

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**  
**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ**  
**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**  
**«ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ»**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**« ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΤΗΝ ΑΙΤΙΟΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΟΥ**  
**ΣΥΝΔΡΟΜΟΥ ΤΩΝ ΠΟΛΥΚΥΣΤΙΚΩΝ ΩΟΘΗΚΩΝ »**

**ΔΑΦΑ ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ**  
**ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΙΟΛΟΓΟΣ**

**ΛΑΡΙΣΑ**  
**Σεπτέμβριος 2010**

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΣ ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ  
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ Ε. ΜΕΣΣΗΝΗΣ

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

Επιβλέπων: ΝΤΑΦΟΠΟΥΛΟΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ

**Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή :**

ΒΑΜΒΑΚΟΠΟΥΛΟΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ

ΑΝΥΦΑΝΤΗΣ ΓΙΩΡΓΟΣ

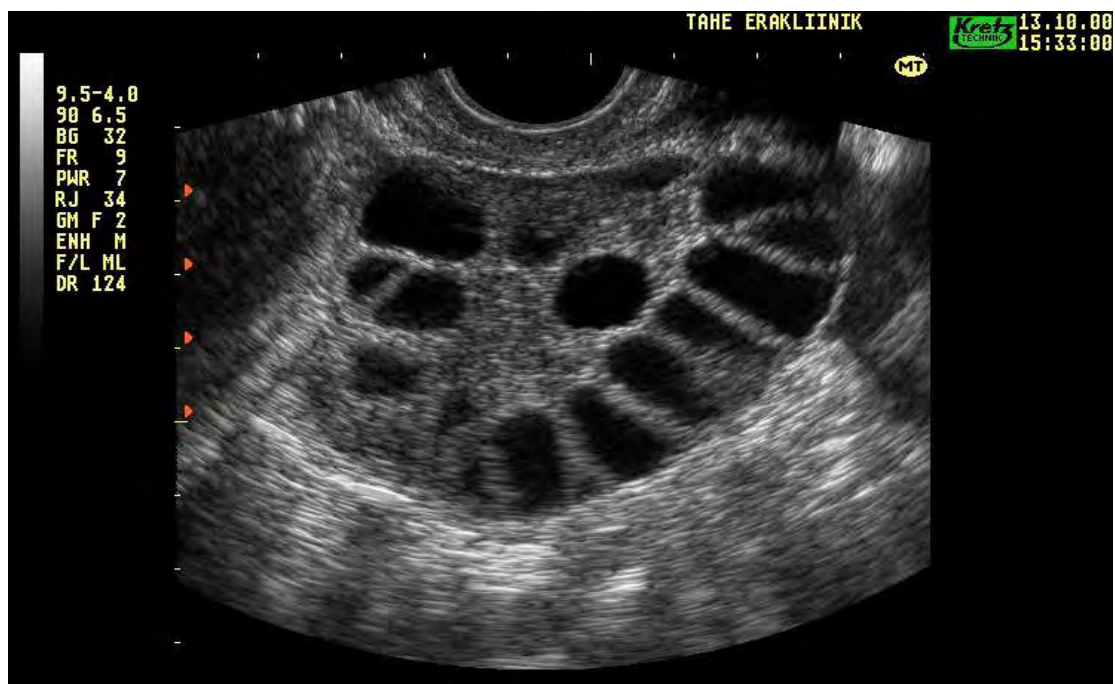
ΝΤΑΦΟΠΟΥΛΟΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

A. ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	Σελ. 4
B. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	Σελ. 5
Γ. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΣΥΝΔΡΟΜΟΥ ΤΩΝ ΠΟΛΥΚΥΣΤΙΚΩΝ ΩΟΘΗΚΩΝ PCOS.....	Σελ. 8
1. Γονίδια που σχετίζονται με την ωοθηκική και επινεφριδιακή στεροειδογένεση.....	Σελ. 8
2. Γονίδια που εμπλέκονται στην ρύθμιση και τη δράση των γοναδοτροφινών.....	Σελ.15
3. Γονίδια εμπλεκόμενα στην έκκριση και δράση της ινσουλίνης.....	Σελ.17
4. Γονίδια που εμπλέκονται στην παχυσαρκία και στην αντίσταση στην ινσουλίνη.....	Σελ.22
5. Γονίδια που μετέχουν στην ενεργειακή ομοιόσταση...	Σελ.23
6. Γονίδια που συνδέονται με τον κίνδυνο ανάπτυξης καρδιαγγειακών νοσημάτων.....	Σελ.24
7. Γονίδια χρόνιας φλεγμονής.....	Σελ.25
8. Άλλα γονίδια.....	Σελ.26
Δ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	Σελ.27
E. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το σύνδρομο των πολυκυστικών ωθηκών χαρακτηρίζεται από χρόνια oligo- ή ανοωθυλακιορρηξία, βιοχημική υπερανδρογοναιμία ή υπερανδρογονισμό και παρουσία χαρακτηριστικών υπερηχογραφικών ευρημάτων πολυκυστικής μορφολογίας των ωθηκών (εικόνα 1) με αποκλεισμό άλλων γνωστών διαταραχών που προκαλούν υπερανδρογοναιμία. Πρόκειται για μία ετερογενή διαταραχή με ωθηκική και, ενδεχομένως, επινεφριδιακή υπερανδρογοναιμία, ταυτόχρονα με διαταραχές της έκκρισης των γοναδοτροφινών και του μεταβολισμού. Η διάγνωση τίθεται εξ'αποκλεισμού. Η αύξηση των ανδρογόνων δίνει τον ορισμό του συνδρόμου, ο οποίος παρέχει τη δυνατότητα εμφάνισης ευρέως φάσματος κλινικών εκδηλώσεων και φαινοτύπων. Η παθοφυσιολογία του PCOS είναι πολυπρισματική και η ανάλυση του φάσματος των φαινοτύπων από μια μόνο πλευρά δεν μπορεί να την ερμηνεύσει. Αναμφίβολα γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες αλληλεπιδρούν μεταξύ τους προκαλώντας διαταραχές στη στερεοειδογένεση, στην ωθυλακιογένεση και στα μεταβολικά μονοπάτια. Μοριακές μεταλλάξεις στις γοναδοτροφίνες και στους υποδοχείς τους, στα ένζυμα της στερεοειδογένεσης όπως επίσης και στα μονοπάτια δράσης και έκκρισης της ινσουλίνης, έχουν μελετηθεί εκτενώς με ποικίλα αποτελέσματα. Παρ' όλο τον επιστημονικό αγώνα δεν έχει καταστεί δυνατό να αποδειχθεί ακλόνητα ο ρόλος κάποιου συγκεκριμένου γονιδίου ή περιοχής. Επιπλέον, καθώς η λίστα των υποψηφίων γονιδίων αυξάνεται συνεχώς, όλο και περισσότερα προβλήματα προκύπτουν, ενώ τα ευρήματα δεν επιβεβαιώνονται μεταξύ των μελετών.



**Εικόνα 1 :** Υπερηχογραφική απεικόνιση της πολυκυστικής μορφολογίας της ωθήκης.

## B. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών αποτελεί μία κληρονομήσιμη ενδοκρινολογική διαταραχή, η οποία απαντάται στο 6-10% (Azziz et al., 2009) των γυναικών της αναπαραγωγικής ηλικίας και η αρχή των συμπτωμάτων του συνδρόμου τοποθετείται στην ήβη. Η σπουδαιότητα του συνδρόμου είναι μεγάλη, όπως καθορίζεται από τις εκδηλώσεις κ τη συσχέτισή του με άλλες παθήσεις. Ωστόσο, τα συμπτώματα δεν είναι τα ίδια για όλες τις πάσχουσες, γεγονός που υποδηλώνει ότι η διαταραχή είναι ετερογενής και δύσκολη στη διάγνωση. Θεωρείται ότι αποτελεί τη συχνότερη αιτία ανωοθυλακιορρηκτικής υπογονιμότητας και υπερανδρογοναιμίας.

Έχουν περάσει πάνω από 70 χρόνια από τότε που το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών περιγράφηκε αρχικά (Stein & Leventhal 1935) , ωστόσο, υπάρχει μεγάλη αβεβαιότητα σχετικά με την τελεσίδικη παθοφυσιολογία του. Μέχρι σήμερα, έχουν προταθεί 3 διαφορετικοί επίσημοι ορισμοί υποδεικνύοντας την μεγάλη ετερογένεια των φαινοτύπων του συνδρόμου. Το 1990 το NICCHD (National Institutes of Child Health and Human Development) έθεσε τα εξής κριτήρια για την διάγνωση του: υπερανδρογοναιμία, χρόνια ανωοθυλακιορρηξία και αποκλεισμός άλλων γνωστών αιτιών τα οποία προκαλούν αυτές τις διαταραχές, όπως υπερπλασία των επινεφριδίων, σύνδρομο Cushing, πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια, αρρενοποιητικοί όγκοι των ωοθηκών και των επινεφριδίων και η υπερπρολακτιναιμία. Τα κριτήρια αυτά αναθεωρήθηκαν το 2003 από το Rotterdam ESHRE/ASRN-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group, όπου η διάγνωση του PCOS τίθεται όταν η γυναίκα εμφανίζει δύο από τα τρία συμπτώματα ή ευρήματα, που είναι η χρόνια oligo- ή ανωοθυλακιορρηξία, η βιοχημική υπερανδρογοναιμία και η πολυκυστική μορφολογία των ωοθηκών (όγκος ωοθηκών >10ml, αριθμός μικρών ωοθυλακίων διαμέτρου 2-9mm). Τέλος, η Androgen-Excess PCOS Society (AES), το 2006, έθεσε τον ορισμό του συνδρόμου ως μία διαταραχή υπερπαραγωγής ανδρογόνων με τα ακόλουθα κλινικά ευρήματα: υπερανδρογονισμός, ωοθηκική δυσλειτουργία (oligo-ανωοθυλακιορρηξία και/ή πολύ κυστικές ωοθήκες) και αποκλεισμός άλλων ενδοκρinoπαθειών (Azziz et al., 2009).

Γενικά, το PCOS μπορεί να θεωρηθεί μια διαταραχή, στην οποία παρατηρείται ωοθηκική και, ενδεχομένως επινεφριδιακή υπερανδρογοναιμία, ταυτόχρονα με διαφόρου βαθμού διαταραχές της έκκρισης των γοναδοτροπινών και του μεταβολισμού. Είναι ένα σύνδρομο με ευρύ κλινικό φάσμα. Οι κύριες κλινικές εκδηλώσεις του είναι η υπερανδρογοναιμία και η χρόνια ανωοθυλακιορρηξία, ενώ σχετίζεται σε μεγάλο βαθμό με την παχυσαρκία και την αντίσταση στην ινσουλίνη, την αντισταθμιστική υπερινσουλιναίμια και τη δυσανεξία στη γλυκόζη. Η υπερανδρογοναιμία ευθύνεται για την υπερτρίχωση, την ακμή, τη λιπαρότητα του δέρματος, την αλωπεκία ανδρικού τύπου, τη μελανίζουσα ακάνθωση και ενδέχεται να ευθύνεται για την αύξηση του βάρους του σώματος που παρατηρείται στο 50% των περιπτώσεων. Η αντίσταση στην ινσουλίνη αποτελεί πρωταρχικό παράγοντα για την εμφάνιση σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, υπέρτασης και καρδιαγγειακής νόσου. Η ανωοθυλακιορρηξία μπορεί να παρουσιαστεί σε γυναίκες με διαταραχές της εμμήνου ρύσεως, με υπογονιμότητα αλλά και σε γυναίκες με φυσιολογικούς εμμηνορυσιακούς κύκλους.

Μέχρι σήμερα έχουν προταθεί τέσσερις παθογενετικοί μηχανισμοί, χωρίς κανένα να εξηγεί πλήρως όλες τις εκδηλώσεις του συνδρόμου: 1) ο υποθαλαμικός, 2) ο ωθητικός. 3) ο επινεφριδιακός και 4) η υπερινσουλιαιμία.

Η απόδοση των λειτουργικών ανωμαλιών σε υποθαλαμική δυσλειτουργία στηρίχτηκε στη βασική ορμονική ανωμαλία του συνδρόμου που συνίσταται στην υπερέκκριση της LH, χωρίς σύγχρονη υπερπαραγωγή της FSH. Η υπερέκκριση της LH διεγείρει τα κύτταρα της θήκης, τα οποία υπερπλάσσονται και υπερπαραγάγουν ανδρογόνα. Η έλλειψη αντίστοιχης αύξησης της FSH προκαλεί μειωμένη σύνθεση αρωματοποιητικού ενζύμου στα κοκκιώδη κύτταρα και ελαττωμένη παραγωγή οιστρογόνων με αποτέλεσμα την αύξηση του λόγου ανδρογόνων / οιστρογόνων, η οποία δεν ευνοεί την εξέλιξη του ωθυλακίου. Τα εκκριτικά κύματα της LH εμφανίζονται στις περισσότερες περιπτώσεις του συνδρόμου, μεγαλύτερο ύψος και εύρος και είναι συχνότερα. Η μειωμένη έκκριση FSH αποδίδεται και αυτή στο συχνότερο ρυθμό διέγερσης του γοναδοτρόπου κυττάρου από την GnRH. Υποστηρίχθηκε επίσης ότι αυξημένη έκκριση ή τοπική δράση της ινχιμπίνης θα μπορούσε να εξηγήσει τη μειωμένη έκκριση της FSH (ινχιμπίνη = πρωτεΐνη που παράγεται από τα κοκκιώδη κύτταρα, υπό την επίδραση της FSH και δρα πάνω στα κύτταρα της θήκης, επάγοντας την παραγωγή ανδρογόνων, τα οποία με τη σειρά τους διεγείρουν την παραγωγή ινχιμπίνης από τα κοκκιώδη κύτταρα). Ανεξαρτήτως όμως του μηχανισμού που την προκαλεί, η μικρότερη έκκριση της FSH κατά την κρίσιμη για την εξέλιξη του ωθυλακίου περιεμμηνορρυσιακή περίοδο, μπορεί να εξηγήσει την αναστολή της εξέλιξης στο στάδιο του δευτερογενούς ωθυλακίου.

Ο δεύτερος παθογενετικός μηχανισμός που προτάθηκε, υποστηρίζει ότι η ανωμαλία ξεκινάει από την ωθήκη και παρασύρει δευτερευόντως τον υποθάλαμο σε δυσλειτουργία, η οποία με τη σειρά της προκαλεί τις λειτουργικές και μορφολογικές ωθητικές αλλαγές. Η βλάβη θεωρείται ότι είναι γενετική και αφορά τη στεροειδογενετική και γενικότερα την ορμονοπαραγωγική ικανότητα του ωθυλακίου. Αναλύσεις των στεροειδών που περιέχονται στο ωθυλακικό υγρό και στον ωθητικό ιστό πολυκυστικών ωθηκών, έδειξαν μη ανιχνεύσιμες ποσότητες οιστρογόνων και σημαντική αύξηση της Δ4-ανδροστενδιόνης με εκείνη των φυσιολογικών ωθηκών.

Η Τρίτη θεωρία υποθέτει ότι η εμφάνιση του συνδρόμου, αποτελεί παράταση και επέκταση χρονικά της αδρεναρχής, προς την ηλικία της ήβης και μετέπειτα. Κατά την αδρεναρχή, περί το 6<sup>ο</sup> έτος της ηλικίας, παρατηρείται αύξηση της παραγωγής ανδρογόνων από τα επινεφρίδια. Η αύξηση αφορά τη δεϋδροεπιανδροστερόνη (DHEA), τη θειική δεϋδροεπιανδροστερόνη (DHEA-S) και τη Δ-4-ανδροστενδιόνη. Η παράταση της υπερανδρογοναιμίας κατά την ήβη, προκαλεί στις ωθητικές τις ανωμαλίες του PCOS με δύο μηχανισμούς: α) την ανασταλτική επίδραση που έχουν τα ανδρογόνα στην εξέλιξη του ωθυλακίου και β) τη διεγερτική επίδραση που ασκούν στην έκκριση της LH. Με το διπλό αυτό μηχανισμό δράσης δημιουργούνται οι παθοφυσιολογικές και μορφολογικές ανωμαλίες του συνδρόμου.

Η ιδέα ότι η ινσουλίνη πιθανώς να παίζει ένα ρόλο στην εμφάνιση του συνδρόμου, προϋπήρχε από παλιά. Θεωρήθηκε ότι η υπερπαραγωγή της τεστοστερόνης στις γυναίκες με αντίσταση στην ινσουλίνη (IR), πιθανώς να είναι αποτέλεσμα μιας απ' ευθείας δράσης της υπερινσουλιναϊμίας στις ωοθήκες. Δεν είναι γνωστό το αρχικό γεγονός που οδηγεί σε αντίσταση στην ινσουλίνη και υπερινσουλιναϊμία, όμως έχει βρεθεί ότι η φωσφορυλίωση σερίνης αντί τυροσίνης μετά τη σύνδεση της ινσουλίνης στον υποδοχέα της, οδηγεί σε διακοπή του σήματος που επάγει τις φυσιολογικές δράσεις της ινσουλίνης. Η υπερινσουλιναϊμία που παρατηρείται σε μεγάλο αριθμό ατόμων με σύνδρομο PCOS, παίζει βασικό ρόλο στην παθογένεια του συνδρόμου. Αυτό είναι βέβαιο ότι ισχύει για άτομα υπέρβαρα ή παχύσαρκα. Ιδιαίτερα επιβαρυντικό στοιχείο αποτελεί η παχυσαρκία που εντοπίζεται στο άνω τμήμα του σώματος.

Πιθανολογείται ότι η ινσουλίνη αυξάνει την παραγωγή και βιοδιαθεσιμότητα των ανδρογόνων με τρεις μηχανισμούς:

α. μειώνει την παραγωγή από το ήπαρ της IGF-BP, της πρωτεΐνης που δεσμεύει τον παράγοντα IGF-1, με αποτέλεσμα να παραμένει στο αίμα προς δράση, μεγαλύτερη ποσότητα IGF-1. Ο IGF-1 αυξάνει τη δράση της LH στα κύτταρα της θήκης και ευνοεί την υπερπαραγωγή των ωοθηκικών ανδρογόνων.

β. μειώνει την παραγωγή από το ήπαρ της SHBG, της πρωτεΐνης που συνδέει την τεστοστερόνη, με αποτέλεσμα να αυξάνει το ποσό της ελεύθερης και δραστηκής τεστοστερόνης στο αίμα.

γ. μειώνει, επίσης, τοπικά στο ωοθυλάκιο, την έκφραση της IGF-BP και έτσι ελευθερώνει περισσότερο IGF-1 για να δράσει στο ορμονοπαραγωγό σύστημα της θήκης. Η δράση αυτή θεωρείται ουσιώδης, διότι η σχέση IGF-BP προς IGF-1 παίζει σημαντικό ρόλο στην κανονική ανάπτυξη του ωοθυλακίου, δεδομένου ότι φυσιολογικά, η κανονική στάθμη της IGF-BP δεσμεύει τον IGF-1 και τον εμποδίζει να δημιουργήσει συνθήκες τοπικής υπερανδρογοναιμίας με τη δράση που ασκεί στα κύτταρα της θήκης. Η θεωρία της υπερινσουλιναϊμίας επεκτείνεται και στο φαινόμενο της ήβης: κατά την ήβη παρατηρείται φυσιολογική αύξηση της έκκρισης της αυξητικής ορμόνης, του IGF-1 και της ινσουλίνης. Η παράταση αυτής της σχετικής και φυσιολογικής υπερινσουλιναϊμίας πέραν της ήβης θεωρείται ότι καταλήγει στη δημιουργία του PCOS με το μηχανισμό που αναφέρθηκε.

## **Γ. Γενετική του Συνδρόμου των Πολυκυστικών Ωοθηκών (PCOS).**

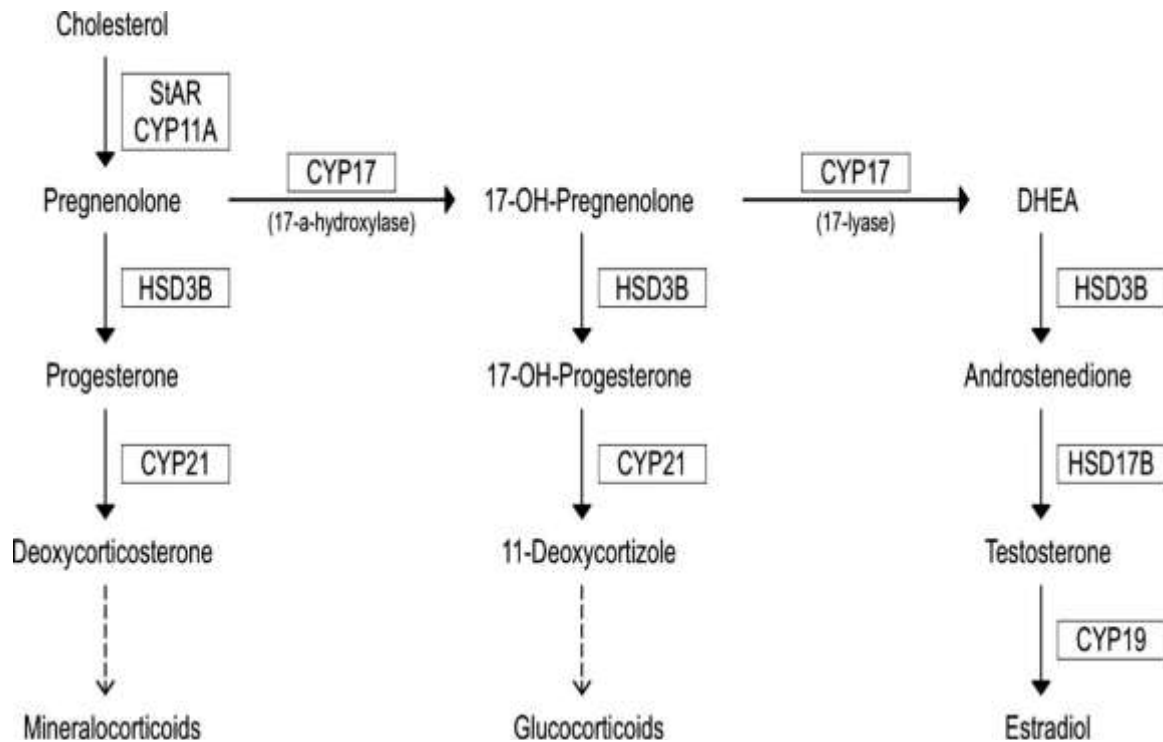
Έχει αποδειχθεί πως το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών αποτελεί μία οικογενή κατάσταση. Αν και ο ρόλος των γενετικών παραγόντων στο PCOS υποστηρίζεται έντονα, τα γονίδια τα οποία εμπλέκονται στην αιτιολογία του συνδρόμου δεν έχουν διερευνηθεί πλήρως, όπως επίσης και η επίδραση του περιβάλλοντος στην έκφρασή τους. Μερικά γονίδια παρουσιάζουν ποικίλα μοτίβα έκφρασης, συνιστώντας, πως η γενετική διαταραχή στο PCOS αφορά πιο πολύ τα μονοπάτια μεταγωγής του σήματος, ελέγχοντας την έκφραση πολλαπλών γονιδίων, παρά την ανώμαλη έκφραση ενός γονιδίου.

Τα γονίδια που έχουν μελετηθεί και εμπλέκονται στην παθογένεια του PCOS, μπορούν να ταξινομηθούν, ανάλογα με τους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς στις παρακάτω κατηγορίες:

### **1. Γονίδια που σχετίζονται με την ωοθηκική και επινεφριδιακή στεροειδογένεση.**

Η συχνότερη βιοχημική ανωμαλία σε γυναίκες με PCOS είναι η υπερανδρογοναιμία. Για αυτό το λόγο οι ερευνητές έχουν από καιρό προσπαθήσει να εντοπίσουν μια σύνδεση ή μια συσχέτιση μεταξύ του PCOS και των γονιδίων τα οποία συμμετέχουν στην βιοσυνθετική οδό ([Εικόνα 2](#)). Τα σχετικότερα γονίδια τα οποία αφορούν την στεροειδογένεση CYP11α, CYP21, CYP17 και CYP19 έχουν αντιφατικές ιδιότητες και συζητούνται παρακάτω.





## Εικόνα 2 : Βιοσύνθεση των στεροειδών ορμονών.

Παρουσιάζονται τα ένζυμα που μετέχουν στην σύνθεση των στεροειδών ορμονών, τα υποστρώματα των ενζύμων αυτών καθώς και τα προϊόντα των αντιδράσεων.

### Γονίδιο CYP11A1

Η επινεφριδιακή και ωθηκική στεροειδογένεση ξεκινά με μετατροπή της χοληστερόλης σε πρεγνενολόνη, η οποία καταλύεται από το κυτόχρωμα P450<sub>sc</sub> το οποίο κωδικοποιείται από το γονίδιο CYP11α το οποίο βρίσκεται στο χρωμόσωμα 15q24. Αυτή η μετατροπή είναι ένα βήμα καθοριστικό για την στεροειδογένεση. Οι έρευνες που έγιναν σχετικά με αυτό το γονίδιο έδειξαν, πως ο πολυμορφισμός VNTR που περιλαμβάνει επαναλήψεις του πεντανουκλεοτιδίου (tttta)η στην 5' αμετάφραστη περιοχή (5'-UTR), συνδέεται ισχυρά με τα επίπεδα της συνολικής τεστοστερόνης του ορρού (Gharani et al., 1997). Δύο ανεξάρτητες μεταγενέστερες μελέτες από την Ελλάδα και την Κίνα, αντίστοιχα, επιβεβαίωσαν τα αποτελέσματα αυτά και υποστήριξαν τον ρόλο του CYP11α στην αιτιολογία της υπερανδρογοναιμίας του PCOS. Ωστόσο, επακόλουθες μελέτες, συμπεριλαμβανομένης και μίας με ένα μεγάλο αριθμό δειγμάτων από το Ην. Βασίλειο και την Φιλανδία έχουν αποτύχει να εντοπίσουν μια σημαντική σύνδεση ή συσχέτισμό μεταξύ του γενετικού τόπου CYP11α και του αριθμού των πολλαπλών επαναλήψεων στα αλληλόμορφα αυτού του γονιδίου (Gaansebeek et al., 2004; Tan et al., 2005). Παρότι οι τελευταίες μελέτες υποβίβασαν τη σημασία του, το CYP11α παραμένει ένα εν δυνάμει υποψήφιο γονίδιο για την παθογένεια του PCOS και περαιτέρω έρευνες απαιτούνται λόγω των αντικρουόμενων αποτελεσμάτων.

## **Γονίδιο CYP21.**

Ένα από τα κύρια βήματα στην ωοθηκική και επινεφριδιακή στεροειδογένεση είναι η μετατροπή της 17-υδροξυπρογεστερόνης σε 11-δεσοξυκορτιζόλη η οποία καταλύεται από την 21-υδροξυλάση, ένα ένζυμο το οποίο κωδικοποιείται από το CYP21. Η ανεπάρκεια αυτού του ενζύμου, το οποίο παρουσιάζει αυτοσωμική υπολειπόμενη κληρονομικότητα, είναι υπεύθυνη για πολλές περιπτώσεις συγγενούς υπερπλασίας των επινεφριδίων (CAH) ενώ και τα αυξημένα επίπεδα 17-υδροξυπρογεστερόνης στον ορό σχετίζονται με αυτή την ανεπάρκεια. Γυναίκες με λειτουργική υπερανδρογοναιμία ή PCOS έχουν σύνηθες εύρημα αυξημένη απόκριση 17-υδροξυπρογεστερόνης μετά από διέγερση με ACTH. Επιπλέον, ασθενείς οι οποίοι είναι ετεροζυγώτες για μεταλλάξεις στο γονίδιο του CYP21 εμφανίζουν ένα κλινικό φαινότυπο ο οποίος μοιάζει με PCOS. Οι μεταλλάξεις του CYP21 έχουν ερευνηθεί ως ενεχόμενες στη παθογένεια των ασθενών με PCOS. Δύο μελέτες έδειξαν ότι παιδιά με πρόωρη εμμηναρχή και κορίτσια στην εφηβεία με υπερανδρογοναιμία ήταν ετεροζυγώτες για μεταλλάξεις στο CYP21 (Witchel et al., 2000). Ωστόσο, άλλοι ερευνητές δεν βρήκαν ξεκάθαρη σχέση μεταξύ του γονοτύπου του CYP21 και της λειτουργικής προέλευσης της υπερανδρογοναιμίας (Escobar-Morreale et al 1999). Ο Glintborg και συνεργάτες το 2005 δεν βρήκαν σχέση μεταξύ των γυναικών με ιδιοπαθή υπερτρίχωση και του PCOS. Σχετικά πρόσφατα, ο Witchel και οι συνεργάτες του το 2005 διεξήγαγαν μια αναδρομική μελέτη συσχέτισης που περιελάμβανε 114 ασθενείς με PCOS, η οποία δεν έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των γονιδιακών συχνοτήτων της μετάλλαξης του CYP21 των ασθενών με PCOS με ή χωρίς υπερανδρογοναιμία και της ομάδας ελέγχου. Εν κατακλείδι, μεταλλάξεις στο γονίδιο CYP21 δεν φαίνεται να παίζουν κάποιο ρόλο κλειδί στην ανάπτυξη του PCOS.

## **Γονίδιο CYP17.**

Άλλα βήματα τα οποία καθορίζουν τον ρυθμό της ωοθηκικής και επινεφριδιακής βιοσύνθεσης των ανδρογόνων είναι η μετατροπή της πρεγνενολόνης και προγεστερόνης σε 17-υδροξυπρεγνενολόνη και 17 υδροξυπρογεστερόνη αντίστοιχα, και από αυτά τα στεροειδή σε δευδροεπιανδροστερόνη και ανδροστενεδιόνη η οποία καταλύεται από το ένζυμο P450c17α. Αυτό το ένζυμο έχει δραστηριότητες 17<sup>α</sup>-υδροξυλάσης και 17,20-λυάσης και κωδικοποιείται από το γονίδιο CYP17 το οποίο εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 10q24.3. Αρχικά είχε προταθεί ότι μια υπερβολική επινεφριδιακή και ωοθηκική απόκριση και μια αυξημένη ενζυμική δραστηριότητα του P450c17 ήταν υπεύθυνα για τα υψηλά επίπεδα ανδρογόνων σε ασθενείς με PCOS και λειτουργική υπερανδρογοναιμία. Ο Escobar-Morreale και οι συνεργάτες του το 1994 πρότειναν ότι οι περισσότερες υπερανδρογοναιμικές γυναίκες εμφάνιζαν αυξημένη δραστηριότητα του ενζύμου P450c17 σε περιοχές των ωοθηκών και των επινεφριδίων. Σε συμφωνία με αυτές τις μελέτες ο Wickenheisser και οι συνεργάτες του το 2004 ανέφεραν αυξημένη έκφραση του P450c17 και αυξημένη ενζυμική δραστηριότητα στα κύτταρα της θήκης στις ωοθήκες

γυναικών με PCOS καθώς και αυξημένη ενεργοποίηση (transactivation) του υποκινητή του CYP17 από trans-ρυθμιστικά στοιχεία.

Σε μια άλλη μελέτη ο Carey και οι συνεργάτες του αναγνώρισαν στον υποκινητή του γονιδίου CYP17, ένα σπάνιο πολυμορφισμό SNP T/C στην θέση -34 από την περιοχή έναρξης της μεταγραφής, το οποίο ενδεχομένως ρυθμίζει την ενζυμική δραστηριότητα. Αν και αρχικές μελέτες έδειξαν να υπάρχει συσχέτιση αυτού του γονιδίου με το PCOS (Diamanti-Kandarakis et al., 1999), οι μελέτες που ακολούθησαν κατέληξαν σε αρνητικά αποτελέσματα (Witchel et al., 1999; Marzsalek et al., 2001).

Αν και τα μέχρι τώρα στοιχεία δείχνουν ότι το CYP17 δεν είναι το δυνατότερο υποψήφιο γονίδιο για το PCOS, θα πρέπει να σημειωθεί ότι η μετα-μεταφραστική ρύθμιση του γονιδιακού προϊόντος μπορεί να παίζει ρόλο στην παθοφυσιολογία του PCOS. Επειδή η φωσφορυλίωση της σερίνης εμπλέκεται στην μετα-μεταφραστική ρύθμιση της δραστηριότητας της 17,20 λυάσης, προτάθηκε ότι η μεταφραστική υπερφωσφορυλίωση σε κατάλοιπα σερίνης από ελαττωματική κινάση, μπορεί να αυξάνει την δραστηριότητα του ενζύμου της 17,20 λυάσης (Qin et al., 1998; Zhang et al., 1995). Ενδιαφέρον είναι επίσης, ότι η ανάδειξη της φωσφορυλίωσης της σερίνης της β- αλυσίδας του υποδοχέα της ινσουλίνης, προκαλεί αντίσταση στην ινσουλίνη *in vitro*. Άλλο ένα ενδιαφέρον εύρημα είναι ότι 50% των γυναικών με PCOS οι οποίες είχαν υπερανδρογοναιμία και αντίσταση στην ινσουλίνη είχαν υπερφωσφορυλιωμένη σερίνη στους υποδοχείς ινσουλίνης. Έτσι θεωρήθηκε, ότι μια μονήρης βλάβη παράγει στις γυναίκες με PCOS τόσο την αντίσταση στην ινσουλίνη, όσο και την υπερανδρογοναιμία. Συνολικά αυτά τα δεδομένα παρέχουν ένα ενθαρρυντικό στοιχείο της υπόθεσης της σερίνης ως αιτίου του PCOS, ωστόσο αυτό, πρέπει να αποδειχθεί.

### **Γονίδιο CYP19.**

Ένα ενζυμικό σύμπλεγμα το οποίο καλείται αρωματάση μετατρέπει τα C19 στεροειδή (ανδρογόνα) σε C18 στεροειδή (οιστρογόνα). Αυτό το σύμπλεγμα αποτελείται από την αρωματάση του κυτοχρώματος (P450<sub>arom</sub>) και την NADPH αναγωγίαση του κυτοχρώματος P450. Η P450<sub>arom</sub> κωδικοποιείται από το CYP19 το οποίο εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 15p21.1. Μειωμένη ενεργότητα της αρωματάσης μπορεί να οδηγήσει σε υπερπαραγωγή ανδρογόνων από την ωοθήκη και κατά συνέπεια στην ανάπτυξη του PCOS (Harada et al., 1992). Αυτό μπορεί να γίνει κατανοητό από το γεγονός, ότι ένα υψηλό ποσοστό γυναικών με PCOS έχουν μειωμένη δραστηριότητα της αρωματάσης λόγω μεταλλάξεων που προκαλούν δυσλειτουργία ή και απώλεια του ενζύμου. Έχει αποδειχθεί πως κοκκώδη κύτταρα από αντρικά ωοθυλάκια γυναικών με PCOS, έχουν ελαττωμένη ενεργότητα αρωματάσης (Takayama et al., 1996). Παρομοίως μία άλλη μελέτη έδειξε πως όταν συγκρίνονταν με ωοθυλάκια της ομάδας ελέγχου, όλα τα PCOS ωοθυλάκια περιείχαν χαμηλές ποσότητες P450<sub>arom</sub> mRNA, οιστραδιόλης και χαμηλή βιοδραστηριότητα της αρωματάσης (Jakimiuk et al., 1999)..

Διάφορες μελέτες έγιναν όσον αφορά τους πολυμορφισμούς αυτού του γονιδίου με αντιφατικά αποτελέσματα. Ο Gharani et al μελέτησε τον

πολυμορφισμό VNTR (tcta)<sub>n</sub> στο ιντρόνιο 4 του γονιδίου, σε γυναίκες-ασθενείς από το Ηνωμένο Βασίλειο, καταλήγοντας στο συμπέρασμα, πως δεν συνδέεται άμεσα με το σύνδρομο. Ο Petry et al. από την άλλη βρήκε, πως ο πολυμορφισμός SNP50 του CYP19 σχετίζεται με τα συμπτώματα του PCOS και τα επίπεδα τεστοστερόνης του ορού (Petry et al., 2005). Τη συσχέτιση του συνδρόμου με αυτόν τον πολυμορφισμό επιβεβαίωσε και μια άλλη μελέτη και στην οποία, βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στα αλληλόμορφα (GG, GA, AA) του πολυμορφισμού, ως προς την ηλικία της εμμηναρχής, τα επίπεδα της FSH και τον λόγο E2/T. Καμία διαφορά δεν βρέθηκε στα επίπεδα της τεστοστερόνης και το BMI (Jin JL et al., 2009).

Αυτά τα ευρήματα δείχνουν ότι η δραστηριότητα της αρωματάσης μπορεί να είναι ελαττωμένη σε ασθενείς με PCOS και ότι η πιθανή υπερανδρογοναιμία, εξαιτίας αυτής της μειωμένης δραστηριότητας, μπορεί να συμβάλλει στην ανώμαλη ωοθυλακική ανάπτυξη. Ωστόσο, εάν το SNP50 αποτελεί άμεσο αίτιο του συνδρόμου, ή απαιτεί τον συνδυασμό και με άλλες γενετικές μεταλλάξεις πρέπει να διερευνηθεί.

### **Γονίδια HSD17B5 και HSD17B3**

Τα γονίδια HSD17B3 και HSD17B5 είναι υπεύθυνα για τους δύο τύπους του ενζύμου 17-β υδροξυστεροειδική Δεϋδρογενάση HSD17B, το οποίο είναι ένα μέλος της υπεροικογένειας αλδο-κέτο ρεδοκτάσης και αποτελείται από διάφορα ένζυμα με πολλαπλές λειτουργίες τα οποία διαφέρουν τόσο στην έκφραση τους στους ιστούς, όσο και στην ειδικευση του υποστρώματος. Είναι το υπεύθυνο ένζυμο για την αναγωγή της ανδροστενεδιόνης σε τεστοστερόνη στα κύτταρα της ωθήκης και των επινεφριδίων, τα οποία είναι οι κύριες πηγές τεστοστερόνης στις γυναίκες. Μεταλλάξεις σε αυτά τα γονίδια έχουν συσχετισθεί με εκδηλώσεις θηλυκού ψευδοερμαφροδιτισμού. Αυτό έχει οδηγήσει στην υπόθεση ότι γυναίκες με ωθηκική ανεπάρκεια αυτού του ενζύμου θα αναπτύξουν εμμηνορρυσιακές διαταραχές της λόγω αυξημένης συγκέντρωσης της ανδροστενεδιόνης. Προσφάτως αναφέρθηκε ότι ένας νέος σημειακός νουκλεοτιδικός πολυμορφισμός στη θέση 71 του υποκινητή του γονιδίου HSD17B5 (ref SNP ID: rs3763676) σχετίζεται με το PCOS και με υψηλά επίπεδα τεστοστερόνης (Qin et al., 2006; Goodarzi et al., 2008). Ωστόσο, δεν έχει αποδειχθεί ότι υπάρχει θετική συσχέτιση ανάμεσα στο γονίδιο HSD17B3 με το σύνδρομο.

### **Γονίδιο του υποδοχέα των ανδρογόνων (AR).**

Όλα τα ανδρογόνα λειτουργούν μέσω του υποδοχέα των ανδρογόνων ο οποίος ανήκει στην ομάδα των πυρηνικών μεταγραφικών παραγόντων. Κωδικοποιείται από το γονίδιο AR το οποίο εντοπίζεται στο χρωμόσωμα Xq11-12 και αποτελείται από 3 δομικές περιοχές (domains): Την περιοχή ενεργοποίησης, την περιοχή σύνδεσης του DNA, και την περιοχή σύνδεσης του προσδέτη (ligand). Όσον αφορά τον πολυμορφισμό VNTR (CAG)<sub>n</sub> στο

εξώνιο 1, τα αποτελέσματα στους διαφορετικούς πληθυσμούς είναι αρκετά αντιφατικά (Vottero et al., 1999; Calvo et al., 2002; Misfud et al., 2000; Westberg et al., 2001; Hickey et al., 2002; Jaaskelainen et al., 2005; Mohlig et al., 2006). Η μεταγραφική ενεργοποίηση του υποδοχέα των ανδρογόνων σχετίζεται αντιστρόφως με τον αριθμό των επαναλήψεων CAG (Chamberlain et al., 1994). Ποικιλίες αυτών των επαναλήψεων έχουν συσχετισθεί με πολλές διαταραχές οι οποίες σχετίζονται με χαμηλές ή υψηλές ανδρογονικές δράσεις. Έτσι, ο ελαττωμένος αριθμός επαναλήψεων CAG (κάτω από 11) που αυξάνει την μεταγραφική ενεργοποίηση του υποδοχέα των ανδρογόνων, μπορεί να εξηγήσει μερικώς τον φαινότυπο PCOS με φυσιολογικά επίπεδα ανδρογόνων και συμπτώματα υπερανδρογοναιμίας. Μία μελέτη πάντως που παρέχει πειστική απόδειξη για τον ρόλο του μήκους των τρινουκλεοτιδικών επαναλήψεων CAG στην αυξημένη ωοθηκική παραγωγή των ανδρογόνων έγινε σε Ισπανίδες έφηβους (Ibanez et al., 2003). Στις κοπέλες με πρόωρη ήβη βρέθηκε πως το μήκος των επαναλήψεων ήταν μικρότερο σε σχέση με τα controls ενώ το ίδιο συνέβαινε και σε κοπέλες που ανέπτυξαν υπερανδρογοναιμία μετά την εμμηναρχή.

Αντιθέτως, ο Hickey et al. το 2002 έδειξε μια σημαντικά υψηλότερη συχνότητα αλληλομόρφων με μεγαλύτερες CAG επαναλήψεις (πάνω από 22 επαναλήψεις) για μη γόνιμες ασθενείς PCOS σε σύγκριση με γόνιμες γυναίκες. Πάντως ο Urbanek et al. δεν μπόρεσε να εντοπίσει κάποια συσχέτιση μεταξύ του VNTR και του PCOS. Παρομοίως ο Misfud et al. δεν βρήκε διαφορές μεταξύ των ανωοθυλακιορηκτικών ασθενών με PCOS και της ομάδας ελέγχου για την κατανομή των συχνοτήτων των αλληλομόρφων των CAG επαναλήψεων. Άλλες μελέτες έδειξαν πως ο AR (CAG)<sub>n</sub> πολυμορφισμός, δεν αποτελεί καθοριστικό παράγοντα του PCOS αλλά μπορεί να συμβάλλει στη διαμόρφωση του φαινοτύπου του συνδρόμου σε κάποια άτομα (Calvo et al., 2000) Επίσης δεν βρήκαν καμμία συσχέτιση μεταξύ του VNTR και του BMI ή των επιπέδων τεστοστερόνης ορού. Επειδή υπάρχει μια μεγάλη ποικιλία του αριθμού των επαναλήψεων στους διαφορετικούς πληθυσμούς, αυτό μπορεί να ευθύνεται για τα αντιφατικά αποτελέσματα που προκύπτουν.

Ένα άλλο σημαντικό σημείο που πρέπει να αναφερθεί, είναι το φαινόμενο της απενεργοποίησης του X δια του οποίου το ένα χρωμόσωμα απενεργοποιείται μέσω μεθυλίωσης σε κάθε σωματικό κύτταρο. Προηγούμενες μελέτες που ερεύνησαν τα μοτίβα X-απενεργοποίησης των αλληλομόρφων AR(CAG)<sub>n</sub> σε γυναίκες με PCOS ή υπερτρίχωση, με αντιφατικά αποτελέσματα. Έτσι η επιλεκτική μεθυλίωση του πολυμορφισμού του γονιδίου AR υποστηρίζεται από μερικές μόνο μελέτες (Vottero et al., 1999; Calvo et al., 2000; Hickey et al., 2002) και είναι πιθανό να διαφέρει σε στους διάφορους ιστούς-στόχους των ανδρογόνων.

### **Γονίδιο της SHBG.**

Η SHBG ρυθμίζει την πρόσβαση των ανδρογόνων στα όργανα στόχους. Τα επίπεδα της SHBG ορού είναι συνήθως χαμηλά σε ασθενείς με PCOS συνεισφέροντας στην αυξημένη διαθεσιμότητα των ανδρογόνων στους ιστούς. Η ανθρώπινη SHBG είναι μία ομοδιμερής γλυκοπρωτεΐνη η οποία παράγεται

από τα ηπατοκύτταρα και κωδικοποιείται από ένα γονίδιο μεγέθους 4Kb στο χρωμόσωμα 17p12-p13. Έχει περιγραφεί ένας επαναλαμβανόμενος πεντανουκλεοτιδικός πολυμορφισμός (TAAAA)n στον υποκινητή (promoter) του γονιδίου της ανθρώπινης SHBG, ο οποίος επηρεάζει την μεταγραφική δραστηριότητα του γονιδίου. Κάτω από το φως αυτών των δεδομένων, έχει προταθεί ότι αυτός ο λειτουργικός πολυμορφισμός μπορεί να συμβάλλει σε εξατομικευμένες διαφοροποιήσεις των επιπέδων της SHBG και με αυτόν τον τρόπο να επηρεάζει την πρόσβαση των ανδρογόνων στα όργανα στόχους. Ο Χίτα και οι συνεργάτες του το 2003 παρατήρησαν, πως υπάρχει σημαντική συσχέτιση μεταξύ των επαναλήψεων του πολυμορφισμού (TAAAA)n του γονιδίου της SHBG και του PCOS. Οι γυναίκες με PCOS έφεραν περισσότερες από 8 επαναλήψεις και είχαν χαμηλότερα επίπεδα της SHBG σε σχέση με τις φυσιολογικές γυναίκες. Σε συμφωνία με το παραπάνω έρχεται και η μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τον Cousin et al, όπου έδειξε πως αλληλόμορφα με μεγάλο αριθμό επαναλήψεων σε γυναίκες με δασυτριχισμό προκαλούσαν τα μειωμένα επίπεδα της SHBG όταν συγκρίθηκαν με αλληλόμορφα των νουκλεοτιδικών επαναλήψεων (Cousin et al., 2004; Ferk et al., 2007). Αντίθετα ο p.D327 του γονιδίου δεν βρέθηκε να σχετίζεται με το σύνδρομο (Bendlova et al., 2007; Ferk et al., 2007). Συμπερασματικά, υπάρχει ομοφωνία ως προς τη θετική συσχέτιση του (TAAAA)n πολυμορφισμού με το PCOS.

Τέλος, σε μία πρόσφατη μελέτη εξετάστηκε η πιθανή αλληλεπίδραση των δύο λειτουργικών πολυμορφισμών SHBG (TAAAA)n και του AR(CAG)n στην παθογένεια του PCOS (Χίτα et al., 2008). Οι ποικιλίες των πολυμορφισμών αυτών είναι γνωστές για την επίδραση στη διαθεσιμότητα των ανδρογόνων και την ευαισθησία του υποδοχέα AR στους ιστούς-στόχους. Ασθενείς με PCOS τείνουν να έχουν πιο συχνά τον συνδυασμό των αυξημένων επαναλήψεων του SHBG(TAAAA)n και των ελάχιστων επαναλήψεων του AR(CAG)n πολυμορφισμού. Το πρωτότυπο εύρημα της υπόθεσης ήταν η συνεργιστική δράση του συνδυασμού των γονοτύπων στον φαινότυπο του συνδρόμου.

## **Άλλα γονίδια**

Το γονίδιο SRD5A κωδικοποιεί ένα κρίσιμο ένζυμο για τη δράση των ανδρογόνων, την 5<sup>α</sup>-αναγωγή η οποία καταλύει τη μετατροπή της τεστοστερόνης σε δευδρο-τεστοστερόνη. Οι απλότυποι των 2 ισομορφών SRD5A1 και SRD5A2 του ενζύμου βρέθηκε πως σχετίζονται με το PCOS, αλλά μόνο πολυμορφισμοί στο SRD5A1 συνδέονται με το βαθμό υπερτρίχωσης. Αντιθέτως, ο πολυμορφισμός Val189Leu του SRD5A2 φάνηκε να έχει προστατευτική δράση έναντι του PCOS.

Το ένζυμο EPHX1 (microsomal epoxide hydrolase) είναι μία πρωτεΐνη που παίζει σημαντικό ρόλο στον μεταβολισμό ενδογενών και εξωγενών ουσιών. Το γονίδιο της βρίσκεται στο χρωμόσωμα 1q42.1. Υπάρχει ένδειξη πως ο χαμηλής ενεργότητας απλότυπος H113-R139 του γονιδίου συνδέεται στατιστικά σημαντικά με το PCOS (Korhonen et al., 2006). Ο πολυμορφισμός T→C στην θέση -344 του υποκινητή στο γονίδιο της συνθετάσης της

αλδοστερόνης (CYP11B2), το οποίο επηρεάζει την ισορροπία του συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης στις ωθήκες, προδιαθέτει για αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης του συνδρόμου.

Τέλος, εξετάστηκαν πολυμορφισμοί στα γονίδια που κωδικοποιούν 11b-HSD (HSD11B1) (San Millan et al., 2005; Draper et al., 2006), S-τρανσφεράσες γλουταθειόνης M1 και T1 (GSTM1, GSTT1) (Babu et al., 2004) και ο μεταγραφικός παράγοντας GATA-BP 6 (GATA6), ωστόσο δεν βρέθηκε οποιαδήποτε συσχέτιση.

## 2. Γονίδια που εμπλέκονται στην ρύθμιση και τη δράση των γοναδοτροπινών.

### Γονίδια της LH και του υποδοχέα της.

Τόσο τα επίπεδα όσο και η δράση της LH παρατηρούνται συχνά αυξημένα σε γυναίκες με PCOS και αυτές οι διαταραχές σχετίζονται με την ανωθυλακιορρηξία, ως αποτέλεσμα της δράσης της στην ωρίμανση των ωθυλακίων. Έτσι το γονίδιο που κωδικοποιεί την β-υποομάδα της LH και είναι υπεύθυνο για την ειδικότητα της, έχει διερευνηθεί σε ασθενείς με PCOS. Αρχικά, αναγνωρίστηκε μια διαταραγμένη μορφή της LH με δύο σημειακές μεταλλάξεις, Trp8Arg και Ilg15Thr στο γονίδιο της β-υποομάδας. Ακολούθως, δείχθηκε ότι αυτές οι μεταλλάξεις, είναι συνήθεις πολυμορφισμοί με επίπτωση 15% παγκοσμίως. Επιπροσθέτα προκαλούσαν δομικές μεταβολές στο μόριο της LH (V-LH), το οποίο παρουσίαζε αυξημένη δραστηριότητα *in vitro* και μειωμένο χρόνο ημιζωής *in vivo* σε σχέση με την μη μεταλλαγμένη μορφή. Ωστόσο η *in vivo* δραστηριότητα της v-LH δεν μπορούσε να εξηγηθεί. Για να γίνει κατανοητή η σχέση του v-LH των ασθενών με PCOS ο Rajkhowa et al διερεύνησαν τις επιπτώσεις του v-LH τόσο σε υγιείς γυναίκες όσο και σε ασθενείς με PCOS, και βρήκε ότι η εμφάνιση αυτών των μεταλλάξεων στην β-υποομάδα του γονιδίου της LH δεν ήταν υψηλότερη στην ομάδα του PCOS σε σύγκριση με τις υγιείς γυναίκες (Rajkhowa et al., 1995). Από την άλλη πλευρά, η ανάλυση των υποομάδων αυτής της μελέτης αποκάλυψε ότι οι παχύσαρκες γυναίκες με PCOS είχαν υψηλότερη συχνότητα της ετερόζυγης μορφής v- LH σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου των παχύσαρκων γυναικών. Ωστόσο, άλλες μελέτες απέτυχαν να βρουν οποιαδήποτε συσχέτιση με το PCOS.

Άλλος ένας τύπος της LH οφείλεται σε μια μονήρη μετάλλαξη, Gly102Ser στη β-υπομονάδα του γονιδίου της σερίνης. Ο Ramanujam et al μελέτησαν την μετάλλαξη αυτή σε 176 ασθενείς με διαταραχές εμμήνου ρύσεως και 200 Κινέζες από την Σιγκαπούρη με φυσιολογική ωθηκική λειτουργία και την βρήκαν παρούσα μόνο σε 7 ασθενείς. Προσφάτως, ο Takahashi et al. το 2003 έδειξαν ότι διάφορα SNP's στην περιοχή του υποκινητή του γονιδίου της β-υπομονάδας της LH ήταν συχνότερα σε ασθενείς με ωθηκική δυσλειτουργία συμπεριλαμβανομένων των PCOS από τις φυσιολογικής ωθηκικής λειτουργίας γυναίκες.

Εξετάστηκε η υπόθεση ότι μια ενεργή μετάλλαξη στο γονίδιο του υποδοχέα της LH μπορεί να αποτελεί αίτιο της υπερανδρογοναιμίας σε

ασθενείς-PCOS, οι οποίες είχαν φυσιολογικές συγκεντρώσεις LH και αυξημένα επίπεδα ανδρογόνων. Χρησιμοποιώντας ανάλυση σύνδεσης (linkage analysis) σε οικογένειες με πολλές περιπτώσεις PCOS, δεν βρέθηκε κάποια μετάλλαξη του γονιδίου σε αυτές. Παρομοίως ο Urbanek et al ανέφερε αρνητικά αποτελέσματα σε ένα σύνολο 37 υποψηφίων γονιδίων από 150 οικογένειες με PCOS.

Συμπερασματικά, ο ρόλος του v-LH παραμένει ασαφής και δεν φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεια του PCOS και/ή στην υπογονιμότητα. Ωστόσο, περαιτέρω μελέτες απαιτούνται ώστε να προσδιοριστεί η σπουδαιότητα αυτού του τύπου της LH.

### **Γονίδιο FSH και του υποδοχέα της.**

Η FSH είναι η ορμόνη που προάγει τον πολλαπλασιασμό των κοκκωδών κυττάρων και τη μετατροπή των ανδρογόνων σε οιστρογόνα μέσω της αρωμάτωσης. Επίσης, έχει κρίσιμο ρόλο στην κυκλική στρατολόγηση και στην επιλογή του κυρίαρχου ωοθυλακίου. Η FSH δρα μέσω του υποδοχέα της, ο οποίος ανήκει στην οικογένεια των G-πρωτεϊνών και εκφράζεται μόνο στα κοκκώδη κύτταρα. Καθώς η αλληλεπίδραση της FSH με τον υποδοχέα της παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην ωοθηκική διέγερση, αρκετές ομάδες ερευνητών έχουν εξετάσει τις επιδράσεις των πολυμορφισμών περισσότερο στο γονίδιο του FSHR, παρά στο γονίδιο της ίδιας της ορμόνης. Το γονίδιο FSHR βρίσκεται στο χρωμόσωμα 2p21-p26 και περιλαμβάνει δύο σημαντικά SNPs στο εξόνιο 10, τα οποία βρίσκονται σε στενή σύνδεση και αλλάζουν δύο αμινοξέα στις θέσεις 307 και 680 (p. A307T και p.N680S). Ωστόσο, αν και ο p.N680S γονότυπος επηρεάζει την ωοθηκική ανταπόκριση (Castro et al., 2004), δεν φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στην εκδήλωση του PCOS. Σε μελέτη που έγινε σε γυναίκες από την Ιαπωνία βρέθηκε ότι το S αλληλόμορφο ήταν επικρατές σε αυτές που είχαν το σύνδρομο σε σχέση με τις φυσιολογικές (Sudo et al., 2002), ωστόσο καμία διαφορά δεν βρέθηκε από τους Conway και Tong. Τέλος, ο πολυμορφισμός RFLP AccI (1736T/C) στο γονίδιο που κωδικοποιεί τη β-υπομονάδα της FSH ενδεχομένως να σχετίζεται με την παθογένεια του συνδρόμου.

### **Γονίδιο της Φολλιστατίνης (FST).**

Η Φολλιστατίνη είναι μια μονομερής γλυκοπρωτεΐνη η οποία δεσμεύει την ακτιβίνη και αναστέλλει τη βιολογική της δράση in vivo και in vitro. Αυξημένα επίπεδα ή δραστικότητα του γονιδίου της FST έχει ως αποτέλεσμα την καταστολή της ωοθυλακιογένεσης, αύξηση της παραγωγής ανδρογόνων από τις ωοθήκες, αδρανοποίηση της ακτιβίνης και ελάττωση των συγκεντρώσεων της FSH. Επειδή όλες αυτές οι αλλαγές είναι τυπικά χαρακτηριστικά του PCOS, το γονίδιο FST έχει διερευνηθεί σαν υποψήφιο για το σύνδρομο. Αρχικά, ο Urbanek εξέτασε ένα σύνολο από 37 υποψήφια γονίδια σε 150 οικογένειες με PCOS και ανέφερε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ του γονιδίου FST και του PCOS. Ωστόσο ακόλουθες μελέτες οι οποίες



διενεργήθηκαν από τους ίδιους συγγραφείς δεν έδειξαν σημαντική σύνδεση. Για να ανιχνεύσουν διαφοροποιήσεις του γονιδίου FST έκαναν ανάλυση αλληλουχιών (sequencing) σε 85 γυναίκες από 19 οικογένειες PCOS ασθενών και αναγνώρισαν ποικιλόμορφες αλληλουχίες σε 17 θέσεις. Παρ' όλα αυτά, μόνο ένας από αυτούς τους πολυμορφισμούς ήταν συνήθης και η περιοχή αυτή του πολυμορφισμού δεν μεταφράζεται. Επίσης, ανέφεραν παρόμοια έκφραση του Mrna του γονιδίου FST σε καλλιεργημένους ινοβλάστες από γυναίκες με PCOS και την ομάδα ελέγχου. Παρομοίως, δύο μελέτες οι οποίες συμπεριέλαβαν ασθενείς με PCOS από την Σιγκαπούρη και την Ισπανία δεν μπόρεσαν να βρουν καμιά σημαντική μετάλλαξη στις κωδικοποιούσες περιοχές αυτού του γονιδίου. Τέλος, σε μία πρόσφατη έρευνα που έγινε από τον M.R.Jones et al βρήκαν πως ο πολυμορφισμός SNP rs3797297 του γονιδίου FST δεν σχετίζεται με το PCOS αλλά, μπορεί να παίζει ρόλο στην υπερανδρογοναιμία του συνδρόμου καθώς βρέθηκε ότι συνδέεται με τα επίπεδα της πρωτεΐνη SHBG (M.R Jones et al., 2007).

### **Γονίδιο του υποδοχέα της ντοπαμίνης (DR)**

Η ντοπαμίνη είναι ορμόνη η οποία αναστέλλει την GnRH και την έκκριση της προλακτίνης (PRL). Έχουν αναγνωρισθεί και μελετηθεί πολυμορφισμοί στα γονίδια του D2 και D3 υποδοχέα της ντοπαμίνης. Ομοζυγωτία για το σπάνιο αλληλόμορφο (allele 2) του D3 υποδοχέα έχει συσχετισθεί με το PCOS και την αντίσταση στην κλομιφένη σε γυναίκες της Ισπανίας. Ωστόσο, επακόλουθη μελέτη σε γυναίκες διαφορετικής φυλής, δεν βρήκε σύνδεση ανάμεσα σε αυτό το αλληλόμορφο και το PCOS (Kahsar-Miller et al 1999).

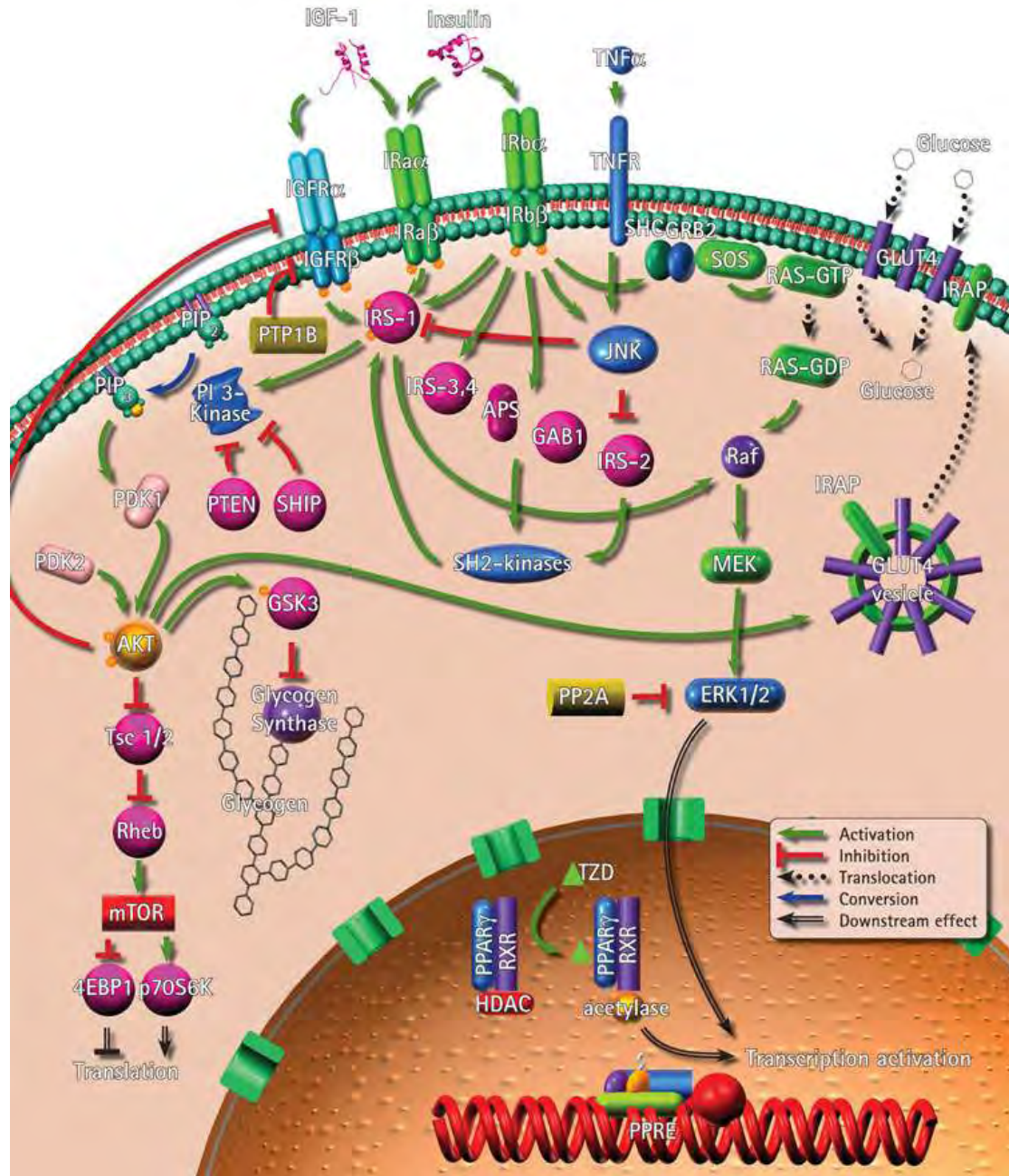
### **Αδρενεργικοί υποδοχείς**

Δύο πολυμορφισμοί του γονιδίου που κωδικοποιεί τον β2-αδρενεργικό υποδοχέα (ADRB2) μελετήθηκαν σε γυναίκες ασθενείς της Ιαπωνίας: ο p.Q27E πολυμορφισμός βρέθηκε να συσχετίζεται με το σύνδρομο, ενώ αρνητικά ήταν τα αποτελέσματα για τον πολυμορφισμό p.R16G (Kurabayashi et al., 2006). Αρνητική συσχέτιση διαπιστώθηκε και για τον πολυμορφισμό p.W64R του γονιδίου που κωδικοποιεί τον ADRB3 (Perez-Bravo et al., 2005; Kurabayashi et al., 2006), αν και μπορεί να επηρεάζει την ρύθμιση των τριγλυκεριδίων σε γυναίκες που φέρουν αυτή τη διαταραχή.

## **3. Γονίδια εμπλεκόμενα στην έκκριση και δράση της ινσουλίνης.**

Περίπου πριν 2 δεκαετίες δείχθηκε, ότι οι γυναίκες με PCOS είτε παχύσαρκες ή όχι, συγκρινόμενες με φυσιολογικές γυναίκες εμφανίζουν διαφόρου βαθμού αντίσταση στην ινσουλίνη και αντισταθμιστική υπερινσουλιναιμία. Ακολούθησαν αρκετά επιβεβαιωτικά στοιχεία για να γνωρίζουμε σήμερα ότι η υπερινσουλιναιμία και η αντίσταση στην ινσουλίνη αποτελούν συνήθη χαρακτηριστικά των ασθενών με PCOS. Επομένως

αρκετά γονίδια τα οποία εμπλέκονται στην έκκριση και δράση της ινσουλίνης έχουν διερευνηθεί ως υποψήφια γονίδια στην παθογένεια των PCOS (Εικόνα 3).



Εικόνα 3 : Ενδοκυττάριο μονοπάτι της μεταγωγής του σήματος της ινσουλίνης

## **Γονίδιο της ινσουλίνης (INS).**

Το γονίδιο της ινσουλίνης (INS) βρίσκεται μεταξύ των γονιδίων της υδροξυλάσης της τυροσίνης και του IGF-II στο χρωμόσωμα 11p15.5 και περιλαμβάνει πολλαπλές επαναλήψεις VNTR, οι οποίες βρίσκονται στην 5' ρυθμιστική περιοχή (5'-UTR) του INS. Οι πολυμορφισμοί VNTR ρυθμίζουν τη μεταγραφική δραστηριότητα του INS και πιθανώς του γονιδίου το οποίο κωδικοποιεί τον IGF-II. Ο αριθμός των επαναλήψεων VNTR του INS κυμαίνεται από 26 μέχρι 200 και χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες βάσει μεγέθους. Τα αλληλόμορφα κατηγορίας I με την μικρότερη πολυμορφική περιοχή, έχουν μήκος που φθάνει τις 40 επαναλήψεις. Τα αλληλόμορφα κατηγορίας II έχουν μήκος 80 επαναλήψεων και είναι σπάνια στους καυκάσιους, ενώ η κατηγορία III έχει ένα μέσο μήκος 157 επαναλήψεων. Η μεταγραφική ενεργότητα της μεγαλύτερης πολυμορφικής περιοχής είναι μεγαλύτερη από αυτή της πιο μικρής. Εκτός της επίδρασης στην ρύθμιση της έκφρασης του INS, έχουν ενοχοποιηθεί και για την παθογένεια του διαβήτη τύπου-2 σε πολλές μελέτες. Δεν είναι γνωστό εάν η υπερινσουλιαιμία η οποία ανιχνεύεται στις PCOS είναι αποτέλεσμα πρωτοπαθούς αντίστασης στην ινσουλίνη ή το άμεσο αποτέλεσμα της διαταραχής των β-κυττάρων του παγκρέατος, δεδομένου ότι έχουν αναφερθεί διαταραχές τόσο στην δράση της ινσουλίνης, όσο και στην λειτουργία των παγκρεατικών β-κυττάρων. Έτσι για να διευκρινισθεί η γενετική βάση του PCOS και να καθορισθεί η συσχέτιση με τις διαταραχές της έκκρισης και δράσης της ινσουλίνης, πρώτα ο Waterworth et al εκτίμησε την σύνδεση των INS VNTR πολυμορφισμών σε οικογένειες με προσβεβλημένα μέλη. Βρήκαν ότι υπάρχει ισχυρή συσχέτιση μεταξύ του αλληλομόρφου της κατηγορίας III στο γονίδιο INS και του PCOS. Επιπλέον βρήκαν ότι τα αλληλόμορφα κατηγορίας I, ειδικά οι γονότυποι III/III σχετίζονταν με ανωοθυλακιωρηξία PCOS σε δύο ανεξάρτητους πληθυσμούς και ήταν συχνότερες σε γυναίκες με PCOS. Επιπροσθέτως στην ίδια μελέτη δείχθηκε ότι ο γεωμετρικός μέσος όρος των συγκεντρώσεων της ινσουλίνης νηστείας του ορού ήταν σημαντικά υψηλότερος σε οικογένειες με κανένα στοιχείο σύνδεσης (linkage). Αυτά τα δεδομένα υποστηρίζουν την ιδέα ότι οι VNTR πολυμορφισμοί έχουν ρόλο στους φαινοτύπους PCOS με υπερινσουλιαιμία και αντίσταση στην ινσουλίνη. Σε μια περιεκτική μελέτη ο Urbanek et al (1999) ωστόσο, δεν βρήκαν κανένα στοιχείο σύνδεσης του INS και του PCOS καθώς και του συσχετισμού της τάξης III των αλληλομόρφων και της υπερανδρογοναιμίας. Η διαφορά όμως αυτής της μελέτης από τις προηγούμενες είναι χρησιμοποιήθηκαν τα κριτήρια του NICHD για την επιλογή των πληθυσμών αντί των υπερηχογραφικών ευρημάτων. Άλλες μελέτες (Calvo et al., 2002; Vankova et al., 2002; Powell et al., 2005; Yuriping XU et al., 2009) απέτυχαν να βρουν οποιαδήποτε σύνδεση των INS VNTR αλληλομόρφων με την υπερανδρογοναιμία ή το PCOS.

## **Γονίδιο του υποδοχέα της ινσουλίνης (INSR).**

Ο υποδοχέας της ινσουλίνης είναι μια ετεροτετραμερής γλυκοπρωτεΐνη η οποία αποτελείται από 2 α και 2 β υποομάδες και κωδικοποιείται από το INSR το οποίο βρίσκεται στο χρωμόσωμα 19. Διάφορες μελέτες διενεργήθηκαν

ώστε να αναγνωρισθεί εάν οι μεταλλάξεις του INSR μπορούσαν να εξηγήσουν την αντίσταση στην ινσουλίνη σε γυναίκες με PCOS. Οι αρχικές μελέτες ως προς την αλληλούχηση του INSR, την περιοχή κινάσης τυροσίνης του γονιδίου INSR και μεταλλάξεις στην κωδική περιοχή του INSR δεν βρήκαν κάποιους σχετικούς πολυμορφισμούς. Μια εμπειριστική μελέτη που δημοσιεύτηκε από τον Urbanek έδειξε πως υπάρχει συσχέτιση με το PCOS σε 367 καλά χαρακτηρισμένες οικογένειες της Ευρώπης (Urbanek et al., 2005).

Σε μια άλλη μελέτη ο Siegel et al (2002) εξέτασαν έναν C/T πολυμορφισμό (SNP) στην περιοχή της κινάσης της τυροσίνης του INSR και βρήκαν συσχέτιση με το PCOS. Αυτό το SNP θα μπορούσε να αποτελεί προδιάθεση για PCOS, ή να είναι αποτέλεσμα ανισορροπίας στην σύνδεση (linkage disequilibrium) με κάποιο άλλο πολυμορφισμό του INSR, αλλά η σχέση χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση για να επιβεβαιωθεί.

Το ενδιαφέρον των ερευνητών ωστόσο, στράφηκε σε μία περιοχή του υποδοχέα της ινσουλίνης. Στη πρώτη μελέτη που έγινε σε Καυκάσιες οικογένειες, βρέθηκε πως το σύνδρομο αυτό συνδέεται με έναν δείκτη D19S884 που βρίσκεται κοντά στον υποδοχέα της ινσουλίνης. Το σημαντικό ρόλο αυτού του δείκτη επιβεβαίωσε επακόλουθη μελέτη που εντόπισε θετική συσχέτιση του D19S884 με τα επίπεδα των ανδρογόνων. Η μελέτη όμως του Urbanek et al., παρείχε μία ισχυρή απόδειξη υποστηρίζοντας έτσι τα προηγούμενα ευρήματα αυτών των συγγραφέων.

Η δινουκλεοτιδική επανάληψη D19S884, που έχει χαρτογραφηθεί στο ιντρόνιο 55 του γονιδίου της FBN3, αναγνωρίστηκε ως η πιο πιθανή σχετιζόμενη περιοχή και οι πολυμορφισμοί εντός του FBN3 συνιστούν έναν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης του PCOS (Urbanek et al. 2005, Stewart et al. 2006, Ewens et al. 2010). Η FBN3 εντοπίζεται στο περι-ωοθυλακικό στρώμα ωοθυλακίων που μετατρέπονται (transition) από αρχέγονα σε πρωτογενή ωοθυλάκια (TF-ωοθυλάκια) και ενδεχομένως να αποτελεί δείκτη για τον ειδικό τύπο TF ωοθυλακίων. Ακόμα έχει βρεθεί πως συμμετέχει στη ρύθμιση των μορίων TGFβ και BMP (Charboneau et al. 2004; Ramirez and Sakai 2010), παράγοντες που εμπλέκονται στην ωοθυλακιογένεση. Συνεπώς η σπουδαιότητα του είναι μεγάλη. Η συμμετοχή του στην παθογένεια του συνδρόμου επιβεβαιώθηκε από πρόσφατες μελέτες (Urbanek et al., 2007). Μάλιστα στην τελευταία μελέτη που έγινε από την Diana Jordan et al, θεωρήθηκε πως η έλλειψη της συγκεκριμένης πρωτεΐνης κατά τη διάρκεια της ωοθυλακιογένεσης παίζει ρόλο στην εκδήλωση του PCOS (Diana Jordan et al., 2010).

### **Πρωτεΐνες του υποστρώματος του υποδοχέα της ινσουλίνης.**

Η ενεργοποίηση του υποδοχέα της ινσουλίνης η οποία επάγεται από την δέσμευση του με την ινσουλίνη, απαιτεί την αυτοφωσφορυλίωση της β-υποομάδας του. Η επακόλουθη ενεργοποίηση της κινάσης της τυροσίνης φωσφορυλιώνει τα υποστρώματα του υποδοχέα της ινσουλίνης IRS-1 και IRS-2 τα οποία συμμετέχουν στο μονοπάτι μεταγωγής σήματος της ινσουλίνης. Ακολούθως τα IRS-1 και IRS-2 δεσμεύουν και ενεργοποιούν δραστικές ουσίες όπως η 3-κινάση της φωσφο-ινοσιτόλης ώστε να προάγει τις μεταβολικές δράσεις της ινσουλίνης. Όταν το IRS-1 είναι δυσλειτουργικό, το

IRS-2 είναι η κύρια οδός για την ενδοκυτταρική μεταβίβαση του σήματος, αλλά απαιτεί για την ενεργοποίηση υψηλότερη συγκέντρωση ινσουλίνης.

Διάφοροι πολυμορφισμοί των IRS-1 και IRS-2 έχουν μελετηθεί για την αντίσταση στην ινσουλίνη. Πραγματοποιήθηκαν εκτενείς έρευνες όσον αφορά την πιθανή σύνδεση του πολυμορφισμού p.G972R στο γονίδιο IRS-1 με το PCOS, εμφανίζοντας θετικά και αρνητικά αποτελέσματα. Σύμφωνα με 4 διαφορετικές μελέτες ( El Mkadem et al., 2001; Sir-Petermann et al., 2004; Villuendas et al., 2005; Witchel et al., 2005) ο πολυμορφισμός αυτός σχετίζεται με κάποια συμπτώματα του PCOS.

Πιστεύεται πως η μετφορμίνη, ένας ευαίσθητοποιητής ινσουλίνης που χρησιμοποιείται συνήθως σε γυναίκες με PCOS για πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας, δρα σε κυτταρικό επίπεδο υποβοηθώντας την φωσφορυλίωση της τυροσίνης στην β-υπομονάδα του υποδοχέα της ινσουλίνης και των IRS πρωτεϊνών και επίσης αυξάνει την ινσουλινοεξαρτόμενη και μη, πρόσληψη γλυκόζης μέσω της οικογένειας των πρωτεϊνών μεταφορέων. Αυτό θα μπορούσε να εξηγήσει το εύρημα μιας μελέτης που έγινε σε γυναίκες με PCOS από την Τουρκία και φάνηκε πως ο IRS-1 γονότυπος μπορεί να επηρεάσει την ανταπόκριση στην θεραπεία με μετφορμίνη ( Ertunc et al., 2005).

Ακόμα βρέθηκε πως ο συγκεκριμένος πολυμορφισμός στο IRS-1 σχετίζεται με χαμηλά επίπεδα της SHBG σε γυναίκες με ιστορικό πρόωρης ήβης.

Όσον αφορά τον πολυμορφισμό p.G1057D στο γονίδιο IRS-2 οι διάφορες μελέτες που έγιναν, δεν έδειξαν καμία σύνδεση με το PCOS (Haar et al., 2005; Villuendas et al., 2005), ωστόσο, βρέθηκε συσχέτιση αυτού με τα επίπεδα της γλυκόζης του αίματος γυναικών με PCOS (Ehrmann et al., 2002).

Συνολικά, πρέπει να τονισθεί ότι σε αυτές τις μελέτες οι πολυμορφισμοί των IRS φαίνεται να συσχετίζονται περισσότερο με την αντίσταση στην ινσουλίνη παρά με το PCOS.

### **Γονίδιο της Καλπαΐνης 10 (Calpain 10).**

Η καλπαΐνη-10 είναι μια πρωτεάση κυστεΐνης η οποία παίζει ρόλο στην έκκριση και τη δράση της ινσουλίνης. Γενετικές μελέτες έχουν δείξει ότι παραλλαγές στο γονίδιο της CAPN10 σχετίζονται με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 ενώ έχει ερευνηθεί και η πιθανή σύνδεση πέντε πολυμορφισμών του με το PCOS. Δύο διαφορετικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στην Ισπανία έδειξαν, ότι υπάρχει συσχέτιση του πολυμορφισμού SNP UCSNP44 ( Gonzales et al., 2003) ή του UCSNP45 (Escobar-Morreale et al., 2002) του CAPN10 με το PCOS. Ωστόσο, τα παραπάνω ευρήματα δεν παρατηρήθηκαν σε μελέτη που έγινε στη Γερμανία από τον Haar et al. το 2005. Καμία σύνδεση δεν βρέθηκε και για άλλους 3 πολυμορφισμούς αυτού του γονιδίου UCSNP43, UCSNP19, UCSNP63 (Ehrmann et al., 2002; Gonzalez et al., 2003). Αυτά τα αντιφατικά αποτελέσματα δείχνουν την ανάγκη μελέτης μεγαλύτερων πληθυσμών για την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων.

## **Αυξητικοί παράγοντες που προσομοιάζουν με την ινσουλίνη (IGFs)**

Αν και αρχικά δεν υπήρχε καμία ένδειξη για πιθανή σύνδεση του PCOS με γονίδια IGF, το 2004 ο San Millan et al βρήκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στο αλληλόμορφο G (ομοζυγωτία) του πολυμορφισμού Aral του γονιδίου IGF2 και του PCOS. Βρέθηκε πως τα αλληλόμορφα του Aral πολυμορφισμού αυξάνουν το Mrna IGF2 στα λευκοκύτταρα και πιθανόν την έκφραση και την έκκριση του IGF2 στο συκώτι. Ο IGF2 διεγείρει την επινεφριδιακή και ωθηκική έκκριση των ανδρογόνων, και μαζί με τον IGF1 μπορεί να παίζει κάποιο ρόλο στην παθογένεια του συνδρόμου. Χρειάζεται απλά να πραγματοποιηθούν περισσότερες μελέτες προκειμένου να επιβεβαιωθούν τα ευρήματα αυτά.

## **4. Γονίδια που εμπλέκονται στην παχυσαρκία και στην αντίσταση στην ινσουλίνη.**

### **Γονίδιο του PPAR-γ.**

Ο PPAR-γ είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας που εμπλέκεται στην λιπογένεση και τον μεταβολισμό, ενώ είναι ένας λειτουργικός υποδοχέας για τις θειαζολιδινεδιόνες (TZDs). Ο PPAR-γ εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 3p25 και είναι ένα υποψήφιο γονίδιο για την ρύθμιση του μεταβολισμού του λιπώδους ιστού και προδιαθέτει σε παχυσαρκία και διαβήτη τύπου 2. Σε μία μελέτη που έγινε σε γυναίκες από την Φιλανδία, βρέθηκε θετική συσχέτιση του πολυμορφισμού SNP p.P12A στη θέση 12 του εξονίου 2 και στο PCOS (Korhonen et al., 2003) ωστόσο πέντε άλλες μελέτες δεν βρήκαν κανένα στοιχείο συσχέτισης ( Orio et al., 2003; San Millan et al., 2004; Haar et al., 2005; Wang et al., 2006; Antoine et al., 2007). Τρεις άλλες μελέτες εντόπισαν επιδράσεις στον μεταβολισμό της γλυκόζης και/ή αυξημένη ευαισθησία της ινσουλίνης σε άτομα που έφεραν το p.P12A (Hahn et al., 2005; Tok et al., 2005). Άλλος ένας πολυμορφισμός αυτού του γονιδίου 1431C/T (p.H447H) βρέθηκε να συνδέεται με την παχυσαρκία (Orio et al., 2003) αλλά όχι με το PCOS (Antoine et al., 2007). Τέλος, μία και μοναδική μελέτη μέχρι τώρα έχει ερευνήσει τη σχέση του γονιδίου του PPARγ – συνενεργοποιητή 1<sup>A</sup> και του συνδρόμου χωρίς να έχει θετικά αποτελέσματα. Ο περιορισμένος αριθμός των πληθυσμών που έγιναν οι μελέτες και τα χαμηλής αυστηρότητας διαγνωστικά κριτήρια αποτελούν περιοριστικούς παράγοντες για την σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

### **Γονίδιο της πρωτεΐνης ENPP1/ PC-1**

Η πρωτεΐνη ENPP (ectonucleotide pyrophosphatase/ phosphodiesterase, επίσης γνωστή ως, plasma cell differentiation antigen-1 ) έχει αναγνωρισθεί ως παράγοντας που πιθανώς συμβάλλει στην αντίσταση της ινσουλίνης

καθώς προσδένεται στον INSR και επηρεάζει την μετάδοση του σήματος. Ερευνητές μελέτησαν τον συσχετισμό του PCOS με τον πολυμορφισμό p.K121Q στο εξόνιο 4 του γονιδίου αυτού και βρήκαν θετικά (Heinonen et al., 2004) και αρνητικά (San Millan et al., 2004; Baba et al., 2007) αποτελέσματα.

### **Paraoxonase (PON1)**

Πρόκειται για μία υψηλής-πυκνότητας λιποπρωτεΐνη του ορού με αντιοξειδωτικές ιδιότητες που κωδικοποιείται από το γονίδιο PON1. Από τους τρεις πολυμορφισμούς που εξετάστηκαν στο PON1 (San Millan et al., 2004), ο 108C/T στον υποκινητή του γονιδίου βρέθηκε να σχετίζεται με το PCOS στις Καυκάσιες γυναίκες. Θεωρείται ότι αυτός ο πολυμορφισμός που προκαλεί μειωμένη έκφραση αυτής της πρωτεΐνης, συμβάλλει στην αντίσταση της ινσουλίνης καθώς αυξάνει το οξειδωτικό stress το οποίο παίζει κεντρικό ρόλο στην παθογένειά της. Οι άλλοι δύο p.L55M και p.G192A δεν συνδέονται με το σύνδρομο, αν και γυναίκες ομόζυγες για το αλληλόμορφο 55M είχαν αυξημένο BMI και αυξημένη αντίσταση στην ινσουλίνη σε σύγκριση με αυτές που φέρανε το κοινό 55L αλληλόμορφο.

### **Human sorbin and SH3 domain-containing 1 gene (SORBS1)**

Η SORBS1 είναι μία πρωτεΐνη που συμμετέχει στην είσοδο της γλυκόζης στα κύτταρα μέσω της ινσουλίνης. Ο πολυμορφισμός p.T228A του γονιδίου αυτού ενδεχομένως να παίζει ρόλο στη γενετική προδιάθεση για την παχυσαρκία και τον διαβήτη τύπου 2.

### **Resistin gene (RETN)**

Μελετήθηκαν δύο πολυμορφισμοί SNPs στον υποκινητή του γονιδίου RENT ( -179C/G και ο -420C/G). Δεν βρέθηκε να συνδέονται με το PCOS. Ωστόσο, ο Xita et al. παρατήρησε πως γυναίκες που έφεραν τον CC γονότυπο του -179C/G SNP είχαν αυξημένο BMI υποδεικνύοντας πως σχετίζεται με την παχυσαρκία.

## **5. Γονίδια που μετέχουν στην ενεργειακή ομοιόσταση.**

Κατά τη διάρκεια των τελευταίων ετών έχει αναγνωρισθεί ότι ο λιπώδης ιστός δεν είναι απλά ένας συνδετικός ιστός, αλλά είναι ένα από τα ενεργά ενδοκρινή όργανα τα οποία, εκκρίνουν ποικίλα προϊόντα που καλούνται αντιποκυτοκίνες. Καθώς μερικές γυναίκες με PCOS είναι παχύσαρκες, μερικά γονίδια γνωστών αντιποκυτοκινών έχουν διερευνηθεί ως υποψήφια για την παθογένεια του συνδρόμου. Η αλληλούχηση του γονιδίου της λεπτίνης O (Oksanen et al., 2000) σε μια μικρή ομάδα ασθενών από την Φιλανδία με PCOS, απέτυχε να ανιχνεύσει οποιαδήποτε μετάλλαξη στην κωδικοποιούσα περιοχή. Σε αυτή την μελέτη, οι ερευνητές εξέτασαν και το γονίδιο του υποδοχέα της λεπτίνης και βρήκαν διάφορες αμινοξικές παραλλαγές στα

εξόνια 2, 4, 12, καθώς και μια πεντανεοκλουοτιδική εισαγωγή (insertion) στην 3- μη μεταφραζόμενη περιοχή (3'-UTR). Ωστόσο οι συχνότητες των αλληλομόρφων αυτών των πολυμορφισμών δεν διέφεραν από αυτές στον γενικό πληθυσμό. Παρόλα αυτά πρέπει να σημειωθεί ότι γυναίκες που έφεραν τον πολυμορφικό γονότυπο στο εξόνιο 12 και στη 3'-UTR περιοχή του LEPR είχαν χαμηλά επίπεδα ινσουλίνης στον ορό συνιστώντας έναν πιθανό ρόλο του LEPR στην ρύθμιση των επιπέδων της ινσουλίνης.

Πρόσφατες μελέτες έχουν εστιάσει σε 2 πολυμορφισμούς SNPs του γονιδίου της αντιπυονεκτίνης (ADIPOQ), τον T45G στο εξόνιο 2 και τον G276T στο ιντρόνιο 2. Βρέθηκε ότι αυτοί σχετίζονται με παχυσαρκία, αντίσταση στην ινσουλίνη και διαβήτη τύπου 2, ενώ δείχθηκε πως υπάρχει σύνδεση με τον p.T45G σε ασθενείς από την Γερμανία και την Φιλανδία (Haar et al., 2005; Heinonen et al., 2005). Δεν διαπιστώθηκε το ίδιο σε γυναίκες από την Ελλάδα (Panidis et al., 2004; Xita et al., 2005). Συμπερασματικά, φαίνεται ότι αυτοί οι πολυμορφισμοί δεν παίζουν κάποιο ρόλο στην παθογένεια του PCOS, αλλά εν μέρει έχουν κάποιο ρόλο στην φαινοτυπική ποικιλομορφία του.

Επειδή η ghrelin παίζει ρόλο στη ρύθμιση του μεταβολισμού της γλυκόζης και στην ενεργειακή ισορροπία, θεωρήθηκε ότι πιθανόν συμβάλλει στην παθογένεια του συνδρόμου. Δύο πολυμορφισμοί εξετάστηκαν στο γονίδιο της ghrelin, Arg51Gln και Leu72Met στον Κινέζικο πληθυσμό δεν έδειξε καμία συσχέτιση με το PCOS.

## **6. Γονίδια που συνδέονται με τον κίνδυνο ανάπτυξης καρδιαγγειακών νοσημάτων.**

Έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες που εξέτασαν γονίδια τα οποία εμπλέκονται σε καρδιαγγειακές διαταραχές προκειμένου, να εντοπίσουν πιθανή ανάμειξη τους στο σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών. Στην μελέτη που έγινε από τον Zulian et al το 2005, ο πολυμορφισμός p.M235T στο γονίδιο της αγγειοτενσίνης (AGT) φάνηκε να συνδέεται με το PCOS, ενώ παράλληλα, παρατηρήθηκε μια γονοτυπο-εξαρτώμενη διάφορα στην ευαισθησία των γυναικών με το σύνδρομο, ως προς την ινσουλίνη.

Η πρωτεΐνη MTHFR είναι ένα ένζυμο που βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων και περιορίζει την συγκέντρωση της ομοκυστεΐνης στο αίμα, εμποδίζοντας την τοξική δράση της τελευταίας προς το ενδοθηλιακό τοίχωμα των αγγείων. Οι πολυμορφισμοί p.A222V (C677T) και p.G429A (A1298C) του γονιδίου MTHFR μειώνουν την δραστικότητα του ενζύμου, με συνέπεια την αύξηση των επιπέδων της κυκλικής ομοκυστεΐνης, αυξάνοντας έτσι και τον κίνδυνο για CVD. Οι επιστήμονες προσπάθησαν να βρουν εάν και πότε ο συγκεκριμένος πολυμορφισμός σχετίζεται με το PCOS, χωρίς όμως θετικά αποτελέσματα.

Η πρωτεΐνη PAI-1 (plasminogen activator inhibitor-1) συμμετέχει στον μηχανισμό πήξης του αίματος και η υπερέκκρισή της συμβάλλει στην ανάπτυξη θρομβώσεων και καρδιαγγειακών διαταραχών. Σε ασθενείς-PCOS τα επίπεδα αυτής της πρωτεΐνης στο πλάσμα είναι αυξημένα. Ο πολυμορφισμός p.4G/5G στον υποκινητή του γονιδίου PAI-1 βρέθηκε πως προκαλεί σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και μυοκαρδιακή δυσλειτουργία.



Συσχετίσθηκε με το PCOS σε μία μελέτη (Diamantaki-Kandarakis et al., 2004), αλλά σε τρεις άλλες τα αποτελέσματα ήταν αρνητικά (San Millan et al., 2004; Walch et al., 2005; Karadeniz et al., 2007). Πρόσφατα, σε μια μετα-ανάλυση που έγινε το 2009 (Bagos PG. et al, 2009), βρέθηκε πως υπάρχει θετική συσχέτιση του πολυμορφισμού με το σύνδρομο. Μάλιστα δείχθηκε πως το αλληλόμορφο 4G παρουσιάζει μεγαλύτερη ενεργότητα σε σχέση με το αλληλόμορφο 5G.

Τέλος, καμία σύνδεση δεν βρέθηκε να υπάρχει μεταξύ του πολυμορφισμού Alu repeat ins/del του γονιδίου PLAT (tissue plasminogen activator) και του PCOS. Ωστόσο γυναίκες-ασθενείς που ήταν ομόζυγες γι' αυτόν τον γονότυπο, είχαν μειωμένα επίπεδα χαμηλής πυκνότητας/συνολικής χοληστερόλης σε σχέση με τους άλλους γονότυπους (Karadeniz et al., 2007).

## 7. Γονίδια της χρόνιας φλεγμονής.

Η χρόνια φλεγμονή φαίνεται να παίζει ρόλο στην αντίσταση στην ινσουλίνη, σε καρδιαγγειακά νοσήματα και ενδεχομένως να συμβάλλει στην παθογένεια του PCOS, αν και δεν υπάρχει ομοφωνία γι' αυτό στην επιστημονική κοινότητα. Συνεπώς, οι πρωτεΐνες που συμμετέχουν στον μηχανισμό της φλεγμονής, πιθανόν να αποτελούν υποψήφια γονίδια για το PCOS.

Τα κυκλικά επίπεδα αρκετών κυτοκινών φλεγμονής που παράγονται από τον λιπώδη ιστό, όπως π.χ. ο TNF-α και η IL-6, σχετίζονται με την αντίσταση στην ινσουλίνη (IR) και την παχυσαρκία. Έχει θεωρηθεί πως και μία ακόμα κυτοκίνη, η IL-1, επηρεάζει την διαδικασία της ωοθυλακιορρηξίας, τη γονιμοποίηση και την εμφύτευση. Στη μελέτη που έγινε σε γυναίκες της Αυστρίας, φάνηκε πως το PCOS συνδέεται με τον πολυμορφισμό p. 889C/T του γονιδίου της IL-1A, όχι όμως με τους p.511C/T και p.3953 G/A στο IL1B (Kolbus et al., 2007).

Ακόμα, εντός του γονιδίου IL-6 ο p.596G/A βρέθηκε ότι σχετίζεται με το PCOS (Villuendas et al., 2002), όχι όμως ο p.572G/C, ενώ για τον p.174G/C τα ευρήματα ήταν θετικά (Villuendas et al., 2002) και αρνητικά (Walch et al., 2004). Ωστόσο, θεωρείται πως συμβάλλει στον φαινότυπο του συνδρόμου (Mohlig et al., 2004; Walch et al., 2004). Στα γονίδια του συμπλέγματος του υποδοχέα της IL-6 (IL6R) εντοπίστηκε η παρουσία ενός μικροδορυφόρου CA επαναλήψεων και ο p.G148R στο IL-6ST (τμήμα του υποδοχέα της IL-6). Μόνο ο δεύτερος πολυμορφισμός βρέθηκε να συμβάλλει στην ανάπτυξη του PCOS (Escobar-Morreale et al., 2003).

Οι πολυμορφισμοί στον υποκινητή του γονιδίου TNF-α δεν φαίνεται να επηρεάζουν την εκδήλωση του συνδρόμου, αλλά ο p.308G/A συσχετίσθηκε με ανοχή γλυκόζης σε γυναίκες με PCOS. Οι δράσεις του TNF-α διευθετούνται μέσω των TNF υποδοχέων τύπου 1 ή τύπου 2. Από τους 5 πολυμορφισμούς που εξετάστηκαν στο γονίδιο του TNF υποδοχέα τύπου 2 (TNFRSF1B) σε γυναίκες από την Ισπανία και την Ιταλία, μόνο ο p.M196R έδειξε θετική συσχέτιση με το PCOS και την υπερανδρογοναιμία (Peral et al., 2002).

## 8. Άλλα γονίδια

Οι μεταλλοπρωτεάσες του στρώματος (MMPs) παίζουν σημαντικό ρόλο στην επαναδιαμόρφωση του εξωκυττάριου στρώματος κατά τη διάρκεια της ωοθυλακιογένεσης (Goldman and Shalev, 2004). Ο πολυμορφισμός 1607G insertion/deletion στο γονίδιο MMP1 φάνηκε να σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης του συνδρόμου σε Καυκάσιες γυναίκες (Walch et al., 2005b). Τα αλληλόμορφα των γονιδίων HLA-A11 και HLA-DRB1 βρέθηκε ότι σχετίζονται με το σύνδρομο, σε αντίθεση με το HLA-C (Kaibe et al., 2006) και με 2 πολυμορφισμούς του γονιδίου που κωδικοποιεί την haemochromatosis protein στην οικογένεια MHC τάξεως I (HFE).

Αρκετοί πολυμορφισμοί άλλων γονιδίων που εμπλέκονται στην αντίσταση στην ινσουλίνη, διαβήτη τύπου 2 και στην παχυσαρκία έχουν μελετηθεί, αλλά απέτυχαν να δείξουν οποιαδήποτε συμμετοχή στην παθογένεια του PCOS. Παραδείγματα τέτοιων γονιδίων είναι APOE-apolipoprotein E (Heinonen et al., 2001), FOXC2-forkhead box C2 (Haap et al., 2005), GYS1-glycosen synthetase 1 (Rajkhowa et al., 1996), PTPN1-protein tyrosine phosphetase 1B (San Millan et al., 2004), TCF7L2 και HEXX (Pei XY et al., 2009).

## Δ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Συνοψίζοντας τα στοιχεία από τις πρόσφατες έρευνες για τον γενετικό μηχανισμό του συνδρόμου, θα μπορούσαμε να ταξινομήσουμε τα γονίδια σε 3 κατηγορίες: α) αυτά που δεν έχουν καμία συμμετοχή στην ανάπτυξη του συνδρόμου, β) αυτά των οποίων ο ρόλος είναι αμφιλεγόμενος, και γ) αυτά που έχουν θετική συσχέτιση με το σύνδρομο, αν και απαιτείται περαιτέρω έρευνα.

Αν και οι επιστημονικές έρευνες καθιστούν αδιαμφισβήτητη την γενετική βάση του συνδρόμου, το γενετικό του μονοπάτι παραμένει αδιευκρίνιστο. Παρά την πρόοδο που έχει σημειωθεί στην αποσαφήνιση των γενετικών μηχανισμών του PCOS, οι γενετικές μελέτες εξακολουθούν να αντιμετωπίζουν αρκετά εμπόδια και προκλήσεις.

Για παράδειγμα, υπάρχουν διάφοροι περιορισμοί στις μελέτες, όσον αφορά τον γονότυπο και τον φαινότυπο του PCOS. Αρχικά η έλλειψη παγκοσμίως αποδεκτών κριτηρίων για την διάγνωση και τον ορισμό του συνδρόμου, οδηγεί στο γεγονός, πως διαφορετικές μελέτες χρησιμοποιούν διαφορετικά κριτήρια στην έρευνά τους. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την σύγχυση κατά την σύγκριση των συμπερασμάτων και όχι την διελεύκανση. Ακόμα, ο μικρός αριθμός δειγμάτων που χρησιμοποιείται στις μελέτες μπορεί να εξηγήσει την ετερογένεια μεταξύ των ευρημάτων. Η παρουσία στατιστικού λάθους κατά την ανάλυση είναι σχεδόν βέβαιη, οπότε δεν θα είναι δυνατή η ανίχνευση της, έστω και μικρής επίδρασης των γενετικών ποικιλομορφιών στην πολύπλοκη παθογένεια του συνδρόμου. Επιπλέον, υπάρχουν δυσκολίες στον προσδιορισμό του αρσενικού φαινοτύπου αν και αρκετά κλινικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά έχουν προταθεί, π.χ. αλωπεκία, αυξημένη τριχοφυΐα, αυξημένα επίπεδα DHEAS, αυξημένη αντίδραση σε GnRH ή ACTH, αντίσταση στην ινσουλίνη και ανοχή γλυκόζης.

Μελέτες σύνδεσης που συνεχίστηκαν σε μεγάλες οικογένειες για τουλάχιστον 3 γενεές, έχοντας περισσότερα από ένα προσβεβλημένα και μη άτομα, είναι αποτελεσματικές για την αναγνώριση πιθανών υποψηφίων γενετικών περιοχών. Καθώς η υπογονιμότητα είναι μία από τις πρωταρχικές εκδηλώσεις του συνδρόμου, αυτό αποτελεί το πιο σημαντικό παράγοντα που περιορίζει την διαθεσιμότητα των μεγάλων γενεαλογικών δένδρων και κατά συνέπεια την εξαγωγή συμπερασμάτων. Θα πρέπει να σημειωθεί ακόμα, ότι καθώς υπάρχει ασάφεια όσον αφορά τον τρόπο κληρονόμησης (αυτοσωμικά επικρατής, μονογονιδιακή, φυλοσύνδετη), είναι δύσκολο να εκτιμηθεί εάν ένα άτομο είναι προσβεβλημένο ή όχι. Επιπλέον, η σύγκριση μεταξύ 2 γενεαλογικών δένδρων μπορεί να φέρει εμπόδια λόγω του ότι το PCOS χαρακτηρίζεται από μεγάλη ετερογένεια αλληλομόρφων τόσο μεταξύ των διαφόρων οικογενειών, όσο και εντός αυτών. Τέλος, η ποικίλη διεισδυτικότητα και εκφραστικότητα των γονιδίων είναι δύο παράγοντες που καθιστούν δυσχερείς τις μεθόδους συσχέτισης και σύνδεσης.

Η επίδραση των περιβαλλοντικών παραγόντων στην ανάπτυξη του συνδρόμου έχει δημιουργήσει ένα νέο πεδίο έρευνας για τους επιστήμονες. Ένα σημαντικό σημείο είναι ότι η αντισταθμιστική προσαρμογή του γενετικού υλικού που συμβαίνει κατά την ενδομήτρια ζωή, πιθανόν να συνδέεται με το PCOS σε μεταγενέστερο σημείο κατά την διάρκεια της ζωής ενός ατόμου. Πρόσφατα αποδείχθηκε σε μελέτες ζώων, ότι η αντισταθμιστική προσαρμογή του μεταβολισμού των υδατανθράκων και του σήματος της ινσουλίνης που αποκτάται κατά την ενδομήτρια ζωή, εξακολουθεί να υπάρχει και μετά την γέννηση του ατόμου. Αυτό το γεγονός οφείλεται ενδεχομένως στη δράση των επιγενετικών παραγόντων, όπως για παράδειγμα η μεθυλίωση του DNA. Συνεπώς η διευκρίνιση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων αποτελεί κρίσιμο σημείο για την αποσαφήνιση του γενετικού υπόβαθρου της παθογένειας του συνδρόμου.

Παρά τους περιορισμούς και τα εμπόδια που αντιμετωπίζουν οι σύγχρονοι γενετικοί ερευνητές, νέες μέθοδοι και τεχνικές αναπτύσσονται συνεχώς. Δύο πρόσφατα επιτεύγματα της γενετικής, το genome-wide scan και το HarMap project μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εργαλεία για να αναγνωριστούν νέες γενετικές περιοχές που σχετίζονται με το PCOS και να περιοριστεί το εύρος των ήδη γνωστών. Η ταυτοποίηση των σχετιζόμενων γονιδίων και η κατανόηση της λειτουργίας τους θα αποσαφηνίσει την χαρακτηριστική μοριακή βάση του συνδρόμου. Η προοπτική της εξακρίβωσης όλων των γονιδίων και των πρωτεϊνών που σχετίζονται με το σύνδρομο, όπως επίσης η κατανόηση των αλληλεπιδράσεων με το περιβάλλον θα προσφέρει όχι μόνο νέα γνώση στην παθοφυσιολογία του PCOS αλλά και νέες προσεγγίσεις όσον αφορά την κλινική αντιμετώπιση των ασθενών.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Antoine HJ, Pall M, Trader BC, Chen YD, Azziz R, Goodarzi MO. Genetic variants in peroxisome proliferator-activated receptor gamma influence insulin resistance and testosterone levels in normal women, but not those with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2007; 87:862–869.

Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, Janssen OE, Legro RS, Norman RJ, Taylor AE, Witchel SF (Task Force on the phenotype of the Polycystic Ovary Syndrome of the Androgen Excess and PCOS Society) (2009) The Androgen Excess and PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report. *Fertil Steril* 91:456-488.

Baba T, Endo T, Sata F, Honma H, Kitajima Y, Hayashi T, Manase K, Kanaya M, Yamada H, Minakami H et al. Polycystic ovary syndrome is associated with genetic polymorphism in the insulin signaling gene IRS-1 but not ENPP1 in a Japanese population. *Life Sci* 2007; 81:850–854.

Babu KA, Rao KL, Kanakavalli MK, Suryanarayana VV, Deenadayal M, Singh L. CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 genetic polymorphism is associated with susceptibility to polycystic ovaries in South Indian women. *Reprod Biomed Online* 2004; 9:194–200.

Bagos PG. Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G and methylene-tetrahydrofolate reductase C677T polymorphisms in polycystic ovary syndrome. *Mol Hum Reprod* 2009 ; 15(1) :19-26.

Calvo RM, Telleria D, Sancho J, San Millan JL, Escobar-Morreale HF. Insulin gene variable number of tandem repeats regulatory polymorphism is not associated with hyperandrogenism in Spanish women. *Fertil Steril* 2002; 77:666–668.

Carey A.H., D. Waterworth, K. Patel, et al., “Polycystic ovaries and premature male pattern baldness are associated with one allele of the steroid metabolism gene CYP17”, *Human Molecular Genetics*, vol. 3, no. 10, pp. 1873-1876, 1994.

Castro F, Ruiz R, Montoro L, Perez-Hernandez D, Sanchez-Casas PE, Real LM, Ruiz A. Role of follicle-stimulating hormone receptor Ser680Asn polymorphism in the efficacy of follicle-stimulating hormone. *Fertil Steril* 2003; 80:571–576.

Castro F, Moron FJ, Montoro L, Galan JJ, Hernandez DP, Padilla ES, Ramirez-Lorca R, Real LM, Ruiz A. Human controlled ovarian hyperstimulation outcome is a polygenic trait. *Pharmacogenetics* 2004;14:285–293.

Chamberlain N.L., E. D. Driver, and R. L. Miesfeld, “The length and location of CAG trinucleotide repeats in the androgen receptor N terminal domain affect transactivation function,” *Nucleic Acids Research*, vol. 22, no. 15, pp. 3181–3186, 1994.

Charbonneau NL, Ono RN, Corson GM, Keene DR, Sakai LY (2004) Fine tuning of growth factor signals depends on fibrillin microfibril networks. *Birth Defects Res Part C Embryo Today* 72:37-50

Conway GS, Conway E, Walker C, Hoppner W, Gromoll J, Simoni M. Mutation screening and isoform prevalence of the follicle stimulating hormone receptor gene in women with premature ovarian failure, resistant ovary syndrome and polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1999; 51:97–99.

Cousin P, Calemard-Michel L, Lejeune H, et al. Influence of SHBG gene pentanucleotide TAAAA repeat and D327N polymorphism on serum sex hormone-binding globulin concentration in hirsute women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89: 917-924.

Crosignani P.G. and Nicolosi A.E. Polycystic ovarian disease: heritability and heterogeneity. *Hum Reprod* 2001; 7:3-7.

Deligeoroglou E., Kouskouti C. & Christopoulos P. The role of genes in the polycystic ovary syndrome: Predisposition and mechanisms. *Gyn. Endocrinology*, 2009; 25(9): 603–609.

Diamanti-Kandarakis E., M. I. Bartzis, E. D. Zapanti, et al., “Polymorphism T → C (-34 bp) of gene CYP17 promoter in Greek patients with polycystic ovary syndrome,” *Fertility and Sterility*, vol. 71, no. 3, pp. 431–435, 1999.

Diamanti-Kandarakis E, Palioniko G, Alexandraki K, Bergiele A, Koutsouba T, Bartzis M. The prevalence of 4G5G polymorphism of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene in polycystic ovarian syndrome and its association with plasma PAI-1 levels. *Eur J Endocrinol.* 2004; 150: 793-798.

Diamanti-Kandarakis E., Christina Piperi, Georgia Argyrakopoulou, Giovanna Spina et al. Polycystic Ovary Syndrome: The influence of environmental and genetic factors. *HORMONES* 2006, 5(1):17-34

Diana Jordan C., Sandra D. Bohling, Noe L. Charbonneau, Lynn Y. Sakai. FIBRILLINS IN POLYCYSTIC OVARY SYNDROME *JHC express*, June 28, 2010; [DOI: 10.1369/jhc.2010.956615].

Draper N, Powell BL, Franks S, Conway GS, Stewart PM, McCarthy MI. Variants implicated in cortisone reductase deficiency do not contribute to susceptibility to common forms of polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006;65:64–70.

Ehrmann DA, Schwarz PE, Hara M, Tang X, Horikawa Y, Imperial J, Bell GI, Cox NJ. Relationship of calpain-10 genotype to phenotypic features of polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002a; 87:1669–1673.

- Ehrmann DA, Tang X, Yoshiuchi I, Cox NJ, Bell GI. Relationship of insulin receptor substrate-1 and -2 genotypes to phenotypic features of polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002b; 87: 4297–4300.
- Escobar-Morreale H.F., F. Pazos, N. Potau, R. Garcia-Robles, J.M. Sancho, and C. Varela, “Ovarian suppression with triptorelin and adrenal stimulation with adrenocorticotropin in functional hyperandrogenism: role of adrenal and ovarian cytochrome P450c17 $\alpha$ ,” *Fertility and Sterility*, vol. 62, no. 3, pp. 521–530, 1994.
- Escobar-Morreale H.F., J. L. San Millan, R. R. Smith, J. Sancho, and S. F. Witchel, “The presence of the 21-hydroxylase deficiency carrier status in hirsute women: phenotype/genotype correlations,” *Fertility and Sterility*, vol. 72, no. 4, pp. 629–638, 1999.
- Escobar-Morreale HF, Peral B, Villuendas G, Calvo RM, Sancho J, San Millan JL. Common single nucleotide polymorphisms in intron 3 of the calpain-10 gene influence hirsutism. *Fertil Steril* 2002; 77:581–587.
- Ewens KG, Stewart DR, Ankener W, Urbanek M, McAllister JM, Chen C, Baig KM, Parker SC, Margulies EH, Legro RS, Dunaif A, Strauss JF 3rd, Spielman RS (2010) Family-based analysis of candidate genes for polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* Mar 3 (E-pub ahead of print, PMID: 20200332)
- Ferk P, Teran N, Gersak K. The (TAAAA)n microsatellite polymorphism in the SHBG gene influences serum SHBG levels in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2007; 22:1031–1036.
- Gaasenbeek M., B. L. Powell, U. Sovio, et al., “Large-scale analysis of the relationship between CYP11A promoter variation, polycystic ovarian syndrome, and serum testosterone,” *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 89, no. 5, pp. 2408–2413, 2004.
- Gharani N., D. M. Waterworth, S. Batty, et al., “Association of the steroid synthesis gene CYP11a with polycystic ovary syndrome and hyperandrogenism,” *Human Molecular Genetics*, vol. 6, no. 3, pp. 397–402, 1997.
- Glintborg D., A. P. Hermann, K. Brusgaard, J. Hangaard, C. Hagen, and M. Andersen, “Significantly higher adrenocorticotropic-stimulated cortisol and 17-hydroxyprogesterone levels in 337 consecutive, premenopausal, caucasian, hirsute patients compared with healthy controls,” *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 90, no. 3, pp. 1347–1353, 2005.
- Goldman S, Shalev E. MMPS and TIMPS in ovarian physiology and pathophysiology. *Front Biosci* 2004;9:2474–2483.
- Gonzalez A, Abril E, Roca A, Aragon MJ, Figueroa MJ, Velarde P, Ruiz R, Favez O, Galan JJ, Herreros JA et al. Specific CAPN10 gene haplotypes influence the clinical profile of polycystic ovary patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:5529–5536.
- Goodarzi MO, Nissar A. Shah, Heath J. Antoine, Marita Pall, Xiuqing Guo, and Ricardo Azziz. Variants in the 5 $\beta$ -Reductase Type 1 and Type 2 Genes Are Associated with Polycystic Ovary Syndrome and the Severity of Hirsutism in Affected Women. *J Clinical Endocrinology & Metabolism* 2006, 91(10):4085–4091.
- Goodarzi MO, Jones MR, Antoine HJ, Pall M, Chen YD, Azziz R. Nonreplication of the 5 $\beta$ -Hydroxysteroid Dehydrogenase gene association with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:300–303.
- Haap M, Machicao F, Stefan N, Thamer C, Tschrirter O, Schnuck F, Wallwiener D, Stumvoll M, Haring HU, Fritsche A. Genetic determinants of insulin action in polycystic ovary syndrome. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2005; 113:275–281.
- Hahn S, Fingerhut A, Khomtsiv U, Khomtsiv L, Tan S, Quadbeck B, Herrmann BL, Knebel B, Muller-Wieland D, Mann K et al. The peroxisome proliferator activated receptor gamma Pro12Ala polymorphism is associated with a lower hirsutism score and increased insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005; 62:573–579.
- Harada N., H. Ogawa, M. Shozu, and K. Yamada, “Genetic studies to characterize the origin of the mutation in placental aromatase deficiency,” *American Journal of Human Genetics*, vol. 51, no. 3, pp. 666–672, 1992.
- Hector F. Escobar-Morreale, Manuel Luque-Ramirez, and Jose L. San Millan. The Molecular Genetic Basis of Functional Hyperandrogenism and the Polycystic Ovary Syndrome. *Endocrine Reviews* 26(2):251–282; 2005 doi: 10.1210/er.2004-0004.
- Heinonen S, Korhonen S, Helisalmi S, Koivunen R, Tapanainen JS, Laakso M. The 121Q allele of the plasma cell membrane glycoprotein 1 gene predisposes to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2004; 82: 743–745.
- Heinonen S, Korhonen S, Helisalmi S, Koivunen R, Tapanainen J, Hippeläinen M, Laakso M. Associations between two single nucleotide polymorphisms in the adiponectin gene and polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2005; 21:165–169.
- Hickey T, Chandy A, Norman RJ. The androgen receptor CAG repeat polymorphism and X-chromosome inactivation in Australian Caucasian women with infertility related to polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:161–165.
24. Ferk P, Teran N, Gersak K. The (TAAAA)n microsatellite polymorphism in the SHBG gene influences serum SHBG levels in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod*, 2007; 22:1031–1036.
- Jaaskelainen J., S. Korhonen, R. Voutilainen, M. Hippeläinen, and S. Heinonen, “Androgen receptor gene CAG length polymorphism in women with polycystic ovary syndrome,” *Fertility and Sterility*, vol. 83, no. 6, pp. 1724–1728, 2005.
- Jakimiuk A.J., S. R. Weitsman, P. R. Brzechffa, and D. A. Magoffin, “Aromatase mRNA expression in individual follicles from polycystic ovaries,” *Molecular Human Reproduction*, vol. 4, no. 1, pp. 1–8, 1998.

- Jin J.L., Jing Sun, Hui-Juan Ge et al. Association between CYP19 gene SNP rs2414096 Polymorphism and polycystic ovary syndrome in Chinese women. *BMC Medical Genetics* 2009; 10:139.
- Jones MR, Wilson SG, Mullin BH, Mead R, Watts GF, Stuckey BG. Polymorphism of the follistatin gene in polycystic ovary syndrome. *Mol Hum Reprod* 2007; 13:237–241.
- Kahsar-Miller M, Boots LR, Azziz R. Dopamine D3 receptor polymorphism is not associated with the polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 1999; 71:436–438.
- Kaibe M, Takakuwa K, Murakawa H, Ishii K, Tamura M, Tanaka K. Studies on the human leukocyte antigens in patients with polycystic ovary syndrome in a Japanese population—possible susceptibility of HLA-A11 and -DRB1\*0403 to patient population with polycystic ovary syndrome. *Am J Reprod Immunol* 2006; 55:301–306.
- Karadeniz M, Erdogan M, Berdeli A, Saygili F, Yilmaz C. 4G/5G Polymorphism of PAI-1 gene and Alu-repeat I/D polymorphism of TPA gene in Turkish patients with polycystic ovary syndrome. *J Assist Reprod Genet* 2007; 24:412–418.
- Kehua Wang<sup>1</sup>, Leiguang Wang<sup>1</sup>, Yueran Zhao<sup>2</sup> et al. No association of the Arg51Gln and Leu72Met polymorphisms of the ghrelin gene and polycystic ovary syndrome. *Human Reproduction*. 2009; 24: 485–490.
- Kolbus A, Walch K, Nagele F, Wenzl R, Unfried G, Huber JC. Interleukin-1 alpha but not interleukin-1 beta gene polymorphism is associated with polycystic ovary syndrome. *J Reprod Immunol* 2007; 73:188–193.
- Kurabayashi T, Yahata T, Quan J, Tanaka K. Association of polymorphisms in the beta2 and beta3 adrenoceptor gene with polycystic ovary syndrome. *J Reprod Med* 2006; 51:389–393.
- Marszalek B, Lacinski M, Babych N, Capla E, Biernacka-Lukanty J, Warenik-Szymankiewicz A, Trzeciak WH. Investigations on the genetic polymorphism in the region of CYP17 gene encoding 50-UTR in patients with polycystic ovarian syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2001; 15:123–128.
- Mifsud A., S. Ramirez, and E. L. Yong, “Androgen receptor gene CAG trinucleotide repeats in anovulatory infertility and polycystic ovaries,” *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 85, no. 9, pp. 3484–3488, 2000.
- Mohlig M, Spranger J, Osterhoff M, Ristow M, Pfeiffer AF, Schill T, Schloesser HW, Brabant G, Schofl C. The polycystic ovary syndrome per se is not associated with increased chronic inflammation. *Eur J Endocrinol* 2004; 150:525–532.
- Oksanen L, Tiitinen A, Kaprio J, Koistinen HA, Karonen S, Kontula K. No evidence for mutations of the leptin or leptin receptor genes in women with polycystic ovary syndrome. *Mol Hum Reprod* 2000; 6:873–876.
- Orio F, Jr, Matarese G, Di BS, Palomba S, Labella D, Sanna V, Savastano S, Zullo F, Colao A, Lombardi G. Exon 6 and 2 peroxisome proliferator-activated receptor-gamma polymorphisms in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003a; 88:5887–5892.
- Panidis D, Kourtis A, Kukuviitis A, Farmakiotis D, Xita N, Georgiou I, Tsatsoulis A. Association of the T45G polymorphism in exon 2 of the adiponectin gene with polycystic ovary syndrome: role of Delta4-androstenedione. *Hum Reprod* 2004; 19:1728–1733.
- Pei Xu & Yena Che & Yunxia Cao & XiaoKe Wu & Haixiang Sun et al. Polymorphisms of TCF7L2 and HHEX genes in Chinese women with polycystic ovary syndrome. *J Assist Reprod Genet* 2010; 27:23–28.
- Peral B, San Millan JL, Castello R, Moghetti P, Escobar-Morreale HF. Comment: the methionine 196 arginine polymorphism in exon 6 of the TNF receptor 2 gene (TNFRSF1B) is associated with the polycystic ovary syndrome and hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:3977–3983.
- Perez-Bravo F, Echiburru B, Maliqueo M, Santos JL, Sir-Petermann T. Tryptophan 64 – arginine polymorphism of beta-3-adrenergic receptor in Chilean women with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005; 62:126–131.
- Petry C.J., K. K. Ong, K. F. Michelmores, et al., “Association of aromatase (CYP 19) gene variation with features of hyperandrogenism in two populations of young women,” *Human Reproduction*, vol. 20, no. 7, pp. 1837–1843, 2005.
- Powell BL, Haddad L, Bennett A, Gharani N, Sovio U, Groves CJ, Rush K, Goh MJ, Conway GS, Ruokonen A et al. Analysis of multiple data sets reveals no association between the insulin gene variable number tandem repeat element and polycystic ovary syndrome or related traits. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:2988–2993.
- Qin K. and R. L. Rosenfield, “Role of cytochrome P450c17 in polycystic ovary syndrome,” *Molecular and Cellular Endocrinology*, 147 vol. 145, no. 1-2, pp. 111–121, 1998.
- Qin K, Ehrmann DA, Cox N, Refetoff S, Rosenfield RL. Identification of a functional polymorphism of the human type 5 17-b Hydroxysteroid Dehydrogenase gene associated with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:270–276.
- Rajkhowa M, Talbot JA, Jones PW, Pettersson K, Haavisto AM, Huhtaniemi I, Clayton RN. Prevalence of an immunological LH beta-subunit variant in a UK population of healthy women and women with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1995; 43:297–303.

Ramanujam L.N., W. X. Liao, A. C. Roy, A. Loganath, H. H. Goh, and S. C. Ng. "Association of molecular variants of luteinizing hormone with menstrual disorders," *Clinical Endocrinology*, vol. 51, no. 2, pp. 243–246, 1999.

Ramirez F, Sakai LY, Charbonneau NL, Jordan CD, Keene DR, Lee-Arteaga S, Dietz HC, Rifkin DB, (2010) Microfibril structure masks fibrillin-2 in postnatal tissues. *J Biol Chem*. Apr 19. (Epub ahead of print, PMID: 20404337).

San Millan JL, Corton M, Villuendas G, Sancho J, Peral B, Escobar-Morreale HF. Association of the polycystic ovary syndrome with genomic variants related to insulin resistance, type 2 diabetes mellitus, and obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:2640–2646.

San Millan JL, Botella-Carretero JI, varez-Blasco F, Luque-Ramirez M, Sancho J, Moghetti P, Escobar-Morreale HF. A study of the hexose-6-phosphate dehydrogenase gene R453Q and 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 gene 83557insA polymorphisms in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:4157–4162.

Siegel S, Futterweit W, Davies TF, Concepcion ES, Greenberg DA, Villanueva R, Tomer Y. A C/T single nucleotide polymorphism at the tyrosine kinase domain of the insulin receptor gene is associated with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2002; 78:1240–1243.

Simoni M, C.B. Tempfer, B. Destenaves and B.C.J.M. Fauser. Functional genetic polymorphisms and female reproductive disorders: Part I: polycystic ovary syndrome and ovarian response. *Human Reproduction Update*, 2008; 14:459–484.

Srabani Mukherjee & Anurupa Maitra. Molecular & genetic factors contributing to insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *Indian J Med Res* 131, 2010, pp 743-760.

Stewart DR, Dombrowski A, Urbanek M, Ankener W, Ewens KG, Wood JR, Legro RS, Strauss JF 3rd, Dunaif A, Spielman RS (2006) Fine mapping of genetic susceptibility to polycystic ovary syndrome on chromosome 19p13.2 and test for regulatory activity. *J Clin Endocrinol Metab* 91:4112-4117

Sudo S, Kudo M, Wada S, Sato O, Hsueh AJ, Fujimoto S. Genetic and functional analyses of polymorphisms in the human FSH receptor gene. *Mol Hum Reprod* 2002; 8:893–899.

Suhail A.R. Doi, FRCP. Neuroendocrine Dysfunction in PCOS: a critique of recent reviews. *Clinical Medicine & Research* 2008; 6:47-53.

Takahashi K., K. Karino, H. Kanasaki, et al., "Influence of missense mutation and silent mutation of LHβ-subunit gene in Japanese patients with ovulatory disorders," *European Journal of Human Genetics*, vol. 11, no. 5, pp. 402–408, 2003.

Takayama K., T. Fukaya, H. Sasano, et al., "Immunohistochemical study of steroidogenesis and cell proliferation in polycystic ovarian syndrome," *Human Reproduction*, vol. 11, no. 7, pp. 1387–1392, 1996.

Tan L. and G. Zhu, "Relationship between the microsatellite polymorphism of CYP11α gene and the pathogenesis of hyperandrogenism of polycystic ovary syndrome in Chinese," *Chinese Journal of Medical Genetics*, vol. 22, no. 2, pp. 216–218, 2005.

Tok EC, Aktas A, Ertunc D, Erdal EM, Dilek S. Evaluation of glucose metabolism and reproductive hormones in polycystic ovary syndrome Polymorphisms and PCOS on the basis of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)- gamma2 Pro12Ala genotype. *Hum Reprod* 2005; 20:1590–1595.

Tong Y, Liao WX, Roy AC, Ng SC. Absence of mutations in the coding regions of follicle-stimulating hormone receptor gene in Singapore Chinese women with premature ovarian failure and polycystic ovary syndrome. *Horm Metab Res* 2001; 33:221–226.

Tugba Unsal & Ece Konac & Ediz Yesilkaya et al. Genetic polymorphisms of FSHR, CYP17, CYP11A1, CAPN10, INSR, SERPINE1 genes in adolescent girls with polycystic ovary syndrome. *J Assist Reprod Genet* 2009; 26:205–216.

Urbanek M., Wu X, Vickery KR, Kao LC, Christenson LK, Schneyer A, Legro RS, Driscoll DA, Strauss JF, III, Dunaif A et al. Allelic variants of the follistatin gene in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2000b; 85:4455–4461.

Urbanek M, Woodroffe A, Ewens KG, et al. Candidate gene region for polycystic ovary syndrome on chromosome 19p13.2. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005; 90: 6623-6629.

Urbanek M, Sam S, Legro, Dunaif M (2007) Identification of a polycystic ovary syndrome susceptibility variant in fibrillin-3 and association with a metabolic phenotype. *J Clin Endocrinol Metab* 92:4191-4198.

Ugur Unluturk, Ayla Harmanci, Cetin Kocafe and Bulent O. Yildiz. The Genetic Basis of the Polycystic Ovary Syndrome: A Literature Review Including Discussion of PPAR-γ. *Hindawi Publishing Corporation* 2007, Article ID 49109,

Vankova M, Vrbikova J, Hill M, Cinek O, Bendlova B. Association of insulin gene VNTR polymorphism with polycystic ovary syndrome. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 967:558–565.

Villuendas G, San Millan JL, Sancho J, Escobar-Morreale HF. The -597 G → and -174 G → C polymorphisms in the promoter of the IL-6 gene are associated with hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87: 1134-1141.



Villuendas G, Botella-Carretero JI, Roldan B, Sancho J, Escobar-Morreale HF, San Millan JL. Polymorphisms in the insulin receptor substrate-1 (IRS-1) gene and the insulin receptor substrate-2 (IRS-2) gene influence glucose homeostasis and body mass index in women with polycystic ovary syndrome and non-hyperandrogenic controls. *Hum Reprod* 2005; 20:3184–3191.

Walch K, Grimm C, Zeillinger R, Huber JC, Nagele F, Hefler LA. A common interleukin-6 gene promoter polymorphism influences the clinical characteristics of women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2004; 81:1638–1641.

Walch K, Grimm C, Huber JC, Nagele F, Kolbus A, Hefler LA. A polymorphism of the plasminogen activator inhibitor-1 gene promoter and the polycystic ovary syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005a; 123:77–81.

Walch K, Nagele F, Zeillinger R, Vytiska-Binstorfer E, Huber JC, Hefler LA. A polymorphism in the matrix metalloproteinase-1 gene promoter is associated with the presence of polycystic ovary syndrome in Caucasian women. *Fertil Steril* 2005b; 83:1565–1567.

Wickenheisser J.K., V. L. Nelson-Degrave, P. G. Quinn, and J. M. McAllister, “Increased cytochrome P450 17 $\alpha$ -hydroxylase promoter function in theca cells isolated from patients with polycystic ovary syndrome involves nuclear factor-1,” *Molecular Endocrinology*, vol. 18, no. 3, pp. 588–605, 2004.

Witchel S. F., P. A. Lee, M. Suda-Hartman, and E. P. Hoffman, “Hyperandrogenism and manifesting heterozygotes for 21-hydroxylase deficiency,” *Biochemical and Molecular Medicine*, vol. 62, no. 2, pp. 151–158, 1997.

Witchel S.F., P. A. Lee, M. Suda-Hartman, R. Smith, and E. P. Hoffman, “17 $\alpha$ -hydroxylase/17,20-lyase dysregulation is not caused by mutations in the coding regions of CYP17,” *Journal of Pediatric and Adolescent Gynecology*, vol. 11, no. 3, pp. 133–137, 1998.

Witchel S.F. and Aston C.E., “The role of heterozygosity for CYP21 in the polycystic ovary syndrome,” *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, vol. 13, supplement 5, pp. 1315–1317, 2000.

Witchel S.F., M. Kahsar-Miller, C. E. Aston, C. White, and R. Azziz, “Prevalence of CYP21 mutations and IRS1 variant among women with polycystic ovary syndrome and adrenal androgen excess,” *Fertility and Sterility*, vol. 83, no. 2, pp. 371–375, 2005.

Xita N., A. Tsatsoulis, A. Chatzikyriakidou, and I. Georgiou, “Association of the (TAAAA)<sub>n</sub> repeat polymorphism in the sex hormone-binding globulin (SHBG) gene with polycystic ovary syndrome and relation to SHBG serum levels,” *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 88, no. 12, pp. 5976–5980, 2003.

Xita N, Georgiou I, Tsatsoulis A, Kourtis A, Kukuvitis A, Panidis D. A polymorphism in the resistin gene promoter is associated with body mass index in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2004; 82:1466–1467.

Xita N, Georgiou I, Chatzikyriakidou A, Vounatsou M, Papassotiriou GP, Papassotiriou I, Tsatsoulis A. Effect of adiponectin gene polymorphisms on circulating adiponectin and insulin resistance indexes in women with polycystic ovary syndrome. *Clin Chem* 2005; 51:416–423.

Yuping Xu<sup>1</sup>, Zhaolian Wei, Zhiguo Zhang et al. No association of the insulin gene VNTR polymorphism with polycystic ovary syndrome in a Han Chinese population. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2009; 7: 141

Zhang L., H. Rodriguez, S. Ohno, and W. L. Miller, “Serine phosphorylation of human P450c17 increases 17,20-lyase activity: implications for adrenarche and the polycystic ovary syndrome,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 92, no. 23, pp. 10619–10623, 1995.

Zulian E, Sartorato P, Schiavi F, Moghetti P, Castello R, Mantero F, Opocher G, Scaroni C. The M235T polymorphism of the angiotensinogen gene in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2005 ;84: 1520–1521.

The Rotterdam ESHRE/ASRM – Sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Fertil Steril* 2004; 81:19–25.