

LABORATORIO DE ENDOCRINOLOGÍA MOLECULAR

Falla ovárica prematura

Premature ovarian failure

Falência ovariana prematura

Violeta Chiauzy, Victoria Sundblad, Ianina Ferder, Liliana Dain, Eduardo Charreau

Resumen

La falla ovárica prematura (FOP) es un síndrome caracterizado por amenorrea hipergonadotrófica antes de los 40 años. Las causas del desarrollo de FOP pueden ser autoinmunes, genéticas, cromosómicas e idiopáticas. Es importante identificar marcadores para predecir la cesación prematura de los ciclos y planear una concepción temprana.

Palabras clave: falla ovárica prematura * síndrome de ovario resistente a las gonadotropinas * autoinmunidad ovárica * gen R-FSH * gen inhibina α * gen FMR-1

Summary

Premature ovarian failure (POF) is defined as hypergonadotropic amenorrhea before the age of 40. The causes of POF development could be autoimmune, genetic, chromosomal and idiopathic. It is important to identify markers that can predict the premature cessation of menses and enable early conception planning.

Key words: premature ovarian failure * resistant ovary syndrome * ovarian autoimmunity * R-FSH gen * inhibin- α gen * FMR-1 gen

Resumo

A falência ovariana prematura (FOP) é uma síndrome caracterizada por amenorreia hipergonadotrófica antes dos 40 anos. As causas do desenvolvimento de FOP podem ser autoimunes, genéticas, cromossômicas e idiopáticas. É importante identificar marcadores para prever a cessação prematura dos ciclos e planificar uma concepção precoce.

Palavras chave: falência ovariana prematura * síndrome de ovário resistente às gonadotropinas * autoimunidade ovariana * gene R-FSH * gene inibina α * gene FMR-1

Introducción

La falla ovárica prematura (FOP) es una patología que afecta al 1% de las mujeres en edad fértil, caracterizada por presentar amenorrea primaria o secundaria antes de los 40 años, hipoestrogenismo e hipergonadotropismo, con distintos grados de atresia folicular. Es un síndrome muy heterogéneo y de patogénesis multicau-

sal. Entre las causas de FOP se hallan alteraciones cromosómicas, enzimáticas, causas iatrogénicas, infecciosas o autoinmunidad. Asimismo y debido a la presencia de varios casos de FOP en una misma familia, se ha sugerido que este síndrome podría ser de origen genético.

Se ha propuesto al síndrome de ovario resistente a las gonadotropinas (SOR) como una forma folicular de FOP, el cual se caracteriza por la presencia de numerosos folículos primordiales morfológicamente normales en los ovarios. Dado que las estructuras foliculares se encuentran conservadas en el SOR, sería teóricamente posible la recuperación de la función ovárica, ya sea de forma espontánea o inducida.

Presentación clínica

La FOP puede presentarse con amenorrea primaria o secundaria. Las mujeres con defectos cromosómicos en general presentan amenorrea primaria. Sin embargo, si el defecto se presenta con cierto grado de mosaicismo, las pacientes pueden poseer algo de tejido gonadal funcional que conduciría a distintos grados de desarrollo sexual y a ciclicidad menstrual transitoria.

En muchos casos, la falla ovárica se desencadena después de una historia menstrual normal con posibilidades incluso de fertilidad. En otras mujeres, la amenorrea ocurre después del parto o de la suspensión de tratamientos con anticonceptivos orales. Su aparición no es un fenómeno de "todo o nada" y el diagnóstico definitivo de su comienzo es difícil de establecer. En los últimos años, algunos autores prefieren el término "disfunción ovárica prematura" (DOP) o "insuficiencia ovárica prematura" (IOP) para describir un curso clínico progresivo hacia la cesación de la función ovárica. Asimismo, la deficiencia en los esteroides sexuales que se observa en este síndrome puede conducir a un riesgo elevado de osteoporosis, de enfermedad cardiovascular, así como a la pérdida de fertilidad debida en la mayoría de los casos, a la ausencia de folículos.

Etiología

La falla ovárica prematura puede ocurrir como consecuencia de: a) una reducción del tamaño del reservorio folicular inicial; b) un aumento de la atresia folicular; c) una interrupción en la maduración de los folículos. Las causas del desarrollo de FOP pueden ser: autoinmunes (~15%), genéticas (~20%), cromosómicas (~5%) e idiopáticas (~60%). Nuestro grupo de trabajo se ha dedicado al estudio de las causas inmunológicas y genéticas del desarrollo de FOP.

I- CAUSAS INMUNOLÓGICAS

El ovario humano puede ser blanco de procesos autoinmunes en varias circunstancias. Uno de los ele-

mentos en la identificación de la etiología autoinmune de FOP es la detección de anticuerpos circulantes dirigidos hacia antígenos del ovario, junto con la asociación a otras enfermedades autoinmunes, sistemáticas u órgano-específicas. En algunas pacientes, hay también una documentación histológica de infiltrado linfocitario en sus ovarios (1). Cuando la FOP se asocia a autoinmunidad adrenal (2-10% de los casos) las pacientes presentan anticuerpos circulantes a células esteroideas (SCA) (2). Los mismos reconocen células productoras de esteroides en la corteza adrenal, testículo, placenta y ovario, y se correlacionan con la falla gonadal.

Sin embargo, en los casos de FOP no asociado a autoinmunidad adrenal y en los casos de FOP aislado, es necesario detectar autoanticuerpos circulantes dirigidos a antígenos del ovario como marcadores de autoinmunidad ovárica. En estudios previos de nuestro laboratorio, mediante una técnica de Western blot en fracción citosólica de ovarios humanos, detectamos reacción positiva hacia una proteína de aproximadamente 54 KDa, en el 19,1% de una población de 110 pacientes FOP. Esta proteína fue identificada como enolasa- α (3). No se ha podido establecer aún si estos anticuerpos anti-ovario son causa o consecuencia del proceso que conduce a la FOP y actualmente, su utilidad clínica es controvertida.

Por otro lado, el SOR puede considerarse un caso raro de FOP autoinmune dado que el mismo presenta inmunoglobulinas circulantes dirigidas al receptor de la hormona folículo estimulante (Ig-RFSH) (4). En un estudio retrospectivo de 247 pacientes FOP, 23 de las cuales fueron diagnosticadas como SOR, hallamos que todas las pacientes SOR presentaron este anticuerpo (5). Esta inmunoglobulina bloquea la unión de FSH a sus receptores o a un sitio muy próximo, impidiendo su acción (4). Estos datos son consistentes con las manifestaciones histopatológicas de las pacientes SOR y podrían explicar la resistencia de los folículos a la acción de la FSH.

II- CAUSAS GENÉTICAS

El gen del R-FSH ha sido uno de los genes candidatos más estudiados. La primera mutación fue descrita en el exón 7 de este gen, en mujeres con disgenesia ovárica hipergonadotrófica pertenecientes a 6 familias de Finlandia (6). Hasta el presente se han descrito 8 mutaciones inactivantes del gen del R-FSH, todas ellas en casos aislados. En nuestros trabajos, no detectamos mutaciones en la secuencia codificante completa del gen R-FSH en los individuos analizados (7). Estos datos son coincidentes con estudios realizados en otras poblaciones, sugiriendo que las mutaciones en el gen del R-FSH son poco frecuentes en las pacientes FOP. Asimismo, se conocen dos sitios polimórficos en el exón 10 del gen del R-FSH que dan lugar a 2 isoformas

del receptor. Nuestros resultados indicaron que los polimorfismos del exón 10 no representan un factor de riesgo para el desarrollo de FOP, si bien, la presencia de una isoforma particular del receptor estaría asociada a una forma más severa del síndrome (8).

Por su parte, el gen de la inhibina alfa ha sido propuesto como otro gen candidato para el desarrollo de FOP, debido al rol de las inhibinas en la regulación de la FSH. En este gen se han descrito un polimorfismo y una sustitución, los cuales se han asociado al desarrollo de la enfermedad. Sin embargo, resultados de nuestro laboratorio estarían indicando que estas variantes no constituyen un factor de riesgo para la enfermedad ya que no hallamos asociación de los mismos con la aparición de FOP en nuestra población (9).

Otro de los genes candidatos propuestos es el gen FMR-1. Este gen se encuentra en el cromosoma X y se caracteriza por poseer en su región 5' no codificante un número variable de trinucleótidos CGG. Los individuos normales poseen hasta 50 repeticiones CGG, mientras que la expansión en más de 200 repeticiones (mutación completa) es responsable del "síndrome de fragilidad del X" (SFX), una forma de retardo mental. Los alelos que contienen entre 50-200 repeticiones son considerados premutados y pueden expandirse a mutación completa en una generación. Las mujeres con alelos premutados en el gen FMR-1 tienen un riesgo aumentado de desarrollar FOP. De hecho, se ha estimado que la incidencia de FOP entre las mujeres portadoras de la premutación es de alrededor del 15% (10). Por otro lado, aproximadamente 4% de las mujeres afectadas de FOP son portadoras de la premutación en el gen FMR-1. Nuestros estudios sobre 100 pacientes FOP y 156 controles, mostraron la presencia de tripletes expandidos de este gen en 7 pacientes FOP de nuestra población. Teniendo en cuenta la posibilidad de descendencia del SFX, se aconseja solicitar el estudio de la zona repetitiva CGG del gen FMR-1 a las pacientes FOP, a los efectos de brindar asesoramiento genético (11).

Tratamiento

El criterio actual para mujeres con FOP es la terapia de reemplazo hormonal hasta la edad fisiológica de la menopausia (50 años) con el objeto de cubrir el déficit estrogénico de sus ovarios y disminuir el riesgo de osteoporosis y enfermedad cardiovascular. Además, se suplementa con testosterona para mejorar la función sexual. Alrededor de 5-10% de las mujeres con FOP logran ovulación y embarazos espontáneos, razón por la cual se debe proteger al ovario con esta terapia y no privar a la paciente de esa posible fertilidad. Los tratamientos con clomifeno, gonadotrofinas, agonistas de GNRH o inmunosupresores, no mejoraron significativamente la posibilidad de embarazos, y en consecuen-

cia, se han dejado de usar. Existen sólo algunos casos reportados de pacientes FOP autoinmunes que han recuperado el ciclo menstrual y embarazo con la terapia inmunosupresora (12). Actualmente, el tratamiento de elección para recuperar la fertilidad de la mujer con FOP es la donación de óvulos mediante el proceso de reproducción asistida. También se propone la criopreservación de ovocitos para su posterior crecimiento y maduración *in vitro*.

Desarrollos futuros

El entendimiento de los posibles mecanismos que conducen a la FOP contribuirían al diagnóstico temprano de esta condición, para así lograr la protección de los folículos antes del desarrollo de la misma. Es importante identificar marcadores que puedan predecir la cesación prematura de los ciclos y planear una concepción temprana.

Referencias bibliográficas

1. Coulam CB. The prevalence of autoimmune disorders among patients with primary ovarian failure. *Am J Reprod Immunol* 1983; 4: 63-6.
2. Betterle C, Volpato M. Adrenal and ovarian autoimmunity. *Eur J Endocrinol* 1998; 138: 16-25.
3. Sundblad V, Bussmann L, Chiauzzi VA, Pancholi V, Charreau EH. Alpha-enolase: a novel autoantigen in patients with premature ovarian failure. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006; 65(6): 745-51.
4. Chiauzzi VA, Cigorruga S, Escobar ME, Rivarola MA, Charreau EH. Inhibition of follicle-stimulating hormone receptor binding by circulating immunoglobulins. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 54: 1221-8.
5. Chiauzzi VA, Bussmann L, Calvo JC, Sundblad V, Charreau EH. Circulating immunoglobulins that inhibit the binding of follicle-stimulating hormone to its receptor: a putative diagnostic role in resistant ovary syndrome? *Clin Endocrinol* 2004; 61: 46-54.
6. Aittomaki K, Lucena JL, Pakarinen P, Sistonen P, Tapanainen JS, Gromoll J, *et al.* Mutation in the follicle-stimulating hormone receptor gene causes hereditary hypergonadotropic ovarian failure. *Cell* 1995; 82: 959-68.
7. Sundblad V, Chiauzzi VA, Escobar ME, Dain L, Charreau EH. Screening of FSH receptor gene in Argentine women with premature ovarian failure (POF). *Mol Cell Endocrinol* 2004; 222 (1-2): 53-9.
8. Sundblad V, Chiauzzi VA, Andreone L, Campo S, Charreau EH, Dain L. Role of polymorphisms 919A>G and 2039A>G of FSH receptor (FSHR) gene in premature ovarian failure (POF) development. *Curr Trends Endocrinol* 2010; 4: 21-7.
9. Sundblad V, Chiauzzi VA, Andreone L, Campo S, Charreau EH, Dain L. Controversial role of inhibin alpha-subunit gene in the aetiology of premature ovarian failure. *Hum Reprod* 2006; 21: 1154-60.
10. Wittenberger MD, Hagerman RJ, Sherman SL, McConkie-Rosell A, Welt CK, Rebar RW, *et al.* The FMR1 premutation and reproduction. *Fertil Steril* 2007; 87 (3): 456-65.
11. Chiauzzi VA, Ferder I, Alba L, Belli S, Escobar ME, Charreau EH, Dain L. Estudios de la región 5'UTR en pacientes con falla ovárica prematura. *Revista Argent de Endocrinol y Metab* 2010; 47(4): 3-10.
12. Sundblad V, Chiauzzi VA, Charreau EH. Autoimmune Diseases in Endocrinology. *Premature Ovarian Failure*. Weetman AP, Editor. Totowa NJ: Human Press Inc., 2007; Chapter 13, 297-321.

LABORATORIO DE MECANISMOS MOLECULARES DE LA FERTILIZACIÓN

Mecanismos moleculares involucrados en el proceso de fertilización

Molecular mechanisms involved in the fertilization process

Mecanismos moleculares involucrados no processo de fertilização

Débora J. Cohen, Julieta A. Maldera, Mariana Weigel Muñoz, Juan I. Ernesto, Gustavo Vasen, María A. Battistone, Patricia S. Cuasnicu

Resumen

El proceso de fertilización en mamíferos involucra una serie de interacciones entre el espermatozoide y el ovocito mediadas por mecanismos de tipo ligando-receptor. Una de las moléculas mediadoras del proceso de fertilización es la proteína epididimaria CRISP1 (*Cysteine Rich Secretory Protein 1*), la cual se asocia con dos afinidades diferentes a los espermatozoides durante la maduración. Mientras la población débilmente unida al espermatozoide se libera durante la capacitación, la población fuertemente unida, se comporta como una proteína integral de membrana, permanece en el espermatozoide luego de la capacitación, y participa en el proceso de interacción de gametas. Recientes estudios indican que, si bien los ratones *knockout* para CRISP1 son fértiles, sus espermatozoides exhiben menores niveles de fosforilación de proteínas en tirosina durante la capacitación, como así también una significativamente menor capacidad de interactuar tanto con la zona pellucida como con la membrana plasmática del ovocito (fusión). Dado que la proteína testicular CRISP2 también participa en el proceso de fusión, la misma sería la candidata más probable a compensar la falta de CRISP1 en el animal *knockout*. En conjunto, nuestros resultados apoyan la