pmol/l après la ménopause	- 36-50 177 sujets - 49-66 443 sujets	Ces résultats ont été obtenus par le calcul après dosage de la testo totale et de la SHBG.
Davison et al, 2005	A- 23.6 pmol/l (6.9pg/ml) B- 17.2 pmol/l (4.9 pg/ml) C-13.6 pmol/l (3.9 pg/ml) D- 11.8 pmol/l (3.4 pg/ml) E- 10.8 pmol/l (3.1 pg/ml) F- 9.7pmol/l (2.8 pg/ml)	A-18-24 ans, n=22 B- 25-34 n=97 C- 35-44 n=153 D- 45-54 n=140 E- 55-64 n=74 F- 65-75 n=109	Il y a une décroissance continue de la FT calculée (selon Sodergard) au cours du vieillissement.

Donc quelle que soit la technique de détermination de la FT,

**on observe : une diminution des concentrations de la testostérone libre au cours du vieillissement**

Dans la mesure où la diminution des androgènes et de la **testostérone** en particulier chez la femme, (comme chez l'homme), sont en relation avec plusieurs syndromes pathologiques, il devient important actuellement de pouvoir apprécier au mieux cette carence androgénique potentielle dans l'espoir d'une efficacité d'un traitement substitutif. Ce but à atteindre n'est pas aisé, car il exige des techniques de dosages exactes et très sensibles de la **testostérone** et de ses formes actives dans les zones basses de la normale.

Nous rapportons pour illustrer cette réflexion, les résultats de *Miller et al, 2004* : le statut androgénique a été comparé chez 40 femmes normalement réglées âgées de 35 ans (estrogènes +, T+), de 18 femmes ménopausées sans traitement hormonal (estrogènes - T+), de 43 femmes ménopausées traitement par des doses substitutives d'estrogènes (estrogènes +, T-).

La **testostérone totale (TT)** a été mesurée d'une part par une technique avec extraction et chromatographie, d'autre part par une technique "directe", la **testostérone libre FT** a été mesurée par dialyse à l'équilibre et par la méthode RIA avec un analogue. La **FT** a également été calculée, de même que l'index de testostérone libre. La **SHBG** a été mesurée par méthode IRMA ([tableau 10](#)).

**Tableau 10 : variations de la testostérone (T), de la SHBG, de la testostérone libre (FT) et de l'index de testostérone libre chez des femmes avant la ménopause, après la ménopause avec traitement par les estrogènes ou sans traitement. (Miller et al, 2004)**

	Estrogènes +, T+	Estrogènes -, T+	Estrogènes +, T-
TT extraction + chromato (ng/ml et nmol/l)	0.26 (0.17-0.34), 0.9 (0.6-1.2)	0.23 (0.11-0.34) 0.8 (0.4-1.2)	0.11 (0.03-0.28), 0.4 (0.1-0.9)
TT "directe" (ng/ml nmol/l)	0.32 (0.23-0.46) 1.1 (0.8-1.6)	0.29 (0.11-0.40) 1 (0.4-1.4)	0.20 (0.09-0.29) 0.7 (0.3-1.0)
SHBG IRMA (nmol/l)	91 (60-126)	93.5 (59-123)	152 (115-238)
FT dialyse à l'équilibre pg/ml, pmol/l)	2.39 (0.89-3.88) 8.3 (3.1-13.5)	2.85 (1.2-4.0) 9.9 (4.2-13.9)	0.7 (0.2-1.41) 2.4 (0.7-4.9)
FT RIA par analogue pg /ml pmol	0.9 (0.7-1.41) 3.2 (2.3-4.9)	0.97 (0.6-1.41) 3.4 (2.1-4.8)	0.4 (0.2-0.8) 1.7 (0.8-3)
FT calculée pg /ml pmol	1.95(1.7-3.9) 6.8 (6.1-13.5)	2.50 (1.10-3.19) 8.7 (3.8-11.1)	0.57 (0.23-1.24) 2 (0.8-4.3)
Index de testostérone libre FAI	0.9 (0.5-1.4)	1.2 (0.5-1.5)	0.2 (0.1-0.5)

Ces résultats nous rappellent que le dosage "direct" de la **testostérone totale** donne des taux plus élevés que celui du dosage avec extraction et chromatographie. Les taux de **FT** calculées sont sensiblement identiques aux taux de **FT** mesurés par dialyse à l'équilibre, par contre la méthode de dosage de **FT** par analogue, donne des résultats beaucoup plus faibles que la méthode de dialyse à l'équilibre. Les taux de **SHBG** sont élevés par rapport aux résultats classiquement obtenus. Les patientes ménopausées traitées par les estrogènes ont des taux de **testostérone totale** et de **FT** abaissés par suite d'une élévation de la **SHBG** (qui diminue les formes biodisponibles). En désaccord avec la plupart des résultats, **FT** des femmes ménopausées est plus élevée que chez les femmes non ménopausées.

# Δ4-Androstènedione

---

## ORIGINES DE LA Δ4-ANDROSTENEDIONE (A) (FIG 1, 2,3)

Biochimiquement, **A** provient de la **DHEA** par l'action d'une 3β ol-déshydrogénase/4.5-5.6 isomérase dans les ovaires, les surrénales et les tissus périphériques. Elle peut être formée également dans les surrénales à partir de la **17-hydroxyprogestérone**, sous l'action du C20-22 desmolase qui coupe la chaîne latérale en C17.

Avant la ménopause, les ovaires contribuent pour 50% à la formation de **A**. Après la ménopause cette contribution des ovaires tombent à 20%. La contribution surrénalienne diminue graduellement en relation avec la diminution de la production de **DHEA** et **SDHEA**.

L'**A** est située à un carrefour métabolique. C'est le précurseur immédiat de la **testostérone**, sous l'action d'une 17β-hydroxystéroïde déshydrogénase (17 β-HSD) types 3,5,13. C'est également le précurseur des estrogènes.

Sous l'action d'une aromatasase, **A** est aromatisée en **estrone (E1)** (laquelle est en équilibre d'oxydo réduction avec l'**estradiol (E2)**).

Cette aromatisation a lieu pendant le cycle menstruel, L'**A** est formée dans les cellules de la thèque interne, à partir de la **prégnénolone**, sous l'action de la **LH**, au cours de la maturation des follicules pendant la phase folliculaire. L'**A** se retrouve ensuite dans les cellules de la granulosa où a lieu l'aromatisation sous l'action d'une aromatasase stimulée par la **FSH**.

La synthèse des estrogènes à partir de l'**A** a lieu également dans les tissus périphériques (et le tissu adipeux en particulier), qui contiennent tous les enzymes nécessaires à leur synthèse. et **A** est corrélée à l'**estradiol** et à l'**estrone** chez les femmes ménopausées (*Rannevik et al, 1995*).

## DOSAGES DE LA Δ4-ANDROSTENEDIONE (A)

**A** est dosé par immunocompétition , avec un traceur radioactif (**A** marquée par le tritium ou par l'iode 125), donc en radioimmunologie (RIA) (*Fiet et al, 1994*) ou avec un traceur froid, en méthode non isotopique (*Fiet et al, 2001*).

Ce qui est important pour que le dosage de **A** soit exact n'est pas dans le choix du traceur, mais dans la nécessité de procéder à une purification du sérum avant la phase d'immunocompétition. par la combinaison d'une extraction suivie d'une chromatographie. En effet les anticorps anti-A "croisent" tous plus ou moins avec les différents androgènes présents dans le sérum, et les méthodes "directes" conduisent à des taux de **A** plus élevés que les valeurs réelles.

Autre procédé de dosage très spécifique, la GCMS.

## **Δ4-ANDROSTENEDIONE (A) ET CYCLE MENSTRUEL**

L'A au cours du cycle menstruel présente des concentrations, de 0.5 ng/ml à 1.5 ng/ml, excepté dans la phase périovulatoire où les concentrations peuvent augmenter jusqu'à des niveaux de plus de 2 ng/ml (fig 13) (Abraham, 1974, Mushayandebvu, 1996, Massafra et al, 1999), en parallèle avec l'augmentation de synthèse d'estrogènes, dont il est le précurseur. .

Les prélèvements d'exploration endocrinienne doivent être effectués dans les premiers jours du cycle, et le matin, car A présente des variations circadiennes, par suite de son origine en partie surrénalienne. Ces variations persistent pendant la ménopause (fig 6) (Vermeulen, 1976)

## **VEILLISSEMENT ET Δ4-ANDROSTENEDIONE**

Selon Judd, 1976, les concentrations moyenne de l'A pendant la première moitié de la phase folliculaire de 1.8 ng/ml, diminue de 50% après ovariectomie, et de 20 % chez les femmes ménopausées, indiquant une participation des ovaires dans la production de l'A même après la ménopause. Nous rapportons dans le tableau 11 les concentrations de l'A du plasma avant la ménopause et après la ménopause selon les auteurs.

Il apparaît que pratiquement toutes les publications font état d'une diminution de l'A au cours du vieillissement. Malgré une certaine dispersion des résultats, et ceci comme une conséquence de la diversité des réactifs employés. On peut donc avancer que :

**Les concentrations de la Δ4- androstènedione :**

- avant la ménopause sont comprises entre 0.50 ng/ml à 1.8 ng/ml (prélèvement entre 8 et 10 heures, et dans les 5 premiers jours du cycle menstruel).
- après la ménopause, les concentrations de Δ4-androstènedione diminuent, et les concentrations sont entre 0.40 ng/ml et 1.50 ng/ml.

**Tableau 11 : concentrations de la Δ4-androstènedione avant et après la ménopause.**

Références	Résultats (moy) (ng/ml)	Age et nombre de sujets	Remarques
Vermeulen, 1976	1.66 ± 0.10 0.95 ± 0.13	18-35 a, n=15 51-65 a, n=17	Dosages RIA effectués avec une extraction
Bancroft & Cawood, 1996	1.77 ± 0.65 1.28 ± 0.57 1.00 ± 0.51	Préménopause 49 Périménopause 37 Ménopause 54	Dosages RIA effectués avec un kit
Lukanova et al, 2004	1.31(0.58-2.54) 0.82 (0.29-2.34)	44 a (36-50), n=177 57 a (49-66), n=443	Dosages RIA effectués avec un kit
Labrie et al, 2006	0.96 ± 0.35 0.40 ± 0.18	30-35 a, n=47 55-65 a, n=377	GCMS
Davison et al, 2005	2.41 ± 0.88 1.47 ± 0.68 0.89 ± 0.50 0.87 ± 0.53	18-24, n=22 35-44, n=153 55-64 n=74 65-75 n=109	Dosages RIA direct, (après validation / RIA avec extraction + chromatographie Célite)
Fiet et al, 1994	1.19 ± 0.41	25-35 n=20	Dosages RIA, avec extraction et chromatographie sur Célite.

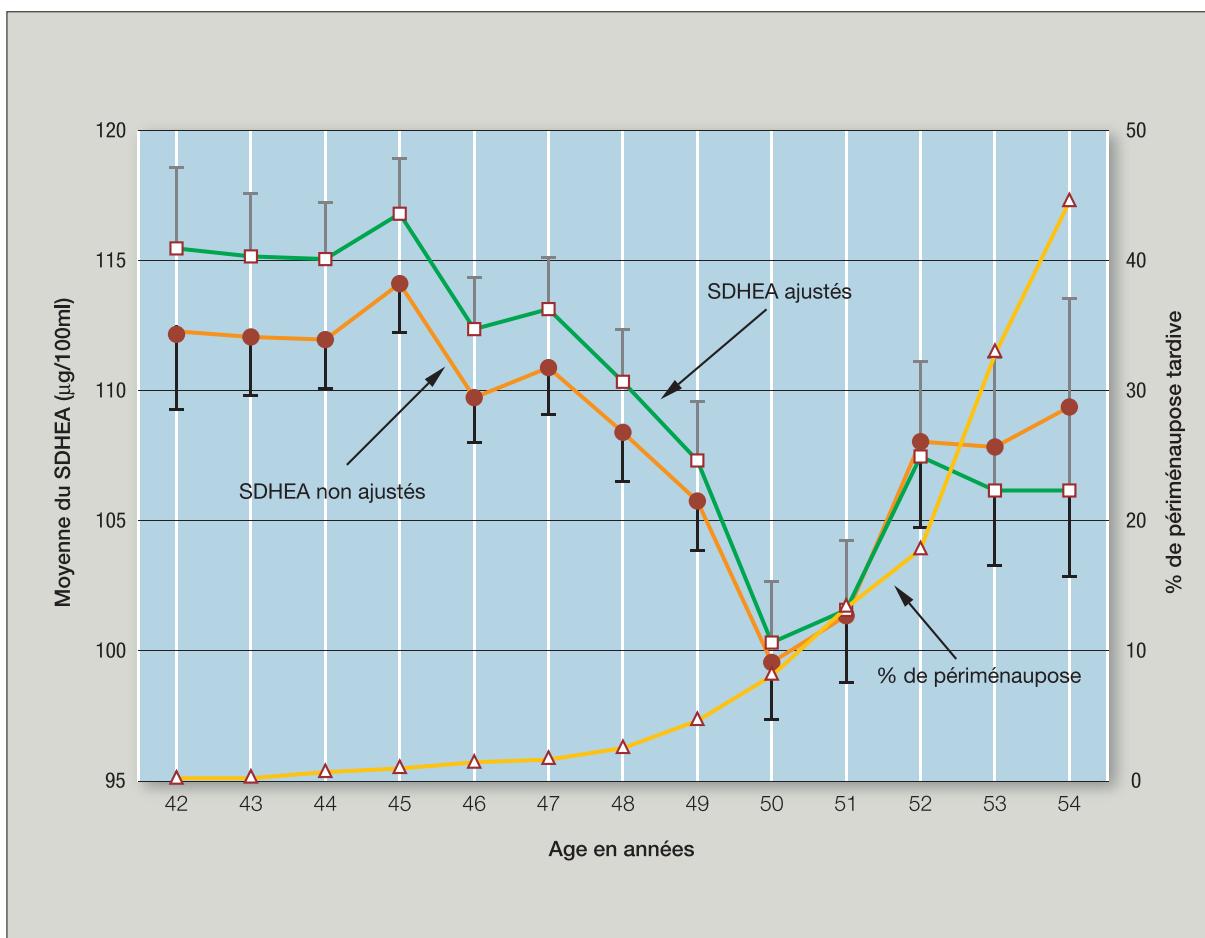


Figure 14 : Variations du SDHEA au cours de la transition préménopause-périménopause initiale-périménopause tardive-ménopause. (Lasley et al, 2002)

## Sulfate de Dehydroepiandrosterone (SDHEA), et DHEA

### ORIGINES

La **DHEA** et son sulfate le **SDHEA** sont synthétisés à 90 % dans la zone réticulée des corticosurrénales. Une petite fraction provient également des ovaires. Biochimiquement, la **DHEA** est issue de la **17-hydroxypregnénolone** par coupure de la chaîne latérale en C17 par une C17-C20 desmolase.

Produit par les surrénales, la **DHEA** et son sulfate sont des précurseurs des androgènes et des **estrogènes**, et ce rôle de précurseur est particulièrement important chez la femme ménopausée, chez laquelle la sécrétion ovarienne est très diminuée. La production des **estrogènes** chez la femme ménopausée est assurée à 95 % par la **DHEA** dans les tissus périphériques. La synthèse de la testostérone et des **estrogènes** est rapportée dans la [fig 3](#).



## DOSAGES DE LA DHEA ET DU SDHEA

Très succinctement, car déjà décrits, (chapitre Vieillesse de l'axe HHS), les dosages de la **DHEA** et du **SDHEA** sont réalisés par radioimmunologie. On procède pour le **SDHEA** (qui est le stéroïde dont la concentration plasmatique est la plus élevée) directement sur une dilution du plasma. Plusieurs automates d'immunoanalyse permettent le dosage du **SDHEA**.

Pour la **DHEA**, on pratique une extraction suivie au mieux d'une étape de chromatographie sur Célite, avant l'immunodosage proprement dit (*Fiet et al, 1981*). Une technique de dosage de la **DHEA** avec une extraction seule non suivie de chromatographie est commercialisée (Immunotech/Beckman), et conduit à des valeurs de 20% plus élevées que les techniques mettant en œuvre une étape de chromatographie.

La **DHEA** est également dosée par GCMS et le **SDHEA** par LC/MSMS (*Labrie et al, 2006*).

## VARIATIONS NYCTHEMERALES DE LA DHEA

Puisqu'elle est d'origine essentiellement surrénalienne, la **DHEA libre** ou non conjuguée, présente comme le **cortisol** et d'autres stéroïdes surrénaliens, des variations nyctémérales avec des concentrations maximales le matin entre 8 et 10 heures (*Fiet, 1979*). Ces variations nyctémérales du **DHEA** persistent au cours du vieillissement mais s'estompent sensiblement. Par contre le **SDHEA**, compte tenu de sa longue demi-vie, se présente comme un pool stable de réserve de la **DHEA libre**, et contrairement à la **DHEA libre**, ses concentrations ne varient pas au cours du nyctémère.

## EVOLUTION DE LA DHEA ET DU SDHEA AU COURS DU VIEILLESSE

En partie traitée dans le chapitre sur le "vieillesse de l'axe HHS", nous rappelons que les concentrations de la **DHEA** augmentent vers 6 à 9 ans au moment de "l'adrénarchie", précédant de quelques années la puberté. Les concentrations vont passer par des valeurs maximales entre 20 et 30 ans, puis ensuite elles diminuent tout au cours de la vie (*Orentreich et al, 1984, Bélanger et al, 1994, Labrie et al, 1997*) pour atteindre vers 70 ans, des niveaux égaux à 20-30% des concentrations mesurées dans la décennie 20-30 ans.

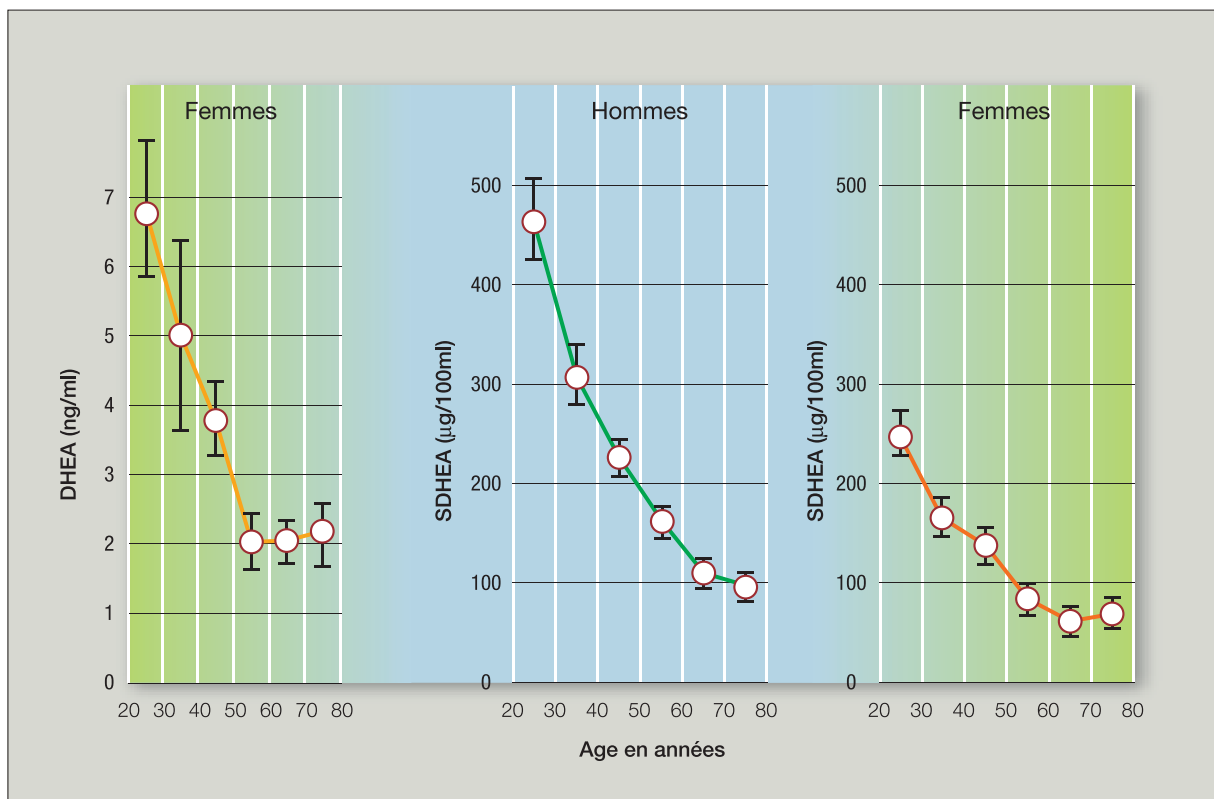
**Tableau 12 : Concentrations plasmatiques de la DHEA et du SDHEA avant et après la ménopause.**

Références	Âges et nombre de sujets	Concentrations de la DHEA (ng/ml) et du SDHEA (µg/100 ml).
Labrie et al, 2006	30-35 n=47 55-65 n=377	4.47 ± 2.19 (DHEA,GCMS) et 127 ± 62 (SDHEA, lc/ ms ms) 1.95 ± 1.18 (DHEA) et 59 ± 36 (SDHEA)
Lukanova et al, 2004	44.7 (F non ménopausées) n=177 57.6 (pdt la ménopause) n=443	131 µg/100 ml (47-303) (RIA) (SDHEA) 82 µg/100 ml (31-274) (RIA) (SDHEA)

Une étude longitudinale du dosage du **SDHEA** (dosé sur ACS 180) a été effectuée sur plus de 3000 femmes pendant la période de transition entre préménopause (cycles réguliers) et ménopause établie chez des femmes âgées de 42 à 54 ans.

Cette étude, a montré que après une baisse graduelle des concentrations du **SDHEA** en fonction de l'âge comme il est classiquement décrit, on observe une remontée des concentrations dans la phase de périménopause tardive (définie par l'absence de règles depuis 3 à 12 mois) (fig 15) (Lasley et al, 2002). D'après les auteurs de cette étude, cette production de **SDHEA** sensiblement augmentée serait en relation avec une interaction gonade-surrénales. Cette augmentation du **SDHEA** en phase de périménopause n'a pas été formellement confirmée par des études transversales. Cependant la décroissance des concentrations du **SDHEA** après la ménopause d'après les résultats de Labrie et al, 1997 (fig15) semble moins marquée, voire inexistante.

Il ressort de ces études que **les concentrations de SDHEA les plus basses que l'on observe chez la femme normale au cours du vieillissement sont de 30 µg/100 ml.**



**Figure 15 : Variations de la DHEA chez la femme, du SDHEA chez l'homme et chez la femme, au cours du vieillissement, de 20 à 80 ans. (Labrie et al, 1997)**

# Conséquences de la diminution des concentrations des androgènes au cours du vieillissement chez la femme

---

Au cours du vieillissement, on constate une diminution de pratiquement tous les androgènes du plasma chez la femme.

Cette diminution des concentrations des androgènes va affecter directement tous les tissus présentant des récepteurs aux androgènes (fig 17) (Labrie et al, 2008). En outre les **androgènes**, étant les précurseurs des **estrogènes**, une atteinte des tissus estrogéno-sensibles est logique. Ainsi la diminution de l'imprégnation androgénique affectera le squelette, la composition corporelle et le système cardiovasculaire, la qualité de vie et la libido.

## EFFETS DES ANDROGENES SUR LE SQUELETTE

Comme chez l'homme, chez la femme les **androgènes** contribuent au maintien de la masse osseuse. Des récepteurs aux androgènes ont été mis en évidence dans l'os chez la femme (Abu et al, 1997). Des corrélations entre la **testostérone** (totale et libre) et la densité minérale osseuse ont été rapportée chez la femme avant et après la ménopause (Greendale et al, 1997, Slemenda et al, 1996).

Les effets positifs des **androgènes** sur l'os, chez les femmes ménopausées ont été démontrés (Raisz et al, 1996). Un traitement combiné **testostérone + estradiol** chez les femmes ménopausées est plus efficace que l'**estradiol** seul. sur l'os trochantérien (Davis et al, 1995,2000) et les vertèbres (Barrett-Connor et al, 1999) ainsi que pour prévenir l'ostéoporose. L'ostéocalcine, un marqueur de la formation osseuse, a été trouvée plus augmentée chez les femmes ménopausées recevant de la méthyl**testostérone** + de l'**estradiol**, par rapport aux femmes ne recevant que de l'**estradiol** (Raisz et al 1996). Les concentrations de l'ostéocalcine sont corrélées aux concentrations périovulatoires de la **testostérone totale**, de la **testostérone libre** et de la  **$\Delta$ 4-androstènedione** (Massafra et al, 1999) (fig 16).

L'administration percutanée d'un gel de **DHEA** à 10%, une fois par jour, pendant 12 mois, chez des femmes âgées de 60 à 70 ans, a entraîné une augmentation significative de la densité osseuse au niveau de la hanche, des vertèbres lombaires, accompagnée d'une baisse de plus de 30% de l'hydroxyproline urinaire (témoin de la diminution du catabolisme du collagène au niveau de l'os), et de la phosphatase alcaline osseuse. Une augmentation de l'ostéocalcine a également été constatée, suggérant la formation de l'os sous l'action de la **DHEA** (Labrie et al, 1997).

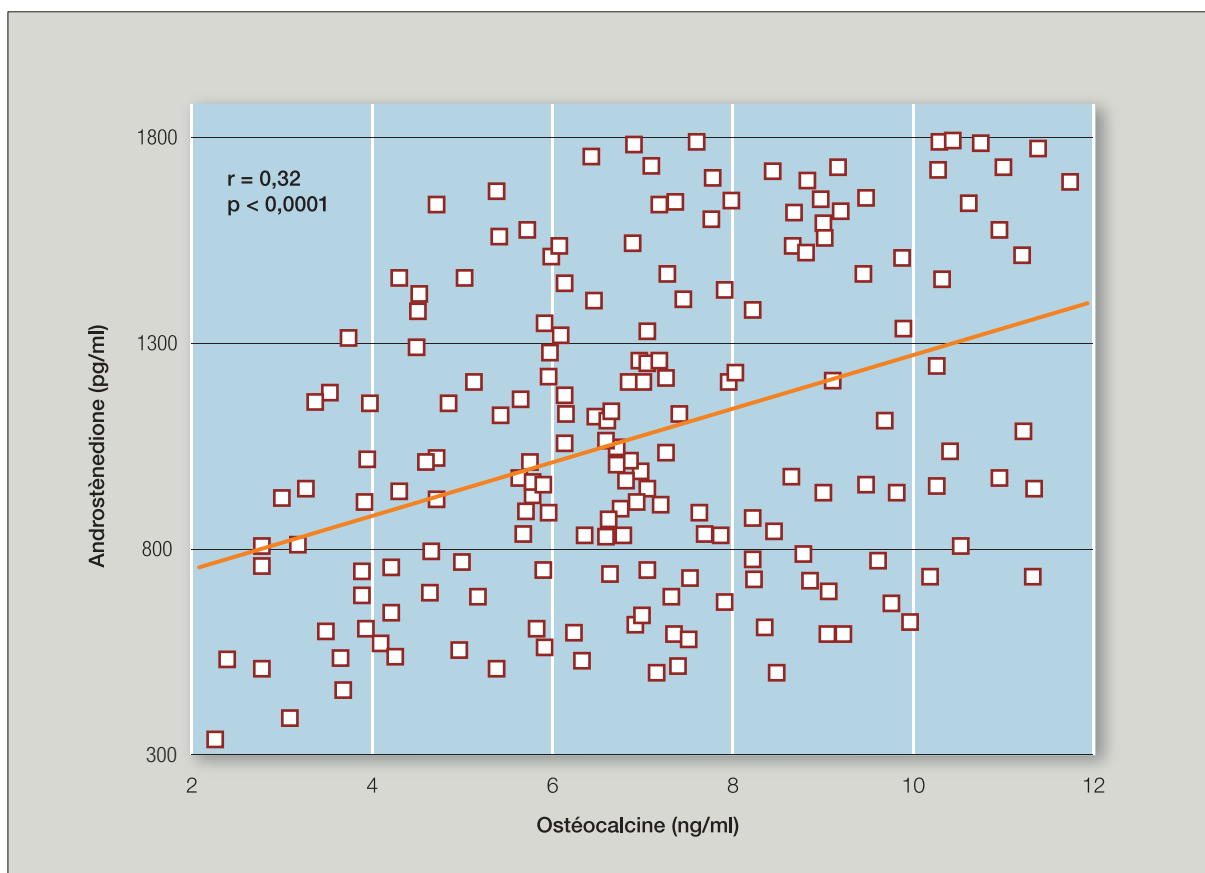


Figure 16 : Corrélation entre l'androstènedione et l'ostéocalcine (Massafra et al, 1999).

## EFFETS DES ANDROGENES SUR LA COMPOSITION CORPORELLE

Chez l'homme, un déficit androgénique entraîne une augmentation de la masse grasse. Inversement l'administration d'androgènes provoque une diminution de la graisse viscérale et une augmentation de la masse maigre.

Chez la femme ménopausée, le traitement par la **Nandrolone** (Lovejoy et al, 1996), entraîne une augmentation de la masse maigre et une diminution de la masse grasse ; cependant on observe une augmentation de la graisse viscérale. L'action bénéfique de l'**estradiol** utilisé seul, sur la graisse viscérale, et sur les lipoprotéines n'est pas retrouvée lors de l'association avec la **testostérone** per os (Davis et al, 2000, Miller et al, 1998). Par contre l'administration de la **testostérone** par voie transdermique ou en implants, des voies qui court-circuitent le premier passage hépatique, n'atténuent pas l'effet positif de l'estradiol sur les lipides et lipoprotéines (Davis et al, 2000, Miller et al, 1998). La voie d'administration de la **testostérone** sera à considérer pour éviter l'action délétère sur le système cardiovasculaire.

Le traitement par la **DHEA** (50 mg/jour per os), de la femme âgée de 65 à 78 ans, a un effet bénéfique sur la graisse viscérale et la résistance à l'insuline (Villareal & Holloszy, 2004).

## EFFETS DES ANDROGENES SUR LA QUALITE DE VIE ET LA LIBIDO

Les effets des **androgènes** sur le cerveau, passent par liaison sur leurs récepteurs mais également par leur aromatisation en **estrogènes**.

Les déficits en **androgènes** chez l'homme conduisent, entre autre, à une diminution de la libido et à une diminution de la qualité de vie. Chez la femme ménopausée, (*Davis et al, 1995*) l'administration de **testostérone** (avec le souci de maintenir les concentrations de cet androgène dans la zone physiologique) a des effets bénéfiques sur la qualité de vie et sur la libido supérieurs à ceux obtenus avec l'administration d'**estradiol** seul. Des effets bénéfiques sur la sexualité ont été obtenus également par *Shifren et al, 2000*, par l'administration transdermique de **testostérone** chez des femmes ovariectomisées.

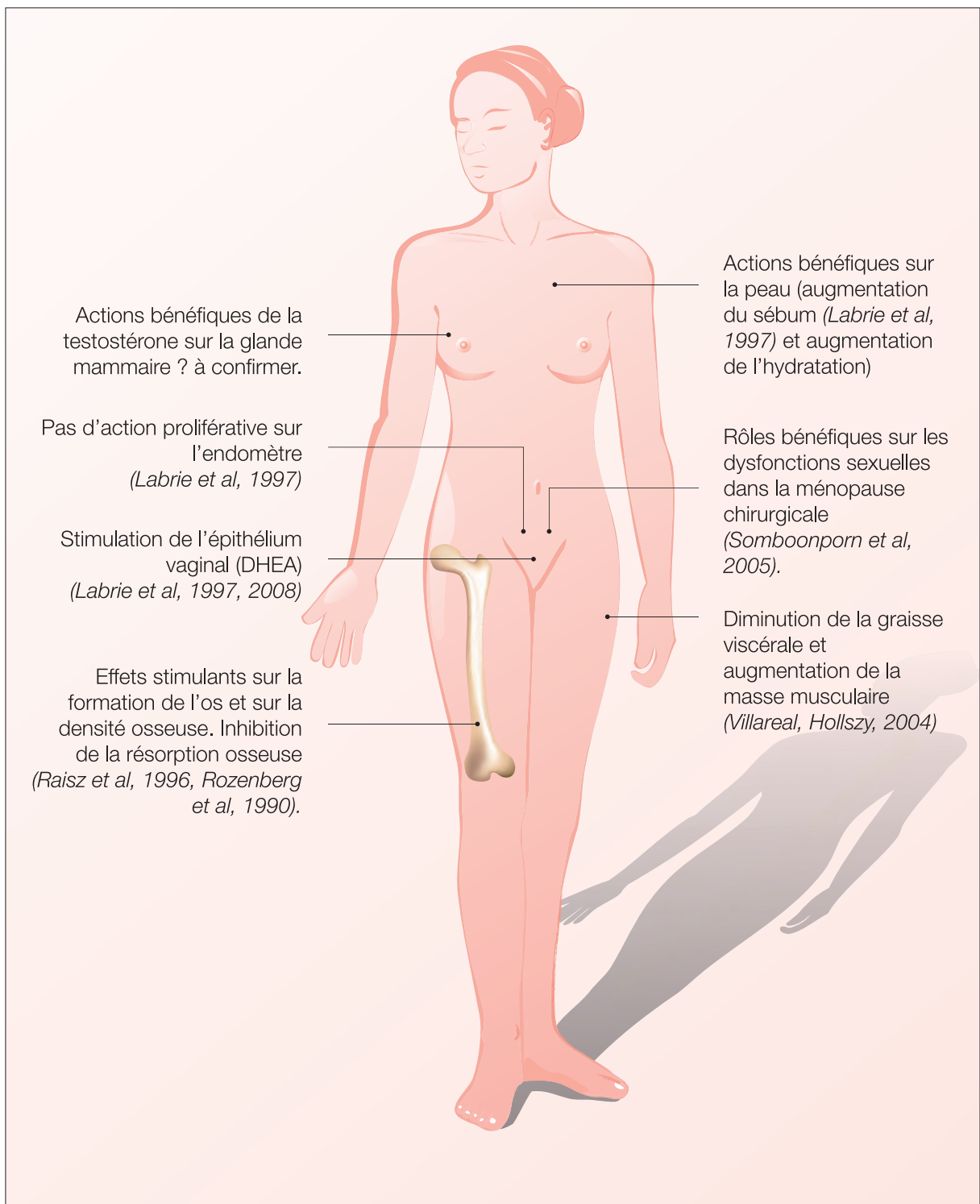
L'utilisation de **DHEA** (50 mg/j) (qui agit comme un précurseur à la fois de la **testostérone** et de l'**estradiol**), dans le traitement des insuffisances surrénaliennes (*Arlt et al, 1999, Hunt et al, 2000*), a donné des résultats très positifs sur le bien être, la fatigue, l'humeur et la sphère sexuelle.

## De la nécessité du traitement de la femme par les androgènes ?

---

Le traitement par les **androgènes** est logique chez les femmes dans des situations où les concentrations en **androgènes** sont à l'évidence effondrées, telles que les insuffisances surrénaliennes, les ovariectomies. Par contre au cours du vieillissement, bien que la diminution des androgènes soit effective et que le traitement substitutif chez la femme ménopausée semble bénéfique sur l'os, le bien être global, la sphère sexuelle et le tissu cutané, entre autres ([fig 17](#)), l'utilisation des androgènes n'est pas encore très répandue.

Comme les signes cliniques liés à un manque d'androgènes sont peu spécifiques, on aurait besoin de marqueurs objectifs de cette hypoandrogénie. Alors que l'appréciation de taux faibles de **SDHEA** (<30µg/100 ml) ne pose pas trop de problèmes, les dosages exacts de la **testostérone** chez la femme dans les zones basses de la normale (<0.20 ng/ml) ne sont pas faciles. On manque de dosages suffisamment exacts, sur des populations bien étudiées qui permettraient de déterminer les seuils inférieurs des fractions biodisponibles et de définir de façon plus objective le syndrome d'insuffisance en androgènes chez la femme (*Bachmann et al, 2002*).



**Figure 17 : Résumé des actions bénéfiques publiées des androgènes (testostérone + estradiol, ou DHEA) chez la femme ménopausée.**

# Bibliographie

---

- Abraham GE, Buster JE, Lucas LA, Corrales PC, Teller RC. Chromatographic separation of steroid hormones for use in radioimmunoassay. *Analyt Let*, 1972, 5, 509-517.
- Abraham GE. Ovarian and adrenal contribution to peripheral androgens during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab*, 1974, 39:340-346.
- Abu E, Horner A, Kusec V, Triffitt J, Compston J. The localization of androgen receptors in human bone. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997, 82:3493-3497.
- Adly L, Hill D, Sherman ME, Sturgeon SR, Fears T, Mies C, Ziegler RG, Hoover RN, Schairer C. Serum concentrations of estrogens, sex hormone-binding globulin, and androgens and risk of breast cancer in postmenopausal women; *Int J Cancer*, 2006, 2402-2407.
- Arlt W, Callies F, van Vlijem J et al. Dehydroepiandrosterone replacement in women with adrenal insufficiency. *N Engl J Med*, 1999, 341:1013-1020.
- Bachmann G, Bancroft J, Braunstein G, Burger H, Davis S, Dennerstein L, Goldstein I, Guay A, Leiblum S, Lobo R, Notelovitz M, Rosen R, Sarrel P, Sherwin B, Simon J, Simpson E, Shifren J, Spark R, Traish A; Princeton. Female androgen insufficiency: the Princeton consensus statement on definition, classification, and assessment. *Fertil Steril*, 2002, 77:660-665. Review.
- Bancroft J, Cawood E. Androgens and the menopause: a study of 40-60 year-old women. *Clin Endocrinol*, 1996, 45:577-587.
- Barrett-Connor E, Young R, Notelovitz M, Sullivan J, Wiita B, Yang H, Nolan J. A two-year, double-blind comparison of estrogen-androgen and conjugated estrogens in surgically menopausal women. Effects on bone mineral density, symptoms and lipid profiles. *J Reprod Med*, 1999, 44:1012-1020.
- Barrett-Connor E, Mueller JE, von Mühlen DG, Laughlin GA, Schneider DL, Sartoris DJ. Low levels of estradiol are associated with vertebral fractures in older men, but not women: the Rancho Bernardo Study. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000, 85:219-223.
- Bélanger A, Candas B, Dupont A, Cusan L, Diamond P, Gomez JL Labrie. Changes in serum concentration of conjugated and unconjugated steroids in 40 -to 80 -year-old men. *J Clin Endocrinol Metab*, 1994, 79:1086-1090.
- Boots LR, Potter S, Potter HD, Azziz R. Measurement of total serum testosterone levels using commercially available kits: high degree of between-kit variability. *Fert Sterility*, 1998, 69:286-292.
- Burger HG, Dudley EC, Cui J, Dennerstein L, Hopper JL. A prospective longitudinal study of serum testosterone, dehydroepiandrosterone sulfate, and sex hormone-binding globulin levels through the menopause transition. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000, 85:2832-2838.
- Burger HG, Dudley EC, Hopper JL, Shelley JM, Green A, Smith A, Dennerstein L, Morse C. The endocrinology of the menopausal transition: a cross-sectional study of a population-based sample. *J Clin Endocrinol Metab*, 1995, 80:3537-3545.
- Burger HG, Dudley EC, Robertson DM, Dennerstein L. Hormonal changes in the menopause transition. *Recent Prog Horm Res.*, 2002, 57:257-275. Review.
- Chakravarti S, Collins W, Forecast J, Newton J, Oram D, Studd J. Hormone profile after the menopause. *Br Med J*, 1976, 2:784-787.
- Cho LW, Kilpatrick ES, Jayagopal V, Diver MJ, Atkin SL. Biological variation of total testosterone, free androgen index and bioavailable testosterone in polycystic ovarian syndrome: implications for identifying hyperandrogenaemia. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2008, 68:390-394.
- Chu MC, Lobo RA. Formulations and use of androgens in women. *Mayo Clin Proc.* 2004 Apr;79(4 Suppl):S3-7. Review.
- Couzinet B, Meduri G, Lecce MG, Young J, Brailly S, Loosfelt H, Milgrom E, Schaison G. The postmenopausal ovary is not a major androgen-producing gland. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, 86:5060-5066.
- Davis S, Walker K, Strauss B. Effects of estradiol with and without testosterone on body composition and relationships with lipids in postmenopausal women. *Menopause*, 2000, 7:395-401.

- Davis SR, McCloud P, Strauss B, Burger H. Testosterone enhances estradiol effects on postmenopausal bone density and sexuality. *Maturitas*, 1995, 21:227-236.
- Davison SL, Bell R, Donath S, Montalto JG, Davis SR. Androgen levels in adult females: changes with age, menopause, and oophorectomy. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, 90:3847-53.
- Davison SL, Bell R, Montalto JG, Sikaris K, Donath S, Stanczyk FZ, Davis SR. Measurement of total testosterone in women: comparison of a direct radioimmunoassay versus radioimmunoassay after organic solvent extraction and celite column partition chromatography. *Fertil Steril*, 2005, 84:1698-1704.
- Fiet J, Giton F, Ibrahim F, Valleix A, Galons H, Raynaud JP. Development of a highly sensitive and specific new plasma testosterone time-resolved fluoroimmunoassay in human. *Steroids*, 2004, 69:461-471
- Fiet J, Gosling JP, Soliman H, Galons H, Boudou Ph, Aubin Ph, Bélanger A, Villette JM, Julien R, Bréault JL, Burthier JM, Morineau G, Al Halnak A, Vexiau P. Hirsutism and acne in women: coordinated radioimmunoassays for eight relevant plasma steroids. *Clin Chem*, 1994, 40:2296-2305.
- Fiet J, Giton F, Boudi A, Boudou P, Soliman H, Villette JM, Galons H. Development of a sensitive and specific new plasma 4-androstene-3,17-dione time-resolved fluoroimmunoassay (TR-FIA). *Steroids*, 2001, 66:609-614.
- Fiet J, Gourmel B, Villette JM, Bréault JL, Julien R, Cathelineau G, Dreux C. Simultaneous radioimmunoassay of androstenedione, dehydroepiandrosterone and 11-beta-hydroxyandrostenedione in plasma. *Horm Res*, 1980, 13:133-149.
- Fiet J. Mises au point de dosages radioimmunologiques de stéroïdes plasmatiques. Application à l'étude de l'hyperplasie congénitale des surrénales et de l'hirsutisme. Thèse de Doctorat es Sciences Pharmaceutiques Université René Descartes. ParisV. 1979.
- Fogle RH, Stanczyk FZ, Zhang X, Paulson RJ. Ovarian androgen production in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92:3040-3043.
- Gershagen S, Doeberl A, Jeppsson S, Rannevik G. Decreasing of the sex-hormone binding globulin around of the menopause and temporary relation to changing levels of ovarian steroids, as demonstrated in a longitudinal study. *Fert Steril*, 1989, 51:616-621.
- Giton F, Fiet J, Guéchet J, Ibrahim F, Bronsard F, Chopin D, Raynaud JP. Serum bioavailable testosterone: assayed or calculated? *Clin Chem*, 2006, 52:474-481.
- Giton F, Urien S, Born C, Tichet J, Guéchet J, Callebort J, Bronsard F, Raynaud JP, Fiet J. Determination of bioavailable testosterone [non sex hormone binding globulin (SHBG)-bound testosterone] in a population of healthy French men: influence of androstenediol on testosterone binding to SHBG. *Clin Chem*, 2007, 53:2160-2168.
- Greendale G, Edelstein S, Barrett-Connor E. Endogenous sex steroids and bone mineral density in older women and men: The Rancho Bernardo Study. *J Bone Miner Res*, 1997, 12:1833-1843.
- Guay A, Munarriz R, Jacobson J, Talakoub L, Traish A, Quirk F, Goldstein I, Spark R. Serum androgen levels in healthy premenopausal women with and without sexual dysfunction: Part A. Serum androgen levels in women aged 20-49 years with no complaints of sexual dysfunction. *International Journal of Impotence Research*, 2004, 16:112-120.
- Guay A, Jacobson J, Munarriz R, Traish A, Talakoub L, Quirk F, Goldstein I, Spark R. Part B: reduced serum androgen levels in healthy premenopausal women with complaints of sexual dysfunction. *International Journal of Impotence Research*, 2004, 16:121-129.
- Guéchet J. Les méthodes de dosage de la testostérone circulante (Editorial). *Immunoanal. Biol. Spéc*, 2000, 15:373.
- Hunt PJ, Gurnell EM, Huppert FA, Richards C, Prevost AT, Wass JA, Herbert J, Chatterjee VK. Improvement in mood and fatigue after dehydroepiandrosterone replacement in Addison's disease in a randomized double blind trial. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000, 85:4650-4656.
- Judd HL. Hormonal dynamics associated with the menopause. *Clin Obstet Gynecol*, 1976, 19:755-788.
- Khosla S, Melton SJ, Atkinson EJ, O'Fallon WM, Klee GG, Riggs BL. Relationship of serum sex steroid levels and bone turnover markers with bone mineral density in men and women: a key role for bioavailable estrogen. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998, 83:2266-2274.
- Khosla S. Editorial: Sex hormone binding globulin: Inhibitor or facilitator (or both) of Sex steroid action? *J Clin Endocrinol Metab*, 2006, 91:4764-4766.



Labrie F, Bélanger A, Bélanger P, Bérubé R, Martel C, Cusan L, Gomez J, Candas B, Castiel I, Chaussade V, Deloche C, Leclaire J. Androgen glucuronides, instead of testosterone, as the new markers of androgenic activity in women. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2006, 99:182-188.

Labrie F, Belanger A, Cusan L, Gomez J-L, Candas B. Marked decline in serum concentrations of adrenal C19 sex steroid precursors and conjugated androgen metabolites during aging. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997, 82:2396-2402.

Labrie F, Diamond P, Cusan L, Gomez JL, Bélanger A, Candas B. Effect of 12-month dehydroepiandrosterone replacement therapy on bone, vagina, and endometrium in postmenopausal women. Effect of 12-month dehydroepiandrosterone replacement therapy on bone, vagina, and endometrium in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997, 82:3498-3505.

Labrie F, Cusan L, Gomez JL, Côté I, Bérubé R, Bélanger P, Martel C, Labrie C. Effect of intravaginal DHEA on serum DHEA and eleven of its metabolites in postmenopausal women. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2008 sous presse.

Lasley BL, Santoro N, Randolph JF, Gold EB, Crawford S, Weiss G, McConnell DS, Sowers MF. The relationship of circulating dehydroepiandrosterone, testosterone, and estradiol to stages of the menopausal transition and ethnicity. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87:3760-3767.

Laughlin G, Barrett-Connor E. Sexual dimorphism in the influence of advanced aging on adrenal hormone levels: the Rancho Bernardo Study. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000, 85:3561-3568.

Laughlin GA, Barrett-Connor E, Kritz-Silverstein D, von Mühlen D. Hysterectomy, oophorectomy, and endogenous sex hormone levels in older women: the Rancho Bernardo Study. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000, 85:645-651.

Lee JS, Lacroix AZ, Wu L, Cauley JA, Jackson RD, Kooperberg C, Leboff MS, Robbins J, Lewis CE, Bauer DC, Cummings SR. Associations of serum sex hormone-binding globulin and sex hormone concentrations with hip fracture risk in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008 Mar 11.

Lee SJ, Lenton EA, Sexton L, Cooke ID. The effects on age on the cyclical patterns of plasma LH, FSH, estradiol and progesterone in women with regular menstrual cycle. *Hum Reprod*, 1988, 3:851-855.

Longcope C, Franz C, Morello C, Baker R, Johnston C. Steroid and gonadotropin levels in women during the perimenopausal years. *Maturitas*, 1986, 8:189-196.

9. Loric S, Guéchet J, Duron F, Aubert P, Giboudeau J, Determination of testosterone in serum not bound by sex-hormone-binding globulin: diagnostic value in hirsute women. *Clin Chem*, 1988, 34:1826-1829.

Lovejoy JC, Bray GA, Bourgeois MO, Macchiavelli R, Rood JC, Greenson C, Partington C. Exogenous androgens influence body composition and regional body fat distribution in obese postmenopausal women-a clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab*, 1996, 81:2198-2203.

Lukanova A, Lundin E, Zeleniuch-Jacquotte A, Muti P, Mure A, Rinaldi S, Dossus L, Micheli A, Arslan A, Lenner P, Shore RE, Krogh V, Koenig KL, Riboli E, Berrino F, Hallmans G, Stattin P, Toniolo P, Kaaks R. Body mass index, circulating levels of sex-steroid hormones, IGF-I and IGF-binding protein-3: a cross-sectional study in healthy women. *Eur J Endocrinol*, 2004, 150:161-171.

Massafra C, De Felice C, Agnusdei DP, Gioia D, Bagnoli F. Androgens and osteocalcin during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999, 84:971-974.

Miller KK, Rosner W, Lee H, Hier J, Sesmi G, Schoenfeld D, Neubauer G, Klibanski A. Measurement of free testosterone in normal women and women with androgen deficiency: comparison of methods. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89:525-533.

Miller K, Corcoran C, Armstrong C, Caramelli K, Anderson E, Cotton D, Basgoz N, Hirschhorn L, Tuomala R, Schoenfeld D, Daugherty C, Mazer N, Grinspoon S. Transdermal testosterone administration in women with acquired immunodeficiency syndrome wasting: a pilot study. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998, 83:2717-2725.

Mourad N, Hogeveen K, Raverot V, Denuzière A, Grenot C, Khadar N, Monseu M, Déchaud H, Pugeat M. Les protéines de liaison des hormones stéroïdes, reconsidérées : nouvelles données physiopathologiques. Mises au point cliniques d'endocrinologie, nutrition et métabolisme, 2007, p231-245. Les éditions de médecine pratique.

Mushayandebu T, Castracane VD, Gimpel T, Adel T, Santoro N. Evidence for diminished midcycle ovarian androgen production in older reproductive aged women. *Fertil Steril*, 1996, 65:721-723.

Orentreich N, Brind JL, Rizer RL, Vogelmann JH. Age changes and sex differences in serum dehydroepiandrosterone sulfate concentrations throughout adulthood *J Clin Endocrinol Metab*, 1984, 59:551-555.

- Pabon JE, Li X, Lei ZM, Sanfilippo JS, Yussman MA, Rao CV. Novel presence of luteinizing hormone/chorionic gonadotropin receptors in human adrenal glands. *J Clin Endocrinol Metab*, 1996, 81:2397-2400.
- Pardridge WM. Selective delivery of sex steroid hormones to tissues in vivo by albumin and by sex hormone-binding globulin. *Ann NY Acad Sciences*, 1988, 538:173-192.
- Pfeilschifter J, Scheidt-Nave C, Leidig-Bruckner G, Woitge HW, Blum WF, Wüster C, Haack D, Ziegler R. Relationship between circulating insulin-like growth factor components and sex hormones in a 25 population-based sample of 50- to 80-year-old men and women. *J Clin Endocrinol Metab*, 1996, 81:2534-40.
- Raisz LG, Wiita B, Artis A, Bowen A, Schwartz S, Trahiotis M, Shoukri K, Smith J. Comparison of the effects of estrogen alone and estrogen plus androgen on biochemical markers of bone formation and resorption in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, 1996, 81:37-43.
- Randolph JF Jr, Sowers M, Gold EB, Mohr BA, Luborsky J, Santoro N, McConnell DS, Finkelstein JS, Korenman SG, Matthews KA, Sternfeld B, Lasley BL. Reproductive hormones in the early menopausal transition: relationship to ethnicity, body size, and menopausal status. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88:1516-1522.
- Rinaldi S, Déchaud H, Toniolo P, Kaaks R. Reliability and validity of direct radioimmunoassays for measurement of postmenopausal serum androgens and estrogens. *IARC Sci Publ.*, 2002, 156:323-325.
- Rannevik G, Jeppsson S, Johnell O, Bjerre B, Laurell-Borull Y, Svanberg L. A longitudinal study of the perimenopausal transition: altered profiles of steroid and pituitary hormones, SHBG, and bone mineral density. *Maturitas*, 1995, 21:103-113.
- Rosner W. Sex steroids and the free hormone hypothesis. *Cell*, 2006, 124:455-456.
- Rosner W, Auchus RJ, Azziz R, Sluss PM, Raff H. Position statement: Utility, limitations, and pitfalls in measuring testosterone: an Endocrine Society position statement. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92:405-413.
- Shifren JL, Braunstein GD, Simon JA, Casson PR, Buster JE, Redmond GP, Burki RE, Ginsburg ES, Rosen RC, Leiblum SR, Caramelli KE, Mazer NA. Transdermal testosterone treatment in women with impaired sexual function after oophorectomy. *N Engl J Med*, 2000, 343:682-8688.
- Sinha-Hikim I, Arver S, Beall G, Shen R, Guerrero M, Sattler F, Shikuma C, Nelson JC, Landgren BM, Mazer NA, Bhasin S. The use of a sensitive equilibrium dialysis method for the measurement of free testosterone levels in healthy, cycling women and in human immunodeficiency virus-infected women. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998, 83:1312-1318.
- Slemenda C, Longcope C, Peacock M, Hui S, Johnston C. Sex steroids, bone mass and bone loss. A prospective study of pre-peri-and postmenopausal women. *J Clin Invest*, 1996, 97:14-21.
- Sluijmer AV, Heineman MJ, De Jong FH, Evers JL. Endocrine activity of the postmenopausal ovary: the effects of pituitary down-regulation and oophorectomy. *J Clin Endocrinol Metab*, 1995, 80:2163-2167.
- Somboonporn W, Davis S, Seif MW, Bell R. Testosterone for peri- and postmenopausal women. *Cochrane Database Syst Rev*, 2005, 19:CD004509. Review
- Stanczyk FZ, Cho MM, Endres DB, Morrison JL, Patel S, Paulson RJ. Limitations of direct estradiol and testosterone immunoassay kits. *Steroids*, 2003, 68:1173-1178.
- Steinberg KK, Freni-Titulaer LW, DePuey EG, Miller DT, Sgoutas DS, Coralli CH, Phillips DL, Rogers TN, Clark RV. Sex steroids and bone density in premenopausal and perimenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, 1989, 69:533-539
- Swerdlow RS, Wang C. Free testosterone measurement by the analog displacement direct assay: old concerns and new evidence. *Clin Chem*, 2008, 54:458-460.
- Taieb J, Mathian B, Millot F, Patricot MC, Mathieu E, Queyrel N, Lacroix I, Somma-Delpero C, Boudou P. Testosterone measured by 10 immunoassays and by isotope-dilution gas chromatography-mass spectrometry in sera from 116 men, women, and children. *Clin Chem*, 2003, 49: 1381-1395.
- The Endogenous Hormones and Breast Cancer Collaborative Group. Endogenous sex hormones and breast cancer in postmenopausal women: reanalysis of nine prospective studies. *J Natl Cancer Inst*, 2002, 94:606-616.
- Tremblay RR, Dube JY. Plasma concentrations of free and non-TeBG bound testosterone in women on oral contraception. *Contraception*, 1974, 10:599-605.
- Vermeulen A. The hormonal activity of the postmenopausal ovary. *J Clin Endocrinol Metab*, 1976, 42:247-253.

Vermeulen A, Verdonck L, Kaufman JM. A critical evaluation of simple methods for the estimation of free testosterone in serum. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999, 84:3666-3672.

Villareal DT, Holloszy JO. Effect of DHEA on abdominal fat and insulin action in elderly women and men: a randomized controlled trial. *JAMA*, 2004, 292:2243-2248.

Zumoff B, Rosenfeld R, Strain G, Levin J, Fukushima D. Sex differences in the twenty-four-hour mean plasma concentrations of dehydroepiandrosterone (DHA) and dehydroepiandrosterone sulfate (DHAS) and the DHA to DHAS ratio in normal adults. *J Clin Endocrinol Metab*, 1980, 51:330-333.

Zumoff B, Strain GW, Miller LK, Rosner W. Twenty-four hours mean plasma testosterone concentration decline with age in normal premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, 1995, 80:1429-1430.

# **Le vieillissement ovarien**

*J. Fiet - A. Gougeon - D. Cornet - J.L. Brérault*

## CHAPITRE IV

L'ovaire est une glande à la fois exocrine et endocrine. Son vieillissement concerne ses fonctions de production d'ovules mûrs et de synthèse d'hormones stéroïdes et protéiques intimement liées à la production cyclique des follicules ovulatoires. Le fonctionnement ovarien fait partie intégrante de l'axe hypothalamus-hypophyse-ovaires (HHO).

## Le vieillissement des fonctions exocrines

---

### Diminution du nombre des follicules au cours du vieillissement

Le nombre des cellules germinales (ovogonies et ovocytes) atteint une valeur maximale de 6 à 7 millions pendant la 20<sup>ème</sup> semaine de grossesse constituant ce que l'on appelle la réserve ovarienne (RO), puis ce nombre décroît constamment tout au long de la vie, jusqu'à son quasi épuisement à la ménopause.

Lorsque les ovocytes (bloqués au stade diplotène de la prophase méiotique jusqu'à la décharge ovulante) sont entourés par des cellules issues du stroma ovarien (appelées cellules de la granulosa - GC), ils deviennent des follicules primordiaux. Ils sont rapidement frappés par l'atrésie puisqu'à la naissance, il n'y a plus qu'environ 400 000 ovocytes pour chaque ovaire. L'atrésie se poursuit et à la puberté il ne reste plus qu'environ 300 000 follicules primordiaux.

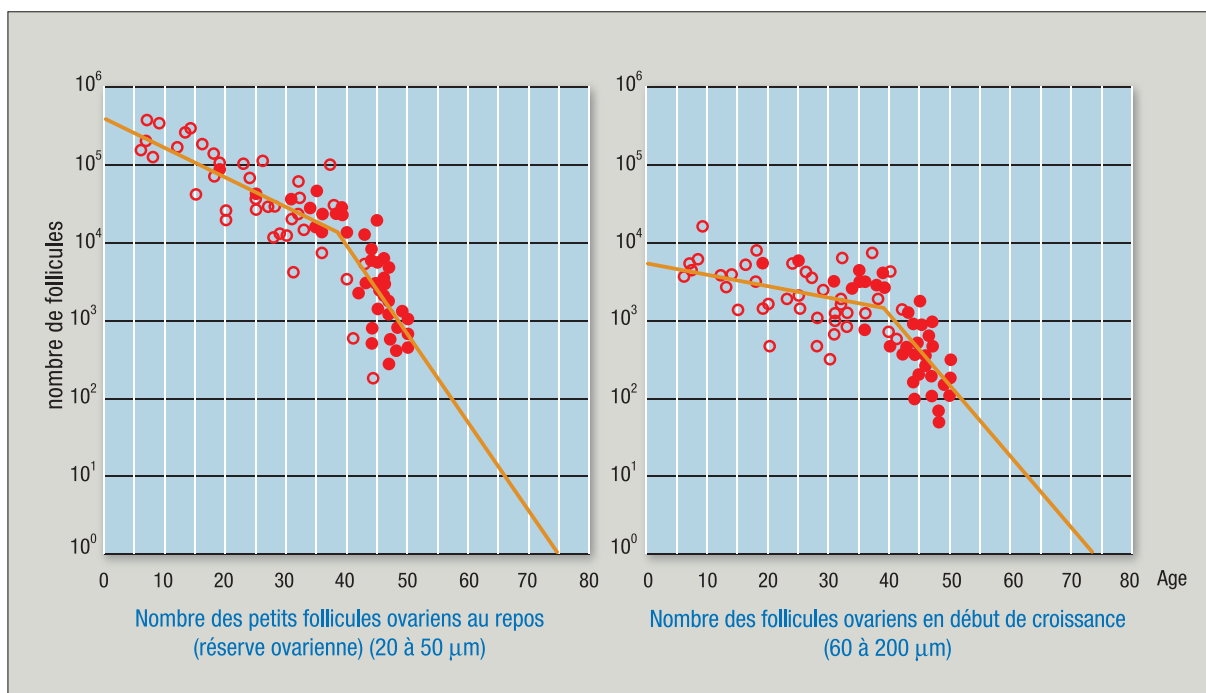
De ces 300 000 follicules primordiaux, la plupart vont disparaître par atrésie et, seulement 400 à 500 vont arriver jusqu'au stade d'ovule. Ainsi chaque mois, quelques dizaines de follicules (selon l'âge) entreront en croissance, parmi lesquels 1 seul ovulera, tandis que les autres s'involueront. Un processus indépendant des gonadotrophines (apoptose) entraîne la perte de la majorité des follicules. A la ménopause, il ne reste plus que 100 à 1000 follicules par ovaire.

La décroissance de l'effectif des follicules ovariens a particulièrement été étudiée par *Gougeon et al, 1994*.

Le comptage des follicules au repos (Non growing follicles, NGF [fig 1](#)), comprenant les follicules primordiaux et les petits primaires (20 à 50µm de diamètre), constituant la RO et des follicules en début de croissance (Early growing follicles, EGF), incluant les grands follicules primaires et secondaires (60 à <200 µm de diamètre) ([fig 2](#)) *Gougeon et al, 1994* été effectué sur des ovaires recueillis chez des patientes âgées de <50 ans ayant une pathologie gynécologique n'affectant pas la fonction ovarienne (cancer du sein ou du col de l'utérus, fibroadénome). Le nombre des follicules au repos diminue drastiquement avec l'âge [tableau 1](#).

Ces comptages ont permis de proposer un modèle de décroissance du nombre des follicules. Ainsi, le taux de déplétion des NGF présente une accélération vers l'âge de 38 ans, cette décroissance du nombre des follicules primordiaux devient 3 fois plus rapide à partir de cet âge. C'est le nombre de follicules présents au moment de l'accélération de la décroissance du nombre des follicules, qui va déterminer l'âge de survenue de la ménopause.

Le nombre des EGF est beaucoup plus faible que le nombre de NGF au même âge.



**Figure 1 et 2 : Evolution du nombre de follicules ovariens au cours du vieillissement.**  
(Gougeon et al, 1994 - Block, 1952.)

## Différents stades de croissance des follicules dans les ovaires

Les follicules au repos entrent continuellement en croissance, si bien que le cortex ovarien d'une femme jeune contient des follicules à tous les stades de croissance, sauf le stade ovulatoire qui n'est observé que du 8/10e jour du cycle à l'ovulation.

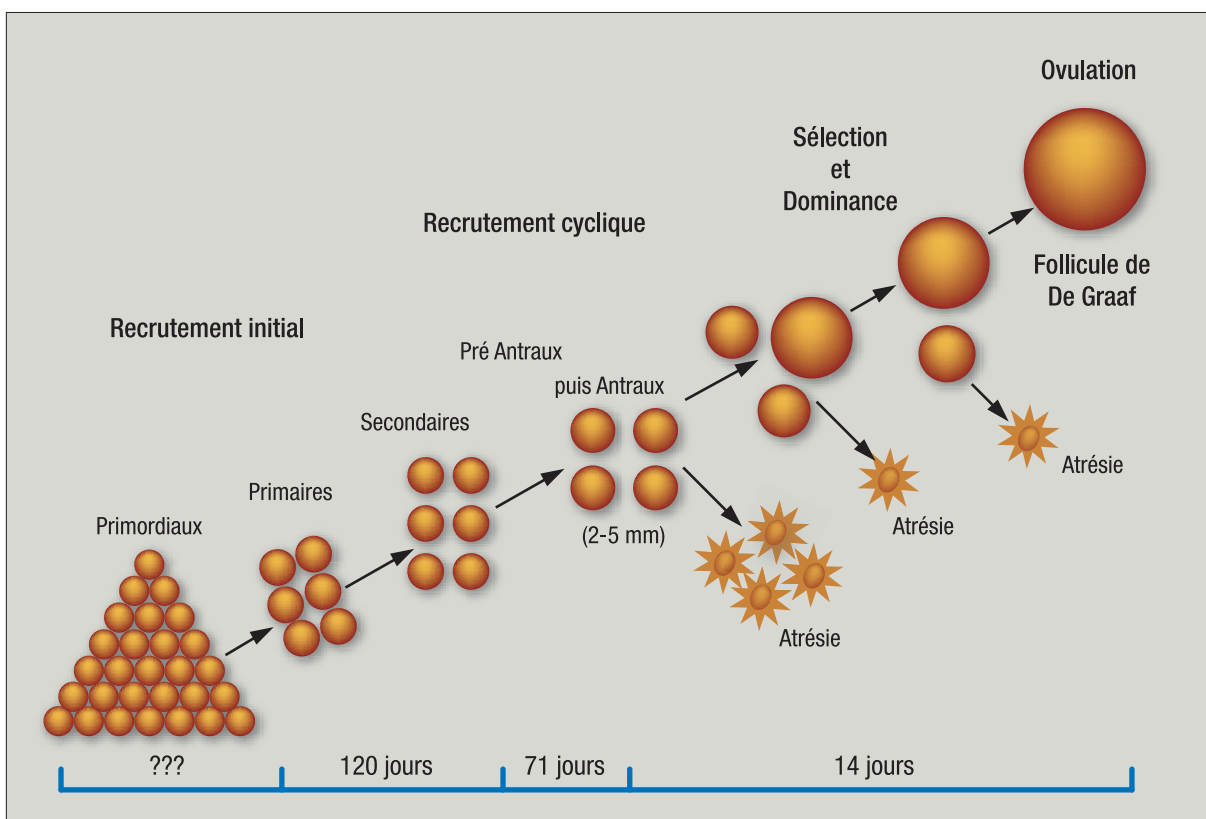
Chez la femme adulte, la majorité des follicules sont des follicules primordiaux, de diamètre <0.04 mm, avec un ovocyte entouré de CG aplaties, l'ensemble entouré par une lame basale. Ces follicules sont quiescents et ne répondent pas aux gonadotrophines.

Ils se transforment en follicules primaires de diamètre <0.1 mm lorsque les CG deviennent toute cuboïdes. Ces follicules primaires augmentent fortement de taille par augmentation du volume de l'ovocyte, séparé des CG par la zone pellucide, formée de glycoprotéines. Son diamètre passe

**Tableau 1 : Diminution du nombre des follicules au repos ( $\times 10^{-3}$ ) (moy  $\pm$  SEM) dans les ovaires de différents groupes d'âge (entre parenthèses : nombre d'ovaires étudiés) (Gougeon et al, 2005).**

	Groupes d'âge (en années)				
	19-30 (5)	31-35 (9)	36-40 (13)	41-45 (28)	> 46 (26)
F. primordiaux	51,9 $\pm$ 9,0	19,5 $\pm$ 2,8	9,1 $\pm$ 1,1	4,9 $\pm$ 1,5	1,3 $\pm$ 0,2
F. transitoires	21,8 $\pm$ 2,7	10,6 $\pm$ 1,7	6,0 $\pm$ 1,3	3,1 $\pm$ 0,7	0,9 $\pm$ 0,1
F. petits primaires	4,9 $\pm$ 0,6	2,3 $\pm$ 0,3	20,6 $\pm$ 3,7	0,7 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,1
Total	79,6 $\pm$ 12,4	33,3 $\pm$ 4,0	20,6 $\pm$ 3,7	8,9 $\pm$ 2,1	2,7 $\pm$ 0,4

alors d'environ 40  $\mu\text{m}$  à environ 100  $\mu\text{m}$ . Lorsque les CG forment deux couches, les follicules deviennent secondaires ; la zone pellucide s'épaissit. Puis avec la multiplication des CG, les follicules secondaires se transforment en **follicules préantraux**. La croissance des follicules primaires et secondaires (diamètre < 0.15 mm) est lente et dure 180 jours environ. Pendant la période préantrale les cellules du stroma cortical au contact de la lame basale s'organisent en 2 couches de cellules, les thèques internes et externes. Lorsque se forme une cavité (l'antrum), pour un diamètre d'environ 0,2 mm, remplie de liquide folliculaire le follicule devient un follicule à antrum. Il lui faudra environ 45 jours pour atteindre la taille de 2 mm. Les CG entourant l'ovocyte constituent un massif cellulaire faisant saillie dans l'antrum et appelé «cumulus oophorus». Les cellules du cumulus en contact avec la pellucide sont appelées cellules de la corona. Des connexions directes existent entre les cellules de la corona et l'ovocyte lequel est arrêté en prophase de méiose I. Les follicules antraux (2 à 5 mm) constituent un groupe de follicules au sein duquel sera sélectionné le follicule destiné à ovuler 15 jours plus tard (fig 3). La sélection est le résultat de multiples régulations intra et interfolliculaires induites par FSH. A tous les stades du développement, la diminution du nombre des follicules s'effectue par entrée dans la phase de croissance subséquente mais surtout par atresie. **Le nombre de follicules en croissance diminue au cours du vieillissement, et cette diminution s'accélère à partir de 40 ans (tableau 2)** (nous noterons que ce principe de stock folliculaire fixé dès la naissance, a été remis en question récemment tout au moins chez la souris (Johnson et al., 2004, 2005), toutefois, la plupart des études réalisées depuis, contestent cette remise en question (Telfer et al., 2005, Eggan et al., 2006, Veitia et al., 2007, Liu et al., 2007, Begum et al., 2008).



**Figure 3 : Etapes d'évolution des follicules primordiaux jusqu'au follicule de De Graaf.**

**Tableau 2 : moyenne  $\pm$  SEM des follicules en croissance par ovaire au cours du vieillissement** (entre parenthèses : nombre d'ovaires étudiés) . (Gougeon et al, 2005).

Follicule type	Groupes d'âge (en années)				
	19-30 (5)	31-35 (9)	36-40 (13)	41-45 (28)	> 46 (26)
F. préantral (0,1-0,2)	26,8 $\pm$ 2,5	14,9 $\pm$ 3,5	23,0 $\pm$ 4,4	10,1 $\pm$ 1,2	6,9 $\pm$ 1,0
Antral précoce (0,2-0,4)	31,4 $\pm$ 8,9	16,2 $\pm$ 4,1	19,8 $\pm$ 3,8	7,4 $\pm$ 1,2	5,9 $\pm$ 0,8
Petit antral (0,5-0,9)	16,6 $\pm$ 2,0	10,1 $\pm$ 1,9	9,8 $\pm$ 2,2	4,3 $\pm$ 0,7	2,5 $\pm$ 0,3
Petit antral (1-2)	13,4 $\pm$ 2,6	5,0 $\pm$ 1,0	5,6 $\pm$ 1,3	2,5 $\pm$ 0,5	1,0 $\pm$ 0,2
Sélectionnable (2-5)	10,6 $\pm$ 1,7	4,5 $\pm$ 0,7	6,0 $\pm$ 1,4	1,7 $\pm$ 0,3	1,1 $\pm$ 0,2
Grand sélectionnable (2-5) ou sélectionné	2,0 $\pm$ 0,8	1,5 $\pm$ 0,5	1,5 $\pm$ 0,4	0,8 $\pm$ 0,2	0,9 $\pm$ 0,2

Diamètre (mm)

## Conséquences de la diminution de la réserve ovarienne sur la fécondité

La pratique de la FIV a montré que la fécondité diminue avec l'âge (FIVNAT 2002). Dans le [tableau 3](#) on observe que le nombre de grossesse clinique diminue par ponction au cours du vieillissement et surtout à partir de 40 ans. Egalement le rapport du nombre d'accouchements au nombre de grossesses diminue, surtout à partir de 45 ans, ce qui indique que le taux d'avortements spontanés augmente avec l'âge. Ces avortements peuvent être dus à la diminution de la qualité des ovocytes avec l'âge ou à une diminution de la réceptivité de l'endomètre.

**Tableau 3 : Résultats de la FIV en fonction de l'âge des patientes. (pour 100 patientes). La colonne 2 indique le nombre de grossesses par ponction, la colonne 3 le nombre d'accouchements par grossesse et la colonne 4 le nombre d'accouchements par ponction.** (FIVNAT 2002) (Gougeon et al, 2005).

Age	Grossesses par ponction	Accouchement par grossesses	Accouchement par ponction
$\leq 24$	21,3	79,7	17,2
25-29	23,4	84,0	19,8
30-34	23,7	83,3	20,0
34-37	21,6	78,6	17,2
38-39	18,3	72,4	13,1
40-41	15,1	68,8	10,5
42-44	10,0	64,7	6,5
38-39	18,3	72,4	13,1
$\geq 45$	3,0	28,6	0,7



## Augmentation de la fréquence des avortements avec l'âge et diminution de la qualité des ovocytes

La qualité des ovocytes diminue avec l'âge, tandis que la fréquence des anomalies chromosomiques augmente avec l'âge. A l'âge de 25 ans, le risque d'avortement spontané est de 10%, tandis qu'à 45 ans, la moitié des grossesses se termine par une fausse couche (*Aymé & Lippman-Hand, 1982*). En outre comme la plupart des avortements spontanés surviennent trop tôt pour être détectés puisqu'ils coïncident avec la date attendue des règles, il a été calculé que la probabilité d'avortement spontané augmente régulièrement de 45% à l'âge de 18 ans, à environ 92% à l'âge de 38 ans (*O'Connor et al, 1998*).

Ces observations sont cohérentes avec le taux d'aneuploïdies élevé (51%) constaté sur les caryotypes des embryons obtenus par FIV, chez les femmes de >35 ans (*Plachot, 2003*).

## Réceptivité de l'endomètre

La réceptivité de l'endomètre diminue avec l'âge, et ceci pour plusieurs raisons :

- la perturbation de la vascularisation de l'endomètre avec l'âge, comme le montre le «modèle du don d'ovocytes». Les taux de grossesse en effet présentent un discret fléchissement après 45 ans, alors que les traitements de substitution hormonale sont identiques, et que le facteur ovocytaire ne peut être mis en cause, puisque les ovocytes proviennent de «donneuses» jeunes.
- la présence de lésions endométriales post-traumatiques responsables de synéchies ou de polypes.
- le développement avec l'âge, de fibromes utérins qui lorsqu'ils atteignent la muqueuse endométriale peuvent générer des métrorragies et affecter les fonctions de reproduction.
- une maturation endométriale insuffisante en rapport avec un raccourcissement du cycle par accélération de la phase folliculaire au cours du vieillissement (voir plus loin dans le manuscrit).
- à un stade plus avancé de l'insuffisance ovarienne, l'absence d'estrogènes conduit à une atrophie endométriale que seule un traitement hormonal substitutif pourra corriger.

# Déroulement du cycle menstruel

---

## Maturation préovulatoire et phase folliculaire

Jusqu'à un diamètre d'environ 2 mm, les follicules se développent lentement, en réponse à des facteurs locaux, produits par la granulosa, la thèque interne et l'ovocyte, dans une relative indépendance vis à vis de **FSH**.

A partir de l'élévation des taux circulants de **FSH** observés en fin de phase lutéale, au moment de la régression du corps jaune cyclique, quinze jours sont nécessaires pour que le follicule sélectionné (2 -5 mm de diamètre) devienne le follicule ovulatoire (15 à 20 mm de diamètre). Ce follicule est sélectionné au sein de la cohorte des follicules de 2 à 5 mm de diamètre présents au moment de la régression du corps jaune (la fenêtre de sélection). Ces follicules peuvent être visualisés par échographie (au mieux le 3ème jour du cycle). Les follicules non sélectionnés disparaîtront par atresie. Au cours de la phase folliculaire, la croissance du follicule sélectionné est sous la dépendance stricte de **FSH** ; son diamètre passe de 2-5 mm à 16-20 mm, et le nombre de ses GC, d'environ 2 millions à près de 50 millions. A ce stade de développement, les cellules de la thèque interne (site de synthèse des **androgènes** dès leur apparition au stade préantral) voient s'accroître considérablement leur capacité à produire la  **$\Delta$ 4-androstènedione** et la **testostérone** à partir de la **prégnénone**. Cette synthèse, stimulée par l'action de la **LH** sur ses récepteurs présents sur les cellules de la thèque, implique les enzymes suivantes : enzyme de clivage de la chaîne latérale du cholestérol : (P450<sub>SCC</sub>), 3 $\beta$ -hydroxystéroïde déshydrogénase : (3 $\beta$ -HSD), 17 $\alpha$ -hydroxylase/desmolase (P450<sub>17 $\alpha$ /desmolase</sub>) (fig 4).

Après passage dans les cellules de la granulosa, les androgènes sont aromatisés en **oestrone (E1)** et **estradiol (E2)** par l'aromatase (P450<sub>AROM</sub>) stimulée par la **FSH**, agissant via l'IGFII, (théorie 2 cellules-2 gonadotrophines, fig 5). Chez la femme, le principal androgène produit par la thèque interne est l'**androstènedione** ; il est aromatisé en **E1** puis transformé en **E2** par action de la 17 $\beta$ -hydroxystéroïde déshydrogénase : (17 $\beta$ -HSD). L'acquisition par les CG des récepteurs à **LH** pendant la phase folliculaire tardive permet à cette hormone de stimuler l'aromatase et ainsi, de compenser la chute des niveaux circulants de **FSH**.

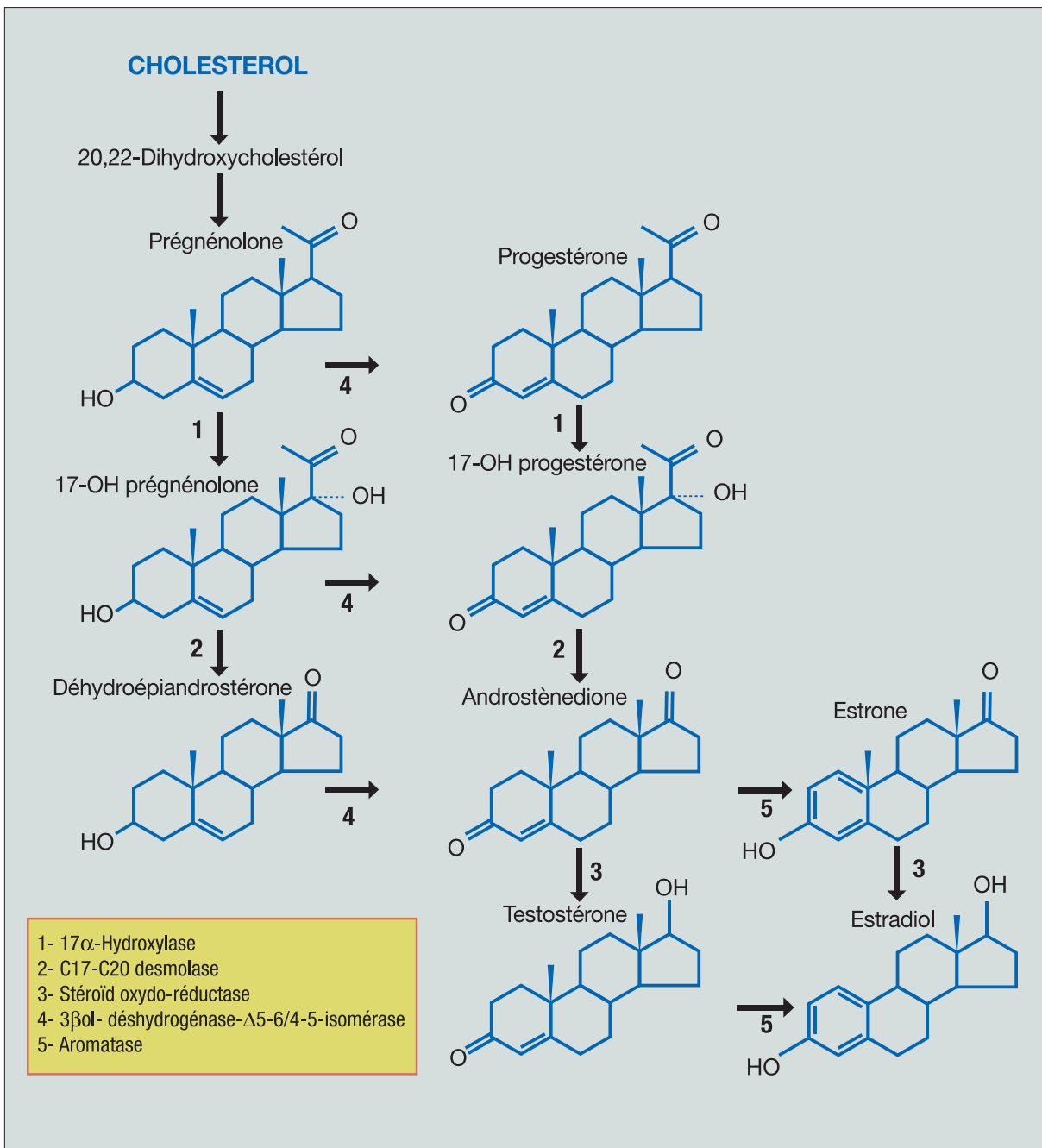
## Concentrations des stéroïdes dans le liquide folliculaire au cours du cycle

L'évolution des synthèses des stéroïdes au cours du cycle menstruel peut être suivie par leurs dosages dans le liquide folliculaire.

La concentrations moyenne d'E2 augmente de 658 pg/ml dans le follicule nouvellement sélectionné à 2396 pg/ml dans le follicule préovulatoire avant la décharge ovulante. Parallèlement les concentrations des précurseurs androgéniques diminuent, et celles de la **17-hydroxyprogestérone** et de la **progestérone** augmentent comme il est rapporté dans le [tableau 4](#).

**Tableau 4 : concentrations moyennes dans le liquide folliculaire en pg/ml, du follicule sélectionné jusqu'au follicule préovulatoire** (Brailly et al, 1981).

Type de follicule	E2	A + TT	17-HO P	Prog
Nouvellement sélectionné	658	487	713	417
Préovulatoire au pic d'E2	2395	203	1002	1228
Juste après pic de LH	1109	79	2034	7773



**Figure 4 : Biosynthèse des stéroïdes ovariens**

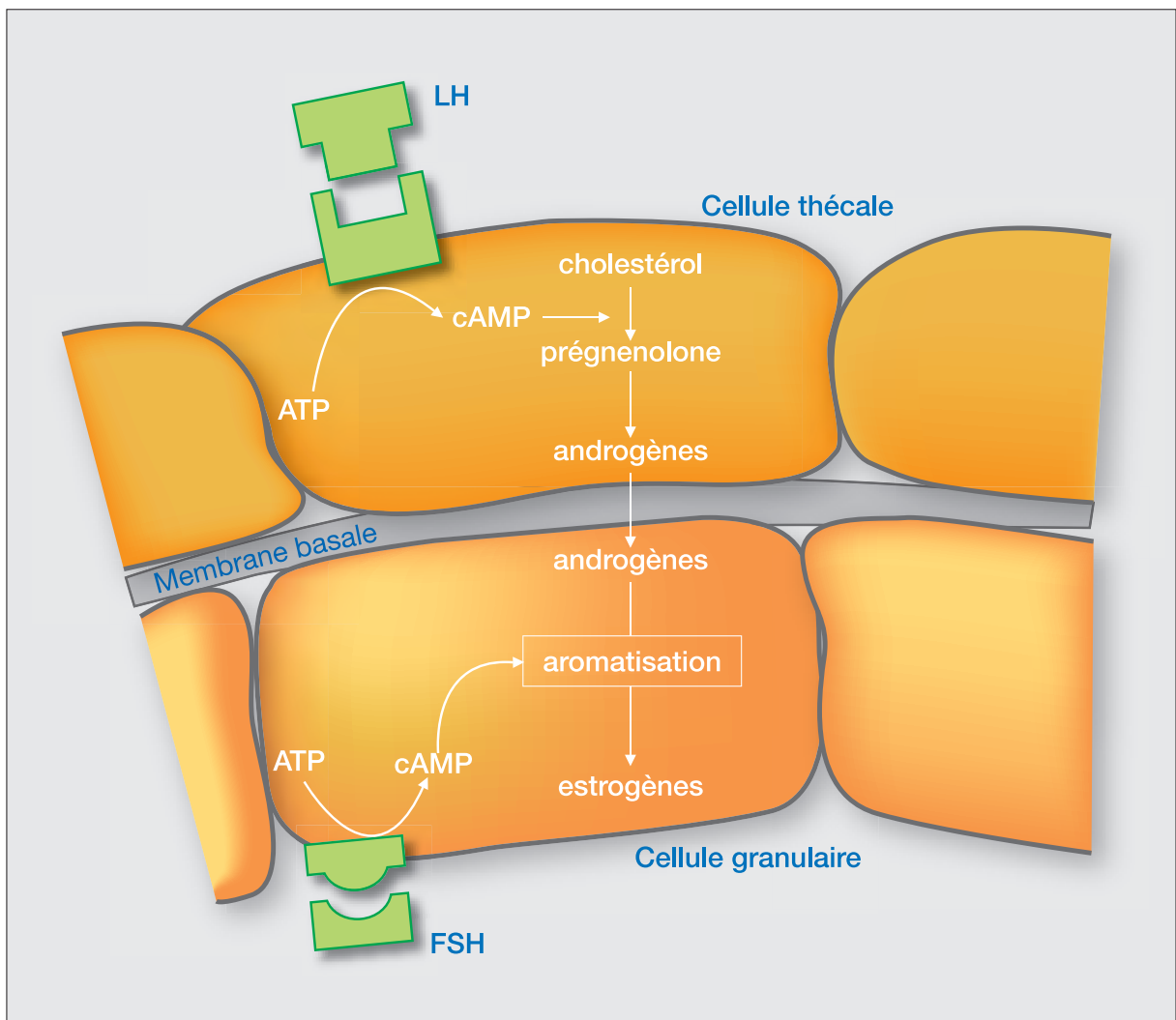


Figure 5 : Concept “deux gonadotrophines-deux cellules”

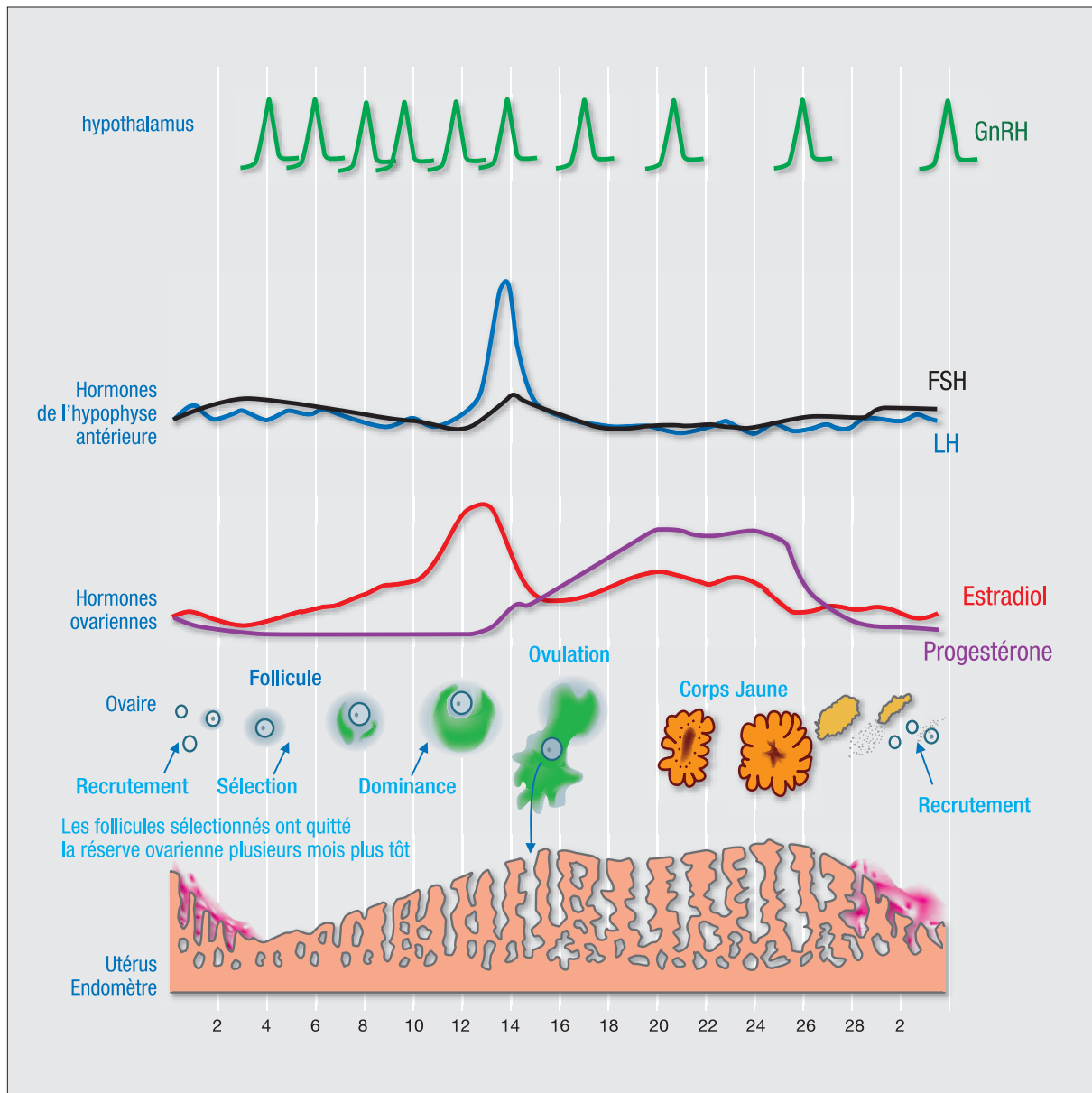
La chute de la **FSH**, concomitante de l’augmentation des concentrations circulantes croissantes d’**E2** en phase préovulatoire, contribuerait à la dominance du follicule préovulatoire, conduisant les autres follicules, moins sensibles à la **FSH**, vers l’involution (*Zeleznik et al.*). Toutefois cette dominance pourrait être due à la libération par le follicule préovulatoire de protéine(s) inhibitrice(s) non encore identifiées (*Goodman et Hodgen, 1983 ; Gougeon et Testart, 1990*)

En fin de la phase folliculaire, l’augmentation de la concentrations d’**E2** induit le déclenchement de la décharge ovulante de **LH** et **FSH**, et conduit à la reprise de la méiose ovocytaire, à la lutéinisation de la paroi folliculaire et à l’ovulation.

Ainsi, l’ovocyte reprend sa méiose bloquée en prophase de 1ère division et se bloque à nouveau en métaphase de 2ème division jusqu’à une éventuelle fécondation. Quant à la granulosa, elle se lutéinise et est envahie par les capillaires et les cellules du stroma en provenance de la thèque interne après rupture de la lame basale.

## Phase lutéale

Le corps jaune synthétise de la progestérone et de l'**E2**. Le corps jaune ne sera fonctionnel que si la décharge de **LH** a atteint un niveau suffisant. Sous l'effet de la **progestérone**, la pulsativité du **GnRH** diminue. Elle passe de un pic de **LH** toutes les 90 minutes en phase folliculaire à un pic toutes les 4 heures en phase lutéale. (fig 6). En absence de grossesse, le corps jaune s'involue par apoptose en fin de cycle. Seules des concentrations croissantes d'hCG en cas de grossesse permettent la pérennisation du corps jaune.



**Figure 6 : Évolution schématique des concentrations des hormones de l'axe hypothalamus-hypophyse-ovaires, des follicules recrutés, et de l'endomètre.**

## Contrôle ovarien de la sécrétion des gonadotrophines

L'**E2** et les **inhibines A et B** sont les principaux régulateurs ovariens de la sécrétion des gonadotrophines (fig 7). L'**E2** exerce un rétrocontrôle négatif. (les sujets déficients en aromatasase ont des taux élevés de gonadotrophines) puis un rétrocontrôle positif sur l'hypophyse, permettant une décharge de **LH** à mi-cycle, en relation avec l'augmentation de la réponse hypophysaire au **GnRH** (augmentation du nombre de ses récepteurs). Ces rétrocontrôles, négatif et positif, exercés par l' **E2** sont modulés par le système des **kisspeptines/GPR54** (fig 8) (Messenger et al, 2005). Ainsi l'injection d'un anticorps anti kisspeptine dans le noyau antéroventral périventriculaire (AVPV) chez l'animal, bloque la décharge ovulante induite par l'**E2** (Kinoshita et al, 2005). L'expression de kiss est stimulée au niveau des noyaux AVPV par l'**E2** alors qu'elle est diminuée dans les noyaux ARC.

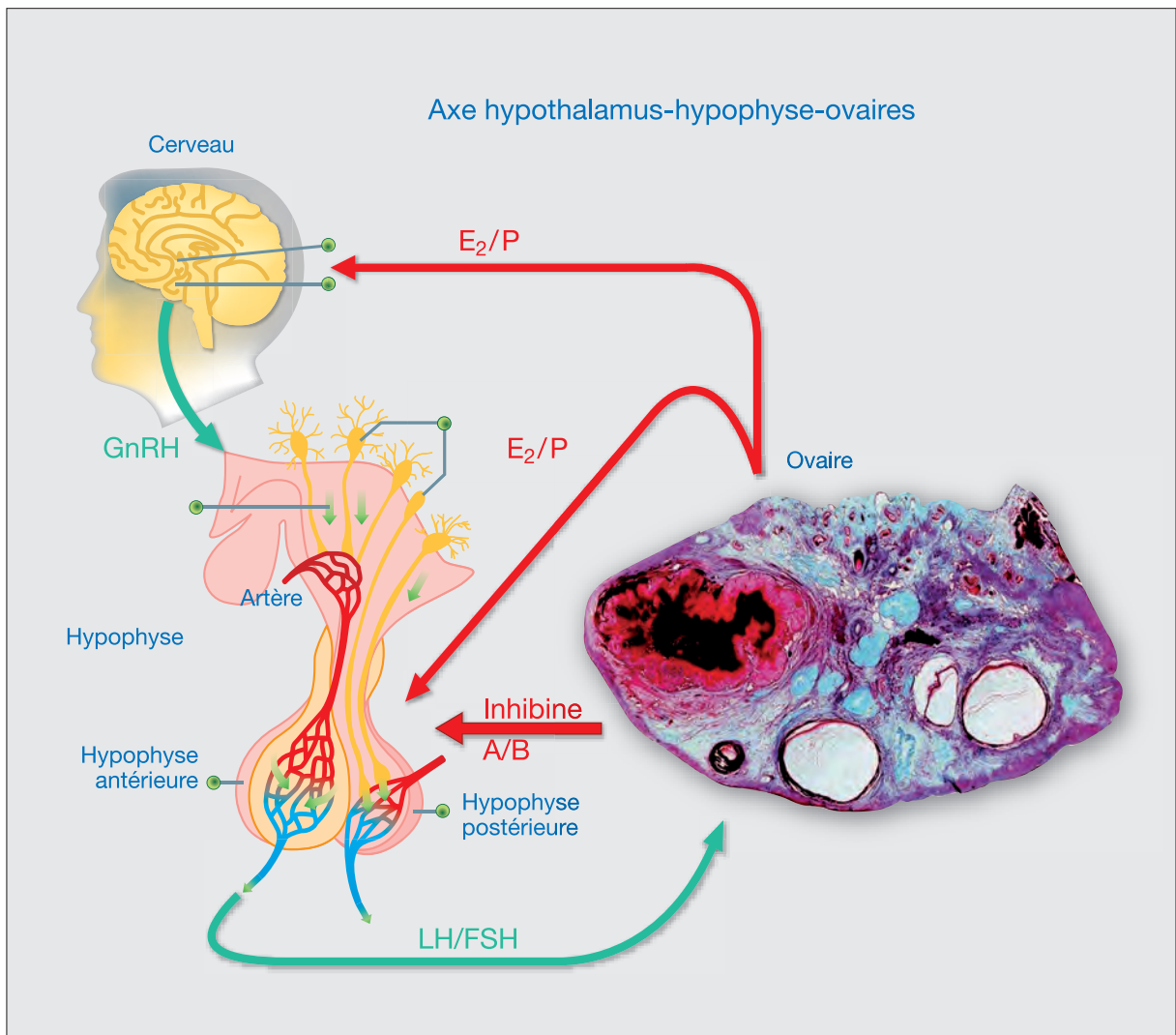


Figure 7 : Régulation et rétro-contrôles de l'axe hypothalamus-hypophyse-ovaires.

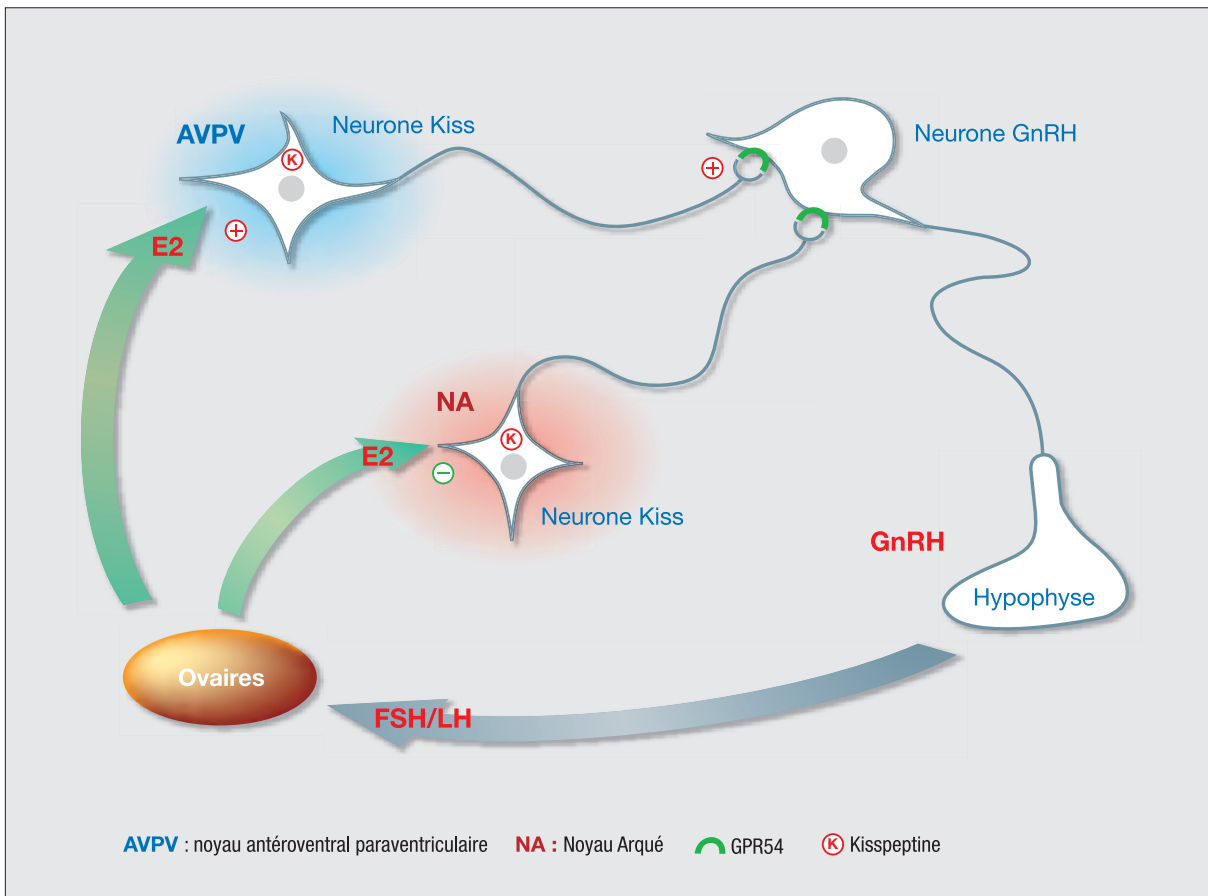


Figure 8 : Le système Kiss dans la régulation de l'axe gonadotrope

## Variations hormonales plasmatiques au cours du cycle menstruel chez la femme jeune (Fig 9)

Les concentrations d'**E2** et d'**inhibine A** sont relativement stables et plutôt basses dans la première moitié de la phase folliculaire, suivies par une augmentation dans la deuxième moitié de la phase folliculaire, avec un pic 24 heures avant le pic de **LH**. Les concentrations de ces 2 hormones chutent après le pic de **LH** puis s'élèvent à nouveau parallèlement à l'augmentation des concentrations de **progestérone**. Les concentrations de ces 3 hormones chutent avant l'apparition des règles.

L'**inhibine B** augmente pendant la phase de transition lutéo-folliculaire et la phase folliculaire précoce, puis diminue parallèlement aux concentrations de **FSH**. Ces 2 hormones présentent un pic à mi cycle (décharge de **FSH/LH**). Puis pendant la phase lutéale, l'**inhibine B** atteint ses concentrations les plus faibles.

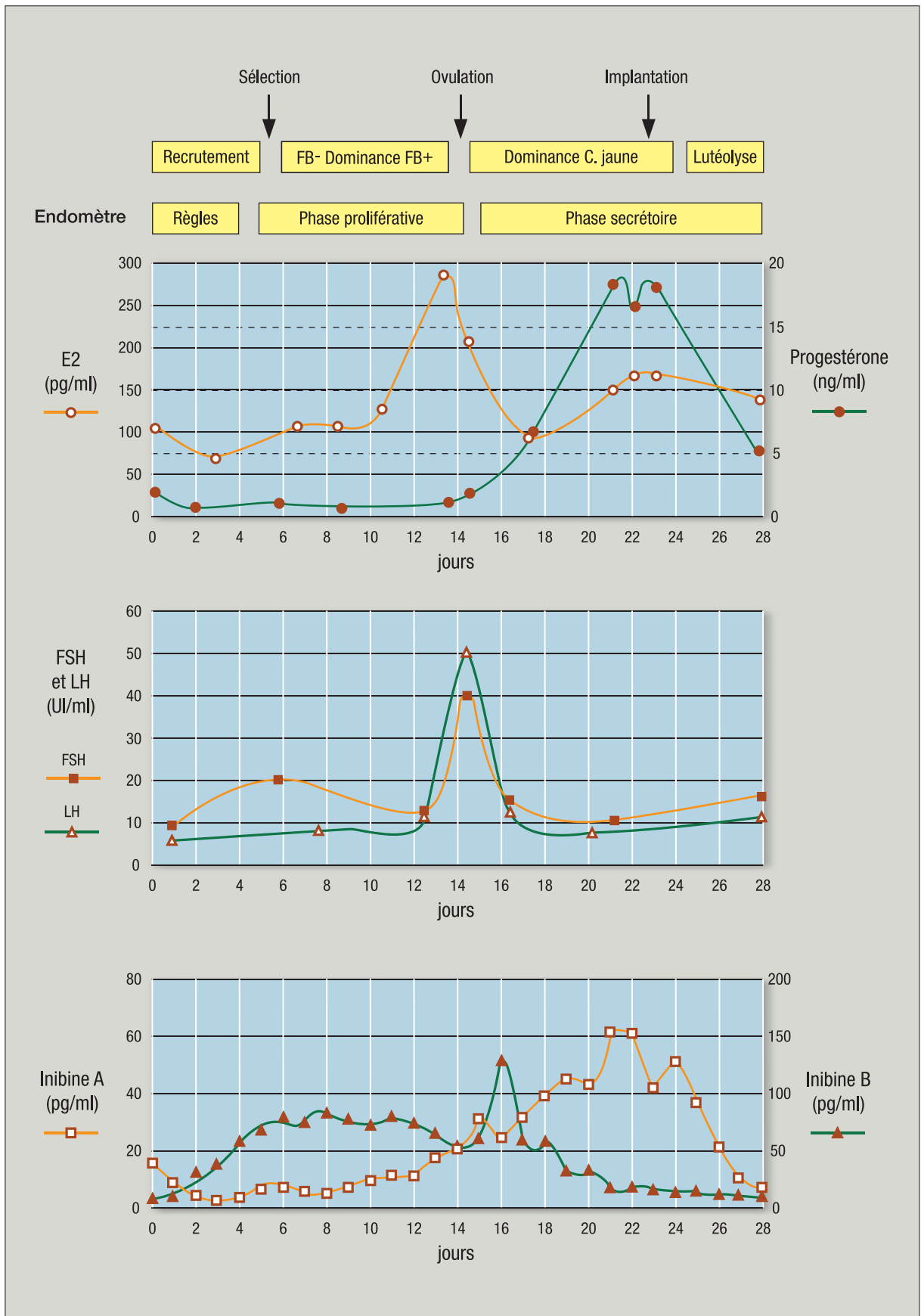


Figure 9 : Cycle menstruel



# Le vieillissement des sécrétions hormonales de l'ovaire

---

La réserve ovarienne, constituée par le pool des follicules au repos, diminue avec l'âge, entraînant une baisse des fonctions de reproduction. La taille de la réserve ovarienne est déterminée très tôt au cours de la vie fœtale. A la naissance il y a environ 800 000 follicules dans la réserve. Ce nombre diminue jusqu'à 300 000 à 500 000 à la puberté. Tout au long de la vie, des follicules quittent le pool pour entrer en croissance. Si la majorité d'entre eux disparaîtra par atrophie, certains pourront, grâce à l'action de la **FSH**, atteindre une taille de quelques mm de diamètre et constituer la population des follicules au sein de laquelle le follicule ovulatoire sera sélectionné. C'est seulement à la puberté que la sélection devient opérationnelle en raison : 1) d'une élévation des taux circulants de **FSH** permettant de soutenir la croissance d'un follicule préovulatoire, et 2) de la maturation de l'axe HHO permettant les rétrocontrôles de l'**E2**.

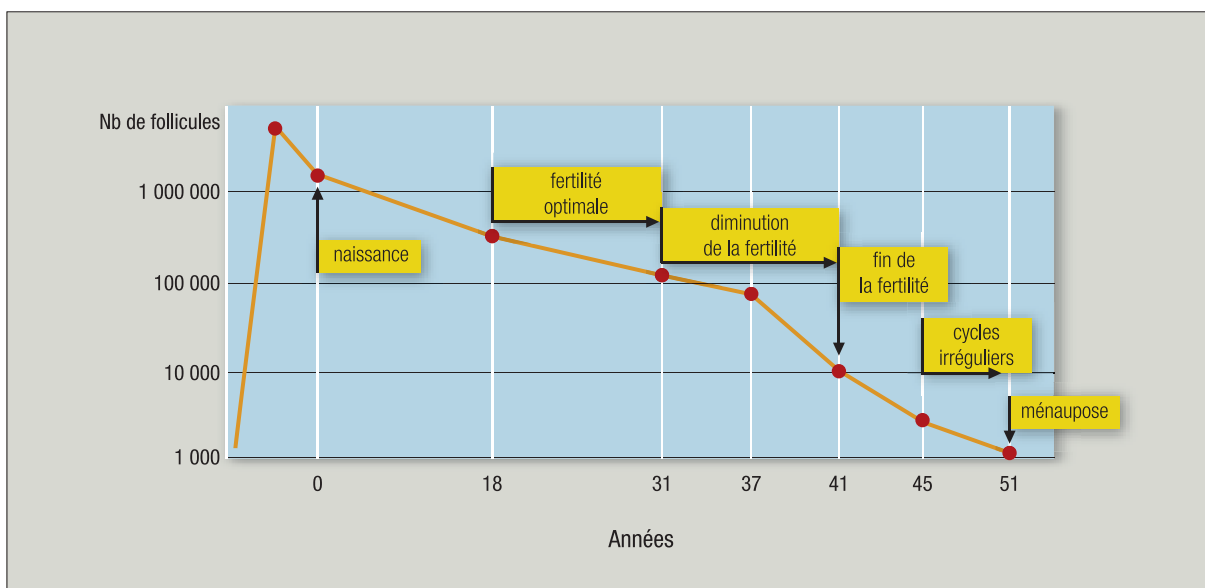
Le processus de mort des follicules primordiaux se poursuit pendant toute la vie jusqu'à ce que le pool soit presque épuisé, réduisant drastiquement le nombre des follicules en croissance et la possibilité qu'un follicule préovulatoire puisse émerger, d'où la ménopause. La baisse graduelle du nombre des follicules primordiaux a comme conséquence une baisse de la fertilité à partir de l'âge de 30 ans, elle s'accélère vers 35-40 ans et une infertilité survient à un âge moyen de 42 ans. La probabilité de non conception d'un premier enfant dans l'année avec des rapports non protégés, est de 5% entre 20 et 25 ans, et de 30% après 35 ans (*Abma et al, 1997*).

En fait, la vitesse de décroissance du nombre des follicules primordiaux, comme décrit par *Gougeon et al, 1994*, semble constante jusqu'à 38-40 ans. A partir de ce moment, donc environ 10 ans avant la ménopause, la vitesse de décroissance s'accélère brutalement. Les cycles menstruels deviennent irréguliers environ 4-5 ans, en moyenne, avant la ménopause, c'est la péri-ménopause et sa période de transition accompagnée de modifications cliniques et hormonales importantes annonçant l'arrêt définitif des menstruations ou ménopause, qui survient en moyenne à 51 ans dans les pays occidentaux. Toutefois, il existe une importante variabilité de l'âge de survenue de la ménopause et de la durée de la période de «sub fertilité» (*te Velde, & Pearson, 2002*). (fig 10)

La diminution de la réserve ovarienne est associée à des modifications de fonctionnement de l'axe HHO et des concentrations plasmatiques des hormones de cet axe au cours du vieillissement, à savoir le **GnRH** (non dosé dans le sang), **FSH**, **LH**, **E2**, **estrone (E1)** et **glucuronide d'estrone**, **progestérone** et son métabolite principal le **prégnanediol**, la **17-alpha hydroxyprogestérone**, la **Δ4-androstènedione**, les **inhibines A et B**, et l'**hormone anti-Mullérienne (AMH)**. Ce sont ces modifications que nous examinerons.

Certaines de ces hormones sont dosées dans le but d'apprécier la taille de la réserve ovarienne et donc la faculté de la patiente à concevoir.

L'examen des variations hormonales de l'axe HHO au cours du vieillissement avant la ménopause, se fera d'une part avant la période de péri-ménopause, période où débutent les irrégularités menstruelles, puis dans la période de péri-ménopause qui précède et suit la date de la dernière menstruation.



**Figure 10 : La diminution du pool ovocyte/follicule et la variation de la fertilité au cours du vieillissement** (te Velde, Pearson ;.2002)

## **Viellissement hormonal de l'axe HHO avant la périménopause**

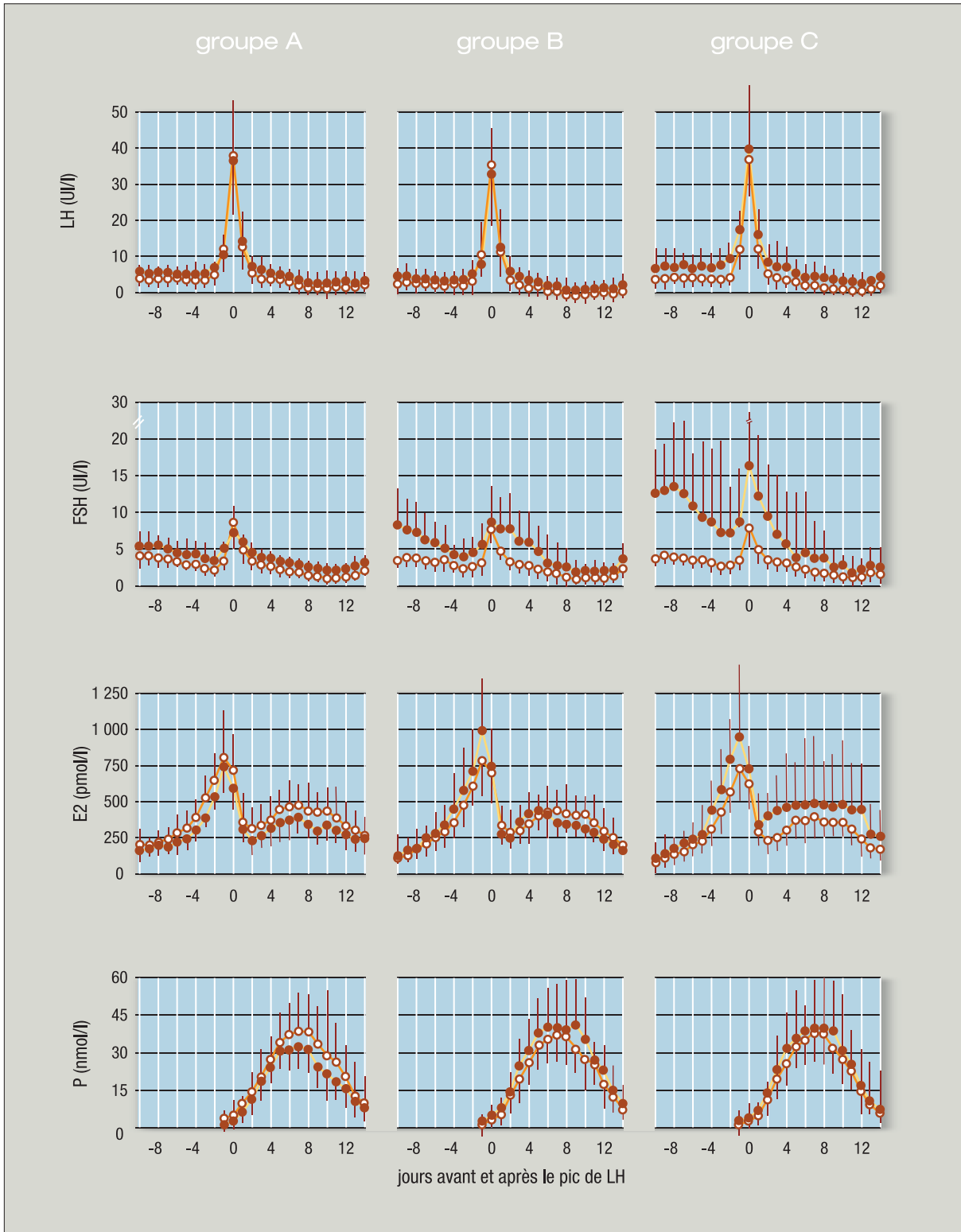
### **FSH**

La première manifestation du vieillissement hormonal de l'axe HHO est l'augmentation de la **FSH**. *Ahmed Ebbiary et al, 1994* rapportent une augmentation de la FSH dès l'âge de 27 ans chez 500 femmes âgées de 25 à 44 ans, normalement réglées et dosés les 4e, 5e, et 6e jours du cycle menstruel.

L'augmentation de la **FSH** tout le long du cycle et en particulier à mi-cycle au moment de l'ovulation a été rapportée par *Lee et al, 1988* sur 3 groupes de femmes d'âges croissant, 35-40, 41-45, et 46-50 ans, comparés à des femmes plus jeunes (25-30 ans) ([fig 11](#)).

Par contre, les profils de **LH** dans les groupes 35-40 ans et 40-45 ans dans les jours qui précèdent et qui suivent la décharge ovulante ne montrent pas de différence significative avec ceux mesurés chez les femmes jeunes. Une petite augmentation de la **LH**, dans la phase folliculaire par rapport aux contrôles est cependant observée chez les femmes plus âgées

L'augmentation de la **FSH** a été corroborée par *Klein et al, 1996* ([fig12](#)), dans un groupe de femmes âgées de 40 à 45 ans par rapport à des femmes jeunes de 20 à 25 ans, ainsi que par *Welt et al, 1999* dans un groupe de femmes de 35 à 45 ans par rapport à des femmes de 20 à 34 ans ([fig 13](#)). L'augmentation de la FSH est particulièrement significative en phase folliculaire précoce et au moment du pic ovulatoire.



**Figure 11 :** Évolution des concentrations de la FSH LH E2 et de la progestérone (P), dans 3 groupes de femmes normales, âgées de 35 à 40 ans (A), 41 à 45 (B), et 46 à 50 (C) ans, (●), comparées à celles de femmes jeunes (○) (Lee et al, 1988)

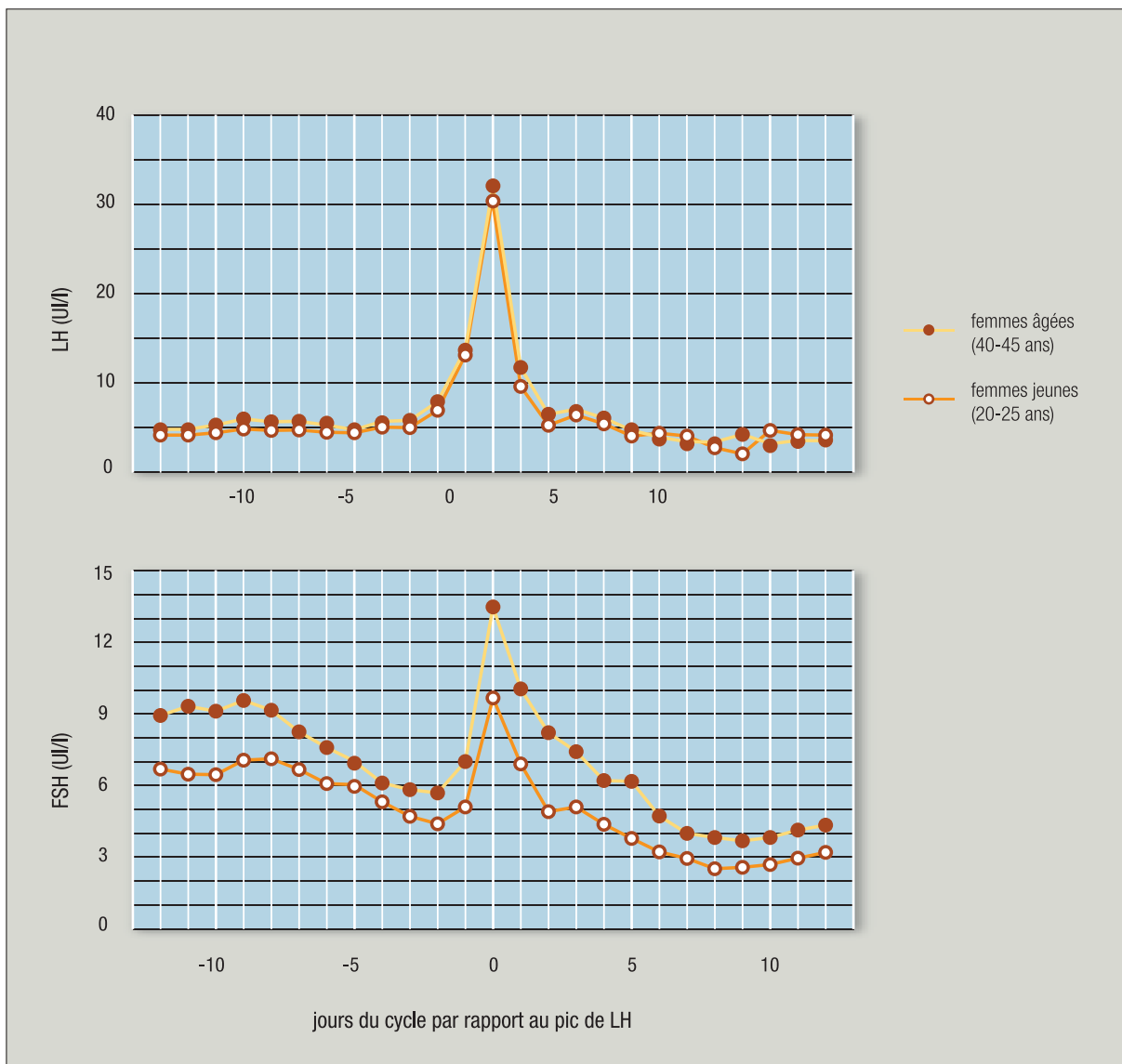
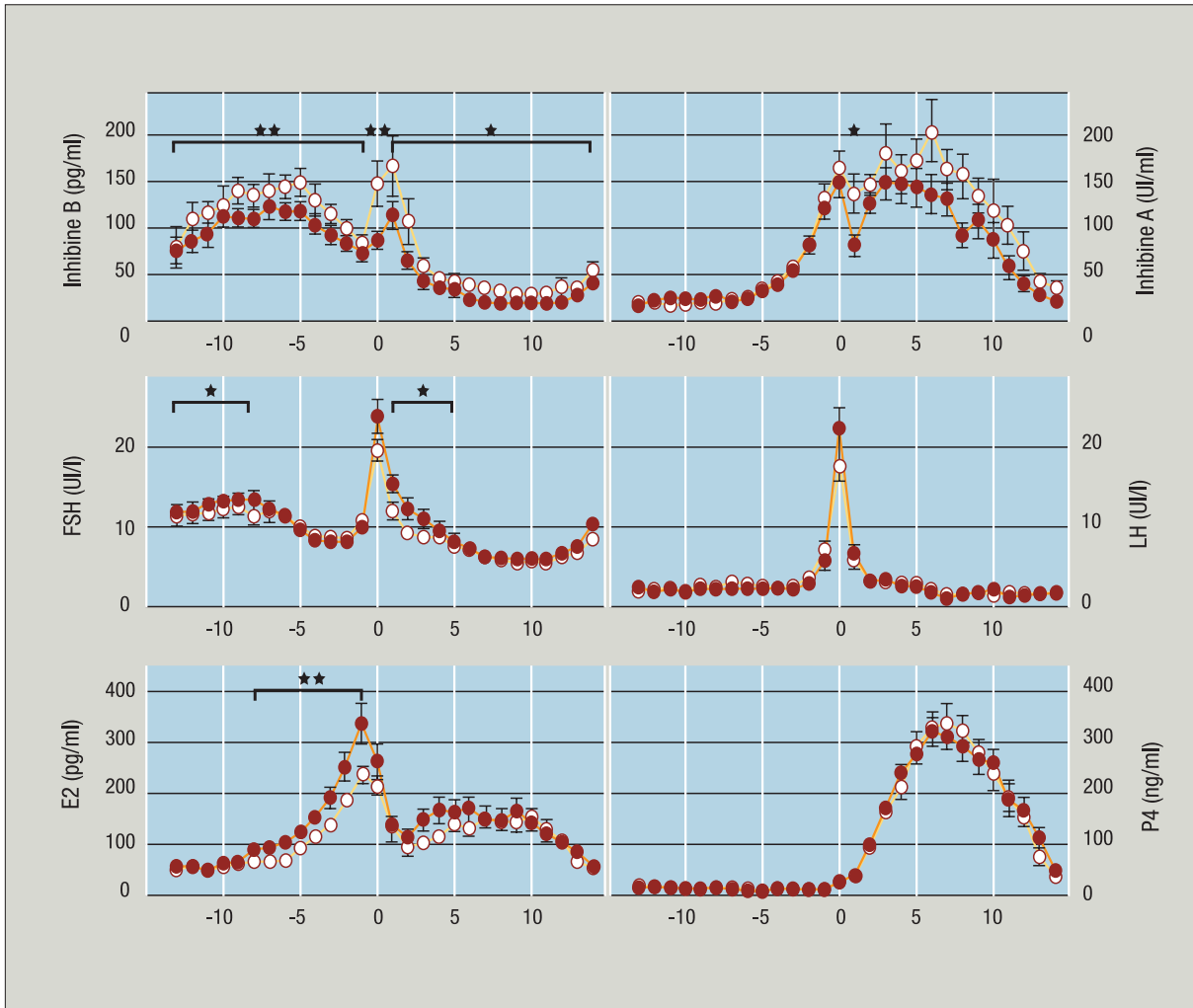


Figure 12 : FSH et LH par rapport au pic de LH chez des femmes jeunes (n=12) et âgées (n=18) Klein et al, 1996)

## E2 et précurseurs E1 et SE1

Malgré la diminution du nombre des follicules, avec l'âge, les concentrations d'E2 pendant la phase folliculaire ne diminuent pas chez les femmes avant la périménopause, au contraire elles auraient tendance à augmenter comme rapportées par Lee et al 1988,, Klein et al, 1996, Welt et al, 1999. Ainsi Welt et al, 1999 (fig13) rapportent des concentrations moyennes de E2 au cours de la phase folliculaire de  $90 \pm 5$  pg/ml chez des femmes de 20 à 34 ans, et de  $130 \pm 16$  pg/ml chez des femmes âgées de 35 à 46 ans (n=21). Cette augmentation d'E2 qui provient de l'aromatation des **androgènes** dans le follicule préovulatoire par l'aromatase est surprenante car les androgènes ovariens diminuent avec l'âge. Cependant, Welt et al, 2006 ont récemment mis en évidence une augmentation de l'activité aromatasique chez les femmes âgées de 36 à 45 ans par rapport à des femmes plus jeunes (21-35 ans), ainsi qu'une plus



**Figure 13 :** Variations, au cours du cycle menstruel chez 23 femmes jeunes (20-34 ans) (○) et 21 femmes âgées (35-46 ans) (●), des concentrations des inhibines A et B, de FSH, de LH, de E2 et de la progestérone. En abscisses, les jours du cycle sont représentés avant et après l'ovulation (\*p<0,04, \*\*p<0,02) (Welt et al. 1999).

grande sensibilité à FSH. Une plus grande réponse d'E2 à l'injection d'hCG, chez les femmes âgées de 31 à 44 ans par rapport à des femmes plus jeunes (20-30 ans) avait été rapportée par Piltonen et al, 2003.

Les précurseurs de l'E2, l'estrone (E1) et le sulfate d'estrone (SE1) ont été, jusqu'à présent, peu étudiés chez les femmes avant la ménopause. Eliassen et al. (2006) ont mesuré les concentrations d'E2 E1 et de SE1 chez des femmes normalement cyclées de 43 ans d'âge moyen, prélevées le 4e jour de la phase folliculaire et le 7e de la phase lutéale. (tableau 5).

**Tableau 5 :** concentration des estrogènes chez 350 femmes de 43 ans en moyenne et normalement cyclées. (Eliassen et al, 2006).

Conc en pg/ml	E2 moy et intervalles	E1 moy et intervalles	SE1 moy et intervalles
Ph. Folliculaire	44 (22-88)	39 (26-59)	667 (325-1414)
Ph lutéale	120 (69-192)	79 (50-119)	1521 (596-3141)

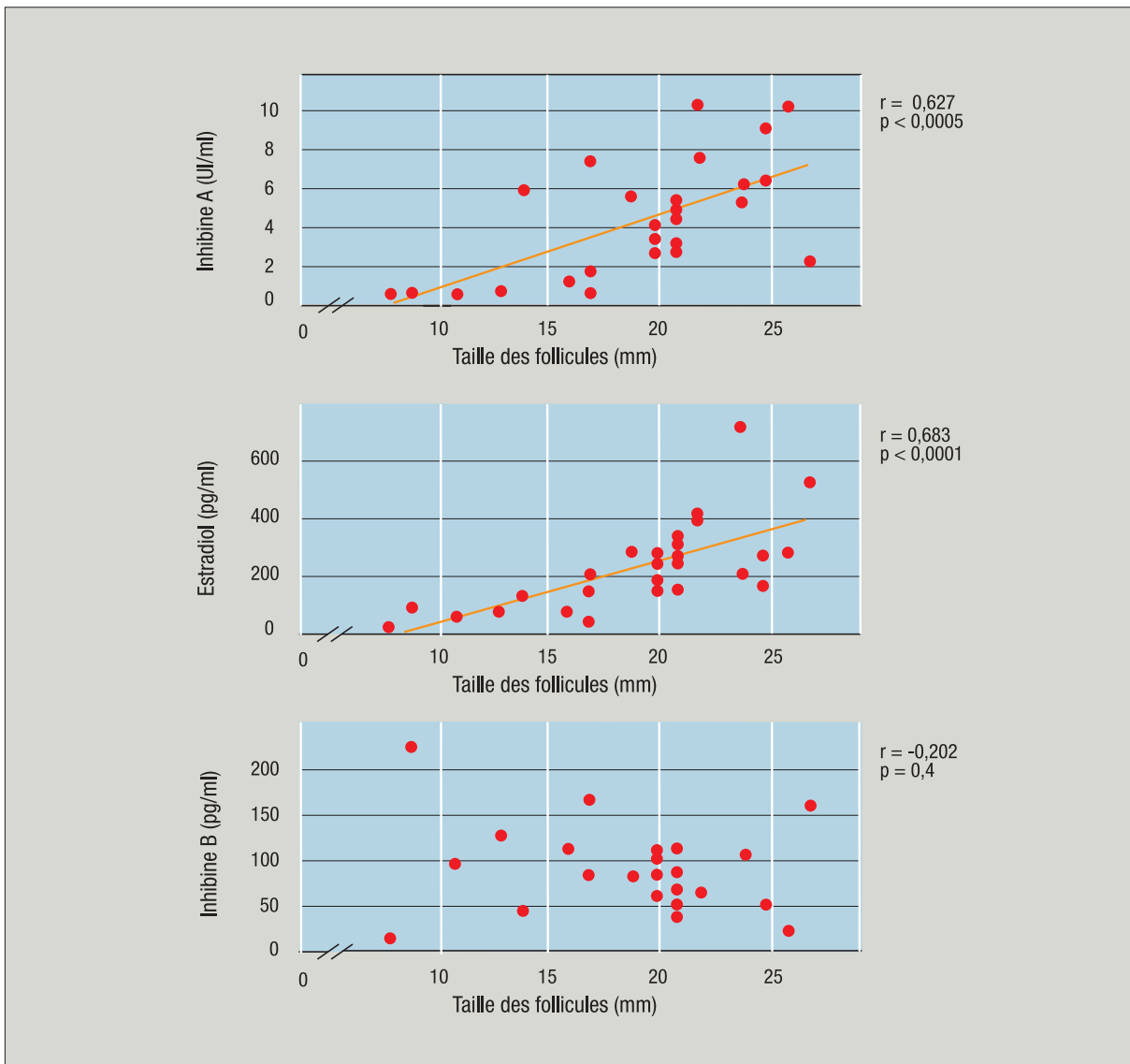
## Les inhibines

Les concentrations des **inhibines A et B (Inh A et B)** ont été déterminées en association avec **FSH, E2**, et la **progestérone** dans 2 groupes de femmes d'âge < 35 ans (20-34 ans) et >35 ans (35-46 ans), normalement cyclées, non traitées, de BMI 18 à 27. Une échographie transvaginale a également été effectuée tous les 3 jours pendant la phase folliculaire (*Welt et al, 1999*). Les résultats de la phase folliculaire sont rapportés dans la **tableau 6** et ceux des concentrations journalières dans la **figure 13**.

**Tableau 6 : Concentrations moyennes de la FSH (étalonnage avec la seconde préparation internationale de référence 71/223), des inhibines A et B et de l'estradiol E2, pendant la phase folliculaire, d'une part chez des femmes de <35 ans, et d'autre part chez des femmes de 35 ans à 46 ans.**

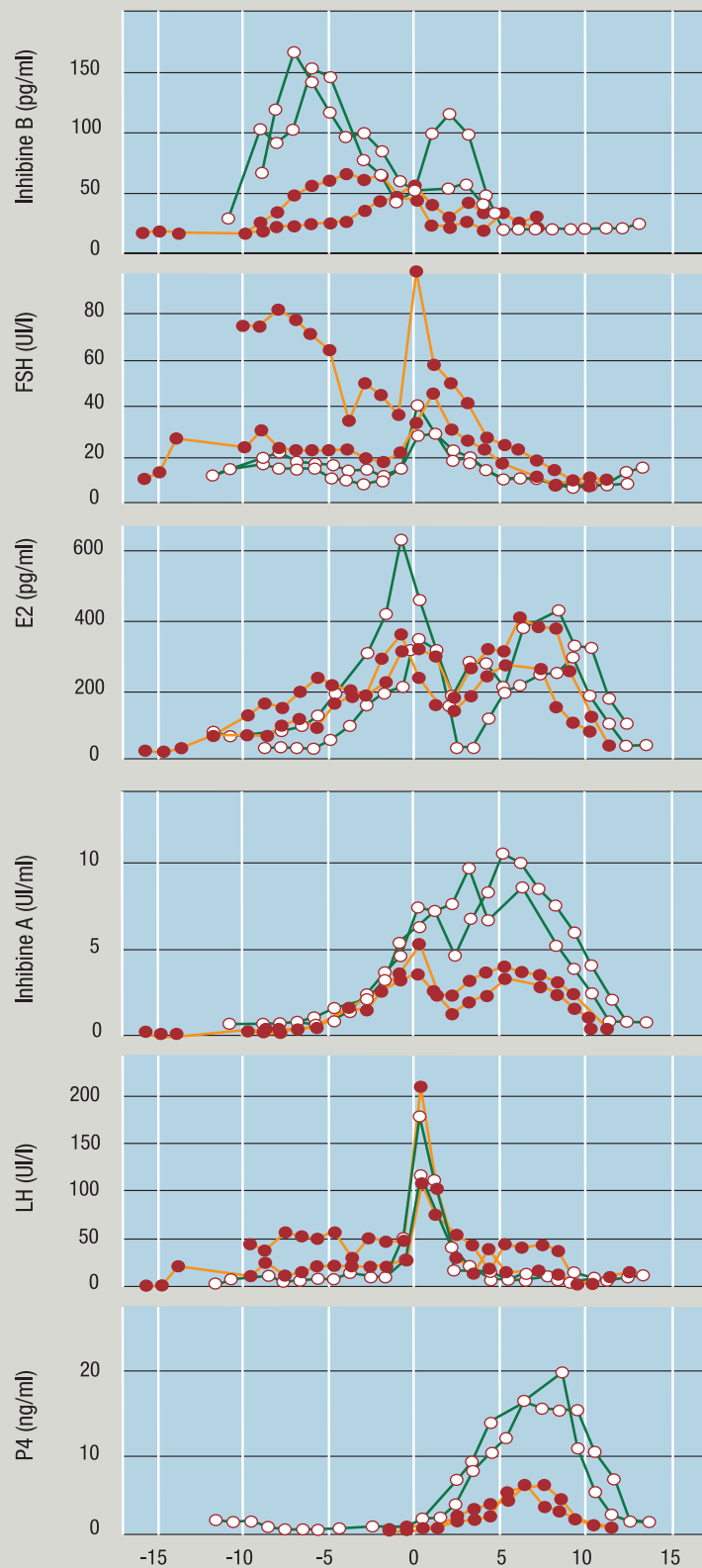
Hormones	Phase folliculaire (PF)	PF précoce	Milieu de la PF	PF tardive
FSH < 35 ans	10.6 ± 0.6	11.3 ± 0.7	11.3 ± 0.6	9.3 ± 06
FSH >35 ans	11.2 ± 0.5	13 ± 0.5	11.4 ± 0.8	8.8 ± 0.5
<b>Inh B pg/ml &lt;35</b>	<b>125 ± 9</b>	<b>112 ± 10</b>	<b>146 ± 10</b>	<b>117 ± 1</b>
<b>Inh B pg/ml &gt;35</b>	<b>96 ± 6</b>	<b>88 ± 7</b>	<b>117 ± 9</b>	<b>85 ± 8</b>
<b>Inh A UI/ml &lt;35</b>	<b>2.3 ± 0.3</b>	<b>1.2 ± 0.3</b>	<b>1.6 ± 0.4</b>	<b>7.9 ± 3.9</b>
<b>Inh A UI/ml &gt;35</b>	<b>2.1 ± 0.3</b>	<b>1 ± 0.2</b>	<b>1.3 ± 0.2</b>	<b>4.1 ± 0.5</b>
E2 pg/ml <35	90 ± 5	47 ± 4	68 ± 5	163 ± 9
E2 pg/ml >35	130 ± 16	64 ± 10	105 ± 14	240 ± 27

L'**inhB** est plus basse dans le groupe des sujets >35 ans que dans le groupe des femmes <35 ans, et ceci particulièrement dans la phase folliculaire précoce, alors que **E2** dans l'ensemble de la phase folliculaire est également plus élevée chez les femmes >35 ans, mais pas significativement dans la phase précoce. **L'inhB** (et **E2**) corrélient négativement avec la **FSH** dont les niveaux sont plus élevés chez les femmes les plus âgées. Ces résultats sont en faveur du rôle de Feed Back négatif de **l'inhB** en début de Phase folliculaire, mais pas dans le milieu de la phase folliculaire ou dans sa phase tardive, résultats qui indiquent que **l'inhB** est produit par les petits follicules antraux. En outre aucune relation n'est démontrée entre **l'inhB** et la taille du follicule dominant (*Welt et al, 1999*) (**fig 14**). Le déclin de **l'inhB** chez les femmes >35 ans survient à un moment où la fertilité commence à décroître, suggérant que **l'inhB reflète la diminution du nombre des follicules disponibles pour la sélection, donnant ainsi à l'inhB un rôle de marqueur dans l'appréciation de la réserve folliculaire ovarienne**. Quand les cycles deviennent irréguliers, **l'inhB** décroît encore plus dans la phase folliculaire précoce, en rapport avec l'augmentation de la **FSH**, comme le montrent les dosages effectués 2 fois au cours du cycle à 10 ans d'intervalles (à 36 ans et à 47 ans) (**fig 15**), chez le même sujet (étude longitudinale). Cependant à 47 ans nous sommes en périménopause. (voir plus loin dans le texte).



**Figure 14 : Corrélations entre la taille des follicules dominants et l'inhibine A, E2 et l'inhibine B.** (Welt et al, 1999)

L'inhA décroît non significativement dans le groupe des femmes >35 ans, au cours de cette étude transversale de la phase folliculaire, et les concentrations d'inhA corrént positivement (comme E2) avec le diamètre maximum du follicule dominant, contrairement à l'inhB (fig 14). Mais pendant la phase lutéale (fig 13), les concentrations de l'inhA sont plus basse chez les femmes >35 ans. L'inhA provient ainsi à la fois du follicule dominant et du corps jaune. L'étude longitudinale évoquée précédemment montre une diminution de l'inhA chez la femme âgée de 47 ans. Pas de différence pour la **progestérone** au cours de cette étude transversale, mais l'étude longitudinale montre une diminution de la **progestérone** pendant la phase lutéale (fig 15).

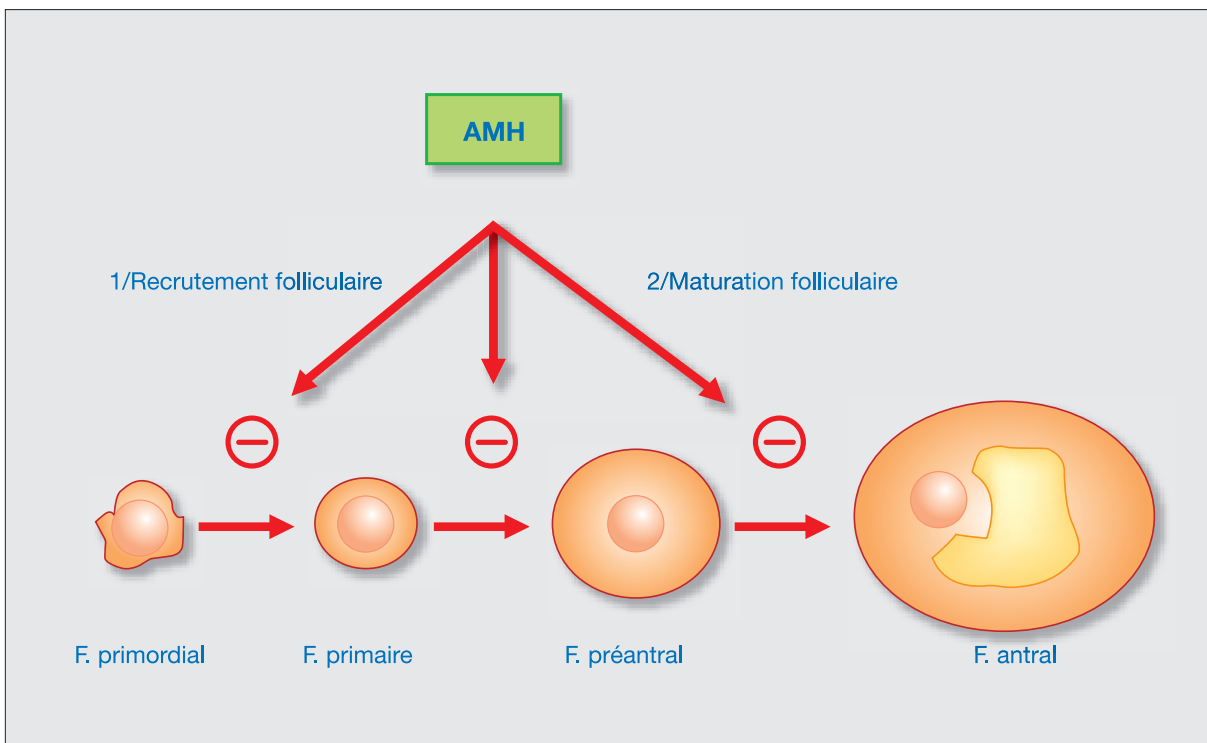


**Figure 15 : Variations au cours du cycle des concentrations hormonales de 2 femmes prélevées à <35 ans (points blancs), puis prélevées à 47 ans (points rouges) (P4=progestérone).** (Welt et al, 1999)



## L'hormone anti-mullérienne (AMH) avant la périménopause

L'**AMH** est une hormone protéique sécrétée par le testicule foetal dont le rôle est de s'opposer aux développements des canaux de Muller (précurseurs de l'utérus et du 1/3 supérieur du vagin) pendant la vie foetale. Chez l'adulte les concentrations sériques sont très faibles. Chez la femme en activité génitale, l'**AMH** n'est dosée que par une méthode très sensible. L'**AMH** s'oppose à l'entrée en croissance des follicule primordiaux et à la maturation des follicules préantraux en follicules antraux (Durlinger et al,2002) fig 16.



**Figure 16 : Effets de l'AMH sur le développement folliculaire.** (Durlinger et al. 2000. *Reproduction* 124;601-609)

L'**AMH**, membre de la famille des TGF $\beta$ , a été mise en évidence dans les CG des follicules primaires mais surtout dans les CG des follicules préantraux et des petits follicules antraux. Dans les grands follicules antraux, l'**AMH** disparaît graduellement (Weenen et al, 2004). Andersen et al, 2006, ont mesuré l'**AMH** dans le liquide folliculaire des follicules antraux de 3 à 7 mm de diamètre prélevés sur des ovaires obtenus chez des femmes (14 à 34 ans) et conservés congelés en vue de la préservation d'une fertilité avant un traitement anticancéreux, Les concentrations dans le liquide folliculaire, d'**AMH** et de **E2**, d'**inhB** et d'**inhA** des follicules antraux ont été comparées à celles obtenues dans le liquide folliculaire préovulatoire (tableau 7).

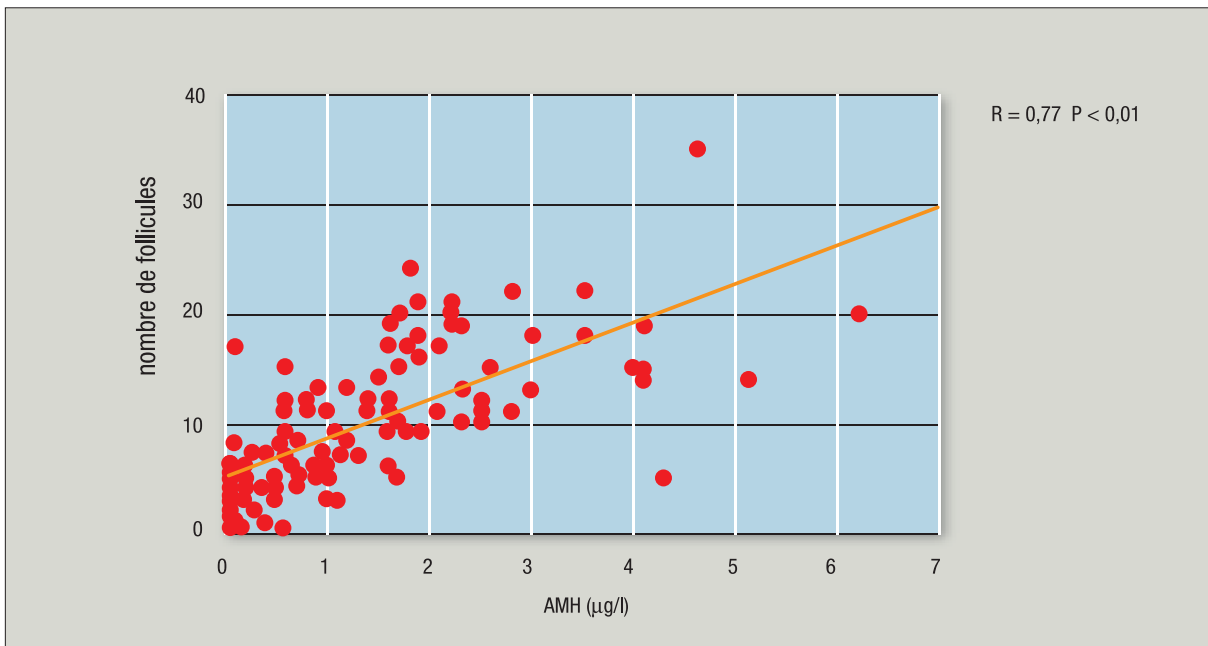
**Tableau 7 : Comparaison des concentrations intrafolliculaires de l'AMH, des inhibines, de E2 et de la progestérone, follicules antraux / follicules préovulatoires.**

	Follicules antraux	Follicules préovulatoires
Nombres de follicules dosés	35	32
Estradiol ng/ml	15 ± 5	628 ± 57
Progestérone ng/ml	92 ± 27	24600 ± 1530
<b>AMH ng/ml</b>	<b>790 ± 95</b>	<b>1.17 ± 0.14</b>
InhB ng/ml	71 ± 9.7	31 ± 4.1
InhA ng/ml	3.4 ± 1	57.2 ± 5.3

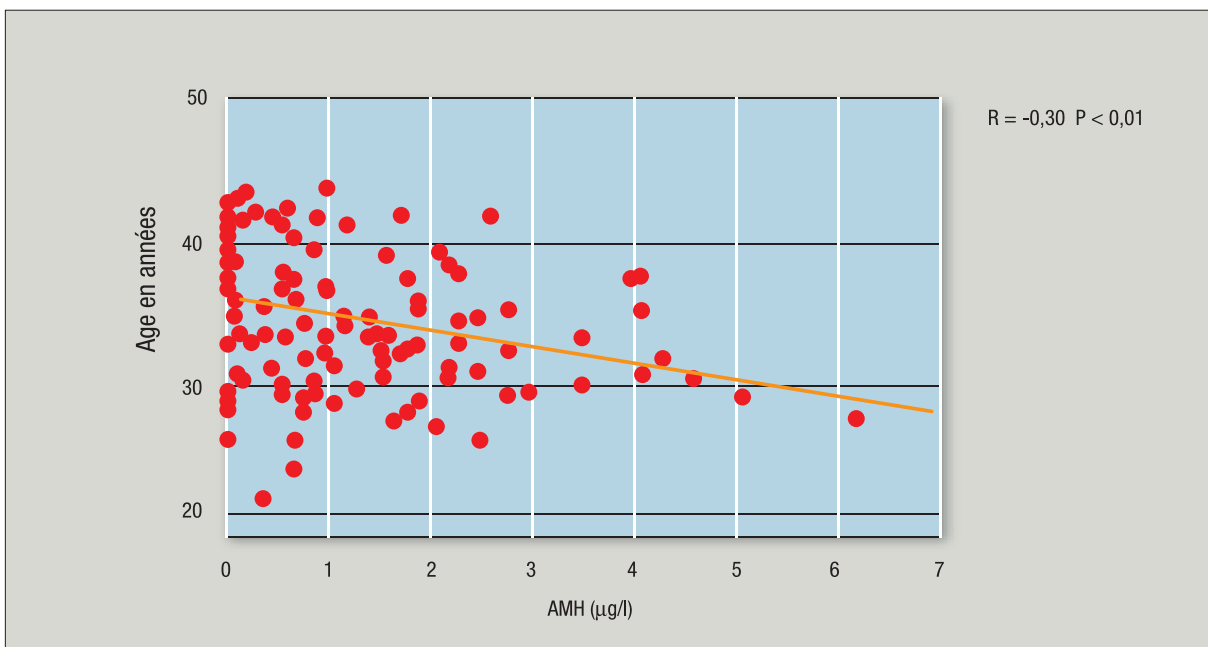
L'**AMH** est en concentrations élevées dans les follicules antraux petits et moyens, mais diminue près de 7 fois dans les follicules préovulatoires. Inversement **E2** et la **progestérone** augmentent considérablement dans les follicules préovulatoires. L'**inhB** diminue significativement dans les follicules préovulatoires et c'est l'inverse pour l'**inhA**. Les concentrations d'**E2**, de **progestérone** et des **inhB** et **A** dans le liquide folliculaire sont en relation avec les concentrations mesurées dans le sérum au cours du cycle menstruel. Les concentrations élevées de l'**AMH** expliquent et corroborent les corrélations positives trouvées par plusieurs auteurs entre l'**AMH** et le nombre de follicules antraux. (chez les femmes normales et celles présentant des ovaires polykystiques) (*van Rooij et al, 2002*, et **fig17** *Fanchin et al, 2003 (a)*) De plus les concentrations d'**AMH** corréleront négativement avec l'âge chronologique (*van Rooij et al, 2002*, et **fig18** et *Piltonen et al, 2005*). Les concentrations comprises entre 17 et 38 pmol/L entre 20 et 25 ans s'abaissent à moins de 15 pmol/l déjà après 35 ans (*De Vet et al, 2002*), ce qui en fait un marqueur très précoce du vieillissement ovarien. Les taux d'**AMH** deviennent indétectables à la ménopause (*Visser & Themmen, 2005*).

Comme le nombre des follicules en croissance, préantraux et antraux est en relation directe avec la taille du pool des follicules primordiaux, les concentrations d'AMH permettent de connaître l'importance de la réserve ovarienne. La diminution du nombre de ces follicules en croissance avec l'âge explique la diminution de l'**AMH**, qui en retour augmente le taux de passage des follicules au repos en phase de croissance d'où une accélération de la décroissance de la réserve ovarienne.

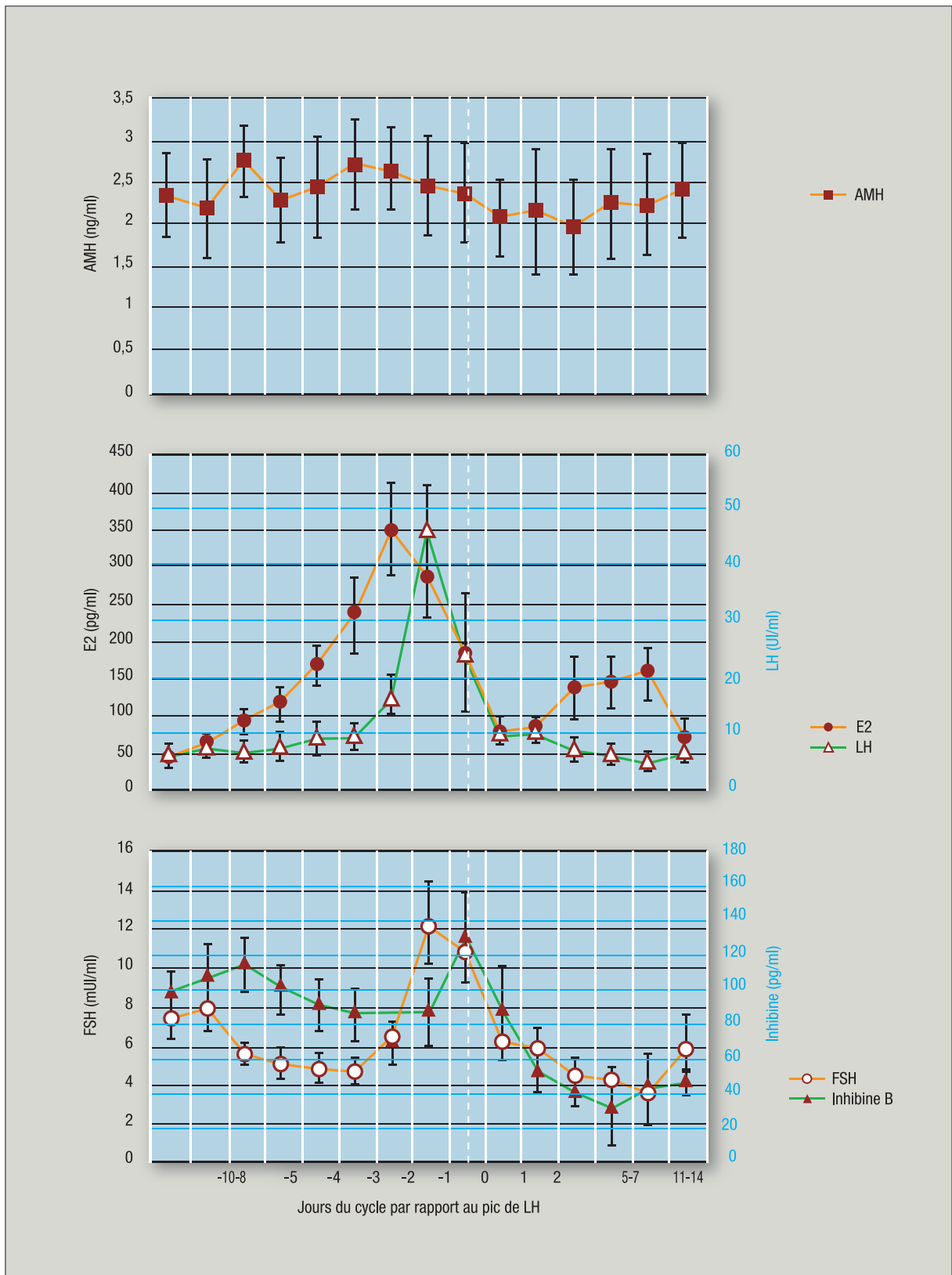
En outre les concentrations d'**AMH** ne varient pas au cours du cycle menstruel (**fig19** et *Tsepelidis et al, 2007, La Marca et al, 2004*), contrairement à **FSH**, aux **inhibines** et à l'**E2**. Elle pourra par conséquent être dosée à n'importe quel moment du cycle et même sous traitement oestro-progestatif, pour évaluer la réserve ovarienne. Cependant une publication récente (*Streuli et al, 2008*) fait état d'une divergence entre les résultats obtenus par les 2 kits commerciaux de dosage disponibles (*Beckman Coulter/Immunotech et DSL kit*), concernant la stabilité de l'**AMH** au cours du cycle menstruel.



**Figure 17 : Corrélation entre les concentrations d'AMH et le nombre des follicules antraux.** (van Rooij et al, 2002)



**Figure 18 : Corrélation de l'AMH avec l'âge chronologique.** (van Rooij et al, 2002)



**Figure 19 :** variations comparées de l'AMH, des gonadotrophines, de E2 et de l'inhibine B au cours du cycle menstruel. (Tsepelidis et al, 2007)

## Comptage des follicules antraux par échographie transvaginale

Le nombre de follicules antraux de diamètre 2 à 10 mm, a été compté par échographie intravaginale chez 162 femmes saines, âgées de 25 à 46 ans, présentant des cycles réguliers de 21 à 35 jours, avec un profil de température biphasique, et une fertilité naturelle prouvée par au moins une grossesse menée à son terme, obtenue après moins de 1 an de rapports non protégés, sans pathologie endocrinienne, avec une contraception arrêtée depuis plus de 2 mois avant l'entrée dans l'étude, et sans anomalie ovarienne décelable par échographie. Les comptages ont été effectués les jours 1, 2, 3 ou 4 du cycle. Les résultats du comptage et du volume ovarien ainsi que les concentrations de **FSH**, **E2** et de l'**inhibine B** sont rapportées dans le [tableau 8](#) (Scheffer et al, 2003).

**Tableau 8 : Comptage des follicules antraux (de 2 à 10 mm) par échographie intravaginale, détermination du volume ovarien total, du volume folliculaire moyen, d'E2, de FSH et d'inh B, dans 3 groupes de femmes d'âge croissant.**

Intervalle d'âge et nombres de sujets	25-34 n=49	35-40 n=53	41 à 46 n=60
FSH UI/L	6.7 (2-21.2)	6.8 (2.7-21.4)	8.1 (3.2-35.9)
Estradiol pg/ml	52 (14-78)	56 (21-144)	75 (13-222)
Inhibine B pg/ml	101 (8-180)	104 (0-177)	97 (0-210)
Nb de follicules de 2 à 10 mm	15 (3-30)	9 (1-25)	4 (1-17)
Volume ovarien total en ml	11.8 (4.7-43)	11.4 (4.9-32)	8.3 (4.5-19.7)
Volume folliculaire moyen en ml	0.05 (0.02-0.13)	0.06 (0.02-0.20)	0.09 (0.002-0.4)

Le nombre des follicules antraux, c'est-à-dire une fraction des follicules en croissance, est corrélé à la taille du pool des follicules primordiaux restants (Scheffer et al, 2003). Ce comptage par échographie reflète par conséquent la taille du pool des follicules primordiaux restants, c'est-à-dire la réserve ovarienne.

En outre, les follicules antraux encore présents chez les femmes les plus âgées sont plus grands que les nombreux follicules présents chez les femmes plus jeunes et ils secrètent plus d'**E2**. Une des explications avancées serait que le développement folliculaire chez les femmes plus âgées n'est pas accéléré mais avancé, puisqu'il débute déjà dans la phase lutéale du cycle précédent (Scheffer et al, 2003). Ainsi la durée de la phase folliculaire du cycle chez la femme âgée est significativement raccourcie (van Zonnefeld et al, 2003).

## Viellissement de l'axe HHO à la périménopause et marqueurs du vieillissement hormonal

### Définition de la périménopause

C'est la période qui précède la ménopause physiologique. Elle correspond à une diminution, progressive mais inéluctable de la fonction exocrine (les ovulations sont de plus en plus rares), avec diminution accélérée du pool de follicules ovariens, déjà commencée vers 38-40 ans (Gougeon *et al.*, 1994).

Pour l'OMS, la périménopause «débuté lorsque apparaissent des signes cliniques et /ou biologiques, qui annoncent la survenue de la ménopause ; elle se termine une année au moins après les dernières règles». Le tableau 6 permet de mieux la situer au sein des différentes phases d'activité ovarienne au cours de la vie d'une femme (Soules *et al.*, 2001).

Cliniquement, la transition ménopausique peut être divisée en 3 périodes selon la nature des cycles : la phase 1 où il y a un raccourcissement de la longueur des cycle (21-26 j), la phase 2 avec des cycles irréguliers, longs ou courts (21-40 j) avec des règles abondantes et la phase 3 avec des cycles longs à très longs(40-90 jours), avec des règles peu abondantes et parfois hémorragiques.

L'âge de survenue de la périménopause est très variable (45 à 50 ans), de même que sa durée. 3 à 5 ans.

**Tableau 9 : définition des différents stades de l'activité des ovaires au cours de la vie d'une femme.** (d'après Soules *et al.*, 2001)

Stades	-5	-4	-3	-2	-1	0	+1	+2
terminologie	Années de reproduction			transition ménopausique		Post-ménopause		
	précoce	mature	tardive	précoce	tardive		précoce	tardive
				périménopause				
Durée du stade	variable			variable		1 an	4 ans	variable
Cycles menstruels	variable	réguliers		Variables courts	Variables longs	aménorrhée	aucun	
Hormones	FSH normale		FSH ↑ ↓ inhibine B	FSH ↑↑, E2 ↑ puis ↓ Inhibine B ↓ AMH ↓ progestérone		FSH ↑↑↑, inhibines A et B indétectables, E2 3 à 10 pg/ml, AMH effondrée Progesterone <0.5 ng/ml		

*Burger et al. (1995, 2002)*, ont étudié 380 femmes normales, âgées de 45 à 56 ans. Ils ont dosé la **FSH**, la **LH**, l'**E2**, et l'**inh B**. Les femmes (non traitées, en particulier pas d'estro-progestatifs, possédant au moins 1 ovaire, pas plus de 3 mois d'aménorrhée - la ménopause est reconnue sur la base d'une aménorrhée d'au moins 12 mois) ont été sélectionnées sur la base d'anomalies menstruelles, et divisées en 5 groupes. Gr1 (27%): pas de changements dans la fréquence et l'importance du flux menstruel au cours des 3 derniers mois par rapport au 12 mois qui ont précédé; Gr2 (23%) : variations dans l'importance du flux menstruel au cours des 3 derniers mois ; Gr3 (9%): variations dans la fréquence des règles au cours des 3 derniers mois ; Gr4 (28%): femmes cumulant des variations dans l'importance du flux menstruel + la fréquence des règles au cours des 3 derniers mois ; Gr5 (13%) : femmes n'ayant pas eu de règles depuis au moins 3 mois.

## **Variabilité des concentrations hormonales de l'axe HHO au cours de la périménopause**

Ce qui caractérise le mieux cette période de transition périménopausique est l'**extrême VARIABILITE** des concentrations des hormones de l'axe HHO dosées, comme on le voit sur les [figures 20 à 22](#) (*Burger et al, 1995, 2002*).

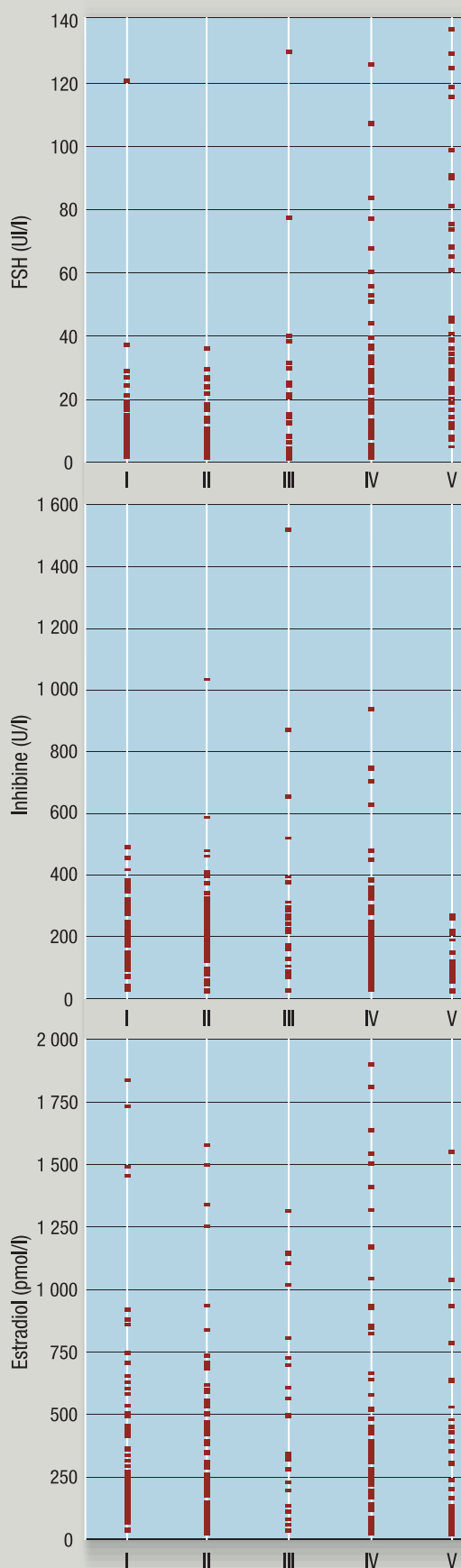
### **FSH et inhibine**

Les valeurs moyennes de **FSH** étaient similaires dans les groupes 1 et 2, et sont augmentées modérément dans les groupes 3 et 4, et franchement dans le groupe 5, avec des variations importantes à l'intérieur de chaque groupe ([fig 20](#)).

Les concentrations moyennes d'**inhibine** diminuent dans les groupes 2 3 et 4, toutefois, cette diminution ne devient significative que dans le groupe 5 des femmes en aménorrhée depuis au moins 3 mois. Cette diminution de production d'**inhibine** par les CG, comme une conséquence d'une diminution du stock folliculaire s'accélère après 40 ans. Or l'**inhibine** exerce un rétro contrôle négatif puissant sur la sécrétion hypophysaire de **FSH**. Le déficit en **inhibine** entraîne donc une augmentation de la libération de FSH, en particulier au moment de la décharge ovulante (*Klein et al, 1996* ([fig 12](#)), *Welt et al, 1999*).

L'augmentation progressive de la **FSH** aura deux conséquences :

- D'une part, une maturation folliculaire précoce (*Scheffer et al, 2003*), provoquant un raccourcissement de la phase folliculaire, ainsi qu'une maturation plurifolliculaire (syndrome d'hyperstimulation endogène des ovaires), qui pourrait expliquer l'augmentation de fréquence des grossesses gémellaires dizygotiques avec l'âge maternel et ce malgré le déclin associé de la fertilité.
- D'autre part, l'élévation de l'**estradiolémie** en phase préovulatoire et lutéale comme cela a été rapporté par plusieurs auteurs.



**Figure 20 : Dispersion des concentrations de FSH dans 5 groupes de femmes (au total n=380, âgées de 45 à 56 ans, au cours de la périménopause) avec des troubles des règles croissants (groupes I à V).**

*(Burger et al, 1996, 2002)*

**Figure 21 : Dispersion des concentrations d'inhibine dans 5 groupes de femmes (au total n=380, âgées de 45 à 56 ans, au cours de la périménopause) avec des troubles des règles croissants (groupes I à V).**

*(Burger et al, 1996, 2002)*

**Figure 22 : Dispersion des concentrations de E2 dans 5 groupes de femmes (au total n=380, âgées de 45 à 56 ans, au cours de la périménopause) avec des troubles des règles croissants (groupes I à V).**

*(Burger et al, 1996, 2002)*



## Syndrome d'hyperestrogénie du début de la périménopause

Ainsi *Prior, 1998* mentionne les travaux de plusieurs auteurs qui ont dosé **E2** dans le sérum au cours de la phase folliculaire et au cours de la phase lutéale ([tableau 6](#)) chez des femmes en périménopause. Tous rapportent une **hyper estradiolémie moyenne**. ([tableau 10](#)).

Toutefois, *Burger et al 1996* rapportent une diminution des concentrations moyennes d'**E2** (30 pg/ml) chez les femmes en aménorrhée depuis >3 mois mais <12 mois (Groupe 5 de la publication de *Burger et al, 1996*) par rapport aux femmes ayant des troubles des règles moins prononcés (Groupes 2 à 4)

Cette hyperestrogénie a été corroborée par des dosages urinaires.

**Tableau 10 : Estradiolémie chez des femmes en périménopause et chez des femmes jeunes**

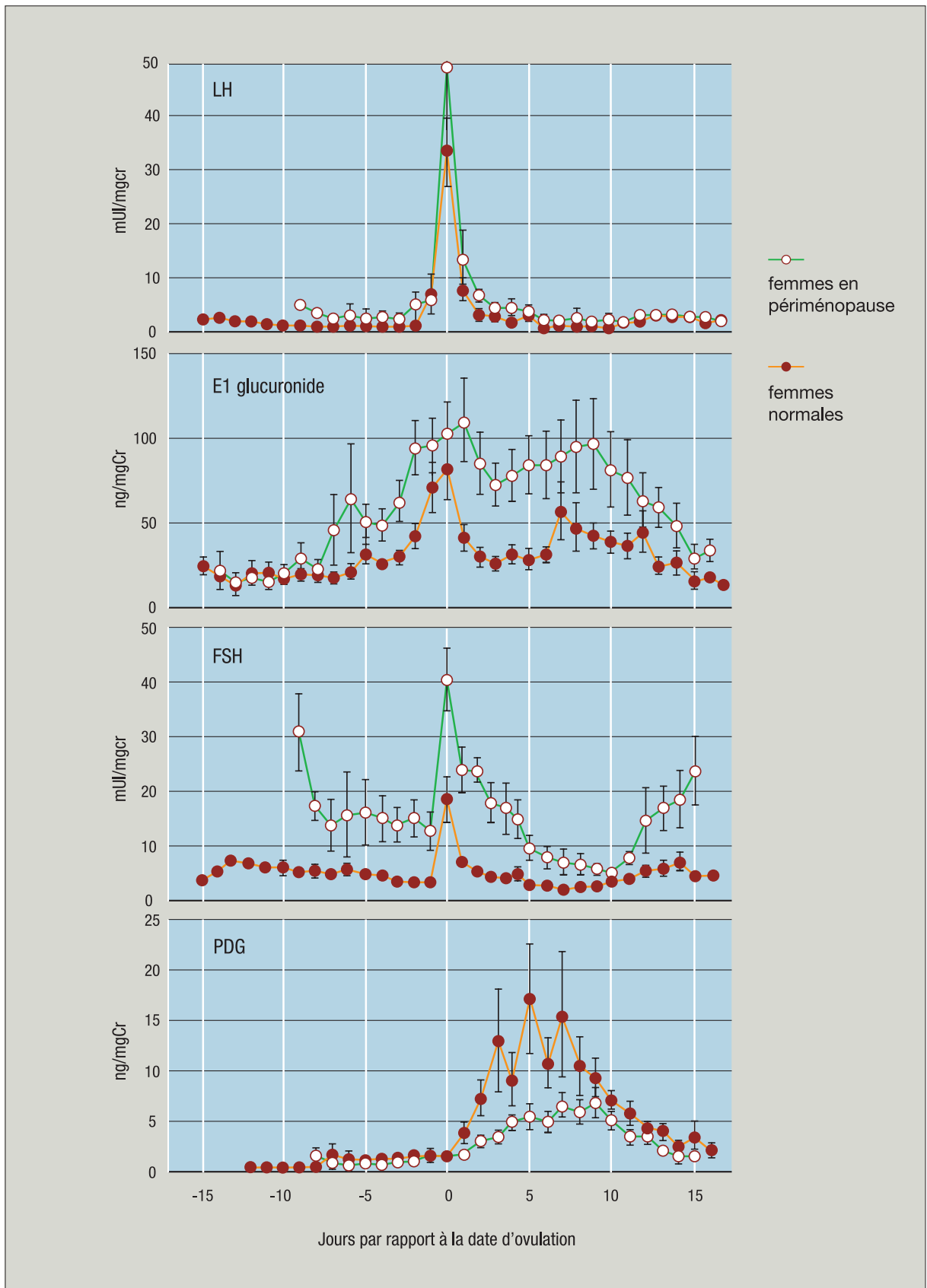
	Nb de sujets	Age	Nb de contrôles	Age
E2 phase folliculaire pg/ml	415	43-50	292	20-35
	61 ± 26		47 ± 15	
	Nb de sujets	Age	Nb de contrôles	Age
E2 phase lutéale pg/ml	69	43-50	250	20-35
	101 ± 26		82 ± 23	

Ainsi *Santoro et al. (1996)* ont dosé dans les urines, tous les jours pendant 6 mois, le **glucuronide d'estrone** (métabolite de l'**E1** et de l'**E2**, ainsi que le **prégnandiol** (métabolite de la **progestérone**) et les gonadotrophines **FSH** et **LH**, chez 11 femmes en périménopause (>47 ans), avec des cycles réguliers de 25 à 35 jours, n'ayant jamais eu de période d'aménorrhée >3 mois, sans pathologie affectant les **gonadotrophines** ou les **stéroïdes**, avec 90% du poids idéal. Un même nombre de femmes de 19 à 38 ans ayant des cycles réguliers, a servi de contrôle.

Une augmentation significative du **glucuronide d'E1** a été observée chez les femmes en périménopause par rapport aux contrôles, en particulier dans la période périovulatoire ([fig 23](#)) et pendant la phase lutéale. Une diminution du **prégnandiol** pendant la phase lutéale et une augmentation de l'excrétion urinaire de la **FSH** (et de la **LH**) en période périovulatoire et en phase lutéale ([fig 23](#)) ont été également rapportées chez ces femmes en périménopause.

On observe également des périodes d'élévations toniques de **FSH** et **LH**, et de concentrations basses de **glucuronide d'E1** qui deviennent de plus en plus fréquentes au fur et à mesure que l'on se rapproche de la ménopause confirmée, entrecoupées de périodes d'hyperestrogénie

Cette **hyperestrogénie** pendant la périménopause se traduit par un ensemble de symptômes qui constituent le **syndrome prémenstruel**, lequel associe -une mastodynie -une pesanteur pelvienne secondaire à un phénomène de congestion veino-lymphatique -des troubles du comportement avec anxiété, irritabilité, angoisse, voire une pathologie psychiatrique -des troubles neurovégétatifs divers (asthénie, malaises) -une prise de poids liée à un hyperminéralocorticisme secondaire à l'hyperestrogénie.



**Figure 23 :** Variations journalières déterminées par des dosages urinaires de FSH, LH, estrone glucuronide, et prégnandiol - PDG, (exprimées par rapport à la créatinine urinaire), chez des femmes en péri-ménopause, comparées à des femmes normales. (Santoro et al, 1996)

Cette hyperestrogénie va favoriser l'apparition ou aggraver les pathologies gynécologiques estrogéno-dépendantes, comme les **fibro-adénomes mammaires** et l'**hyperplasie de l'endomètre**, responsables de ménométrorragies, du développement de fibromes utérins, de saignements utérins, attribués à des périodes d'anovulation (*Van Look et al, 1977 ; Shideler et al 1989*).

Les concentrations de **progestérone** plasmatique témoins des cycles anovulatoires de plus en plus fréquents dans la phase tardive de la période de transition périménopausique deviennent **< à 1ng/ml**, ce qui témoigne de la formation d'un corps jaune inadéquat, ou inexistant.

### **Syndrome d'hypoestrogénie prédominante des dernières années de la périménopause**

**Au fur et à mesure du vieillissement ovarien**, à l'approche d'un seuil critique de l'effectif des follicules, ceux-ci deviennent de plus en plus résistants aux **gonadotrophines**, mais là encore avec une grande variabilité. La longueur des cycles devient variable selon qu'il y ait ou non maturation folliculaire terminale. Ainsi des phases d'hypofonctionnement ovarien avec **hypoestrogénie**, sont associées à -des bouffées vasomotrices, avec sueurs nocturnes car la chute des concentrations des estrogènes provoquent un dérèglement des centres hypothalamiques impliqués dans la thermorégulation corporelle. -une sécheresse vaginale -une baisse de la libido -des troubles génito-urinaires avec recrudescence des cystites, des céphalées -un début de déminéralisation osseuse.

De façon aléatoire, des follicules vont redevenir sensibles à la **FSH** et échapperont au phénomène d'atrésie. Il y a alors hyperstimulation aboutissant à des hyperestrogénies et à une ovulation. Mais ces cycles ovulatoires vont devenir de plus en plus rares. La phase lutéale se raccourcit

### **L'AMH**

L'équipe de *Van Rooij 2004*, à partir d'une étude sur 81 patientes a émis l'hypothèse que le dosage de l'**AMH** pourrait s'avérer utile au diagnostic de périménopause dans les situations cliniques où la symptomatologie reste fruste. Ainsi les concentrations moyennes et extrêmes d'**AMH** chez des patientes normalement cyclées étaient de **1.7 ng/ml (0.2 à 3.4)**. Chez les mêmes patientes, en périménopause quelques années plus tard, les concentrations étaient de **0.3 ng/ml (<0.05 à 1) (p<0.001)** (Les dosages ont été réalisés selon la méthode commercialisée par **Immunotech/Coulter**). Chez ces mêmes patientes, les concentrations d'**inh B** étaient de **116 pg/ml (28 à 63)**, puis de **43pg/ml (4 à 126)** et celles d'**E2** de **48 pg/ml (28 à 86)** puis **53 pg/ml (23 à 146)**.

Une autre étude longitudinale (*Sowers et al, 2008*), effectuée sur 50 femmes normalement cyclées, prélevées annuellement dans les 7 années qui ont précédé la dernière menstruation rapporte les concentrations d'**AMH** (déterminée par le kit de DSL\*) (parallèlement à celles de l'**inh B, FSH** et **E2**). ([Tableau 11](#))

**Tableau 11 : Etude longitudinale chez 50 femmes prélevées annuellement, et dosage de l'AMH (kit DSL), inhibine B, FSH et E2 dans les années qui ont précédé la dernière menstruation.**

(Sowers *et al*, 2008).

\* Le kit de dosage de l'AMH commercialisé par DSL donne des concentrations 4.6 fois plus faibles que celles données par le kit Immunotech / Beckman (voir le paragraphe «Analytique»).

	1993-94 Moy ± DS	1994-95 Moy ± DS	1995-96 Moy ± DS	1997-98 Moy ± DS	1998-99 Moy ± DS	1999-2000 Moy ± DS
AMH ng/ml	0.626 ± 0.51	0.462 ± 0.37	0.335 ± 0.30	0.104 ± 0.10	0.112 ± 0.10	0.086 ± 0.08
Inhibine B pg/ml	69.8 ± 45	54.3 ± 43	50.4 ± 37	28 ± 21	30 ± 55	23 ± 24
FSH UI/L	8 ± 2.4	7.6 ± 3.7	7.7 ± 4.9	16.4 ± 15.8	18.6 ± 15	21.5 ± 18
E2 pg/ml	58.9 ± 24	72 ± 36	65.1 ± 44	66 ± 59	57.1 ± 48	57 ± 31

Le regroupement des variations (moyennes) des différents marqueurs **FSH**, **Inh B**, **E2** et **Inh A**, sur la [fig 24](#) montre que les concentrations d'**E2** et **FSH** se «croisent» au moment de la ménopause, c'est-à-dire 12 mois après la date de la dernière menstruation. D'après *Burger et al*, 2002, les concentrations d'**E2** sont de l'ordre de 20 pg/ml et celle de la **FSH** de l'ordre de 50 UI/L. Les concentrations d'**E2** continuent de décroître pendant un an et celles de **FSH** continuent d'augmenter pendant un an. L'**inh B** et l'**inh A** continuent de décroître après la ménopause pour devenir indétectables.

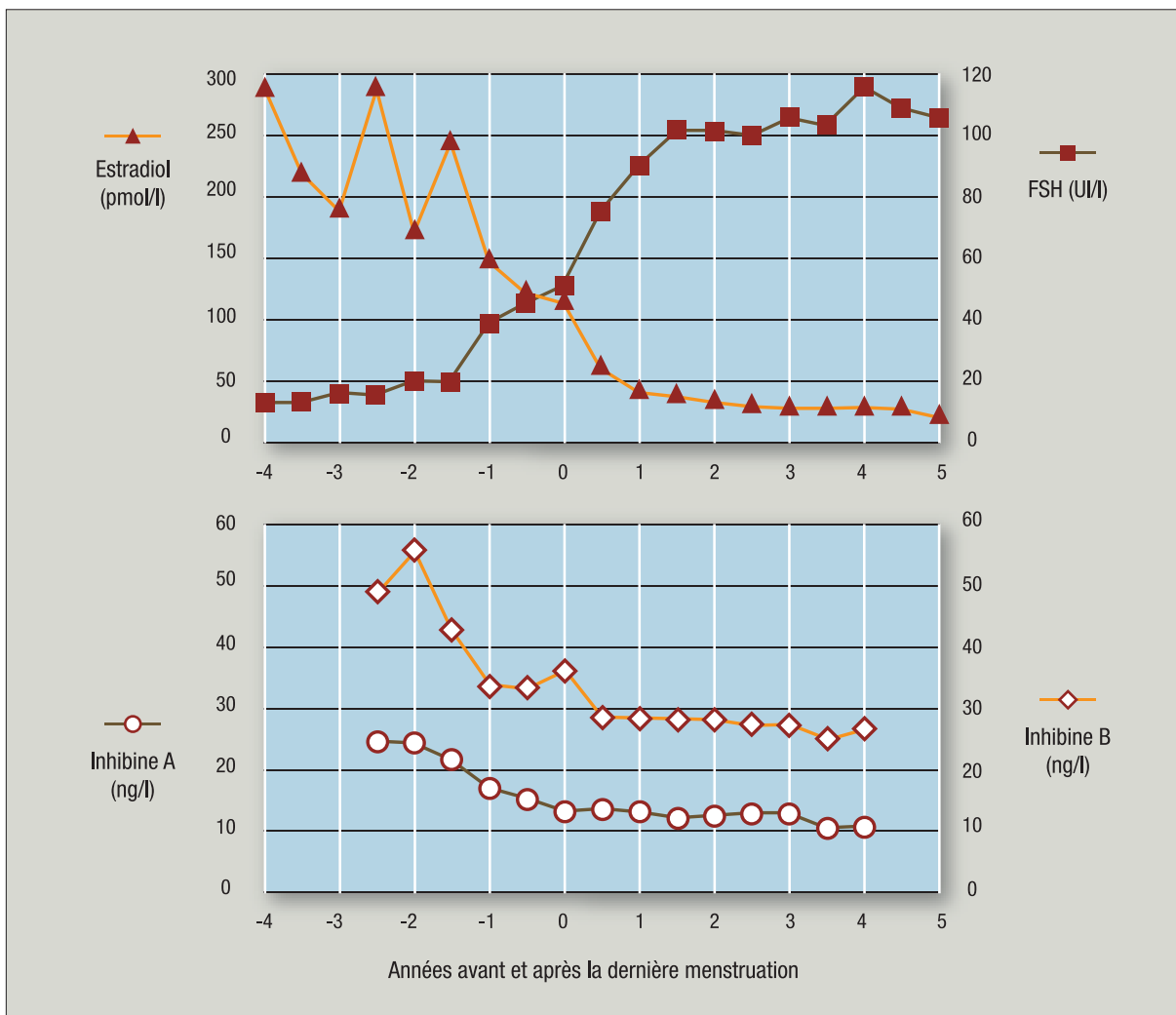
## Hormones de l'axe HHO et ménopause

La ménopause est déclarée après 12 mois d'aménorrhée (définition). La réserve ovarienne est alors pratiquement épuisée et limitée à quelques follicules.

L'augmentation des gonadotrophines **FSH** et **LH** continue jusqu'à 2 à 3 ans après les dernières règles, puis restent en plateau pendant plusieurs années. Les concentrations présentent des variations interindividuelles très importantes (*Vaninetti et al*, 2000) ([fig. 25](#)). On observe à partir de l'âge de 80 ans, une diminution des concentrations des **gonadotrophines** ([fig 25](#)). Des taux <2 UI/L ont été rapportés chez 8 femmes âgées dans un groupe de 55 femmes âgées de plus de 85 ans (*Vaninetti et al*, 2000). Des taux particulièrement élevés de gonadotrophines ont été trouvés dans la maladie d'Alzheimer (*Short et al*, 2001).

Les concentrations d'**inh B** et d'**inh A** sont indétectables 3-4 ans après la ménopause.

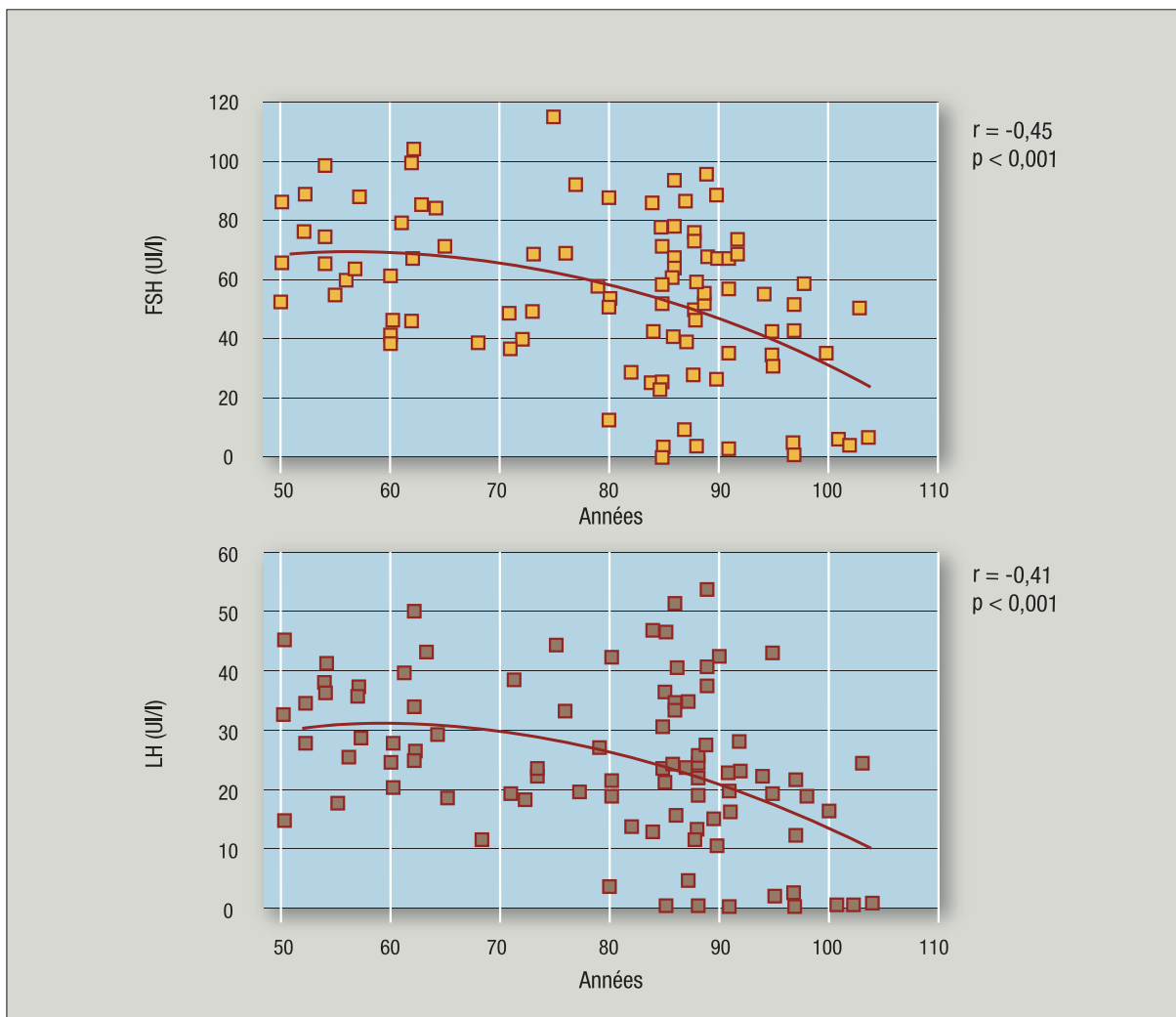
Après l'arrêt des dernières menstruations, les concentrations des **estrogènes** diminuent dans le plasma, et cette diminution est plus importante pour **E2**, que pour ses précurseurs **E1** et **SE1**. Les concentrations d'**E2** sont alors à la limite de la détection (5 pg/ml), tandis que celles d'**E1** vont de 20 à 50 pg/ml (proche de celles mesurées au cours du cycle menstruel, et celles de **SE1** vont de 100 à 400 pg/ml (le 1/5ème de celles trouvées au cours du cycle menstruel) ([tableau 12](#)).



**Figure 24 : Variations moyennes de la FSH, de E2, et des inhibines avant et après la dernière menstruation.** (Burger et al, 2002)

A la ménopause, même si les ovaires continuent de synthétiser des estrogènes en faibles quantités, les tissus périphériques (glandes mammaires, os, cerveau, tissu adipeux) constituent les sources principales des **estrogènes** synthétisés par aromatisation des **androgènes** (la **testostérone (T)**, la  **$\Delta$ 4-androstènedione (A)**, la **DHEA**, et le **SDHEA** par l'aromatase. (fig 26). Une corrélation positive a d'ailleurs été plusieurs fois trouvée entre les concentrations d'**E2** et d'**E1** d'une part et le BMI d'autre part Reed et al, 1983 Setawian et al, 2006 et encore très récemment (Baglietto et al, 2008).

**E2** et **E1** vont être ensuite partiellement sulfatés par une estrogène sulfotransférase en **SE2** et **SE1**. Le **SE1** quantitativement le plus important estrogène du plasma a une 1/2 vie considérablement plus longue que celle de **E1**, et constitue ainsi un pool de réserve à partir duquel **E1** sera reformé dans les tissus cibles par l'action d'une sulfatase (Pasqualini, 2008), Les quantités d'estrogènes formées dans les tissus par action sulfatasique sur le **SE1** sont beaucoup plus élevées que par aromatisation des androgènes (Pasqualini, 2008), Les concentrations intratissulaires des **estrogènes** des glandes mammaires sont plus élevées que celles du sang circulant. (Pasqualini, 2008).



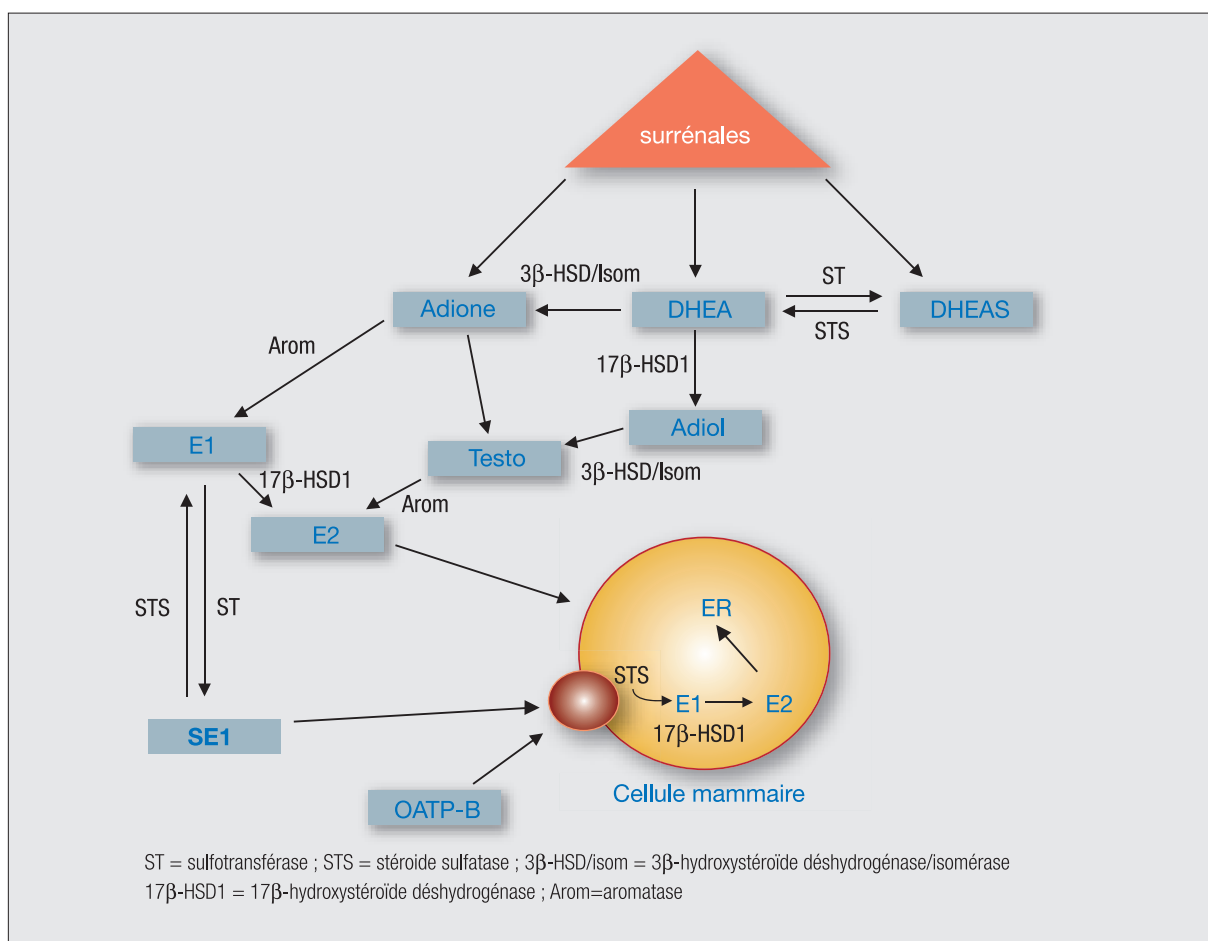
**Figure 25 : Variations des gonadotrophines chez 93 femmes âgées de 50 à 104 ans**  
(Vaninetti et al, 2000)

Les concentrations des principaux **estrogènes** circulants **E2 + E1 + SE1** qui reflètent la somme des différentes formations locales dans les différents territoires de l'organisme sont importantes à connaître pour apprécier au mieux l'imprégnation estrogénique de l'organisme, de même que celles de l'**estradiol biodisponible** (**E2** liée à l'albumine + **E2** non liée à des protéines du plasma,) qui dépend de la concentration de la **SHBG** du plasma (voir chapitre sur le vieillissement et les androgènes chez la femme). La baisse de **E2 total** dans le plasma doit être interprétée au mieux par la prise en compte de la baisse des concentrations de la **SHBG** à la ménopause. Ainsi **E2 biodisponible** est mieux corrélé au BMI et à la graisse viscérale que ne l'est **E2 total**. (le tissu adipeux entraînant une diminution de la **SHBG**) (Baglietto et al, 2008).

L'interprétation des concentrations d'**E2** doit également tenir compte de la diminution relativement moindre de la **testostérone** à la ménopause (voir chapitre sur le vieillissement et les **androgènes** chez la femme), d'où un ratio **testostérone/estradiol** augmenté, et des signes d'hyperandrogénie modérée (moustache, prise de poids, irritabilité...)

**Tableau 12 : Valeurs moyennes et extrêmes des estrogènes plasmatiques chez la femme ménopausée.** (\* dosage par GCMS)

Références et effectifs	E2 pg/ml	E1 pg/ml	SE1pg/ml
Lonning et al, 1995 ; n=32	5.1 (4-6.5)	20 (17-23)	157 (123-202)
Schairer et al, 2005 ; n=152	4.2 (3.8-5.6)	24 (21-26)	427 (357-472)
Geisler et al, 2006 ; n=144	2.9 (2.6-3.1)	18 (17-19)	122 (104-142)
Setiawan et al, 2006 ; n=261 ; 259 ; et 194 pour des BMI <25 ; 25à29 ; et >30	9.9 ; 12 ; et 15 selon le BMI	30 ; 35 ; et 41	
Labrie et al, 2006 n=75*	3.5 ± 0.3	17.6 ± 1.22	232 ± 23



**Figure 26 : Synthèse des estrogènes et de l'androstènediol (Adiol, à activité estrogénique), dans les tissus périphériques, à partir des précurseurs surrénaux (DHEA, DHEA et Adione ou androstènedione).**

Cependant, bien que la production périphérique des **estrogènes** soit importante à considérer à la ménopause, l'arrêt du fonctionnement de l'ovaire provoque une chute brutale des concentrations plasmatique de **E2**, **estrogène** circulant le plus actif et cette diminution de **E2** sera préjudiciable au squelette, au système cardiovasculaire et au tissu nerveux entre autres.

## Conséquences de la carence en estrogènes (Rozenbaum Les estrogènes) (tableau 13)

### Carence en estrogènes et os

L'**estradiol** inhibe la résorption osseuse en freinant les processus de remodelage osseux. Il en découle une perte osseuse de l'ordre de 1.5% par an lors des 2 premières années qui suivent l'arrêt des menstruations. En fait cette perte osseuse (ostéoporose) a commencé au moins dans la dernière phase de la période de transition (groupe 5 des sujets de *Burger et al*, 1996). Le risque d'une femme de 50 ans d'être atteinte d'une fracture du col du fémur est de 15%. Le mode d'action de **E2** bien que non entièrement élucidé implique : une diminution de l'action de la parathormone, une diminution de l'action des interleukines 1 et 6 et du TNF $\alpha$ , et un effet direct sur les ostéoclastes. Des récepteurs aux **estrogènes** ont été mis en évidence dans les ostéoblastes et les ostéoclastes.

### Carence en estrogènes et système cardiovasculaire

La ménopause induit un certain nombre de modifications métaboliques susceptibles de favoriser la genèse de l'athérosclérose. L'ensemble de ces modifications est résumé et schématisé sous le terme de «syndrome métabolique de la ménopause». L'**estradiol (E2)** semble capable de s'opposer à la plupart de ces modifications métaboliques.

Les cardiopathies ischémiques constituent la première cause de mortalité féminine. Au-delà de 75 ans, la proportion d'hommes et de femmes consultant pour un infarctus du myocarde est de 3 pour 2 environ (*Fletcher & Vessey*, 1996). L'**estradiol (E2)**, surtout par voie transcutanée, présente un effet bénéfique sur les marqueurs du risque cardio vasculaire, cholestérol total, HDL, LDL cholestérol et fibrinogène.

La carence **estrogénique** augmente le risque d'accident vasculaire cérébral. Une femme de 50 ans a un risque d'AVC de 20%. Mais dans l'ensemble le THS ne semble pas influencer sur la fréquence des AVC, le facteur de risque principal étant l'HTA.

### Carence en estrogènes et cerveau

Les **estrogènes** présentent des effets protecteurs vis à vis du cerveau :

- par une augmentation du flux sanguin cérébral, avec augmentation de l'apport en glucose
- un effet inhibiteur calcique (le calcium sensibilise les neurones aux agressions métaboliques)
- par un effet anti-oxydant (oxydation de la protéine  $\beta$ -amyloïde et de l'ApoE dans l'Alzheimer).
- effet anti-inflammatoire (rôle du processus inflammatoire dans l'Alzheimer).
- diminution de 30% de l'ApoE : marqueur biologique de l'Alzheimer, caractérisée par la présence de l'Allèle E4 qui multiplie le risque d'Alzheimer.
- augmentation du métabolisme sécrétoire de l'APP, parmi lesquelles la protéine  $\beta$  amyloïde qui perd sa solubilité lorsqu'elle est sécrétée en trop grande quantité, en atmosphère oxydante favorisant la formation d'agrégats.



<b>Métabolisme des lipides</b>
▲ - Cholestérol total + LDL cholestérol +apolipoprotéine B
▲ - Triglycérides plasmatiques
▲ activité de la lipoprotéine lipase
▼ - HDL cholestérol
<b>Metabolisme des glucides</b>
▲ - insulinémie
▲ - augmentation de l'insulinorésistance
▲ - de l'adiposité viscérale
▼ Diminution de la sécrétion d'insuline
<b>Hémostase</b>
▲ Du facteur VII + ▲ f fibrinogène + ▲ PAI-I
<b>Hémodynamique</b>
▲ PA diastolique et PA systolique liée au stress et des résistances vasculaires périphériques
▼ Elasticité de l'aorte
<b>Autres effets</b>
▲ Homocystéine + endothéline 1 + thromboxane A2 + uricémie
▼ GH et prostacycline

**Tableau 13 : Modifications biologiques induites par la ménopause et susceptibles de favoriser l'athérosclérose.** (Rozenbaum H.)

La maladie d'Alzheimer atteint 6 à 8% des sujets >60 ans, et 30% des sujets de > 85 ans ont une maladie d'Alzheimer. Les femmes sont atteintes 2 fois plus fréquemment que les hommes.

La conclusion que la prise d'**estrogènes** induirait une diminution de 29 % du risque d'Alzheimer (Yaffe et al, 1998), est très discutée. Pourtant, il a été montré que la prise d'**estrogènes** améliore les fonctions cognitives, et que le THS en début de ménopause réduit le risque de développer une maladie d'Alzheimer plusieurs décennies plus tard. Actuellement on s'oriente plus sur les taux très élevés d'hormone LH trouvés dans le sang et dans le cerveau chez l'homme et chez la femme dans la maladie d'Alzheimer.

## Intérêt de la détermination des marqueurs de la réserve ovarienne pour prédire la fertilité d'une femme

Les couples tendent à «faire des enfants» de plus en plus tard. Cependant la période optimale de fertilité des femmes se situe vers 30-31 ans. Puis la fertilité diminue, chute qui s'accroît vers 40 ans. La probabilité de grossesse et de naissance vivante décroît brutalement à partir de 38-40 ans (*FIVNAT, 1993*). Il est généralement admis que la capacité de reproduction varie parallèlement au vieillissement ovarien, lequel est lié à la diminution de l'effectif du pool et de la qualité des follicules restant dans l'ovaire au cours du vieillissement. (*te Velde & Pearson, 2002*).

D'où l'intérêt d'apprécier au mieux la réserve ovarienne avant d'entreprendre une assistance médicale à la procréation.

### La FSH

La plupart des centres de FIV utilisent le dosage de la **FSH** basale, au 3<sup>e</sup> jour du cycle comme indicateur de la réponse ovarienne aux traitements de stimulation ovarienne. Elle est un reflet indirect de l'effectif de la cohorte folliculaire.

Toutefois, l'interprétation des taux appelle les remarques suivantes :

- Les résultats des dosages de **FSH** sont variables en fonction de la technique (voir le chapitre «analytique»), et il est difficile de distinguer une valeur pathologique d'une valeur normale. *Bancsi et al. (2003)* montrent que la limite supérieure de la normale varie de 4 à 25 UI selon la technique de dosage. Par conséquent les résultats du dosage devront toujours être interprétés en fonction de la technique de dosage du laboratoire. Cependant le taux de FSH est considéré comme élevé pour des valeurs de 10 à 15 UI/L. **Le taux limite de FSH à J3 est de 9 UI/L**, (*Service de Gynécologie Obstétrique et Médecine de la Reproduction, Hôpital Tenon, Paris*).
- Des taux d'**E2** élevés peuvent rétrocontrôler la **FSH** à un niveau apparemment normal malgré une réserve ovarienne diminuée.
- Des fluctuations importantes de la **FSH** en début de phase folliculaire d'un cycle à l'autre ne sont pas rares (*Scott et al, 1990*), et il faudra tenir compte du chiffre le plus péjoratif.
- L'interprétation de la **FSH** à J3 doit tenir compte de l'âge, car son élévation est moins péjorative chez la femme jeune.

Pour ces raisons, la valeur de la **FSH** aurait une valeur prédictive limitée pour les femmes jeunes sans pathologie sous jacente (*Wolff & Taylor, 2004*). Seule une concentration de **FSH** dans les valeurs hautes permet de déterminer que la réserve ovarienne est faible. Ainsi le dosage de la **FSH** a une bonne valeur prédictive surtout chez les femmes à haut risque de réserve ovarienne diminuée, principalement les femmes de plus de 40 ans, avec une faible réponse ovarienne à la stimulation (*Barnhart & Osheroff, 1999*). Elle est alors capable de prédire la survenue d'une grossesse lors de technique de PMA, mais pas d'exclure des femmes dans leur prise en charge dans les centres de PMA.

## L'E2

Une concentration d'**E2** élevée au 3e jour du cycle pourrait prédire une mauvaise réponse, même quand le taux de **FSH** est encore normal (Evers, 1998). En effet lors de la phase de vieillissement ovarien, il existe une sélection précoce du follicule destiné à ovuler, un raccourcissement de la phase folliculaire, et une élévation de la concentration d'**E2**.

Le dosage d'**E2** à J3 fait partie des critères d'évaluation de la réserve ovarienne. Son taux limite serait de **70 pg/ml** (Licciardi et al., 1995 ; Smotrich et al., 1995). Là encore, il faut veiller à l'exactitude du dosage de ce paramètre qui peut grandement varier selon la technique de dosage immunologique (voir analytique).

## L'inh B

L'élévation de la **FSH** est un reflet indirect de la baisse de l'inh B. Ainsi un abaissement du taux d'**inh B <45 pg/ml à J3** est également un témoin d'une insuffisance de la réserve ovarienne. Des résultats contradictoires ont été rapportés dans la littérature. La concentration d'**inh B** serait influencée par la masse grasseuse, les follicules des femmes obèses ne produisant pas autant d'**inh B** que les follicules des femmes minces (Tinkanen et al., 2001).

## L'AMH

L'**AMH** est maintenant connu comme l'un des marqueurs les plus importants de la réserve ovarienne.

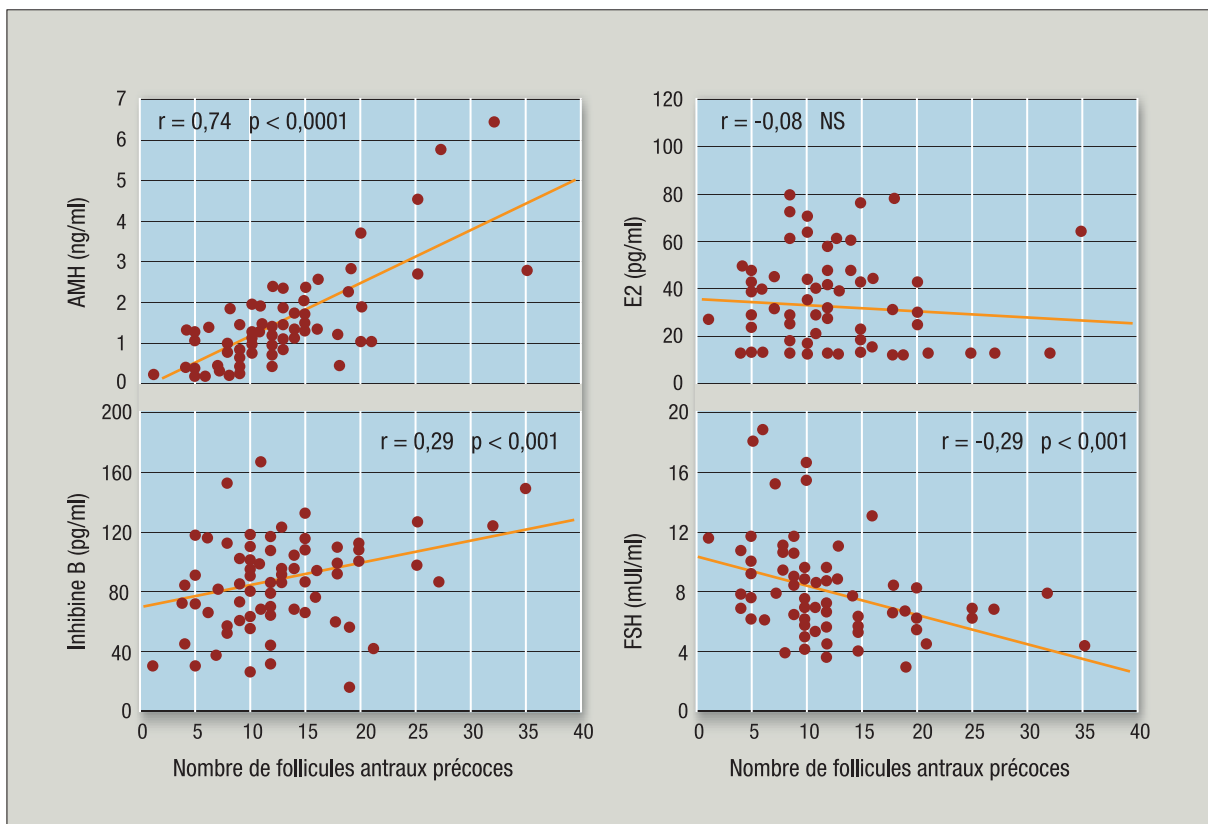
Fanchin et al, 2003 ont montré que l'**AMH** était plus fortement corrélée au nombre des follicules antraux que les marqueurs habituels, la **FSH**, **E2**, l'**inh B**, le 3e jour du cycle. (fig 27). Dans une population de 75 femmes âgées de 25 à 40 ans, avec des cycles réguliers, sans traitement hormonal, avec un BMI de 18 à 27 kg/m<sup>2</sup>, avec une échographie visualisant bien les follicules, les valeurs médianes et extrêmes de l'**AMH** ont été de 1.39 ng/ml et 0.24 à 6.40 ng/ml, respectivement.

L'**AMH** corrèle avec le nombre d'ovocytes récupérés lors d'une FIV (van Rooij et al., 2002 ; Seifer et al., 2002) (fig28). Ainsi l'**AMH** reflète la taille de la cohorte des follicules sélectionnables, et prédit la réponse ovarienne à une hyperstimulation pour FIV.

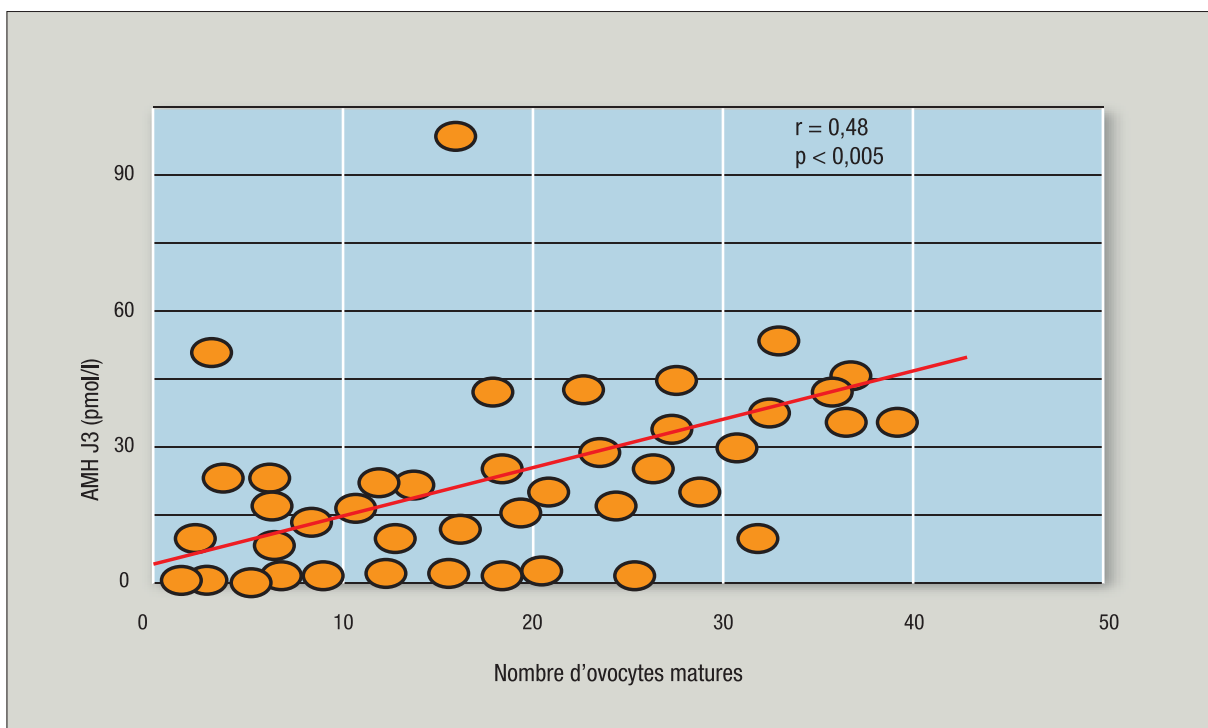
Le Dr Cornet sur des données personnelles (Clinique de la Muette, Paris), portant sur une série de 164 patientes prises en charge pour un traitement de fécondation in vitro, retrouve une corrélation positive entre les taux d'**AMH** mesurés dans les 3 mois précédents la tentative et la qualité de la réponse ovarienne observée après stimulation.

Cette corrélation est illustrée par le nombre d'ovocytes prélevés après stimulation ovarienne lors de tentative de FIV qui augmente parallèlement au taux de l'**AMH**, mais également par la taille de la cohorte embryonnaire disponible après mise en fécondation, qui se traduit par un nombre d'embryons surnuméraires plus importants expliquant la plus grande fréquence de cycles avec cryopréservation (fig 29).

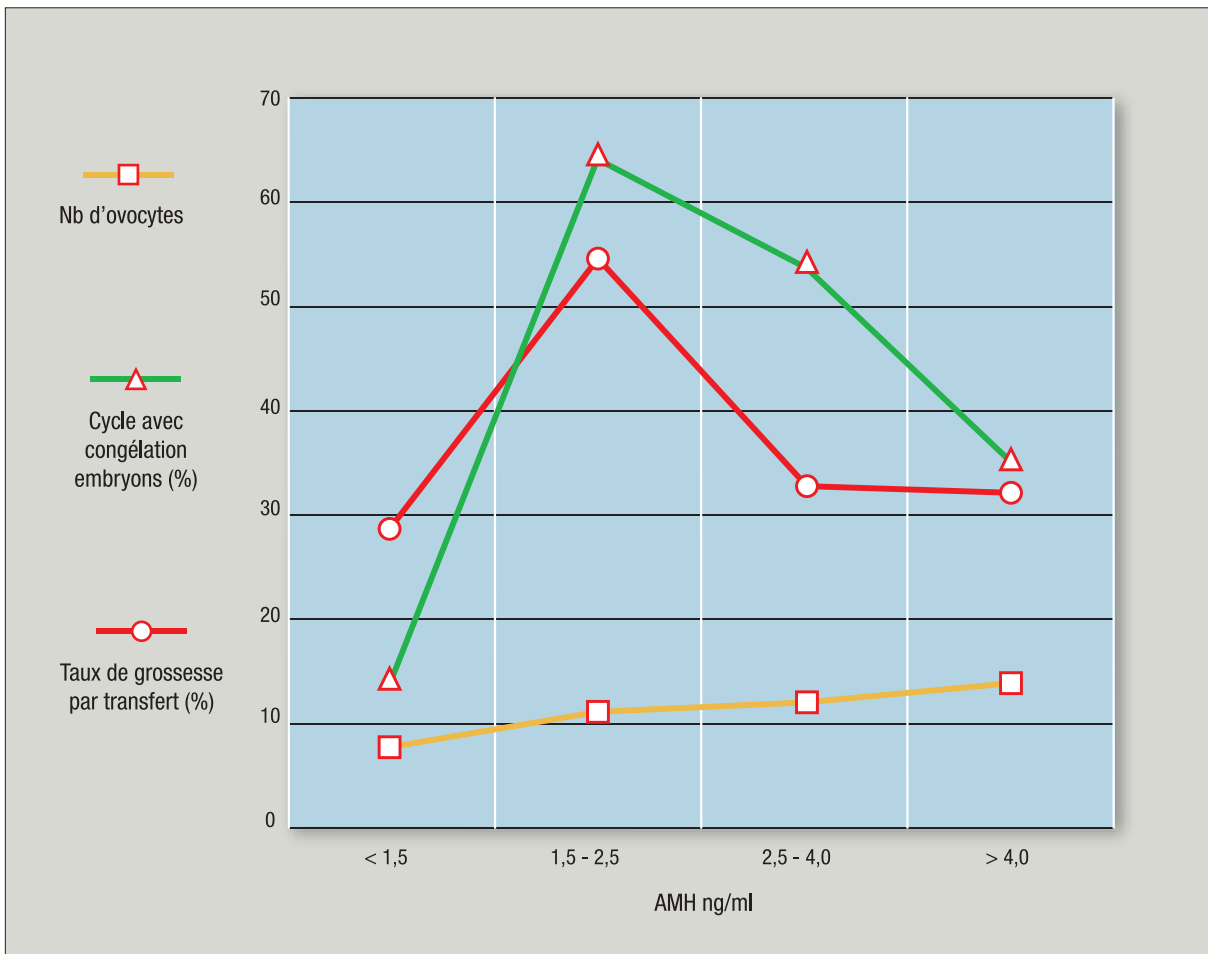
Récemment Takahashi et al. (2008) ont montré que les concentrations en **AMH** du liquide folliculaire étaient positivement corrélées à un taux élevé de fécondation des ovocytes au cours de la FIV.



**Figure 27 :** Relations entre le nombre des follicules en trop précoces et les concentrations d'AMH, de E2, d'inh B et de FSH. (Franchin et al., 2003)



**Figure 28 :** L'AMH : un marqueur pronostique de la FIV. (Seifer et al., 2002)



**Figure 29 :** Evolution du nombre d'ovocytes recueillis, du taux de grossesse par transfert, et du pourcentage de cycles avec congélation des embryons au cours d'une tentative de FIV, en fonction des concentrations d'AMH (ng/ml) mesurées sur 164 patientes. (Dr Cornet D.)

### Nombre de follicules antraux visibles à J3

Nous avons vu que le nombre des follicules antraux diminuait avec l'âge. *Scheffer et al. (2003)* ont montré que le nombre de ces follicules dans une population de fertilité prouvée, était le paramètre le mieux corrélé avec l'âge chronologique, mieux que **E2**, la **FSH** et l'**inh B**.

Toutefois, ce comptage peut poser problème dans la mesure où la définition des follicules antraux varie de 2-5 mm à 2-10 mm selon les études. En outre différents seuils varient selon les études, bien que le chiffre de 6 soit le plus classique. Il y aurait également des variations dans le nombre des follicules chez une même femme, d'un cycle à l'autre.

# Vieillesse ovarien prématuré

---

## Définition

Selon *Togerson et al, 1997* 88% des femmes sont ménopausées après 45 ans et 1.9% avant 40 ans, reflétant une ménopause précoce. Il s'agit d'un vieillissement ovarien du à une insuffisance ovarienne prématurée (IOP). **FSH** surtout, et **LH** sont donc augmentées avant l'âge de 40 ans. L'âge moyen normal de la ménopause est de 51 ans.

## Classification physiopathologique

3 étiologies selon les mécanismes, mais dans 90% des cas, l'étiologie n'est pas connue.

### 1er mécanisme : diminution de la réserve ovarienne

L'ataxie-télangectasie, maladie génétique rare, qui associe à l'IOP avec absence de follicules primordiaux, une ataxie cérébelleuse, des télangectasies oculaires et cutanées, une sensibilité accrue aux radiations.

### 2ème mécanisme : dysfonctionnement folliculaire

Ce type d'insuffisance ovarienne a été appelé «syndrome de résistance aux gonadotrophines» car dans certains cas, des follicules sont visibles à l'échographie.

## Mutation du récepteur de la FSH

Ne concerne actuellement pratiquement que des familles finlandaises (incidence 1 pour 8300 femmes). Les follicules sont bloqués au stade préantral ou plus tardif. Les patientes présentent essentiellement une aménorrhée primaire, mais des formes partielles ont été rapportée en France ( 3 cas ont été décrits en France : *Beau et al., 1998, Touraine et al., 1999, Meduri et al., 2003*). Le terme mutation partielle ne semble pas juste car il n'existe aucune mutation donnant une inactivation totale. La **FSH** est élevée.

## Déficits enzymatiques

On cite l'exceptionnel déficit en 17alpha-hydroxylase chez lequel l'IOP est accompagnée d'une HTA (secondaire à l'hyperminéralocorticisme lié à ce déficit).

La mutation du gène StAR associe une insuffisance surrénalienne à l'IOP.

## **Le blépharophimosis ou BPES**

Maladie génétique rare, associant un syndrome malformatif ophtalmique, avec réduction des fentes palpébrales, une ptose de la paupière, et un épicanthus inversus (BPES), avec une insuffisance ovarienne intermittente. Le gène en cause est le gène FOXL2, dont des mutations identifiées chez la femme bloquent la maturation des CG et le passage au stade follicule secondaire.

De nombreux autres gènes et protéines (*Christin-Maître et al, 1998*) ont été identifiés comme étant impliqués dans le vieillissement ovarien (et étudiés surtout sur la souris). Citons les protéines bax et bcl2 impliquées dans l'apoptose, le facteur gdf9 (les souris invalidées pour ce gène présentent un blocage de la croissance folliculaire au stade de follicule primaire), le gène bmp15 (les femmes avec des mutations hétérozygotes pour BMP15 ont été décrites dans le cadre des IOP), l'AMH freine le passage du follicule primaire au stade secondaire (les souris AMH-I- ont une augmentation de l'entrée en croissance des follicules au repos et un épuisement précoce de la réserve ovarienne), le gène PTNE, connu comme gène suppresseur de tumeur, code pour une enzyme qui est nécessaire pour contrôler le développement folliculaire (les souris inactivées pour ce gène voient leur stock de follicules diminuer précocément et très rapidement, conduisant à une situation analogue à une insuffisance ovarienne prématurée) (*Marx Jean, 2008*).

## **3ème mécanisme : accélération de l'apoptose**

### **Causes auto-immunes**

Le rôle de l'immunité dans les IOP est suspectée quand celle-ci est associée à une maladie auto-immune. Citons les polyendocrinopathies familiales autoimmunes. Le type II de ces polyendocrinopathies est associé à certains allèles du complexe majeur d'histocompatibilité. Elle débute chez l'adulte et est associée à une hypothyroïdie, une maladie d'Addison, un diabète de type I, et des maladies auto-immunes (maladie de Biermer, Vitiligo). Des anticorps ont été mis en évidence contre des enzymes du métabolisme des stéroïdes, la 17 alpha-hydroxylase, la C17-C20 desmolase, la 3β-HSD.

En fait l'origine auto-immune d'une insuffisance ovarienne est difficile à démontrer, en dehors du contexte familial auto-immun (présence d'une myasthénie, d'un lupus, d'une polyarthrite rhumatoïde, d'une maladie de Crohn) ou de l'association à une hypothyroïdie ou à une insuffisance surrénalienne.

### **La chimiothérapie**

C'est l'une des causes les plus fréquentes d'épuisement de la réserve ovarienne par apoptose. Les drogues les plus toxiques pour l'ovocyte sont les agents alkylants tels que les moutardes à l'azote, le cyclophosphamide, le chlorambucil, et le busulfan. Plus la patiente est âgée au moment du traitement, plus l'insuffisance ovarienne risque de survenir prématurément avec stérilité. Il a été montré que même chez les femmes qui ont des cycles spontanés après

traitement anti-cancéreux dans l'enfance, il existe une diminution de la réserve ovarienne mise en évidence par l'échographie transvaginale, (Larsen et al., 2003).

Récemment (van Beek et al., 2007) l'AMH (diminuée) s'est révélée être un marqueur plus sensible que le dosage de la **FSH** (augmentée) et celui de l'**inh B** (diminuée) dans l'exploration de la réserve ovarienne chez des jeunes patientes traitées pour une maladie de Hodgkin .

### **La radiothérapie**

L'insuffisance ovarienne est liée à la dose, aux champs d'irradiation et à l'âge de la patiente. Le risque de stérilité est atteint pour une dose de 20 Gy pour un ovaire pré-pubère et de 0.6 Gy pour une femme de 40 ans. Chez la petite fille de 10 ans, une irradiation sur corps entier entraîne 50% d'IOP, et après 10 ans l'IOP atteint 100%.

### **L'iode radioactif**

L'administration d'iode radioactif pour cancer de la thyroïde entraîne une IOP transitoire. Une augmentation du nombre de fausses couches est observée lorsque le traitement est institué dans l'année qui précède la conception.

### **La galactosémie**

Cette maladie rare, due à l'accumulation de galactose et de ses métabolites dans les cellules (due à un déficit en galactose 1-phosphate uridyl transférase) est associée à des anomalies hépatiques, rénales, neurologiques que l'on peut prévenir par un régime adapté. Cependant on ne peut éviter une IOP qui s'installe avant 30 ans.

### **Les anomalies du chromosome X**

La forme la plus classique est le syndrome de Turner, 50 % des patientes ont un caryotype 45,X. Il existe également des mosaïques comme 45X/46XX ou un caryotype 47XXX. Le nombre des ovocytes est normal jusqu'à 20-24 semaines de vie fœtale, puis il y a chez ces patientes une apoptose accélérée, entraînant un déficit en ovocytes dès la première décennie ; seulement 10% d'entre elles sont réglées. Toutefois, 40% des patientes avec un caryotype mosaïque peuvent être réglées.

L'IOP peut être associée à l'absence complète de l'un des chromosomes X ou à des anomalies qualitatives de ce chromosome.

Des anomalies partielles du chromosome X ou des translocations provoquent une IOP. La région Xq13-26 joue un rôle majeur dans le fonctionnement de l'ovaire. Dans cette zone plusieurs gènes candidats susceptibles d'être associés à une IOP ont été identifiés, FMR1 et FMR2 en particulier.

Des mutations de type X fragile sont une cause d'IOP.

Le syndrome de l'X fragile, représente la cause la plus fréquente d'arriération mentale héréditaire masculine, liée à la mutation de FMR1. Chez le sujet atteint, on observe une



répétition anormalement élevée du triplet CGG >200 (N<50). Chez un sujet avec un gène prémuté, donc asymptomatique et transmetteur, le nombre de triplets est compris entre 50 et 200, Ainsi chez les femmes prémutées on trouve une fréquence élevée d'IOP avec une ménopause survenant avant 40 ans.

### **Causes environnementales**

**Une cause sans doute majeure d'insuffisance ovarienne aujourd'hui** est liée à l'incidence des facteurs environnementaux, pollution, pesticides, et surtout **tabagisme**. L'intoxication tabagique est responsable d'une avance de l'âge de la ménopause de plusieurs années et donc à l'origine d'un vieillissement ovarien prématuré et d'une augmentation significative des cas d'**insuffisance ovarienne relative**. Ce phénomène concerne le tabagisme actif ou passif, et également le tabagisme de la femme enceinte, dont une des conséquences sur le fœtus serait une diminution prématurée de la réserve ovarienne.

### **L'hormonologie de ces insuffisances ovariennes prématurées**

Classiquement, le diagnostic est fortement suspecté sur la base de 2 taux de FSH >40 UI/L, à 1 mois d'intervalle associés à une aménorrhée d'au moins 4 mois. Les taux de LH sont généralement moins élevés. Les taux d'**E2** sont <30 pg, mais ils peuvent être plus élevés. L'effondrement de la réserve ovarienne est objectivé par un effondrement des taux d'**inh B** (taux indétectables) et d'**AMH** comme dans les ménopauses physiologiques. Des taux moyens d'**AMH** de **1.04 ng/ml** ont été obtenus récemment chez 48 patientes avec une IOP. Les taux étaient indétectables chez 77% des patientes qui avaient à la biopsie de 0 à 5 follicules **AMH+**, mais détectables chez les patientes avec plus de 15 follicules **AMH +**.

Compte tenu des étiologies possibles, le dosage de **TSH** (à la recherche d'une insuffisance thyroïdienne auto-immune), la recherche d'anticorps anti-thyroperoxydase, et une glycémie à jeun sont des examens de laboratoire à envisager.

D'autres examens complémentaires tels qu'un caryotype, visant à rechercher une mosaïque, une délétion ou une translocation, et une échographie pelvienne peuvent être indispensables.

Bien entendu, ces résultats biologiques sont à intégrer dans l'examen clinique et l'anamnèse.

# Méthodes de dosages des hormones impliquées dans l'exploration de l'insuffisance ovarienne au cours du vieillissement

---

## Gonadotrophines FSH et LH

### Principes des dosages

Les dosages de **FSH** et **LH** sont effectués par des méthodes immunométriques qui mettent en œuvre d'une part un anticorps capteur et d'autre part un anticorps détecteur qui prennent en sandwich les molécules de **FSH** et **LH**. Les anticorps sont généralement des anticorps monoclonaux. Ces dosages sont essentiellement des méthodes «froides» effectuées sur des automates d'immunoanalyse, bien que des kits de dosages immunoradiométriques avec des anticorps marqués à l'iode 125 soient encore commercialisés.

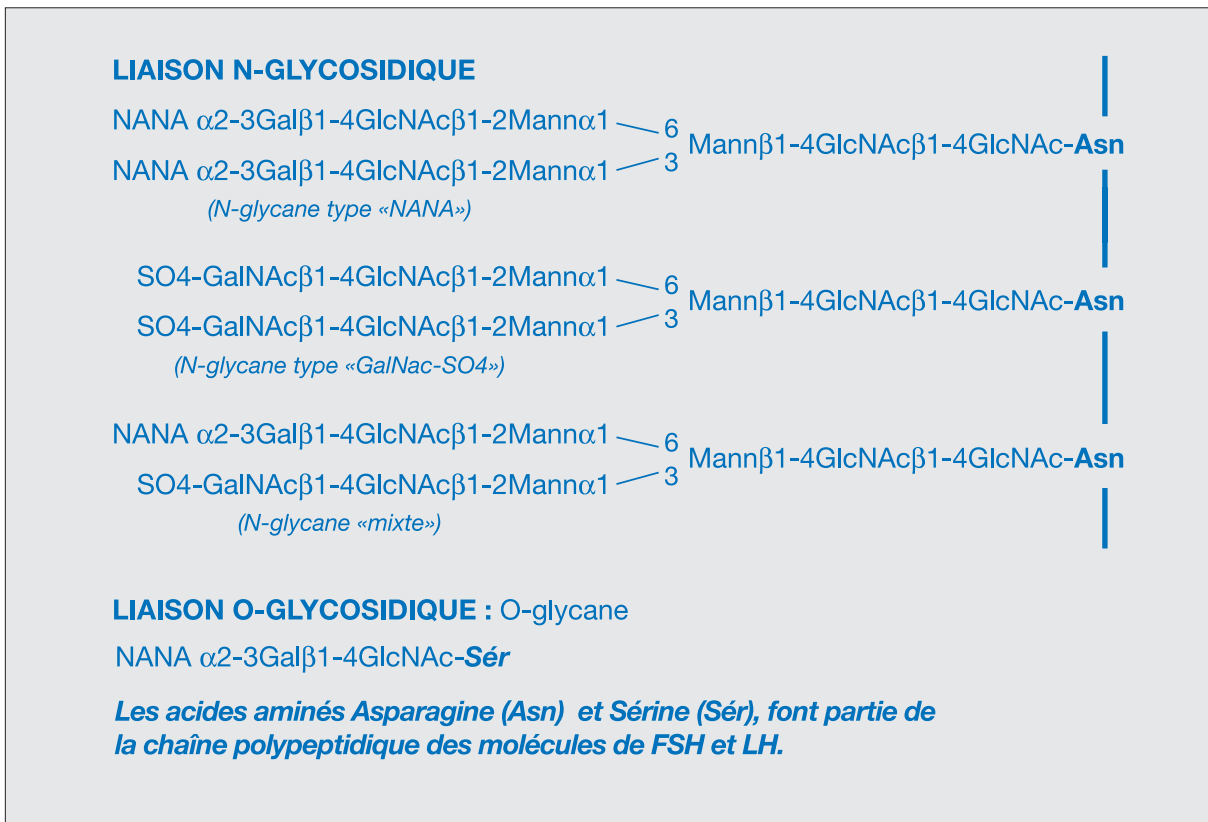
### Incertitudes sur l'exactitude des dosages des gonadotrophines

Alors que la technique de dosage des gonadotrophines est techniquement facile, cette facilité cache des problèmes d'exactitude de ces dosages dus à la variabilité des structures de ces glycoprotéines.

En effet, les chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  des **gonadotrophines** présentent des sites de glycosylation sur lesquels sont greffés des chaînes polysaccharidiques dont les extrémités sont terminées par des groupements N acétylneuraminiques et/ou sulfate N GalNAc, en nombre et proportions différentes selon l'état physiologique des sujets (fig 30). Ainsi par électrofocalisation des gonadotrophines on sépare une plus grande proportion d'isoformes dites «basiques» au moment de l'ovulation alors que ce sont les formes dites «acides» qui prédominent dans le sérum de femmes ménopausées (*Anobile et al, 1998.*)

Cette hétérogénéité structurale des gonadotrophines rend aléatoire l'exactitude de leurs dosages immunométriques, selon l'état physiologique et pathologique des patientes. La mise en œuvre généralisée des anticorps monoclonaux (très spécifiques pour des régions très localisées des glycoprotéines (épitopes) voire trop spécifiques peut entraîner la non reconnaissance de certaines régions des gonadotrophines qui ne possèdent pas l'épitope reconnu par l'anticorps monoclonal. Egalement les structures des standards officiels posent problème dans la mesure où les gonadotrophines présentes dans ces standards ne sont pas identiques à celles présentes dans le plasma des patientes.

Ainsi, alors que pour une même méthode de dosages (ou appareil de dosages), la précision est généralement satisfaisante (CV<10%), on observe une dispersion notable des résultats inter-méthode ; comme cela apparaît sur les résultats du contrôle de qualité Probioqual 2007 du dosage des gonadotrophines (fig 31 et 32). En pratique, il sera indispensable que lors du suivi d'une patiente, les dosages répétés soient effectués par la même technique de dosage.



**Figure 30 : Structures saccharidiques des gonadotrophines.**

A titre indicatif les valeurs usuelles sont rapportées dans le **tableau 14**.

		5ème Percentiles	Médiane	95ème Percentiles
Phase folliculaire	FSH	3.5	6.5	12
	LH	3	6.5	18
Phase lutéale	FSH	1.5	4	9
	LH	1	4.7	12
Phase périovulatoire	FSH	3	11	71
	LH	12	37	88

**Tableau 14 : concentrations en UI/l exprimées par rapport aux standards internationaux FSH WHO 94/632 et LH WHO 2<sup>nd</sup> IS 80/552.**

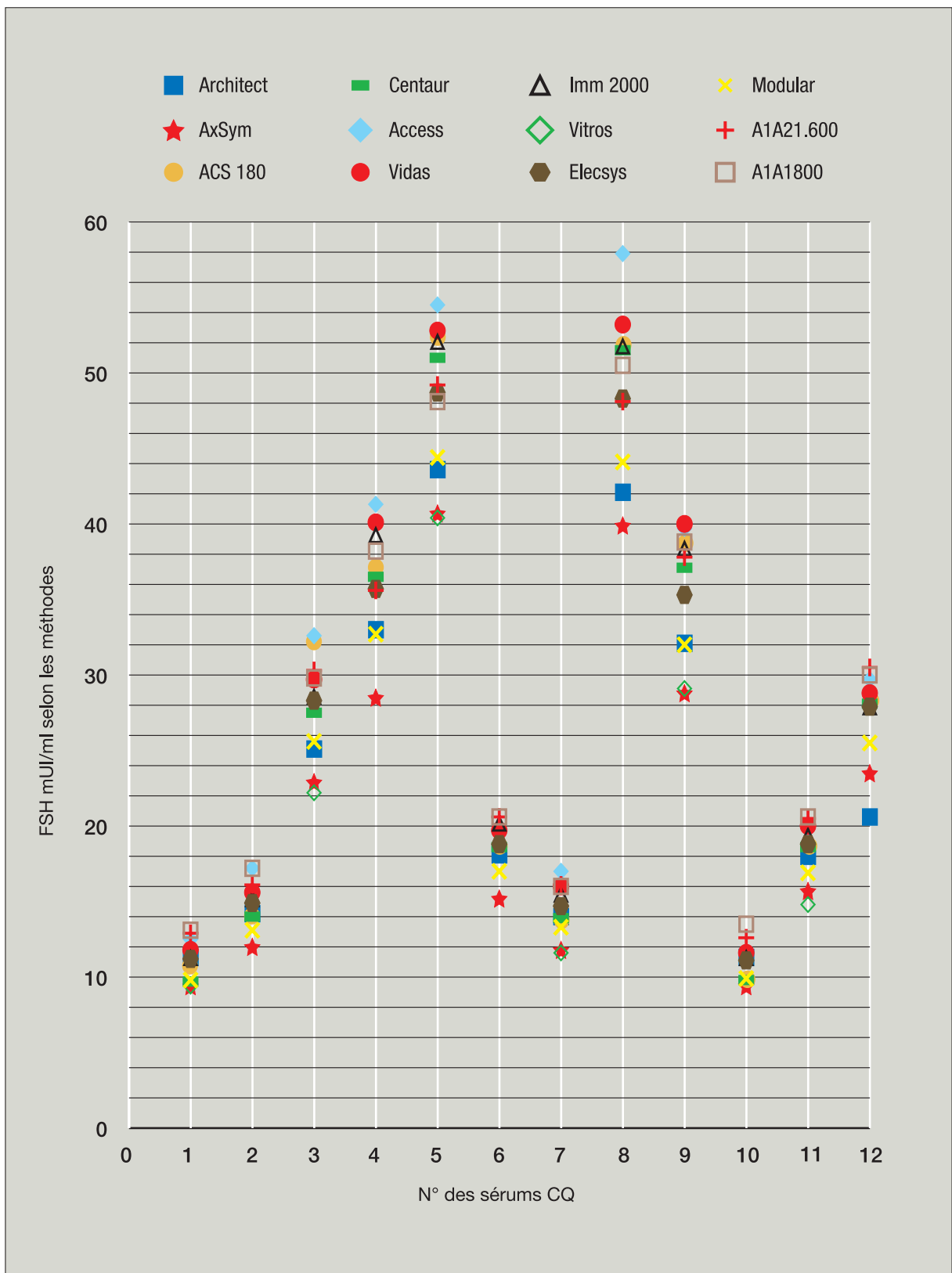
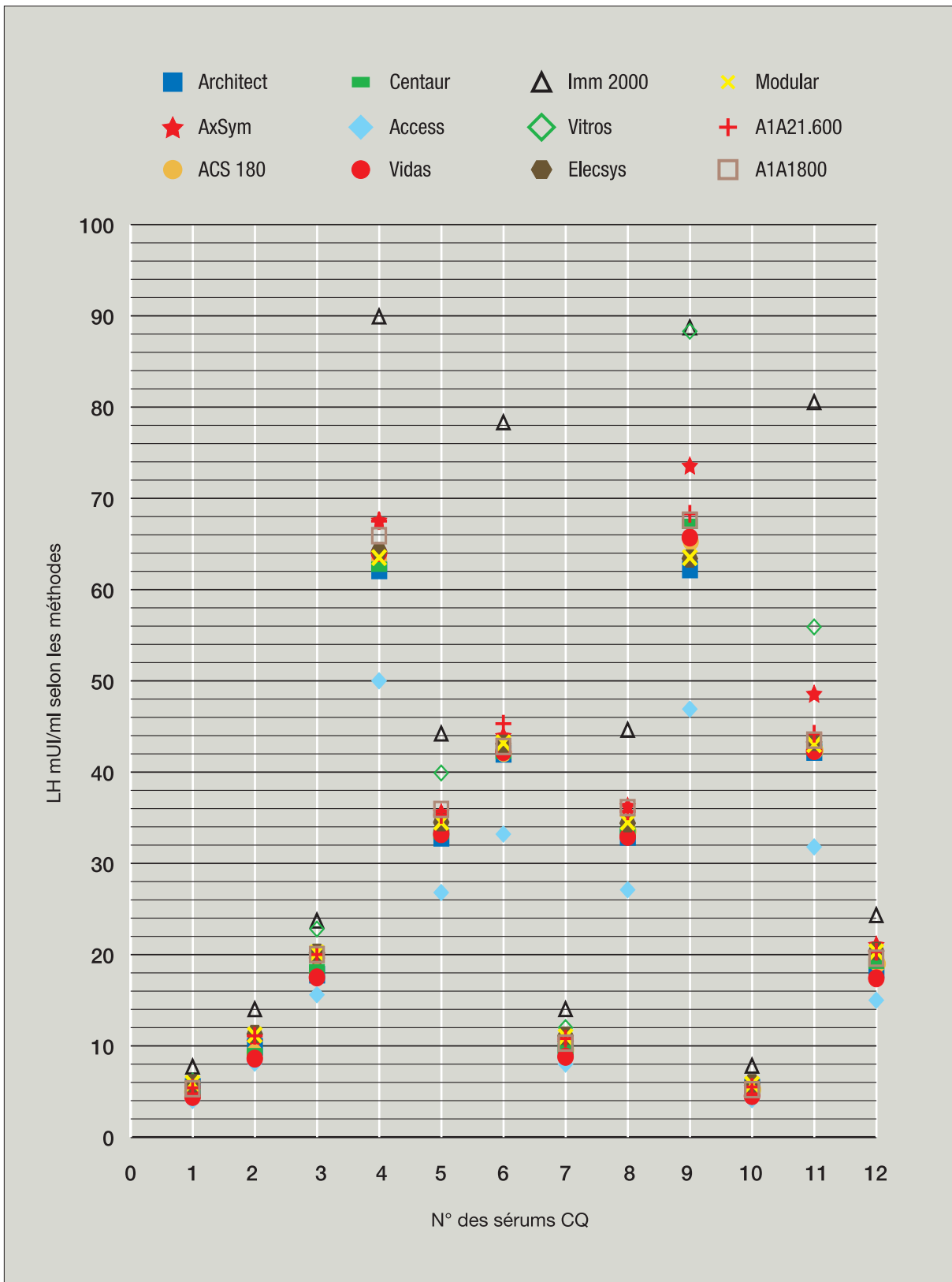


Figure 31 : Résultat du contrôle de qualité du dosage de la FSH effectué sur 12 sérums (CQ) par 12 systèmes analytiques. Enquête Probioqual 2007



**Figure 32 : Résultat du contrôle de qualité du dosage de la LH effectué sur 12 sérums (CQ) avec 12 systèmes analytiques. Enquête Probioqual 2007**

## Dosage de l'estradiol (E2)

Le dosage de **E2** est réalisé le plus souvent par des méthodes immunologiques par compétition, soient des méthodes radioimmunologiques (RIA), (avec de l'estradiol radioactif comme traceur), ou méthodes dites «froides», ( avec un traceur non radioactif, détectable par photométrie ou chimioluminescence ou fluorescence). Dans ce dernier cas, les méthodes sont automatisées et il s'agit de méthodes dites «directes». Les méthodes RIA sont soit «directes», soit «indirectes» mettant en œuvre dans ce cas une étape préalable de purification par extraction suivie d'une chromatographie sur Célite ou LH20, avant l'immunodosage proprement dit. La méthode de référence est la méthode par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GCMS). Les méthodes «directes» sont rapides, exigent le moins de prélèvements, mais elles corrént moins bien avec la GCMS (effets matrices et interférences des stéroïdes conjugués) que les méthodes «indirectes» (*Lee et al, 2006*), cependant les moyennes des résultats des méthodes «indirectes» comparées à la GCMS ne sont pas forcément en leur faveur. Sur une population de 374 femmes ménopausées de 60 à 80 ans, non traitées, les concentrations de E2 selon les méthodes de dosages sont rapportées dans le [tableau13](#).

**Tableau 13 : Concentrations de E2 chez 374 femmes ménopausées en fonction de la technique de dosages.** (\*les méthodes «directes» concernent les méthodes DSL, DPC, Elecsys, Vitros) (*Lee et al, 2006*)

Caractéristiques	Moyenne ± SD (pg/ml)	Valeurs extrêmes (pg/ml) (pg/ml)
GCMS	5.6 ± 3.8	1-25
Méthodes «directes»*	6.4 ± 5.4	1.4-36
Méthodes «indirectes»	9.4 ± 6.3	1.5-45.2

Le contrôle de qualité Probioqual, (année 2007) (fig 33), portant sur 12 sérums montrent que les moyennes tronquées obtenues en fonction des méthodes (ou appareil) ont des valeurs qui vont du simple au quadruple, lorsque la valeur vraie déterminée par GCMS se situe dans les valeurs basses de la normale 36pg/ml (134 pmol/l). Plusieurs kits de dosages (Cis Bio International EST-US-CT, Dia Sorin Spectra Sensitive, et DPC-double antibody) sont cependant très performants dans cette zone de dosages (Travail de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé, publié dans les Annales d'Endocrinologie Congrès de Strasbourg, 2005) .Il y a par contre, une bonne concordance entre la GCMS et les résultats des immunodosages (méthodes «directes»), dans la zone de concentration de la phase ovulatoire du cycle menstruel 372 pg/ml (1374 pmol/l).

## **Dosages de l'estrone (E1) et du sulfate d'estrone (SE1)**

Il n'y pas ou peu de réactifs commerciaux encore actuellement pour les dosages de E1 et de SE1. Ces stéroïdes sont des précurseurs de E2, et sont utiles pour mieux connaître l'imprégnation estrogénique de l'organisme. SE1 a une demi vie beaucoup plus longue que E1 et E2, et se comporte comme un pool de réserve des estrogènes.

Le dosage de E1 est effectué par RIA avec des anticorps anti E1-6 carboxyméthylxime-BSA, après extraction puis purification chromatographique avant immunodosage. Cependant ce dosage exige pour avoir une précision suffisante, au cours de la ménopause un volume de plasma compris entre 0.5 ml et 2ml. Une plus grande sensibilité de dosage de E1 est obtenue après réduction de E1 en E2 par le borohydrure de Na et dosage RIA avec des anticorps anti E2. L'utilisation de la GCMS permet des dosages sensibles et exactes.

Le dosage du SE1 est réalisé par RIA soit après solvolysse ou hydrolyse enzymatique pour libérer E1 dosée par des anticorps antiE1, soit directement avec des anticorps anti SE1 (Giton et al, 2002). Ce dosage est réalisé également par spectrométrie de masse.

## **Dosage de la progestérone**

Il est effectué par immunocompétition. Les résultats des CV tronqués vont du simple au triple selon les systèmes analytiques, pour des niveaux de progestérone <1 ng/ml. Par contre la variabilité inter systèmes de dosages est satisfaisante pour des niveaux de progestérone de phase lutéale, et dans ce cas une bonne concordance est trouvée entre les méthodes immunologiques et la GCMS.

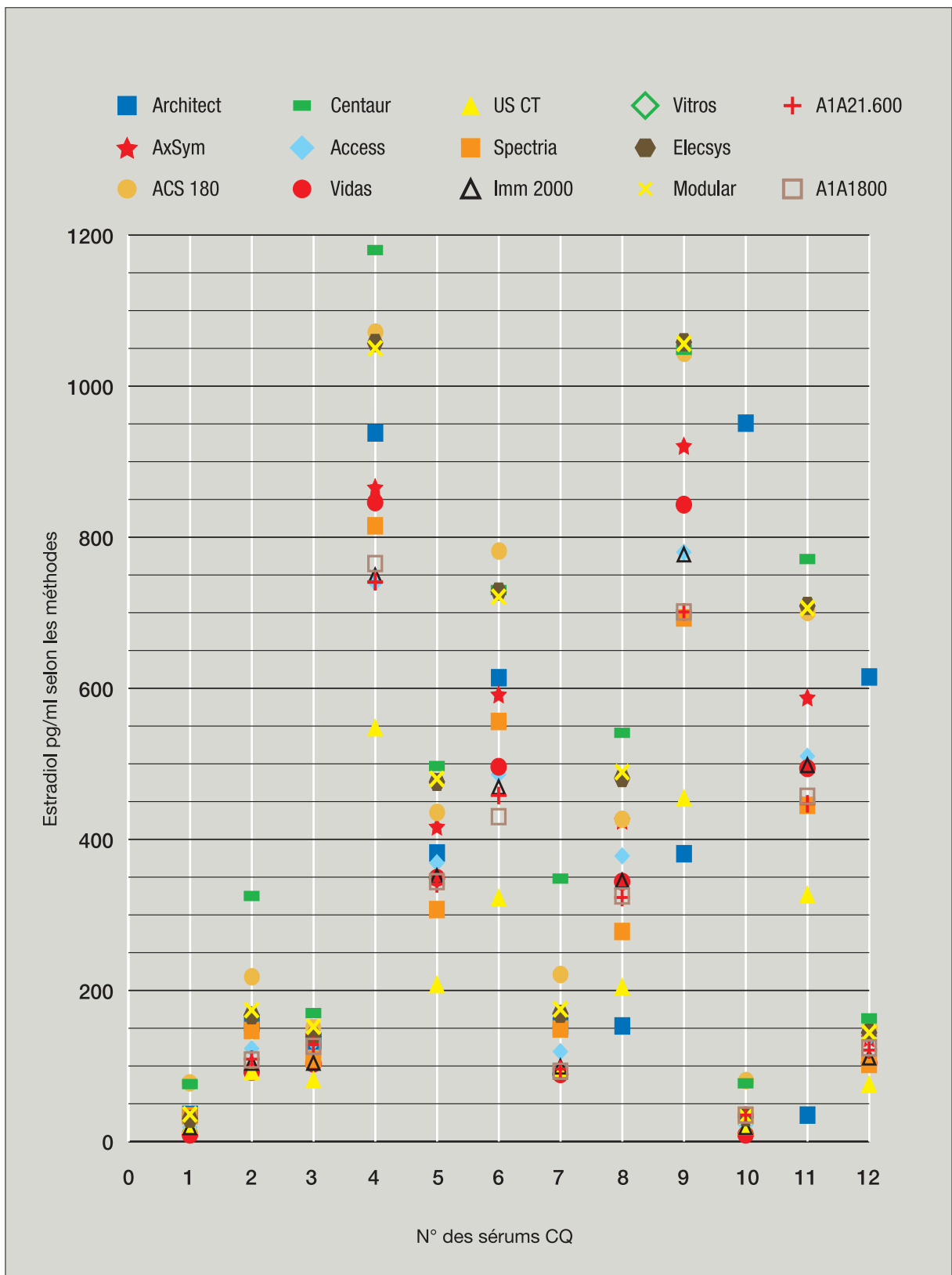


Figure 33 : Résultat du contrôle de qualité du dosage de la E2 effectué sur 12 sérums (CQ) avec 12 systèmes analytiques. Enquête Probioqual 2007



## Dosage de l'AMH

Le dosage de l'AMH est réalisé par méthode immunoenzymométrique sandwich sur plaque de microtitration. L'anticorps détecteur est biotinyté. La révélation se fait par la streptavidine-peroxydase et addition d'un chromogène. Deux réactifs sont commercialisés actuellement, Immunotech/Beckman Coulter et DSL. Les résultats obtenus avec le kit DSL bien que corrélés à ceux de Immunotech/Beckman Coulter sont 4.6 fois plus faibles. Ceci est la conséquence du manque de standard international de l'AMH *Fréour et al, 2006*.

Pour les 2 kits, au cours d'une FIV, il n'y a pas de différence significative des concentrations d'AMH entre d'une part le groupe de patientes ayant eu une grossesse et celles ayant échouées. Ainsi les 2 kits n'ont pas une bonne valeur prédictive positive pour le succès d'une grossesse. Par contre, avec le kit Immunotech, selon *Fréour et al, 2006* sur 69 patientes tous les succès de grossesse avaient des taux d'AMH > 1.4 µg/l (*Fréour et al, 2006*). Ce taux limite varie selon les auteurs. Il est de 1.13 µg/l (*Muttukrishna et al, 2004*), 1.4 µg/l (*van Rooij et al, 2002*), 2.5 µg/l (*Seifer et al, 2002*), 4.9 pmol/l (*Penarrubia et al, 2005*). Sur 164 patientes, les taux de grossesses par transfert ont été de 28,5% lorsque l'AMH était < 1.5 µg/l mais atteignaient 54,8 % pour des concentrations d'AMH comprises entre 1.5 et 2.5 µg/l (*Cornet, 2008*).

## Dosage de l'inhibine B

Le dosage de l'inhibine B (kit DSL) , est réalisé par méthode immunoenzymométrique sur microplaque. L'anticorps «capteur» anti-inhibine B utilisé ne reconnaît que la structure dimérique de l'inhibine B et non la chaîne libre. Dans cette méthode dite «sandwich» l'anticorps détecteur anti chaîne α de l'inhibine est marqué par la biotine. Les concentrations varient au cours du cycle menstruel. (L'inhibine B est dosée essentiellement au début du cycle).

# Bibliographie

---

- Abma JC, Chandra A, Mosher WD, Peterson LS, Piccinino LJ. Fertility, family planning, and women's health: new data from the 1995 National Survey of Family Growth. *Vital Health Stat*, 1997, 23:1-114.
- Ahmed Ebbiary NA, Lenton EA, Cooke ID. Hypothalamic-pituitary ageing: progressive increase in FSH and LH concentrations throughout the reproductive life in regularly menstruating women. *Clin Endocrinol*, 1994, 41:199-206.
- Anobile CJ, Talbot JA, McCann SJ, Padmanabhan V, Robertson WR. Glycoform composition of serum gonadotrophins through the normal menstrual cycle and in the post-menopausal state. *Mol Hum Reprod*, 1998, 4:631-639.
- Aymé S, Lippman-Hand A. Maternal-age effect in aneuploidy: does altered embryonic selection play a role? *Am J Hum Genet*, 1982,34:558-565.
- Baglietto L, English DR, Hopper JL, Macinnis RJ, Morris HA, Tilley WD, Krishnan K, Giles GG. Circulating steroid hormone concentrations in postmenopausal women in relation to body size and composition. *Breast Cancer Res Treat*, 2008, May 29.
- Bancsi LF, Broekmans FJ, Mol BW, Habbema JD, te Velde ER. Performance of basal follicle-stimulating hormone in the prediction of poor ovarian response and failure to become pregnant after in vitro fertilization: a meta-analysis. *Fertil Steril*, 2003, 79:1091-1100.
- Barnhart K, Osheroff J. We are overinterpreting the predictive value of serum follicle-stimulating hormone levels. *Fertil Steril*, 1999, 72:8-9.
- Beau I, Touraine P, Meduri G, Gougeon A, Desroches A, Matuchansky C, Milgrom E, Kuttann F, Misrahi M. A novel phenotype related to partial loss of function mutations of the follicle stimulating hormone receptor. *J Clin Invest*, 1998, 102:1352-1359.
- Begum S, Papaioannou VE, Gosden RG. The oocyte population is not renewed in transplanted or irradiated adult ovaries. *Human Reprod* pp. 1-5, 2008 Advance Access published July 1, 2008.
- Brailly S, Gougeon A, Milgrom E, Bomsel-Helmreich O, Papiernik E. Androgens and progestins in the human ovarian follicle: differences in the evolution of preovulatory, healthy nonovulatory, and atretic follicles. *J Clin Endocrinol Metab*, 1981, 53:128-134.
- Burger HG, The endocrinology de la ménopause. *Maturitas*, 1996, 23 :129-136.
- Burger HG, Dudley EC, Hopper JL, Shelley JM, Green A, Smith A, Dennerstein L, Morse C. The endocrinology of the menopausal transition: a cross-sectional study of a population-based sample. *J Clin Endocrinol Metab*, 1995, 80:3537-3545.
- Burger HG, Dudley EC, Robertson DM, Dennerstein L. Hormonal changes in the menopause transition. *Recent Prog Horm Res*, 2002;57:257-275. Review.
- Christin-Maitre S, Vasseur C, Portnoi MF, Bouchard P. Genes and premature ovarian failure. *Mol Cell Endocrinol*, 1998, 145:75-80.
- de Vet A, Laven JS, de Jong FH, Themmen AP, Fauser BC. Antimüllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. *Fertil Steril*, 2002,77:357-362
- Durlinger AL, Visser JA, Themmen AP. Regulation of ovarian function: the role of anti-Müllerian hormone. *Reproduction*, 2002, 124:601-609.
- Eggen K, Jurga S, Gosden R, Min IM, Wagers AJ. Ovulated oocytes in adult mice derive from non-circulating germ cells. *Nature*, 2006, 441:1109-1114.
- Eliassen AH, Missmer SA, Tworoger SS, Spiegelman D, Barbieri RL, Dowsett M, Hankinson SE. Endogenous steroid hormone concentrations and risk of breast cancer among premenopausal women. *J Natl Cancer Inst*, 2006, 98:1406-1415.
- Evers JL, Slaats P, Land JA, Dumoulin JC, Dunselman GA. Elevated levels of basal estradiol-17beta predict poor response in patients with normal basal levels of follicle-stimulating hormone undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril*, 1998, 69:1010-1014.

- Fanchin R, Schonäuer LM, Righini C, Guibourdenche J, Frydman R, Taieb J. Serum anti-Müllerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. *Hum Reprod*, 2003, 18:323-327.
- FIVNAT French National IVF Registry: analysis of 1986 to 1990 data. FIVNAT (French in vitro National) Fertil Steril, 1993, 59:587-595.
- Fletcher JLM, Vessey MP. Coronary heart disease in women: current trends and health economics. In European Consensus Development Conference on Menopause, I vol, Birkhäuser M et Rozenbaum H. Eds. Eska Paris, 1996 : 139-150.
- Fréour T, Mirallié S, Bach-Ngohou K, Denis M, Barrière P, Masson D. Measurement of serum anti-Müllerian hormone by Beckman Coulter ELISA and DSL ELISA: comparison and relevance in assisted reproduction technology (ART). *Clin Chim Acta*, 2007, 375:162-164.
- Geisler J, Lønning PE. Aromatase inhibitors as adjuvant treatment of breast cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2006, 57:53-61.
- Giton F, Valleix A, Boudou P, Villette JM, Bélanger A, Galons H, Fiet J. Specific radioimmunoassay of estrone sulfate. Application to measurement in male plasma. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2002,81:85-94.
- Goodman AL, Hodgen GS. The ovarian triad of the primate menstrual cycle. *Recent Prog Horm Res*, 1983, 39:1-73
- Gougeon A, Testart J. Influence of menopausal gonadotropin on the recruitment of human ovarian follicles. *Fertil Steril*, 1990, 54:848-852.
- Gougeon A, Ecochard R, Thalabard JC. Age-related changes of the population of human ovarian follicles: increase in the disappearance rate of non-growing and early-growing follicles in aging women. *Biol Reprod*, 1994, 50:653-663.
- Gougeon A. The biological aspects of risks of infertility due to age: the female side. *Rev Epidemiol Sante Publique*, 2005, 53 Spec No 2:2S37-45.
- Johnson J, Canning J, Kaneko T, Pru JK, Tilly JL. Germline stem cells and follicular renewal in the postnatal mammalian ovary. *Nature*, 2004, 428:145-150.
- Johnson J, Bagley J, Skaznik-Wikiel M, Lee HJ, Adams GB, Niikura Y, Tschudy KS, Tilly JC, Cortes ML, Forkert R, Spitzer T, Iacomini J, Scadden DT, Tilly JL. Oocyte generation in adult mammalian ovaries by putative germ cells in bone marrow and peripheral blood. *Cell*, 2005, 122:303-315.
- Kinoshita M, Tsukamura H, Adachi S, Matsui H, Uenoyama Y, Iwata K, Yamada S, Inoue K, Ohtaki T, Matsumoto H, Maeda K. Involvement of central metastin in the regulation of preovulatory luteinizing hormone surge and estrous cyclicity in female rats. *Endocrinology*, 2005, 146:4431-4436.
- Klein NA, Battaglia DE, Fujimoto DY, Davis GS, Bremner WJ, Soules MR. Reproductive aging: accelerated ovarian follicular development associated with a monotropic follicle-stimulating hormone rise in normal older women. *J Clin Endocrinol Metab*, 1996, 81:1038-1045.
- La Marca A, Malmusi S, Giulini S, Tamaro LF, Orvieto R, Levratti P, Volpe A. Anti-Müllerian hormone plasma levels in spontaneous menstrual cycle and during treatment with FSH to induce ovulation. *Hum Reprod*, 2004, 19:2738-2741.
- Labrie F, Bélanger A, Bélanger P, Bérubé R, Martel C, Cusan L, Gomez J, Candas B, Castiel I, Chaussade V, Deloche C, Leclaire J. Androgen glucuronides, instead of testosterone, as the new markers of androgenic activity in women. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2006, 99:182-188.
- Larsen EC, Müller J, Schmiegelow K, Rechnitzer C, Andersen AN. Reduced ovarian function in long-term survivors of radiation- and chemotherapy-treated childhood cancer. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88:5307-5314.
- Lee SJ, Lenton EA, Sexton L, Cooke ID. The effect of age on the cyclical patterns of plasma LH, FSH, oestradiol and progesterone in women with regular menstrual cycles. *Hum Reprod*, 1988, 3:851-855.
- Lee JS, Ettinger B, Stanczyk FZ, Vittinghoff E, Hanes V, Cauley JA, Chandler W, Settlege J, Beattie MS, Folkert E, Dowsett M, Grady D, Cummings SR. Comparison of methods to measure low serum estradiol levels in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006, 91:3791-3797.
- Licciardi FL, Liu HC, Rosenwaks Z. Day 3 estradiol serum concentrations as prognosticators of ovarian stimulation response and pregnancy outcome in patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril*, 1995, 64:991-994.

- Liu Y, Wu C, Lyu Q, Yang D, Albertini DF, Keefe DL, Liu L. Germline stem cells and neo-oogenesis in the adult human ovary. *Dev Biol*, 2007, 306:112-120.
- Lønning PE, Ekse D. A sensitive assay for measurement of plasma estrone sulphate in patients on treatment with aromatase inhibitors. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 1995, 55:409-412.
- Marx J. Developmental biology. Aging of the ovary linked to PTEN pathway. *Science*, 2008, 319:558-559.
- Meduri G, Touraine P, Beau I, Lahuna O, Desroches A, Vacher-Lavenu MC, Kuttann F, Misrahi M. Delayed puberty and primary amenorrhea associated with a novel mutation of the human follicle-stimulating hormone receptor: clinical, histological, and molecular studies. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88:3491-3498.
- Messenger S, Chatzidaki EE, Ma D, Hendrick AG, Zahn D, Dixon J, Thresher RR, Malinge I, Lomet D, Carlton MB, Colledge WH, Caraty A, Aparicio SA. Kisspeptin directly stimulates gonadotropin-releasing hormone release via G protein-coupled receptor 54. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102:1761-1766.
- Muttukrishna S, Suharjono H, McGarrigle H, Sathanandan M. Inhibin B and anti-Müllerian hormone: markers of ovarian response in IVF/ICSI patients? *BJOG*, 2004, 111:1248-1253.
- O'Connor KA, Holman DJ, Wood JW. Declining fecundity and ovarian ageing in natural fertility populations. *Maturitas*, 1998, 12;30:127-136.
- O'Connor KA, Brindle E, Holman DJ, Klein NA, Soules MR, Campbell KL, Kohen F, Munro CJ, Shofer JB, Lasley BL, Wood JW. Urinary estrone conjugate and pregnanediol 3-glucuronide enzyme immunoassays for population research. *Clin Chem*, 2003, 49:1139-1148.
- Pasqualini JR, Chetrite G, Blacker C, Feinstein MC, Delalonde L, Talbi M, Maloche C. Concentrations of estrone, estradiol, and estrone sulfate and evaluation of sulfatase and aromatase activities in pre- and postmenopausal breast cancer patients. *J Clin Endocrinol Metab*, 1996, 81:1460-1464.
- Pasqualini JR. *Breast Cancer-Prognosis, treatment, and prevention-Second Edition* Informa healthcare New York London, 2008 april.
- Peñarrubia J, Fábregues F, Manau D, Creus M, Casals G, Casamitjana R, Carmona F, Vanrell JA, Balasch J. Basal and stimulation day 5 anti-Müllerian hormone serum concentrations as predictors of ovarian response and pregnancy in assisted reproductive technology cycles stimulated with gonadotropin-releasing hormone agonist-gonadotropin treatment. *Hum Reprod*, 2005, 20:915-922.
- Piltonen T, Koivunen R, Ruokonen A, Tapanainen JS. Ovarian age-related responsiveness to human chorionic gonadotropin. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88:3327-3332.
- Piltonen T, Morin-Papunen L, Koivunen R, Perheentupa A, Ruokonen A, Tapanainen JS. Serum anti-Müllerian hormone levels remain high until late reproductive age and decrease during metformin therapy in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod*, 2005, 20:1820-1826.
- Plachot M. Genetic analysis of the oocyte--a review. *Placenta*. 2003 Oct;24 Suppl B:S66-9.
- Prior JC. Perimenopause: the complex endocrinology of the menopausal transition. *Endocr Rev*, 1998, ;19:397-428.
- Reed MJ, Cheng RW, Noel CT, Dudley HA, James VH. Plasma levels of estrone, estrone sulfate, and estradiol and the percentage of unbound estradiol in postmenopausal women with and without breast disease. *Cancer Res*, 1983, 43:3940-3943.
- Rozenbaum H. Les estrogènes. Les estrogènes et le système cardiovasculaire page 73 Editions Médicales ;
- Santoro N, Brown JR, Adel T, Skurnick JH. Characterization of reproductive hormonal dynamics in the perimenopause. *J Clin Endocrinol Metab*, 1996, 81:1495-1501.
- Schairer C, Hill D, Sturgeon SR, Fears T, Mies C, Ziegler RG, Hoover RN, Sherman ME. Serum concentrations of estrogens, sex hormone binding globulin, and androgens and risk of breast hyperplasia in postmenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2005, 14:1660-1665.
- Scheffer GJ, Broekmans FJ, Looman CW, Blankenstein M, Fauser BC, teJong FH, teVelde ER. The number of antral follicles in normal women with proven fertility is the best reflection of reproductive age. *Hum Reprod*, 2003, ;18:700-706.
- Schairer C, Hill D, Sturgeon SR, Fears T, Mies C, Ziegler RG, Hoover RN, Sherman ME. Serum concentrations of estrogens, sex hormone binding globulin, and androgens and risk of breast hyperplasia in postmenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2005, 4:1660-1665.

- Scott RT Jr, Hofmann GE, Oehninger S, Muasher SJ. Intercycle variability of day 3 follicle-stimulating hormone levels and its effect on stimulation quality in in vitro fertilization. *Fertil Steril*, 1990, 54::297-302.
- Seifer DB, Lambert-Messerlian G, Hogan JW, Gardiner AC, Blazar AS, Berk CA. Day 3 serum inhibin-B is predictive of assisted reproductive technologies outcome. *Fertil Steril*, 1997, 67:110-114.
- Seifer DB, MacLaughlin DT, Christian BP, Feng B, Sheldon RM. Early follicular serum müllerian-inhibiting substance levels are associated with ovarian response during assisted reproductive technology cycles. *Fertil Steril*, 2002, 77:468-471.
- Setiawan VW, Haiman CA, Stanczyk FZ, Le Marchand L, Henderson BE. Racial/ethnic differences in postmenopausal endogenous hormones: the multiethnic cohort study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2006, 15:1849-1855.
- Shideler SE, DeVane GW, Kalra PS, Benirschke K, Lasley BL. Ovarian-pituitary hormone interactions during the perimenopause. *Maturitas*, 1989, 11:331-339.
- Short RA, Bowen RL, O'Brien PC, Graff-Radford NR. Elevated gonadotropin levels in patients with Alzheimer disease. *Mayo Clin Proc*, 2001, 76:906-909.
- Smotrich DB, Widra EA, Gindoff PR, Levy MJ, Hall JL, Stillman RJ. Prognostic value of day 3 estradiol on in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril*, 1995, 64:1136-1140.
- Soules MR, Sherman S, Parrott E, Rebar R, Santoro N, Utian W, Woods N. Executive summary: Stages of Reproductive Aging Workshop (STRAW). *Climacteric*, 2001, 4:267-272.
- Sowers MR, Eyvazzadeh AD, McConnell D, Yosef M, Jannausch ML, Zhang D, Harlow S, Randolph JF Jr. Anti-müllerian hormone and inhibin B in the definition of ovarian aging and the menopause transition. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008, 93:3478-3483.
- Stanway SJ, Purohit A, Woo LW, Sufi S, Vigushin D, Ward R, Wilson RH, Stanczyk FZ, Dobbs N, Kulinskaya E, Elliott M, Potter BV, Reed MJ, Coombes RC. Phase I study of STX 64 (667 Coumate) in breast cancer patients: the first study of a steroid sulfatase inhibitor. *Clin Cancer Res*, 2006, ;12:1585-1592.
- Streuli I, Fraisse T, Chapron C, Bijaoui G, Bischof P, de Ziegler D. Clinical uses of anti-Müllerian hormone assays: pitfalls and promises. *Fertil Steril*, 2008 Feb 2. in press.
- Takahashi C, Fujito A, Kazuka M, Sugiyama R, Ito H, Isaka K. Anti-Müllerian hormone substance from follicular fluid is positively associated with success in oocyte fertilization during in vitro fertilization. *Fertil Steril*, 2008, 89:586-591.
- Telfer EE, Gosden RG, Byskov AG, Spears N, Albertini D, Andersen CY, Anderson R, Braw-Tal R, Clarke H, Gougeon A, McLaughlin E, McLaren A, McNatty K, Schatten G, Silber S, Tsafiri A. On regenerating the ovary and generating controversy. *Cell*, 2005, 122:821-822.
- te Velde ER, Pearson PL. The variability of female reproductive ageing. *Hum Reprod Update*, 2002, 8:141-154.
- Tinkanen H, Bläuer M, Laippala P, Tuohimaa P, Kujansuu E. Correlation between serum inhibin B and other indicators of the ovarian function. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2001, 94:109-113.
- Torgerson DJ, Thomas RE, Reid DM. Mothers and daughters menopausal ages: is there a link? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 1997, 74:63-66.
- Touraine P, Beau I, Gougeon A, Meduri G, Desroches A, Pichard C, Detoeuf M, Paniel B, Prieur M, Zorn JR, Milgrom E, Kuttann F, Misrahi M. New natural inactivating mutations of the follicle-stimulating hormone receptor: correlations between receptor function and phenotype. *Mol Endocrinol*, 1999, 13:1844-1854.
- Tsepelidis S, Devreker F, Demeestere I, Flahaut A, Gervy Ch, Englert Y. Stable serum levels of anti-Müllerian hormone during the menstrual cycle: a prospective study in normo-ovulatory women. *Hum Reprod*, 2007, 22:1837-1840
- van Beek RD, van den Heuvel-Eibrink MM, Laven JS, de Jong FH, Themmen AP, Hakvoort-Cammel FG, van den Bos C, van den Berg H, Pieters R, de Muinck Keizer-Schrama SM. Anti-Müllerian hormone is a sensitive serum marker for gonadal function in women treated for Hodgkin's lymphoma during childhood. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92:3869-3874.
- Van Look PFA, Lothian H, Hunter WM, Michie EA, Baird DT. Hypothalamic-pituitary –ovarian function in perimenopausal women. *Clin Endocrinol*, 1977, 7:13-31.
- van Rooij IA, Broekmans FJ, te Velde ER, Fauser BC, Bancsi LF, de Jong FH, Themmen AP. Serum anti-Müllerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve. *Hum Reprod*, 2002, 17:3065-3071.

van Rooij IA, Tonkelaar I, Broekmans FJ, Looman CW, Scheffer GJ, de Jong FH, Themmen AP, te Velde ER. Anti-müllerian hormone is a promising predictor for the occurrence of the menopausal transition. *Menopause*; 2004,11:601-606.

van Zonneveld P, Scheffer GJ, Broekmans FJ, Blankenstein MA, de Jong FH, Looman CW, Habbema JD, te Velde ER. Do cycle disturbances explain the age-related decline of female fertility? Cycle characteristics of women aged over 40 years compared with a reference population of young women. *Hum Reprod*, 2003, 18:495-501.

Vaninetti S, Baccarelli A, Romoli R, Fanelli M, Faglia G, Spada A. Effect of aging on serum gonadotropin levels in healthy subjects and patients with nonfunctioning pituitary adenomas. *Eur J Endocrinol*, 2000, 142:144-149.

Visser JA, Themmen AP. Anti-Müllerian hormone and folliculogenesis. *Mol Cell Endocrinol*, 2005, 29;234:81-86.

Weenen C, Laven JS, Von Bergh AR, Cranfield M, Groome NP, Visser JA, Kramer P, Fauser BC, Themmen AP. Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. *Mol Hum Reprod*, 2004,10:77-83.

Welt CK, Jimenez Y, Sluss PM, Smith PC, Hall JE. Control of estradiol secretion in reproductive ageing. *Hum Reprod*, 2006, 21:2189-2193.

Welt CK, McNicholl DJ, Taylor AE, Hall JE. Female reproductive aging is marked by decreased secretion of dimeric inhibin. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999, 84:105-101.

Wolff EF, Taylor HS. Value of the day 3 follicle-stimulating hormone measurement. *Fertil Steril*, 2004, 81:1486-1488;

Yaffe K, Lui LY, Grady D, Cauley J, Kramer J, Cummings SR. Cognitive decline in women in relation to non-protein-bound oestradiol concentrations. *Lancet*, 2000 356:708-712.

Yding Andersen C, Byskov AG. Estradiol and regulation of anti-Müllerian hormone, inhibin-A, and inhibin-B secretion: analysis of small antral and preovulatory human follicles' fluid. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006, 91:4064-4069.

Zeleznik AJ, Keyes PL, Menon KMJ, Midgley Jr AR, Reichert Jr LE. Development-dependent responses of ovarian follicles to FSH and hCG. *Am J Physiol*, 1977, 233: E229-E234.



Blank page with horizontal dotted lines for writing.



ISSN : 1293-2892  
ISBN : 2-913633-52-8  
EGOPRIM  
45, rue de la Glacière 75013 Paris  
Dépôt légal : Octobre 2008



# CAHIER DE **Formation** Biologie médicale

## **Cahiers de formation déjà parus**

---

- N° 1 : Hématologie
- N° 2 : Immunoanalyse
- N° 3 : Parasitologie
- N° 4 : Bactériologie
- N° 5 : Hormonologie - Gazométrie
- N° 6 : G.B.E.A
- N° 7 : Immuno-allergie (1)
- N° 8 : Hémoglobines glyquées - Lipides
- N° 9 : Dosage des médicaments Tome I
- N° 10 : Hématologie Cas illustrés
- N° 11 : Amibes et flagellés intestinaux
- N° 12 : Les maladies à Prions
- N° 13 : Autoimmunité et autoanticorps
- N° 14 : L'exploration de la thyroïde
- N° 15 : Dépistage de la trisomie 21
- N° 16 : Immuno-allergie (2)
- N° 17 : Virus des hépatites A (VHA) et E (VHE)
- N° 18 : Dosage des médicaments Tome II
- N° 19 : Vaginites et vaginoses
- N° 20 : Hémostase et thrombose
- N° 21 : Virus des hépatites B (VHB), Delta (VDH), C (VHC), autres
- N° 22 : Syndrome des anti-phospholipides
- N° 23 : Parasites sanguins
- N° 24 : Biochimie pédiatrique
- N° 25 : Les moisissures d'intérêt médical
- N° 26 : Immuno-hématologie et groupes sanguins
- N° 27 : Les marqueurs cardiaques
- N° 28 : Immunoglobulines monoclonales
- N° 29 : Mycobactéries - Mycobactérioses
- N° 30 : Exploration de la fonction de reproduction - versant féminin
- N° 31 : Les dermatophytes
- N° 32 : Les marqueurs tumoraux sériques des tumeurs solides
- N° 33 : Sport et Biologie
- N° 34 : Borréliose de Lyme
- N° 35 : L'Inflammation
- N° 36 : Le virus Epstein-Barr et les marqueurs de l'infection
- N° 37 : Maladies auto-immunes du foie
- N° 38 : Les vitamines
- N° 39 : Les dosages biologiques dans l'ostéoporose
- N° 40 : Des agents très spéciaux en bactériologie

---

BIOFORMA est la structure nationale qui gère et organise la formation continue conventionnelle des directeurs et directeurs adjoints de L.a.b.m privés.

Cette formation continue est financée par les trois Caisses Nationales de l'Assurance Maladie (C.N.A.M.T.S., C.C.M.S.A. et R.S.I.) dans le cadre de la convention passée entre elles et les trois syndicats de biologistes (S.d.B., S.N.M.B. et S.L.B.C.).

A ce titre, BIOFORMA édite des cahiers de formation comme celui-ci.

Ces ouvrages sont distribués à chaque laboratoire d'analyse de biologie médicale, privé ou hospitalier, aux inspecteurs des DRASS, aux pharmaciens et médecins conseils des CRAM, aux responsables de la DGS et du Ministère de la Santé. Les précédents numéros sont disponibles à la consultation sur le site Internet [www.bioforma.net](http://www.bioforma.net).

Ces livres ne sont pas en vente dans le commerce et le tirage est de 6500 exemplaires.

ISSN : 1293-2892  
ISBN : 2-913633-52-8  
Dépôt légal : OCTOBRE 2008