

**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**

**«Ο ρόλος των ανδρογόνων κατά την εμβρυϊκή ζωή στην  
εκδήλωση του συνδρόμου πολυκυστικών ωοθηκών»**

**ΣΤΥΛΙΑΝΗ ΣΑΡΡΟΥ  
ΙΑΤΡΟΣ**

**ΛΑΡΙΣΑ  
Σεπτέμβριος 2011**

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

«Ο ρόλος των ανδρογόνων κατά την εμβρυϊκή ζωή στην  
εκδήλωση του συνδρόμου πολυκυστικών ωοθηκών»

ΣΤΥΛΙΑΝΗ ΣΑΡΡΟΥ  
ΙΑΤΡΟΣ

ΛΑΡΙΣΑ  
Σεπτέμβριος 2011

- 2 -

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΣ ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ  
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ Ε. ΜΕΣΣΗΝΗΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Επιβλέπων: *Ιωάννης Ε. Μεσσήνης*

Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Συμβουλευτική Επιτροπή :

*Νικόλαος Βαμβακόπουλος*

Καθηγητής Βιολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

*Κωνσταντίνος Νταφόπουλος*

Επίκουρος Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

## Περιεχόμενα

ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....	- 5 -
Παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί του PCOS.....	- 8 -
Εξωοθηκικοί παράγοντες .....	- 8 -
Διαταραχές γοναδοτροφινών στο PCOS.....	- 8 -
Ο ρόλος των ανδρογόνων στο PCOS.....	- 10 -
Η Ινσουλίνη στο PCOS.....	- 12 -
Ενδοωθηκικοί παράγοντες.....	- 15 -
Η επίδραση των ανδρογόνων κατά την εμβρυϊκή ζωή στην εμφάνιση του συνδρόμου πολυκυστικών ωοθηκών.....	- 18 -
Προέλευση ανδρογόνων κατά την εμβρυϊκή ζωή.....	- 19 -
Πειραματικά στοιχεία μελετών για την επίδραση των ανδρογόνων κατά την εμβρυϊκή ζωή .....	- 22 -
Υπερανδρογοναιμία .....	- 22 -
Ανώμαλη ωοθυλακική ανάπτυξη .....	- 23 -
Υπερέκκριση LH.....	- 24 -
Αναπτυξιακή ικανότητα ωοθυλακίου .....	- 25 -
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ / ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	- 28 -
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	- 30 -
SUMMARY .....	- 32 -
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	- 33 -

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το αναπτυσσόμενο έμβρυο είναι ευάλωτο σε αλλαγές στο ορμονικό και θρεπτικό περιβάλλον του. Αλλαγές, οι οποίες μπορούν να εκκινήσουν διεργασίες οι οποίες θα θέσουν την προδιάθεση διαφόρων παθοφυσιολογικών διαταραχών που θα εμφανιστούν κατά την ενήλικη ζωή (Barker,2004). Το χαμηλό βάρος γέννησης, το οποίο αντανακλά διακυμάνσεις της θρέψης που μπορεί να συνέβησαν κατά την ενδομήτριο ζωή, σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης μεταβολικών διαταραχών στην ενήλικη ζωή όπως κεντρική παχυσαρκία, αντίσταση στην ινσουλίνη, σακχαρώδη διαβήτη τύπου II και υπέρταση (Barker,1998).

Φαίνεται, λοιπόν, ότι ο φαινότυπος του ενήλικου ανθρώπου εξαρτάται από τα ερεθίσματα που δέχθηκε στην ενδομήτριο ζωή. Στην περίπτωση της έκθεσης σε περίσσεια ανδρογόνων των θηλυκών εμβρύων κατά την ενδομήτριο ζωή, μπορεί να υπάρχει το επακόλουθο της εμφάνισης του συνδρόμου πολυκυστικών ωοθηκών (Polycystic ovary syndrome, PCOS) (Xita and Tsatsoulis, 2006).

Το PCOS είναι γνωστό από το 1935, όταν περιγράφηκε από τους Stein και Leventhal (Stein I. Leventhal,1935). Από τότε μέχρι σήμερα αποτελεί θέμα μελέτης λόγω της συμπλεγματικής μορφής του αλλά και της συχνότητάς του. Επηρεάζει το 6% ως 8% του γυναικείου πληθυσμού παγκοσμίως (Knochenkauere,1998, Diamanti-Kandarakis E 1999, Michelmores Kf 1999, Asuncion M 2000, Azziz R. 2004). Το 1990 στο Α' Διεθνές Συνέδριο για το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών το σύνδρομο ορίστηκε να περιλαμβάνει τα εξής κριτήρια: i) υπερανδρογονισμό ή υπεραδροναιμία, ii) διαταραχές εμμήνου ρύσεως και iii) αποκλεισμό άλλων γνωστών διαταραχών (Zawadski I, 1992) / (NIH [National Institute of Health] 1990 criteria). Αργότερα το 2003 στη διάσκεψη των ESRHE & ASRM (European Society for Human Reproduction and Embryology / American Society for Reproductive Medicine) για το PCOS προτάθηκε για τη διάγνωση του συνδρόμου να αρκεί η ύπαρξη δύο εκ των τριών παρακάτω χαρακτηριστικών: i) ολιγο- ή ανωοθυλακιόρρηξη ii) κλινικά ή/και βιοχημικά σημεία υπερανδρογοναιμίας και iii) πολυκυστική μορφή

ωοθηκών εξαιρουμένων άλλων ενδροκρinoπαθειών (ESHRE/ASRM,2004, The Rotterdam ESHRE/ASRM-sponsored PCOS consensus workshorgroup,2004).

Το 2006 η Androgen Excess-PCOS Society πρότεινε το σύνδρομο να ορίζεται από υπερανδρογοναιμία κλινική ή/και βιοχημική, σε συνδυασμό με oligo- ή ανω-θυλακιορρηξία και/είτε με πολυκυστική μορφή ωοθηκών, με εξαίρεση σχετιζόμενων διαταραχών (Azziz R., 2006).

Υπάρχει μεγάλη ποικιλομορφία στα συμπτώματα με τα οποία εμφανίζεται το PCOS, οπότε αναγνωρίζονται διαφορετικοί φαινότυποι του συνδρόμου (Azziz R.,2009). Ο ορισμός, παρ' όλα αυτά, πρέπει να καλύψει όλο το φάσμα των σημείων και των συμπτωμάτων, ώστε η διάγνωση να είναι ακριβής.

Η υπερανδρογοναιμία βιοχημική ή κλινική προερχόμενη από τις ωοθήκες ή/και τα επινεφρίδια παρατηρείται στην πλειοψηφία των γυναικών με PCOS. (Azziz R, 2004). Αιτία της υπερανδρογοναιμίας είναι η απορρύθμιση της στεροειδογένεσης (Rosenfield R,1990). Η σημαντικότερη κλινική εκδήλωση της υπερανδρογοναιμίας είναι ο δασυτριχισμός ή αυξημένη τριχοφυΐα (Diamanti – Kandarakis et al.,1992) ,η οποία αξιολογείται βάσει κλίμακας (Yildiz B et al.,2010 ; Ferriman D,1961). Επίσης η παρουσία ακμής (Slayden et al., 2001 ; Thiboutot D,2001) αλλά και η παρουσία ανδρικού τύπου αλωπεκίας (Futterweitetal, 1988), θεωρούνται περισσότερο ή λιγότερο σημαντικοί δείκτες υπερανδρογοναιμίας.

Η βιοχημική υπερανδρογοναιμία ορίζεται από τη μέτρηση των επιπέδων των ανδρογόνων στην κυκλοφορία. Οι μετρήσεις της ελεύθερης τεστοστερόνης (FT), του δείκτη ελεύθερων ανδρογόνων (FAI) σε συνδυασμό με την δεσμευτική σφαιρίνη των φυλετικών ορμονών (Sex Hormone Binding Globulin, SHBG) είναι οι συχνότερα χρησιμοποιούμενες βιοχημικές εξετάσεις (Azziz,2009 ; Diamanti-Kandarakis E,2007 ; Pugeat M,1999 ; Choetal,2008). Η ανδροστενδιόνη (A4) δεν χρησιμοποιείται ευρέως, αλλά έχει πιθανή χρησιμότητα (Knochenhauer E, 1998). Η δεϋδροεπιανδροστερόνη (DHEA) καθώς και η θειική δεϋδροεπιανδροστερόνη (DHEAS) αξιολογούνται κυρίως για την παραγωγή ανδρογόνων από τα επινεφρίδια (Lobo R,1981 ; Abrahavi GE,1974). Εν τέλει, ο μόνος δείκτης με ικανή προβλεψιμότητα (60%) είναι η FT, η επιπρόσθετη μέτρηση του DHEAS αυξάνει κατά 13,7% το ποσοστό των ασθενών που ανιχνεύεται η υπερανδρογοναιμία τους. (Houg et al.,2010)

Διαταραχές της ωθηκικής λειτουργίας είναι εμφανείς στο 70-80% των ασθενών με PCOS (Azziz et al.,2006). Διαταραχές εμμήνου ρύσεως ή και αμηνόρροια συναντάται στο 75-85% των γυναικών (Azziz et al,2009). Ολιγοανωθυλακιόρρηξη παρατηρείται εκτός από γυναίκες με διαταραχές εμμήνου ρύσεως και σε εκείνες με φυσιολογικό κύκλο (Chaug et al,2005).

Η πολυκυστική μορφολογία των ωθηκών εκτιμάται από το μέγεθος της ωθήκης, τον όγκο της, τον όγκο του στρώματος καθώς και από το μέγεθος και τον αριθμό των ωθυλακίων. Με υπερηχογραφικό έλεγχο μετρώνται τα παραπάνω χαρακτηριστικά, ώστε να συμβάλουν στη διάγνωση του συνδρόμου (van Santbrick et al,1997 ; Carmino et al,2005).

Παρά την ύπαρξη των κριτηρίων, υπάρχουν διαταραχές που μπορεί να εμφανίζονται με παρόμοια συμπτώματα. Οι καταστάσεις που σχετίζονται με υπερανδρογοναιμία και πρέπει να αποκλείονται κατά τη διάγνωση του PCOS είναι η συγγενής υπερπλασία των επινεφριδίων, όγκοι που εκκρίνουν ανδρογόνα, σύνδρομο Cushing, θυροειδική δυσλειτουργία, υπερπρολακτιναιμία, σοβαρή αντίσταση στην ινσουλίνη (HAIR-AN syndrome) έλλειψη 21-υδροξύλασης με κλασική υπερπλασία επινεφριδίων, ιδιοπαθής υπερτρίχωση (Azziz et al,2009).

# Παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί του PCOS

## Εξωοθηκικοί παράγοντες

### Διαταραχές γοναδοτροφινών στο PCOS

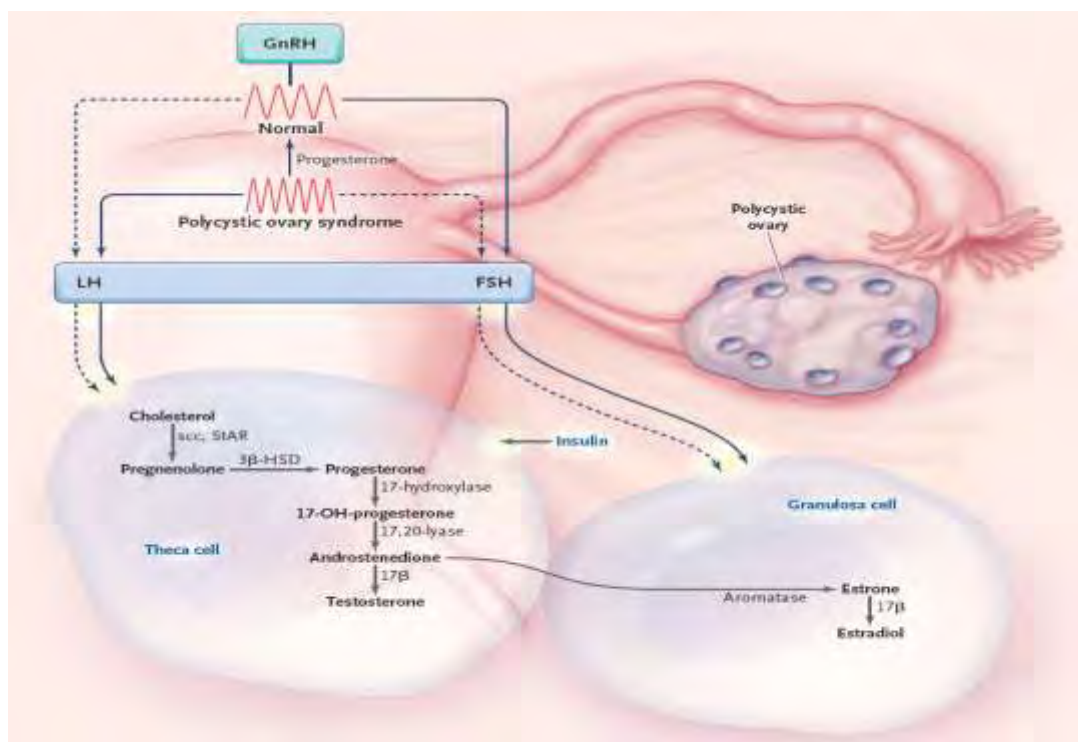
Η κύρια διαταραχή των γοναδοτροφινών αφορά την έκκριση της LH. Η υπερέκκριση της LH ανεβάζει τα ανοσοδραστικά και βιοδραστικά επίπεδα της LH στο 70% των γυναικών με PCOS (Lobo, 1991) και ανεβάζει τη συχνότητα και το πλάτος του παλμού της LH το οποίο αυξάνει 2 ως 3 φορές τα επίπεδα της LH έναντι της FSH (Waldstreicher et al, 1988; McCartney et al, 2002; Blank et al, 2006). Η έκκριση με αυτό τον τρόπο της LH αντανακλά την υποθαλαμική δράση της GnRH η οποία έχει αντίστοιχα αυξημένη παλμική έκκριση.

Η ανώμαλη έκκριση των γοναδοτροφινών στο PCOS είναι συνέπεια της αυξημένης υποθαλαμικής δράσης της GnRH (Hall et al., 1998). Έχει προταθεί ότι η αύξηση των επιπέδων της LH στο PCOS εμφανίζεται ως αποτέλεσμα του θετικού μηχανισμού ανάδρασης της χρόνιας έκκρισης οιστρογόνων που επιδρά στην ευαισθησία των γοναδοτροφινών στη GnRH ή έμμεσα αυξάνοντας τη συχνότητα παλμού της GnRH (Rebar et al, 1976). Πρόσφατες μελέτες προτείνουν ότι η περίσσεια παραγωγή ανδρογόνων έχει επίδραση στη συχνότητα της παλμικής έκκρισης της LH. Έχει δειχθεί ότι η χορήγηση προγεστερόνης και οιστρογόνων σε γυναίκες με PCOS απέτυχε να επιβραδύνει τη συχνότητα της LH, ενώ σε φυσιολογικές γυναίκες αυτό επιτεύχθηκε (Pastor et al., 1998). Άλλες μελέτες σε γυναίκες με ανδρογονικό αποκλεισμό έδειξαν ότι η χορήγηση οιστρογόνων και προγεστερόνης βελτίωσε τη συχνότητα έκκρισης της LH (Eagleson et al., 2000). Από τα παραπάνω συμπεραίνεται ότι τα κυκλοφορούντα ανδρογόνα περιορίζουν τη δράση του αρνητικού μηχανισμού ανατροφοδότησης των οιστρογόνων και της προγεστερόνης στην παλμική απελευθέρωση της LH. Δεν εμφανίζουν όλες οι γυναίκες με PCOS τον παραπάνω μηχανισμό, γεγονός το οποίο μπορεί να συμβαίνει λόγω της παρουσίας ενός



γενετικού συμπαράγοντα ή να εξαρτάται από τη διάρκεια της επίδρασης των ανδρογόνων. (Chhabra et al, 2005).

Αυξημένη συχνότητα έκκρισης της υποθαλαμικής GnRH προκαλεί μεταγραφή της β-υπομονάδας της LH σε σύγκριση με τη β-υπομονάδα της FSH. Και αντίθετα μείωση του παλμού έκκρισης της GnRH προκαλεί μεταγραφή της β-υπομονάδας της FSH το οποίο ελαττώνει την αναλογία LH προς FSH (Haisenleder et al.,1991). Ο λόγος LH προς FSH είναι διαταραγμένος κυρίως σε λεπτές γυναίκες με PCOS, αφού η παχυσαρκία μειώνει το πλάτος παλμού της LH και αλλάζει τη φαρμακοκινητική δομή της (Srouji et al,2007), η οποία συμβάλλει στη μείωση των επιπέδων της LH σε άτομα με αυξημένο ποσοστό λιπώδους ιστού.



Εικόνα 1: ο άξονας υποθάλαμος-υπόφυση-ωθήκες και ο ρόλος της ινσουλίνης (Ehrmann, 2005)

Στο PCOS, η επίδραση της LH στα κοκκώδη κύτταρα έχει ενοχοποιηθεί για τη στασιμότητα της ωοθυλακικής ωρίμανσης. Επίσης, η αύξηση των ανδρογόνων στην ωοθήκη που προκαλείται από την αυξημένη LH συμβάλλει στην κατεύθυνση αυτή (Zeleznik Little-Ihrig and Ramasawamy,2004 ; Loumaye

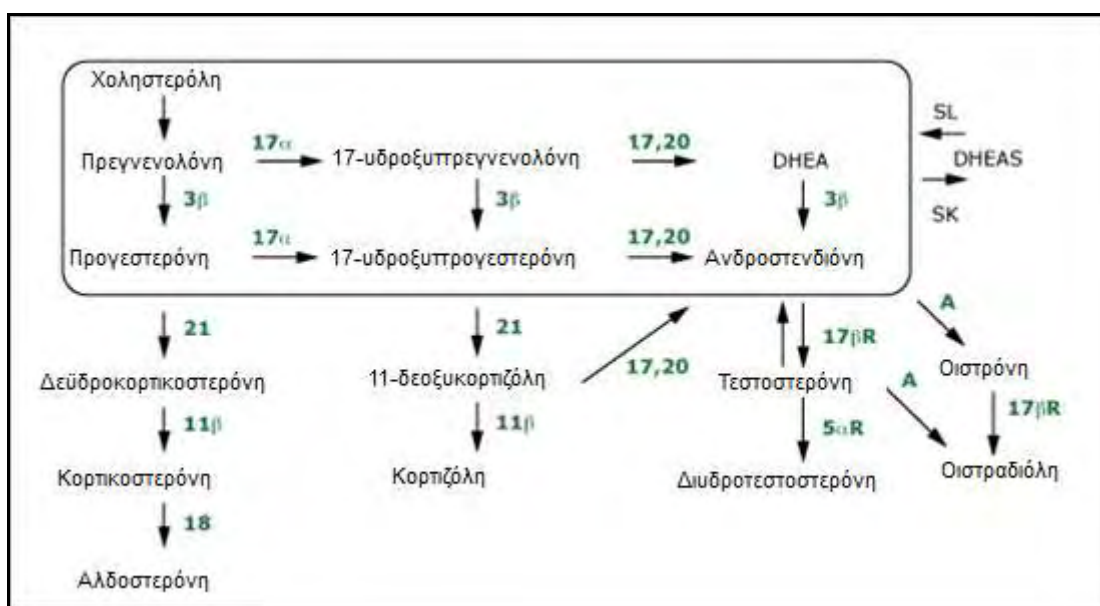
et al.,2003). Επιπλέον, η απουσία της μεσοκυκλικής αιχμής της FSH αλλά και η ανθεκτικότητα των κοκκωδών κυττάρων στη δράση της FSH έχουν συνδεθεί με την ανωθυλακιορρηξία στο PCOS (Jonard and Dewailly,2004). Αυξημένα επίπεδα της FSH έχουν δείξει να είναι ανεπαρκή για την απελευθέρωση οιστραδιόλης από τα κοκκώδη κύτταρα στο PCOS. Έχει προταθεί η αρχική απελευθέρωση οιστραδιόλης να αντικατοπτρίζει τον αυξανόμενο αριθμό των ανταποκρινόμενων ωοθυλακίων, ενώ η προσωρινή απάντησή τους δείχνει πρόσθετες ελλείψεις του μικροπεριβάλλοντος των πολυκυστικών ωοθηκών (Coffler et al.,2003).

## Ο ρόλος των ανδρογόνων στο PCOS

Η περίσσεια ανδρογόνων θεωρείται από πολλούς ερευνητές να είναι το κύριο αίτιο του PCOS, μόνο το 80 με 85% των γυναικών με κλινικό υπερανδρογονισμό έχουν PCOS (Azziz et al 2004, 2009). Αν και η υπερηχογραφική ανίχνευση των πολυκυστικών ωοθηκών δεν είναι απόλυτο ότι προβλέπει το σύνδρομο, γιατί πολυκυστικές ωοθήκες υπάρχουν στο 20 με 30% όλων των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας (Clayton et al, 1992; Hassan and Killick,2003; Wong et al, 1995). Μία άλλη μέθοδος για την εξέταση της περίσσειας ανδρογόνων σε έναν γυναικείο οργανισμό αποτελεί η μέτρηση των ανδρογόνων του ορού, αν και η ανίχνευση της υπερανδρογοναιμίας εξαρτάται από τον τύπο των ανδρογόνων και τις φυσιολογικές τιμές του πληθυσμού που ελέγχεται (Rosner et al, 2007). Δεδομένα δείχνουν ότι η ολική και ελεύθερη τεστοστερόνη και η DHEAS είναι αυξημένες στο 50 με 75% των γυναικών με το σύνδρομο (Huang et al,2010).

Η αυξημένη παραγωγή ανδρογόνων βάσει γενετικών και μοριακών μελετών θεωρείται εγγενής διαταραχή της στεροειδογένεσης στο PCOS (Legro et al., 1998 ; Nelson et al.,1999). Μελέτες in vitro προτείνουν ότι η στεροειδογενετική διαταραχή των κυττάρων της θήκης προέρχεται από την αυξημένη δραστηριότητα της 17 α-υδροξυλάσης/ 17,20 λυάσης (CYP17a1), της 3-β-

υδροξυστεροειδικής δεϋδρογενάσης τύπου II (HSD3B2) και του ένζυμου διάσπασης πλευρικής αλύσου [side-chain cleavage enzyme] (CYP11A1) (Wood et al., 2004). Αυτά τα τρία ένζυμα δρουν σε διάφορα στάδια της παραγωγής των ανδρογόνων. Το τρίτο κατά σειρά ένζυμο, το CYP11A, δρα στο πρώτο βήμα της βιοσύνθεσης των στεροειδών· μετατρέπει την χοληστερόλη σε πρεγνενολόνη. Το πρώτο ένζυμο, το CYP17a1, έχει διπλή λειτουργία, έχει δράση υδροξυλάσης καταλύοντας την υδροξυλίωση της πρεγνονολόνης αλλά και της προγεστερόνης. Και η δράση της 17,20 λυάσης αφορά τη σχάση του C17-C20 δεσμού της 17α-υδροξυπρεγνενολόνης και της 17α-υδροξυπρογεστερόνης για να παραχθεί DHEA και ανδροστενδιόνη, αντίστοιχα. Το ένζυμο HSD3B2 μετατρέπει τα Δ5-στεροειδή (πρεγνονολόνη, 17α-υδροξυπρεγνενολόνη, DHEA) στα Δ4 παράγωγά τους.



Εικόνα 2: Βιοσύνθεση στεροειδών ορμονών (προσαρμοσμένο από <http://www.uptodate.com>)

(17α: 17α-υδροξυλάση (CYP17, P450c17); 17,20: 17,20 λυάση ; 3β: 3β-υδροξυστεροειδική δεϋδρογενάση ; 21: 21-υδροξυλάση (CYP21A2, P450c21); 11β: 11β- υδροξυλάση; (CYP11B1, P450c11); 17βR: 17β- ρεντουκτάση; 5αR: 5α- ρεντουκτάση; DHEA: δεϋδροεπιανδροστερόνη; DHEAS: θεική δεϋδροεπιανδροστερόνη; A: αρωματάση (CYP19)

Τα αυξημένα ενδοωθηκικά ανδρογόνα συνδέονται με την ανωθυλακιοωορηξία εν μέρει από το στάδιο ανάπτυξης των μικρών ωοθυλακίων και εν μέρει από την παρεμπόδιση της ωρίμανσης στο στάδιο του

κυριαρχούντος ωοθυλακίου (Maciel et al.,2004). Τα ανδρογόνα φαίνεται να επιδρούν στα κοκκώδη κύτταρα ανάλογα με το αναπτυξιακό στάδιο του ωοθυλακίου. Επιδρά σε αυτά στην αρχική, ανεξάρτητη της FSH, φάση συμβάλλοντας με άλλους αυξητικούς παράγοντες στην αρχική ανάπτυξη του ωοθυλακίου (Vendola et al.,1999). Κατά τη διάρκεια που η ωρίμανση του ωοθυλακίου εξαρτάται από την FSH τα ανδρογόνα προωθούν την έκφραση των υποδοχέων της FSH και ενισχύουν τη διαφοροποίηση των κοκκωδών κυττάρων (Luo and Wiltbank,2006 ; Weil,1999). Στα τελευταία στάδια ωοθυλακικής ωρίμανσης τα ανδρογόνα φαίνεται να εμποδίζουν την ωρίμανση του ωοθυλακίου, ενώ την οδηγούν σε προηγούμενα στάδια της ανάπτυξής του. Επιπλέον, η περίσσεια των ανδρογόνων εμποδίζει τη σύνθεση οιστρογόνων και προγεστερόνης στο ωοθυλάκιο των πολυκυστικών ωοθηκών (Foong,2006 ; Greisen, Ledet and Ovesen,2001).

## Η Ινσουλίνη στο PCOS

Η ανακάλυψη της σύνδεσης του PCOS με την αντίσταση στην ινσουλίνη έγινε από τον Kohn και τους συνεργάτες του (Kohn et al, 1976) καθώς και τον Burghen (Burghen et al, 1980).

Η Ινσουλίνη αποτελεί παράγοντα που τα αποτελέσματα των μετρήσεων του διαφοροποιούνται μεταξύ των γυναικών με PCOS. Πολλές γυναίκες με PCOS έχουν αντίσταση στην ινσουλίνη παρά τον δείκτη μάζας σώματός τους (BMI), η αύξηση του οποίου προδιαθέτει για εμφάνιση αντίστασης στην ινσουλίνη, και συγκεκριμένα 50 με 70% από αυτές τις γυναίκες εμφανίζουν αντίσταση στην ινσουλίνη βάσει διαφόρων μετρήσεων (DeUgarte et al,2005). Η αντίσταση στην ινσουλίνη προκαλεί αντισταθμιστική υπερινσουλιναίμια η οποία εξηγεί πολλά χαρακτηριστικά του συνδρόμου. Η ανίχνευσή της είναι αποτελεσματικότερη όταν γίνεται με δοκιμασίες από του στόματος ή ενδοφλέβιας έγχυσης γλυκόζης παρά με τη μέτρηση βασικών τιμών σακχάρου νηστείας μόνο (Legro et al, 1999). Ενώ λοιπόν οι περισσότερες γυναίκες με PCOS έχουν φυσιολογική ή υπερβολική

αντιδραστική έκκριση ινσουλίνης, πολλές, ειδικά με ιστορικό Σακχαρώδους Διαβήτη τύπου 2, φαίνεται να έχουν διαταραγμένη λειτουργία των β-κυττάρων του παγκρέατος (Ehrmann et al, 1995; 2005).

Μελέτες *in vitro* υποστηρίζουν το σημαντικό ρόλο της ινσουλίνης στην παραγωγή των ανδρογόνων από τα κύτταρα της θήκης. Η ινσουλίνη διεγείρει την ωοθήκη μέσω της έκφρασης του P450c17 (CYP17A1) mRNA και της ενζυμικής δράσης της στους υποδοχείς της στα κύτταρα της θήκης. Αυτή η δράση της ινσουλίνης πραγματοποιείται μέσω των μονοπατιών της 3-φωσφοϊνοσιπιδικής κινάσης και της πρωτεϊνικής κινάσης B που είναι ενεργά μόρια στα κύτταρα της θήκης (Munir et al.,2004). Τα αυξημένα επίπεδα ινσουλίνης φαίνεται να επιδρούν στη σύνθεση των ανδρογόνων (Baillargeon and Carpentier, 2007). Η μεσολάβηση της ινσοιτογλυκάνης μπορεί να επιτείνει τη δράση της ινσουλίνης στην παραγωγή των ανδρογόνων από τα κύτταρα της θήκης (Nestler et al.,1998).

Η υπερινσουλιαιμία θεωρείται δευτερεύουσα αιτία της διαταραχής ωρίμανσης του ωοθυλακίου και της ανωθυλακιορρηξίας (Jonard and Dewailly, 2004). Ειδικότερα, αυξημένα επίπεδα ινσουλίνης μπορεί να συνδέονται με πρώιμη ωχρινοποίηση λόγω της ενισχυμένης έκφρασης των υποδοχέων της LH στα κοκκώδη κύτταρα (Tao and Yan, 2005). Η χρήση διαφορετικών ισομορφών του υποδοχέα της ινσουλίνης και διαφορετικών μονοπατιών σηματοδότησης από την ινσουλίνη θα μπορούσε να επιτρέψει στην ωοθήκη να παραμένει ευαίσθητη στην ινσουλίνη παρά την αντίσταση στην ινσουλίνη στην περιφέρεια. Η υπεροχή των υποδοχέων A της ινσουλίνης στα κοκκώδη κύτταρα προσφέρει ένα μηχανισμό με τον οποίο η ινσουλίνη μπορεί να ρυθμίσει την ανταπόκριση των κοκκωδών κυττάρων στις γοναδοτροφίνες ανεξάρτητα από τις μεταβολικές επιδράσεις οι οποίες συμβαίνουν μέσω του υποδοχέα B της ινσουλίνης σε άλλους ιστούς (Rhy et al.,2004). Συνολικά, η ενδοωθηλακική αύξηση της ινσουλίνης φαίνεται να ρυθμίζει τα μεταβολικά και στεροειδογενετικά μονοπάτια στα κοκκώδη κύτταρα στο PCOS.

Η ινσουλίνη σε γυναίκες με PCOS αλλά με φυσιολογικά επίπεδα LH φαίνεται να είναι παράγοντας που συμβάλλει στην υπερβολική παραγωγή ανδρογόνων. Έχει αποδειχθεί η δράση της στα κύτταρα της θήκης στη διαδικασία παραγωγής

αυξημένων ποσών ανδρογόνων (Nestler et al., 1998). Συγκεκριμένα, το αντίσωμα στην ινσοιτογλυκάνη, ένα μεταγενέστερο μεσολαβητή στη σηματοδότηση της ινσουλίνης εμποδίζει την παραγωγή ανδρογόνων από τη μεσολάβηση της ινσουλίνης, ενώ η παραγωγή ανδρογόνων εκκλυόμενη από ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη ήταν αμετάβλητη. Η βελτίωση της υπερινσουλιαιμίας σε γυναίκες με PCOS που βρίσκονται υπό φαρμακευτική θεραπεία σχετίζεται με σημαντική μείωση των επιπέδων ανδρογόνων του ορού χωρίς συνοδό αλλαγή στα επίπεδα της LH· αυτή η παρατήρηση έμμεσα προτείνει το ρόλο της ινσουλίνης στη σύνθεση των ανδρογόνων υπό την πρόκληση της LH.

Στοιχεία αποδεικνύουν ότι τα ανδρογόνα μπορούν να προκαλέσουν υπερινσουλιαιμία (Beloosesky et al., 2004; Abbott et al., 2005; Manneras et al., 2007; Perello et al., 2007), καθώς και η επιρροή αυτής, της υπερινσουλιαιμίας, μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή περίσσειας ανδρογόνων. Τα παραπάνω βασίζουν την υπόθεση ότι η υπερινσουλιαιμία από την ενδομήτρια υπεργλυκαιμία ή την αντίσταση στην ινσουλίνη λόγω ενήλικου παχυσαρκίας είναι μία δευτερεύουσα διαταραχή του αρνητικού μηχανισμού ανάδρασης των στεροειδών ορμονών στην ωοθήκη (Abbott and Dumesic, 2009).

## Ενδοωθητικοί παράγοντες

Η ωοθυλακιογένεση ρυθμίζεται εκτός από εξω- αλλά και από ενδο-ωθητικούς παράγοντες, οι οποίοι βρίσκονται σε ισορροπία (Artini et al.,2007). Η οποιαδήποτε δυσαρμονία μεταξύ των δύο αυτών ομάδων παραγόντων γίνεται η αιτία των διαταραχών στην ωοθυλακιογένεση αλλά και την ωογένεση (Frank et al.,2002,2008 ; Artini et al.,2007). Πολλοί παράγοντες που βρίσκονται στο ωοθυλακικό υγρό θεωρείται ότι έχουν σημαντικό ρόλο στην ωοθυλακιογένεση στις πολυκυστικές ωοθήκες (Diamanti – Kandarakis,2008; Franks et al.,2002).

Ο επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (EGF) συνδεδεμένος με τον υποδοχέα του EGFR έχει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη, τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση του κυττάρου (Hsieh et al, 2009). Στην ανθρώπινη ωοθήκη ο EGF υπάρχει στο ωοθυλακικό υγρό ενεργώντας μέσω συστήματος μεταγωγής σήματος με τον υποδοχέα του για την ωοθυλακική ανάπτυξη και την ωρίμανση του ωαρίου. (Wastergaard and Andersen, 1989 ; Almahbabi et al.,1998 ; Jamnongjit et al,2005). Αν και υποστηρίζεται και το αντίθετο ότι τα επίπεδα του EGF έχουν αντίστροφη δράση στην ωρίμανση του ωαρίου (Hofmann et al.,1990 ; Dao et al.,1992 ; Ozonrnek et al,1999). Στις γυναίκες με PCOS τα επίπεδα του EGF είναι υψηλότερα σε σχέση με φυσιολογικό πληθυσμό γυναικών, το οποίο προτείνει τη σχέση που μπορεί να υπάρχει μεταξύ EGF και διατήρησης του PCOS (Volpe et al.,1991 ; Artini et al,2007). Ο EGF εμποδίζει τη σύνθεση οιστρογόνων στα κοκκώδη κύτταρα (Artini et al., 2007).

Οι ινοβλαστικοί αυξητικοί παράγοντες (FGFs) εκφράζονται στα κοκκώδη κύτταρα και στα κύτταρα της θήκης του αναπτυσσόμενου ωοθυλακίου και θεωρούνται ρυθμιστές της δράσης της FSH (Artini et al,2006;2007). Στο PCOS οι FGFs ανευρίσκονται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις συγκρινόμενες με το γενικό πληθυσμό και με αντίστροφη σχέση με την ωρίμανση του ωαρίου (Artini et al,2006,2007).

Οι αυξητικοί παράγοντες που ομοιάζουν την ινσουλίνη (IGFs) αποτελούν ένα σύστημα με το οποίο τα κύτταρα αλληλεπιδρούν με το περιβάλλον τους. Οι παράγοντες αυτοί καθώς και οι δεσμευτικές τους πρωτεΐνες (IGFBPs) παίζουν σημαντικό ρόλο για το αναπτυξιακό περιβάλλον του ωοθυλακίου (Yen et al

1993; Artini et al.,2007). Στην ωοθήκη, η IGF-I εκκρίνεται από τα κύτταρα της θήκης· η IGF-II συντίθεται στα κοκκώδη κύτταρα, ενώ οι IGF-BPs εκφράζονται και από τα δύο είδη κυττάρων (Yenetal,1993 ; Erickson and Shimasaki,2001 ; Artini et al.2007). Στις γυναίκες με PCOS ανευρίσκονται αυξημένα επίπεδα IGF-I και μειωμένα επίπεδα IGF-II και IGFBP-I στο ωοθυλακικό υγρό (Artini et al.2007). Το σύστημα των παραπάνω παραγόντων, όταν μεταβάλλεται, θεωρείται ότι σχετίζεται με την oligo-ωοθυλακιόρρηξία που παρατηρείται στις γυναίκες με PCOS (Kwintkiewicz and Giudice, 2009).

Η οικογένεια των transforming growth-factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) έχει μέλη όπως η αντι-Μυλλέρια ορμόνη (AMH), η ακτιβίνη, η φολλιστατίνη, η ινχιμπίνη, η μορφογενετική πρωτεΐνη των οστών (BMP-15) και ο αυξητικός παράγοντας διαφοροποίησης (GDF-9) (Dumesic et al.,2007b).

Η AMH παράγεται στα κοκκώδη κύτταρα, παίζει σημαντικό ρόλο στην ωοθυλακιογένεση, αφού εμποδίζει την αθρόα στρατολόγηση ωοθυλακίων από την FSH (Weenen et al.,2004 ; Pellatt et al.2007). Στο PCOS τα επίπεδα της AMH είναι αυξημένα στο ωοθυλακικό υγρό (Pigny et al.,2003) αλλά και στην κυκλοφορία και σχετίζονται με αυξημένη τεστοστερόνη ή/και LH και κατά συνέπεια και με διαταραχή της ανάπτυξης του ωαρίου (Tarlatzis and Grombizis, 1997 ; Dumesic et al.,2002 ; Patel and Carr2008 ; Franks et al..2008).

Το σύστημα ακτιβίνης – φολλιστατίνης –ινχιμπίνης έχει σημαντική θέση στη διαδικασία της ωοθυλακικής ωρίμανσης. Η ακτιβίνη εκκρίνεται από τα μικρά ωοθυλάκια, επιδρώντας θετικά στην ωοθυλακική ανάπτυξη αυξάνοντας την απάντηση των κοκκωδών κυττάρων της FSH και μειώνοντας την παραγωγή των ανδρογόνων λόγω της δράσης της LH (Mather et al.,1997). Η φολλιστατίνη είναι δεσμευτική πρωτεΐνη και παράγεται στα κοκκώδη κύτταρα, υπερέκφρασή της σχετίζεται με διακοπή της ωοθυλακικής ανάπτυξης, αλλά και της ωρίμανσης του ωαρίου (Erickson et al.,1995, Norman et al.,2001). Η ινχιμπίνη παράγεται από το κυρίαρχο ωοθυλάκιο και διεγείρει την παραγωγή ανδρογόνων από τα κύτταρα της θήκης τα οποία θα μετατραπούν σε οιστρογόνα (Klein et al.,2000 ; Dumesic et al.,2007b). Η ανισορροπία του συστήματος που αποτελείται από τα παραπάνω σχετίζεται με την παθογένεια του PCOS και συνεπώς την ωρίμανση του ωαρίου (Qiao and Feng, 2011).



Οι GDF-9 και BMP-15 εκφράζονται στο αναπτυσσόμενο και στο ανεπτυγμένο κύτταρο. Φέρονται να είναι απαραίτητοι για την ωθυλακιογένεση, αφού διαταραχή της έκφρασής τους σχετίζεται με γυναικεία υπογονιμότητα αλλά και με την παθολογία του PCOS (Franks et al.,2002 ; Ciepela et al.,2007 ; Dumesic et al.,2007b, Dumesic and Abbott,2008 ; Zhao et al.,2010).

Υπάρχουν αρκετοί ακόμη ενδοωθητικοί παράγοντες που η συμμετοχή τους στην παθογένεια του PCOS δεν έχει διευκρινιστεί.

## **Η επίδραση των ανδρογόνων κατά την εμβρυϊκή ζωή στην εμφάνιση του συνδρόμου πολυκυστικών ωοθηκών**

Το PCOS είναι ένας ετερογενής συνδυασμός πολλών παραγόντων. Η ωοθηκική δυσλειτουργία υπό την επίδραση των γοναδοτροφινών της ινσουλίνης και των ανδρογόνων αποτελεί την κύρια παθοφυσιολογική διαταραχή του συνδρόμου. Έχει γίνει η υπόθεση ότι η εξήγηση βρίσκεται στην επίδραση των αυξημένων ανδρογόνων κατά την εμβρυϊκή ζωή, τα οποία επιδρούν στον υποθάλαμο-υποφυσιακό έλεγχο της LH, στην ενίσχυση του σπλαχνικού λίπους, στην αντίσταση στην ινσουλίνη και στις εκδηλώσεις υπερανδρογοναιμίας κατά την ενήλικη ζωή (Abbot et al., 2002).

Φαίνεται ότι το ενδομητρικό περιβάλλον έχει επιδράσεις στο γενετικό προγραμματισμό κατά την ενήλικη ζωή (Gluckman et al., 2008). Νεαρές κοπέλες οι οποίες έχουν εκτεθεί σε αυξημένα επίπεδα τεστοστερόνης πριν από τη γέννηση λόγω συγγενούς υπερπλασίας επινεφριδίων (CAH) φαίνεται να έχουν χαρακτηριστικά, φαινοτυπικά αλλά και συμπεριφοράς που μοιάζουν με το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (Berenbaum and Hines, 1992). Αυτές οι αναπτυξιακές επιδράσεις της τεστοστερόνης στον εγκέφαλο και στη συμπεριφορά φαίνεται να σχετίζονται με τις συγκεντρώσεις της στο αμνιακό υγρό (Grimshaw et al., 1995). Φαίνεται, λοιπόν, ότι η ενδομήτρια έκθεση σε ανδρογόνα επιδρά στην ανάπτυξη του θηλυκού εμβρύου. Κλινικά στοιχεία της επίδρασης της περίσσειας ανδρογόνων στο έμβρυο επηρεάζοντας πολλαπλά οργανικά συστήματα φαίνεται, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, σε γυναίκες με διαταραχές όπως CAH (έλλειψη 21-υδροξυλάσης) και συγγενείς όγκους των επινεφριδίων. (Barnes et al., 1994 ; Phocas et al., 1995 ; Merke and Cutler, 2001 ; Stikkelbroeck et al., 2003). Επίσης φυσική έκθεση σε ανδρογόνα πριν τη γέννηση συμβαίνει σε γυναίκες με σπάνια διαταραχή απώλειας της λειτουργίας της SHBG λόγω μεταλλαγής του γονιδίου της ή του γονιδίου της P-450 αρωματάσης: οι ασθενείς αυτές αναπτύσσουν χαρακτηριστικά υπερανδρογοναιμίας και πολυκυστικών ωοθηκών (Morishima et al., 1995 ; Hobeveen et al., 2002). Χαρακτηριστική είναι η περίπτωση ενός θηλυκού εμβρύου που είχε όγκο που

παρήγαγε ανδρογόνα, ο οποίος αφαιρέθηκε μετά τη γέννηση· στην ενήλικη ζωή ανέπτυξε PCOS (Barnes et al., 1994).

Όλα τα παραπάνω δεδομένα δείχνουν μια σχέση των ανδρογόνων, στα οποία το θηλυκό έμβρυο μπορεί να εκτεθεί, με την μετέπειτα εμφάνιση του PCOS κατά την ενήλικη ζωή. Στη συνέχεια θα γίνει αναφορά στην προέλευση των ανδρογόνων που επηρεάζουν το θηλυκό έμβρυο καθώς και στην επίδραση αυτών στους μηχανισμούς ανάπτυξης του PCOS.

## Προέλευση ανδρογόνων κατά την εμβρυϊκή ζωή

Πολλές ερωτήσεις που προκύπτουν από την παραπάνω υπόθεση πρέπει να απαντηθούν σχετικά με την αιτιολογία του PCOS. Η κυκλοφορούσα τεστοστερόνη στο αίμα της μητέρας φυσιολογικά δεν περνάει τον πλακουντιακό φραγμό. Η πλακουντιακή 17-υδροξυστεροειδική δεϋδρογενάση εμποδίζει την αθρόα διέλευση οιστρογόνων στο έμβρυο καταλύοντας την απενεργοποίηση με μεταβολή της οιστραδιόλης σε οιστρόνη (Murphy, 1979). Φυσιολογικά τα ανδρογόνα της μητέρας κατά την εμβρυϊκή ζωή μετατρέπονται από την πλακουντιακή αρωματάση, από ανδροστενδιόνη σε οιστρόνη, από 16-υδροξυτεστοστερόνη σε οιστριόλη και από τεστοστερόνη σε οιστραδιόλη (Kragie, 2002). Η SHGB και η πλακουντιακή αρωματάση συμβάλλουν στον εμβρυοπλακουντιακό φραγμό που προστατεύει το θηλυκό έμβρυο από την έκθεση στα ανδρογόνα της μητέρας.

Είναι δύσκολο να θεωρηθεί ότι τα ανδρογόνα της μητέρας περνούν τον πλακούντα προς το έμβρυο, από μητέρα με PCOS, εκτός εάν συντρέχουν άλλοι λόγοι που διαταράσσουν τη λειτουργία του πλακούντα, όπως έλλειψη πλακουντιακής αρωματάσης, stress ή ανεπαρκής διαίτα (Abbott et al., 2002). Είναι πιθανό η εμβρυϊκή ωοθήκη και τα εμβρυϊκά επινεφρίδια ή και τα δύο να είναι πηγή παραγωγής περίσσειας ανδρογόνων για το έμβρυο (Barnes et al., 1994). Η εμβρυϊκή ωοθήκη έχει την ικανότητα να μετατρέπει πρόδρομες ουσίες στεροειδών, συμπεριλαμβανομένης της επινεφριδιακής DHEAS σε ανδρογόνα (Payne & Jaffe, 1974 ; Bonser et al., 2000)

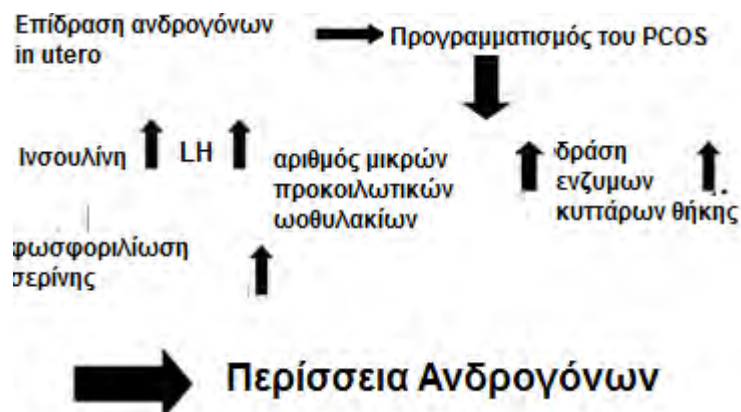
Συγκρίνοντας τα επίπεδα των ανδρογόνων σε έγκυες γυναίκες με PCOS και φυσιολογικές έγκυες γυναίκες παρατηρείται ότι υπάρχει διακύμανση των ανδρογόνων κατά τη διάρκεια της κύησης. Στις γυναίκες με PCOS ανευρίσκεται υψηλή συγκέντρωση τεστοστερόνης, ανδροστενδίωνης και DHEAS, αν και στις φυσιολογικές γυναίκες υπάρχει παρόμοια δυναμική στις συγκεντρώσεις ανδρογόνων κατά την κύηση. Η αύξηση αυτή των ανδρογόνων κατά τη διάρκεια της κύησης γυναικών με PCOS δεν είχε επίδραση στην ανάπτυξη του εμβρύου, αντίθετα με όσα είχαν περιγραφεί παλαιότερα (Magendantz et al.,1972; Favez et al.,1974; Ben-Chetrit and Greenblatt, 1995; Sarlis et al.,1999). Σημαντική φαίνεται, λοιπόν, να είναι η περίοδος κατά τη οποία εκτίθεται το έμβρυο στο παράγοντα που θα επιδράσει στην ανάπτυξή του.

Στην παραγωγή των ανδρογόνων κατά τη διάρκεια της κύησης φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο η ινσουλίνη κυρίως στις γυναίκες με PCOS (Sarlis et al.,1999). Η ινσουλίνη έχει δειχθεί ότι εμποδίζει τη δράση της αρωματάσης στην ανθρώπινη κυτταροτροφοβλάστη και ενισχύει τη δραστηριότητα της 3β-υδροστεροειδικής δεϋδρογενάσης (Nestler, 1987,1989,1990). Στις γυναίκες με PCOS η υπερινσουλιναμία πιθανότατα συμβάλλει στην περίσσεια ανδρογόνων στην οποία εκτίθενται οι απόγονοί τους (Barnes et al. 1994). Η υπερινσουλιναμία της μητέρας πιθανόν επάγει την υπερβολική παραγωγή χοριακής γοναδοτροφίνης από τον πλακούντα οδηγώντας σε υπερπλασία της εμβρυϊκής ωοθήκης και υπερανδρογοναιμία (Barbieri et al.,1986).

Πιθανολογείται ότι έκθεση σε περίσσεια ανδρογόνων των εμβρύων των γυναικών με PCOS να είναι ένα παράγοντας για την ανάπτυξη του PCOS φαινοτύπου αργότερα στην ενήλικη ζωή αλλά και του χαμηλού βάρους γέννησης. Το χαμηλό βάρος γέννησης σχετίζεται με αναπτυξιακές διαταραχές όπως πρώιμη εμμηναρχή, ακολουθούμενη από υπερανδρογοναιμία, αντίσταση στην ινσουλίνη με υπερινσουλιναμία και δυσλιπιδαιμία (Ibanez et al.,1996,1998).

Κατά την εμβρυϊκή ζωή ένας αριθμός προδιαθεσικών πολυμορφισμών γονιδίων για υπερανδρογοναιμία στο PCOS μπορεί να συμβάλλουν στον προγραμματισμό του συνδρόμου (Urbanek et al.,2007 ; Xita et al.,2008). Η ύπαρξη πλακουντιακής ανεπάρκειας ή εγγενούς δυσλειτουργίας της βιοσύνθεσης

των στεροειδών αντί μητρικής υπερανδρογοναιμίας, δημιουργούν σε μεγαλύτερο βαθμό ένα υπερανδρογονικό περιβάλλον. Σε πρόσφατη μελέτη πρόωρων βρεφών θεωρήθηκε ότι η κύρια αιτία της αύξησης των ανδρογόνων είναι ο εμβρυϊκός προγραμματισμός έκκρισης περίσσειας γοναδοτροφινών (Greaves et al.,2008). Έγκυες γυναίκες με PCOS έχουν αυξημένα επίπεδα ολικής και ελεύθερης τεστοστερόνης (Sir-Petermann et al.,2002). Οι συγκεντρώσεις εμβρυϊκής τεστοστερόνης σχετίζονται θετικά με τις συγκεντρώσεις τεστοστερόνης στη μητέρα (Gitau et al.,2005). Ο ρόλος των επινεφριδίων του εμβρύου στην παραγωγή περίσσειας ανδρογόνων μπορεί να είναι σημαντικός, αφού οι ωθήκες θεωρούνται ανενεργείς όσον αφορά την παραγωγή ορμονών (Zhou et al.,2005 ; Gitau et al.,2005). Εν τούτοις οι εμβρυϊκές ωθήκες μπορεί να μην είναι τόσο αδρανείς, αφού έχει δειχθεί έκφραση του ενζύμου βιοσύνθεσης ανδρογόνων CYP17 σε ανθρώπινες εμβρυϊκές ωθήκες κατά το μέσο της κύησης (Cole et al.,2006). Όποια κι αν είναι η πηγή της περίσσειας ανδρογόνων στο θηλυκό έμβρυο, υπάρχει πια η υπόθεση ότι το σύνδρομο προγραμματίζεται από την ενδομήτρια ζωή.



Εικόνα 3 Οι επιπτώσεις της ενδομητρικής έκθεσης σε ανδρογόνα, οι οποίες οδηγούν σε περίσσεια ανδρογόνων κατά την ενήλικη ζωή. (προσαρμοσμένο από Homburg,2009)

## Πειραματικά στοιχεία μελετών για την επίδραση των ανδρογόνων κατά την εμβρυϊκή ζωή

Ενώ προτείνεται μία κληρονομική αιτιολογία για το PCOS βάσει πολλών υποψηφίων γονιδίων συμπεριλαμβανομένων της ινσουλίνης, της βιοσύνθεσης στεροειδών και της λειτουργίας των γονάδων, αυτά δεν κατορθώνουν να αιτιολογήσουν εξ ολοκλήρου το σύνδρομο. Επιπρόσθετα δεδομένα εμπλέκουν επιγενετικές αλλαγές στην εμβρυϊκή ζωή στις αναπτυξιακές αιτίες προέλευσης του συνδρόμου με σημειωτέα την ικανότητα της περίσσειας τεστοστερόνης κατά την ενδομήτριο ζωή να προκαλεί ένα φαινότυπο που μοιάζει το PCOS σε διάφορα είδη. Δεδομένα προτείνουν ότι η επίδραση τεστοστερόνης κατά την ενδομήτριο ζωή σε πιθήκους και πρόβατα εμφανίζουν χαρακτηριστικά του συνδρόμου. Παρατηρούνται ανωοθυλακιωρηκτική υπογονιμότητα, υπερινσουλιαιμία εξαρτώμενη από την παχυσαρκία, υπεργοναδοτροφισμός, νευροενδοκρινικές διαταραχές μηχανισμών ανάδρασης, υπερανδρογοναιμία και πολυκυστικές ωοθήκες (Dumesic et al., 2007a).

Πειραματικά δεδομένα στηρίζουν την υπόθεση ότι το περιβάλλον της μήτρας μπορεί να επιδρά στην εμφάνιση του συνδρόμου πολυκυστικών ωοθηκών. Πειράματα που ξεκίνησαν πριν από πενήντα χρόνια έδειξαν ότι η έκκριση γοναδοτροφινών προγραμματίζεται στον υποθάλαμο από τη συγκέντρωση των ανδρογόνων κατά τη διάρκεια πρώιμης ανάπτυξης (Barraclough and Gorski, 1961). Παρακάτω θα γίνει αναφορά στα πειραματικά αποτελέσματα μελετών σε πειραματόζωα σε σχέση με τις διαταραχές που παρουσιάζονται μετά από εμβρυϊκή έκθεση σε ανδρογόνα.

### Υπερανδρογοναιμία

Θηλυκοί πίθηκοι rhesus, πρόβατα, ποντίκια και αρουραίοι που εκτέθηκαν σε αυξημένα επίπεδα τεστοστερόνης κατά την εμβρυϊκή ζωή παρουσιάζουν ωοθηκικές δυσλειτουργίες στην ενήλικη ζωή. Οι ωοθήκες είναι μεγεθυμένες με πολλά ωοθυλάκια σε προγεννητικά εκτεθειμένους σε τεστοστερόνη πιθήκους και

πρόβατα, ενώ υπερπαράγουν ανδρογόνα σε πιθήκους και ποντίκια (West et al.,2001 ; Sullivan and Moenter,2004 ; Abbot et al.,1997). Οι ανδρογονικοί υποδοχείς υπερεκφράζονται στις ωθήκες των προβάτων (Manikkam et al.,2007).

Η εμφάνιση της κλινικής εικόνας που ταιριάζει με τα χαρακτηριστικά του PCOS στους πιθήκους rhesus, προκαλείται με τη χορήγηση 10-15mg T προπιονική τεστοστερόνη στις 15 έως 35 ημέρες είτε στις 40 έως 60, είτε στις 100 έως 115 ημέρες κύησης, με συνολικό χρόνο εγκυμοσύνης 165 ημέρες. Με το διαχωρισμό αυτό δημιουργούνται δύο ομάδες ελέγχου της επίδρασης των ανδρογόνων· εκείνη όπου υπήρξε αρχική έκθεση σε τεστοστερόνη και εκείνη που η έκθεση έγινε αργότερα (Resko et al., 1984,1987).

Οι πίθηκοι που εκτέθηκαν νωρίτερα κατά την ενδομήτριο ζωή σε τεστοστερόνη εμφάνισαν υπερανδρογοναιμία (Abbott et al.,1998,2007), ενώ και οι δύο ομάδες πιθήκων παρουσιάζουν υπερβολική απόκριση της τεστοστερόνης στην ανασυνδυασμένη ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροφίνη. Ανεξάρτητα από τη χρονική περίοδο έκθεσης στην τεστοστερόνη οι πίθηκοι έχουν δεκαπλάσια πιθανότητα ανωοθυλακιορρηξίας ως ενήλικοι και διπλάσια της κανονικής πιθανότητα εμφάνισης πολυκυστικής μορφής ωθηκών. 33-50% των ανωοθυλακιορρηκτικών πιθήκων έχουν πολυκυστικές ωθήκες (Abbott et al.,1997,2007).

## Ανώμαλη ωοθυλακική ανάπτυξη

Η τεστοστερόνη που χορηγείται στα πειραματόζωα εκτός από τη μορφολογική επίδραση στην ωθήκη, επιδρά και στην ωοθυλακική ωρίμανση. Στους ενήλικους θηλυκούς πιθήκους η υπερανδρογοναιμία αυξάνει τη στρατολόγηση των ωοθυλακίων με συνοδό άνοδο του αριθμού των πρωτογενών, προκοιλοτικών και μικρών κοιλοτικών ωοθυλακίων αλλά και με πολλαπλασιασμό των κοκκωδών τους κυττάρων (Vendola et al.,1998 ; Weil et al.,1998). Επίσης, στους πιθήκους αυξάνεται η έκφραση του υποδοχέα της FSH, του IGF-I αλλά και του υποδοχέα του στα κοκκώδη κύτταρα (Weil et al.,1998 ;

Vendola et al.,1999). Στα πρόβατα που εκτέθηκαν προγεννητικά σε τεστοστερόνη υπήρξε αυξημένη αναλογία των δευτερογενών ωοθυλακίων, μείωση των πρωτογενών ωοθυλακίων και εμφάνιση πολυκυστικής ωοθήκης (Steckler et al., 2005).

Τα μικρά ωοθυλάκια που δεν θα οδηγηθούν στο στάδιο του επικρατούντος ωοθυλακίου λόγω της υπερανδρογοναιμίας και της υπερινσουλιναϊμίας έχουν υψηλή δραστηριότητα της 5α-ρεντουκτάσης, η οποία μπορεί να καταστήσει τα επίπεδα των ανδρογόνων ικανά για να εμποδίσουν τη δράση της αρωματάσης *in vitro* (Jakimiuk et al.,1999). Ο παραπάνω μηχανισμός εμφανίζεται και στους πιθήκους που έχουν εκτεθεί σε τεστοστερόνη ως έμβρυα, όταν αυτοί λαμβάνουν ανασυνδυασμένη ανθρώπινη FSH (Dumesic et al., 2003).

Όμοια με το PCOS είναι και στους πιθήκους, που κατά την ενδομήτριο ζωή εκτέθηκαν σε τεστοστερόνη, η ωοθυλακική διαφοροποίηση μετά από χορήγηση ανασυνδυασμένης ανθρώπινης FSH που ακολουθείται από χορήγηση χοριακής γοναδοτροφίνης. Κατά τη διάρκεια της χορήγησης αυτής η υπερέκκριση της LH και η υπερινσουλιναϊμία λόγω της κοιλιακής παχυσαρκίας συνοδεύεται και από υπερβάλλουσα ενδοωοθυλακική στερεοειδογένεση οπότε ανδρογόνα και οιστρογόνα μετατρέπονται σε προγεστερόνη (Dumesic et al. 2002). Επίσης, όπως και στο PCOS με τη χορήγηση παραγόντων που βελτιώνουν την ευαισθησία στην ινσουλίνη, έτσι και η υπερινσουλιναϊμία σε μεγάλο ποσοστό των πιθήκων βελτιώνεται, συνοδευόμενη από μείωση των συγκεντρώσεων των ανδρογόνων και αποκατάσταση της ωοθυλακιορρηξίας (Zhou et al.,2007).

## Υπερέκκριση LH

Σημαντικά επίσης ευρήματα από τα πειράματα στα ζώα που εκτέθηκαν σε τεστοστερόνη κατά την εμβρυϊκή ζωή σχετίζονται με την νευροενδοκρινική διαταραχή που προκλήθηκε στον υποθάλαμο και την υπόφυση. Αυξημένη έκκριση της LH εμφανίστηκε σε πιθήκους (Dumesic et al. 1997) σε πρόβατα (Wood et al.,1995 ; Foster et al. 2002), σε ινδικά χοιρίδια (hamster) (Buhl et al.,1978), και τρωκτικά (foecking et al.,2004). Οι πίθηκοι που δέχθηκαν την



επιρροή των ανδρογόνων νωρίτερα κατά την ενδομήτριο ζωή εμφάνισαν υπερέκκριση LH, αυξημένη απόκριση της LH στην GnRH (Abbott et al.,2005) και μειωμένη ευαισθητοποίηση του υποθαλάμου στον αρνητικό μηχανισμό ανάδρασης των οιστρογόνων και της προγεστερόνης (Dumestic et al.,2002 ; Steiner et al.,1976).

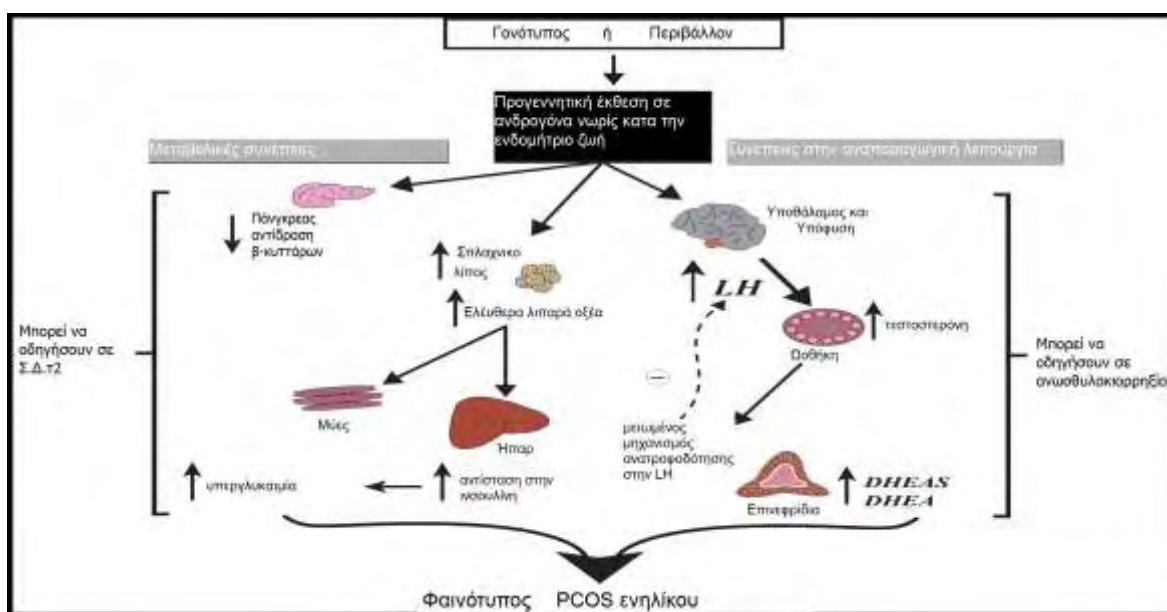
Το τελευταίο ισχύει και για τους πιθήκους που δέχθηκαν την ανδρογονική επίδραση αργότερα κατά την ενδομήτρια ζωή (Levine et al.,2005). Παρόμοια ήταν και τα ευρήματα από την προγεννητική έκθεση σε ανδρογόνα προβάτων (Robinson et al.,2002 ; Padmana bhan et al.,2006 ; Flak et al.,2005). Από τις μελέτες και στα δύο είδη ζώων επιβεβαιώνεται ο μηχανισμός υπερέκκρισης της LH λόγω της καταστολής του αρνητικού μηχανισμού ανατροφοδότησης με συνοδό ενισχυμένη παλμική έκκριση της GnRH (Sarma et al.,2002 ; Robinson et al.,1999).

## Αναπτυξιακή ικανότητα ωοθυλακίου

Δεδομένα που προκύπτουν από τους ενδομητρικά εκτεθειμένους θηλυκούς πιθήκους σε τεστοστερόνη οι οποίοι έλαβαν διέγερση με γοναδοτροφίνες για τεχνητή γονιμοποίηση (IVF) δείχνουν ότι υπάρχει ανώμαλη ωοθυλακική ανάπτυξη αλλά και διαταραγμένη ανάπτυξη του ωαρίου (Dumesic et al.,2003). Η διαταραχή της ανάπτυξης των ωοθυλακίων φαίνεται να οφείλεται στη μειωμένη παραγωγή οιστρογόνων και τη δράση τους με την παρουσία ανδρογόνων (Tesaric et al., 1997 ; Dumesic et al.,2003) που παρατηρείται σε πρόβατα που δέχθηκαν εμβρυϊκή επίδραση ανδρογόνων (Steckler et al.,2007). Προκύπτει το ερώτημα κατά πόσο η επίδραση των ανδρογόνων κατά την εμβρυϊκή ζωή έχει συνέπειες στην ανάπτυξη των ωαρίων, αλλά και τις συνέπειες στις επόμενες γενιές θηλέων (Dumesic et al., 2007a).

Επιπλοκές του PCOS που εμφανίζονται στους ανθρώπους, εμφανίστηκαν και στους θηλυκούς πιθήκους που εκτέθηκαν σε ανδρογόνα κατά την ενδομήτριο ζωή. Η κατανομή του σπλαχνικού λίπους αλλά και η ελαττωμένη έκκριση ινσουλίνης εξαρτώνται από την περίοδο της κύησης κατά τη διάρκεια της οποίας

έγινε η έκθεση στα ανδρογόνα (Eisner et al., 2000, 2003 ; Bruns et al., 2007) Οι μεταβολικές διαταραχές που σχετίζονται με την παχυσαρκία και την έκκριση ινσουλίνης προκαλούν σακχαρώδη διαβήτη στους θηλυκούς πιθήκους (Dumesic et al., 2007a) που εκτέθηκαν νωρίτερα ή αργότερα, κατά την εμβρυϊκή ζωή, αντίστοιχα.



Εικόνα 4: Σχεδιαγραμματική απεικόνιση των παραγόντων που εμπλέκονται πιθανώς στην εμφάνιση του PCOS. (προσαρμοσμένο από Dumesic et al, 2007a)

Όλα τα παραπάνω στοιχεία είναι πειραματικά δεδομένα σε μελέτες ζώων που το αναπαραγωγικό του σύστημα και μηχανισμός εμφάνισης πολυκυστικών ωοθηκών ταιριάζει σε μεγάλο βαθμό με το αντίστοιχο ανθρώπινο. Λόγω της φύσης του συνδρόμου και των μεθόδων που χρησιμοποιούνται για τη μελέτη αυτού, τα δεδομένα από μελέτες σε ανθρώπους είναι λίγα.

Σε μία προοπτική μελέτη που πραγματοποιήθηκε ερευνήθηκε η σχέση της έκθεσης σε ανδρογόνα πριν τη γέννηση και της εμφάνισης του συνδρόμου στην

ενήλικο ζωή. Συμμετείχαν στη μελέτη έγκυες γυναίκες και οι θηλυκοί απόγονοί τους. Βιοχημικοί δείκτες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν η ολική τεστοστερόνη, η ανδροστενδιόνη και η DHEAS, μετρήσεις έγιναν στη 18η και 34/36η εβδομάδα κύησης, καθώς και στο αίμα του ομφάλιου λώρου. Τα αποτελέσματα της μελέτης δεν μπόρεσαν να επιβεβαιώσουν σχέση μεταξύ ανδρογόνων μητρικού αίματος και αίματος από τον ομφάλιο λώρο και εμφάνισης συνδρόμου πολυκυστικών ωοθηκών στην ενήλικο ζωή (Hickey et al., 2009). Άλλη μία μελέτη εκθέτει δεδομένα από μετρήσεις σε ανθρώπους. Ο έλεγχος που έγινε αφορούσε τα επίπεδα τεστοστερόνης σε δείγματα αίματος από ομφαλική φλέβα προερχόμενα από έγκυες γυναίκες με PCOS σε θηλυκά έμβρυα και φυσιολογικές έγκυες γυναίκες με θήλεα και άρρενα έμβρυα. Το συμπέρασμα της μελέτης είναι ότι υπήρξε ανδρογονική επίδραση στους θήλεις απόγονους των εγκύων με PCOS, αφού τα επίπεδα των ανδρογόνων του ήταν παρόμοια με αυτά των εγκύων σε άρρενα έμβρυα (Barry et al.,2010).

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ / ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Το PCOS είναι η συχνότερη διαταραχή στις γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας. Εκτός από τις συνέπειες που συνοδεύουν το σύνδρομο με τις αλλαγές στην εξωτερική εμφάνιση και την γονιμοποιητική ικανότητα της γυναίκας, μεγάλη σημασία έχουν και οι μακροπρόθεσμες εκδηλώσεις που συνεπάγεται το σύνδρομο. Με σημαντικότερες την εμφάνιση σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και την καρδιαγγειακή νόσο δίνεται η σημασία που έχει η κατανόηση των παθοφυσιολογικών μηχανισμών της αιτιολογίας του συνδρόμου, ώστε η θεραπεία που ακολουθείται να είναι αποτελεσματική. Η θεραπεία σε αυτό το πολυπαραγοντικό σύνδρομο έχει να αντιμετωπίσει διαταραχές μεταβολισμού (ΣΔ τ.2), δερματικές εκδηλώσεις (δασυτριχισμός, ακμή, αλωπεκία), ανωθηλακικές μητρορραγίες (με αυξημένο κίνδυνο εκδήλωσης ενδομητρική υπερπλασίας ή καρκινώματος) και την υπογονιμότητα (Goodarzi et al.,2011).

Η επίδραση των ανδρογόνων κατά την ενδομήτριο ζωή ως αιτιολογικός παράγοντάς του, έχει μελετηθεί σε μεγάλο βαθμό σε πειραματικά μη ανθρώπινα μοντέλα. Τα στοιχεία που συλλέγονται από τις μελέτες αυτές στηρίζουν την υπόθεση της εκκίνησης του συνδρόμου από την εμβρυϊκή ζωή. Βεβαία, τα δεδομένα από μελέτες σε ανθρώπους είναι λίγα και απαιτείται περαιτέρω έρευνα στο πεδίο αυτό. Η θεώρηση, όμως, της ανδρογονικής επίδρασης δίνει υπόσχεση για στοχευμένες κλινικές παρεμβάσεις που θα εξαλείψουν την εμφάνιση του φαινοτύπου κατά την ενήλικη ζωή αλλά και θα βελτιώσουν τις μεταβολικές και όχι μόνο διαταραχές που το συνοδεύουν (Abbott et al.,2002).

Η εμφάνιση του PCOS δεν εξαρτάται μόνο από την έκθεση σε ανδρογόνα κατά την εμβρυϊκή ζωή. Φαίνεται ότι γενετικοί παράγοντες παίζουν σημαντικό ρόλο στην εκδήλωση του συνδρόμου (Ewens et al.,2010).

Πολλά γονίδια κληρονομούνται και μαζί με επιβαρυντικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες οδηγούν στην εμφάνιση του συνδρόμου. Αν η ιστορία της έκθεσης σε περίσσεια ανδρογόνων ξεκινά από την ενδομήτριο ζωή, διαιωνίζεται και συντηρείται από μία σειρά αλυσιδωτών αντιδράσεων. Η έγκυος γυναίκα με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών κλείνει ένα κύκλο των ανδρογόνων είτε κληροδοτώντας τα PCOS γονίδιά της είτε εκθέτοντας τα θηλυκά έμβρυά της σε

περίσσεια ανδρογόνων. Η αποδοχή της ιδέας αυτής θα μπορούσε να βοηθήσει στη θεραπεία του PCOS και των συνοδών επιπλοκών που αντιμετωπίζονται σήμερα (Homburg, 2009)

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών αποτελεί τη συχνότερη διαταραχή των γυναικών που βρίσκονται στην αναπαραγωγική ηλικία. Από την πρώτη περιγραφή του, το 1935, συνεχίζει έως και σήμερα να απαρτίζει πεδίο έρευνας, αφού διαπιστώνεται συνεχώς ότι πολλοί και διαφορετικοί παράγοντες συμβάλλουν στην εμφάνιση του συνδρόμου. Στην παθοφυσιολογία του PCOS σημαντικό ρόλο έχουν οι γοναδοτροφίνες, τα ανδρογόνα, η ινσουλίνη αλλά και παράγοντες που δρουν εντός της ωοθήκης. Η αυξημένη παλμική έκκριση της LH οφείλεται στα αυξημένα ανδρογόνα, τα οποία αναστέλλουν τον αρνητικό μηχανισμό ανατροφοδότησης των οιστρογόνων και της προγεστερόνης. Η υπερπαραγωγή ανδρογόνων αποτελεί συνέπεια διαταραχής στη στερεοειδογένεση. Η υπερανδρογοναιμία χαρακτηρίζει τις περισσότερες φαινοτυπικές εκδηλώσεις του συνδρόμου, αλλά και η ενδοωοθηκική αύξηση των ανδρογόνων επιδρά στις εκδηλώσεις του συνδρόμου που αφορούν των ωοθυλακιόρρηξια. Ο ρόλος της ινσουλίνης είναι καταλυτικός πρωτίστως στην παραγωγή των ανδρογόνων, αλλά συμβάλλει δευτερευόντως και στη διαταραχή της ωρίμανσης του ωαρίου. Για τους παραπάνω μηχανισμούς που συντείνουν στην εκδήλωση του PCOS, δεν έχει διευκρινιστεί η αιτιολογική προέλευσή τους. Η υπόθεση εργασίας σχετικά με την επίδραση που ασκούν τα ανδρογόνα κατά την εμβρυϊκή ζωή βρίσκεται στο στάδιο της υλοποίησης και τα αποτελέσματα των μελετών δίνουν στοιχεία προς την αρχική κατεύθυνση. Τα ανδρογόνα στα οποία εκτίθεται το έμβρυο προέρχονται κυρίως από το ίδιο αλλά και από τη μητέρα, όταν διαταράσσονται οι μηχανισμοί φυσικής προστασίας από αυτά. Έχουν γίνει αρκετές πειραματικές μελέτες οι οποίες είχαν αντικείμενο τις επιδράσεις της ενδομητρικής έκθεσης πειραματόζων σε ανδρογόνα. Τα στοιχεία των μελετών αυτών υποδεικνύουν τη σημασία της προγεννητικής ανδρογονικής έκθεσης για τους μηχανισμούς του PCOS. Στις έρευνες αυτές παρατηρούνται δυσλειτουργία της ωοθήκης, αυξημένη πιθανότητα ανωοθυλακιόρρηξιας, πολυκυστική μορφή ωοθηκών και διαταραχές ωοθυλακικής ωρίμανσης, συχνές εκδηλώσεις που χαρακτηρίζουν το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών στις γυναίκες. Όμως, οι λίγες μελέτες με στοιχεία για το ανθρώπινο

αναπαραγωγικό σύστημα δεν επιβεβαιώνουν επαρκώς τα αποτελέσματα των πειραμάτων που προέκυψαν από δοκιμές σε ζωικούς οργανισμούς. Σίγουρα, η εμφάνιση του PCOS δεν εξαρτάται μόνο από την επίδραση των ανδρογόνων κατά την εμβρυϊκή ζωή, όμως η συνέχιση της έρευνας στο πεδίο αυτό θα δώσει σημαντικές απαντήσεις που θα συμβάλλουν στη θεραπεία αλλά και την αντιμετώπιση του συνδρόμου.

## SUMMARY

Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) is the most common disorder among women of reproductive age. It was first described in 1935 and still remains an interesting field of research, as many studies constantly confirm the existence of many different factors causing this syndrome. Gonadotropins, androgens, insulin as well as factors acting inside the ovary play an important role in PCOS pathophysiology. The increased impulsive secretion of the LH is caused by increased androgens which inhibit the estrogen and progesterone negative feedback mechanism. Androgen overproduction is a consequence of a steroidogenesis disorder. Hyperandrogenemia is typical of most phenotypic manifestations of the syndrome, whereas the increase of intraovarian androgens **also affects the syndrome's manifestations concerning ovulation. The role of insulin** is of great importance mainly on what concerns follicular maturation disorders. The causal origins of the aforementioned mechanisms which contribute to PCOS have not been defined yet. The working hypothesis on the impact of androgens during fetal life is being explored and the results lead to the initial direction. In case natural protection mechanisms against androgens are disturbed, the fetus is exposed to androgens originating from the fetus itself and its mother. Several experimental studies have been carried out on animals concerning the consequences of the intrauterine exposure to androgens. Their results underline the importance of prenatal exposure to androgens for the mechanisms of PCOS. The same studies showed ovarian disorder, increased probability of anovulation, polycystic ovaries and follicular maturation disorders, which are common manifestations of the polycystic ovary syndrome. However, the only few studies on the human reproductive system do not sufficiently confirm the results of the animal testing. Certainly, PCOS does not depend solely on the impact of androgens during fetal life. However, continuous research on that field will provide answers that would lead to the cure or treatment of the syndrome.



## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

Abbott DA, Dumesic DA. Fetal androgen excess provides a developmental origin for polycystic ovary syndrome. *Expert Rev Obstet Gynecol* 2009;4:1–7.

Abbott, DH.; Bruns, CM.; Barnett, DK.; Dumesic, DA. Fetal programming of polycystic ovary syndrome. In: Kovacs, G.; Norman, R., editors. *Polycystic Ovary Syndrome*. 2nd Edition. Cambridge: Cambridge University Press; 2007.

Abbott DH, Barnett DK, Bruns CM, Dumesic DA. Androgen excess fetal programming of female reproduction: a developmental aetiology for polycystic ovary syndrome? *Hum Reprod Update* 2005;11:357–374.

Abbott DH, Dumesic DA, Franks S 2002 Developmental origin of polycystic ovary syndrome—a hypothesis. *J Endocrinol* 174:1–5

Abbott DH, Dumesic DA, Eisner JR, Colman RJ, Kemnitz JW. Insights into the development of polycystic ovary syndrome (PCOS) from studies of prenatally androgenized female rhesus monkeys. *Trends Endocrinol Metab* 1998;9:62–67.

Abbott, DH.; Dumesic, DA.; Eisner, JR.; Kemnitz, JW.; Goy, RW. The prenatally androgenized female rhesus monkey as a model for PCOS. In: Azziz, R.; Nestler, JE.; Dewailly, D., editors. *Androgen Excess Disorders in Women*. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1997.

Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, Janssen OE, Legro RS, Norman RJ, Taylor AE, Witchel SF The Androgen Excess and PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report. *Fertil. Steril.* 2009;91.

Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, Janssen OE, Legro RS, Norman RJ, Taylor AE, Witchel SF; Androgen Excess Society. Positions statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an Androgen Excess Society guideline. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2006;91.

Azziz R, Sanchez LA, Knochener ES, Moran C, Lazenby J, Stephens KC, Taylor K, Boots LR Androgen excess in women: experience with over 1000 consecutive patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004;89.

Baillargeon, J.P. and Carpentier, A. Role of insulin in the hyperandrogenemia of lean women with polycystic ovary syndrome and normal insulin sensitivity. *Fertil Steril* 2007;88.

Balen A. The pathophysiology of polycystic ovary syndrome: trying to understand PCOS and its endocrinology. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2004 Oct;18(5):685-706.

Barbieri RL, Saltzman DH, Torday JS, Randall RW, Frigoletto FD, Ryan KJ Elevated concentrations of the  $\beta$ -subunit of human chorionic gonadotropin and testosterone in the amniotic fluid of gestations of diabetic mothers. *Am J Obstet Gynecol* 1986;154:1039–1043.

Barker DJP In utero programming of chronic disease. *ClinSci (Lond)* 1998;95: 115-128.

Barker DJP The developmental origins of adult disease. *J Am Coll Nutr* 2004;23:5885-5955.

Barnes RB, Rosenfield RL, Ehrmann DA, Cara JF, Cuttler L, Levitsky LL, Rosenthal IM. Ovarian hyperandrogenism as a result of congenital adrenal virilizing disorders: evidence for perinatal masculinization of neuroendocrine function in women. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79.

Barraclough CA, Gorski RA 1961 Evidence that the hypothalamus is responsible for androgen-induced sterility in the female rat. *Endocrinology* 68:68–79.

Barry JA, Kay AR, Navaratnarajah R, Iqbal S, Bamfo JE, David AL, Hines M, Hardiman PJ. Umbilical vein testosterone in female infants born to mothers with polycystic ovary syndrome is elevated to male levels. *J. Obstet. Gynaecol.* 2010;30.

Ben-Chetrit, A. and Greenblatt, E.M. Recurrent maternal virilization during pregnancy associated with polycystic ovarian syndrome: a case report and review of the literature. *Hum. Reprod.*, 1995;10, 3057–3062.

Berenbaum SA, Hines M. Early androgens are related to childhood sex-typed toy preferences. *Psychol Sci* 1992;3:203–206.

Bonser J, Walker J, Purohit A, Reed MJ, Potter BV, Willis DS, Franks S & Mason HD Human granulosa cells are the site of sulphatase activity and are able to utilize dehydroepiandrosterone sulphate as a precursor for oestradiol production. *Journal of Endocrinology* 2000; 167.

Bruns CM, Baum ST, Colman RJ, Dumesic DA, Eisner JR, Jensen MD, Whigham LD, Abbott DH. Prenatal androgen excess negatively impacts body fat distribution in a nonhuman primate model of polycystic ovary syndrome (PCOS). *Int J of Obesity.* 2007;10.

Buhl AE, Norman RL, Resko JA. Sex differences in estrogen-induced gonadotropin release in hamsters. *Biol Reprod* 1978;18:592–597.

Chang RJ. The reproductive phenotype in polycystic ovary syndrome. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* 2007 (10):688-95.

Cho LW, Kilpatrick ES, Jayagopal V, Diver MJ, Atkin SL. Biological variation of total testosterone, free androgen index and bioavailable testosterone in polycystic ovarian syndrome: implications for identifying hyperandrogenaemia. *Clin Endocrinol(Oxf)* 2008; 68:390–394.

Clayton RN, Ogden V, Hodgkinson J, Worswick L, Rodin DA, Dyer S, Meade TW. How common are polycystic ovaries in normal women and what is their significance for the fertility of the population? *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* 1992;37.

Coffler MS, Patel K, Dahan MH, Malcom PJ, Kawashima T, Deutsch R, Chang RJ. Evidence for abnormal granulosa cell responsiveness to FSH in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88, 1742-1747

Cole B, Hensinger K, Maciel GA, Chang RJ, Erickson GF. Human fetal ovary development involves the spatiotemporal expression of p450c17 protein. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:3654–3661.

Das K, Phipps WR, Hensleigh HC, Tagatz GE. Epidermal growth factor in human follicular fluid stimulates mouse oocyte maturation in vitro. *Fertil Steril* 1992; 57:895–901.

Diamanti-Kandarakis E. Polycystic ovarian syndrome: pathophysiology, molecular aspects and clinical implications. *Expert Rev Mol Med* 2008;10:e31–e21.

- Dumesic DA, Abbott DH. Implications of polycystic ovary syndrome on oocyte development. *Semin Reprod Med* 2008;26:53–61.
- Dumesic DA, Abbott DH, Padmanabhan V. Polycystic ovary syndrome and its developmental origins. *Rev Endocr Metab Disord*. 2007a (2):127-41.
- Dumesic DA, Padmanabhan V, Abbott DH. Polycystic ovary syndrome and oocyte developmental competence. *Obst Gyn Surv* 2007b;63:39–48.
- Dumesic DA, Schramm RD, Bird IM, Peterson E, Paprocki AM, Zhou R, Abbott DH. Reduced intrafollicular androstenedione and estradiol levels in early-treated prenatally androgenized female rhesus monkeys receiving FSH therapy for in vitro fertilization. *Biol Reprod* 2003;69:1213–121.
- Dumesic DA, Schramm RD, Peterson E, Paprocki AM, Zhou R, Abbott DH. Impaired developmental competence of oocytes in adult prenatally androgenized female rhesus monkeys undergoing gonadotropin stimulation for in vitro fertilization. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:1111–1119.
- Dumesic DA, Abbott DH, Eisner JR, Goy RW. Prenatal exposure of female rhesus monkeys to testosterone propionate increases serum luteinizing hormone levels in adulthood. *Fertil Steril* 1997;67:155–163.
- Eagleson CA, Gingrich MB, Pastor CL, Arora TK, Burt CM, Evans WS, Marshall JC. Polycystic ovarian syndrome: evidence that flutamide restores sensitivity of the gonadotropin-releasing hormone pulse generator to inhibition by estradiol and progesterone. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85: 4047–4052
- Eisner JR, Dumesic DA, Kemnitz JW, Colman RJ, Abbott DH. Increased adiposity in female rhesus monkeys exposed to androgen excess during early gestation. *Obes Res* 2003;11:279–286
- Eisner JR, Dumesic DA, Kemnitz JW, Abbott DH. Timing of prenatal androgen excess determines differential impairment in insulin secretion and action in adult female rhesus monkeys. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:1206–1210.
- Ehrmann DA. Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med*. 2005 Mar 24;352(12):1223-36.
- Erickson GF, Shimasaki S. The physiology of folliculogenesis: the role of novel growth factors. *Fertil Steril* 2001;76:943–949.
- Erickson GF, Chung DG, Sit A, DePaolo LV, Shimasaki S, Ling N. Follistatin concentrations in follicular fluid of normal and polycystic ovaries. *Human Reprod* 1995;10:2120–2124.
- 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. Family-based analysis of candidate genes for polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2010;95, 2306–2315.
- Fayez, J.A., Bunch, T.R. and Miller, G.L. (1974) Virilization in pregnancy associated with polycystic ovary disease. *Obstet. Gynecol.*, 44, 511–521.
- Ferriman D, Gallwey JD 1961 Clinical assessment of body hair growth in women. *J Clin Endocrinol Metab* 21:1440–1447

Foecking EM, Szabo M, Schwartz NB, Levine JF. Neuroendocrine consequences of prenatal androgen exposure in the female rat: absence of luteinizing hormone surges, suppression of progesterone receptor gene expression, and acceleration of the gonadotropin-releasing hormone pulse generator. *Biol Reprod* 2005;72:1475–1483.

Foong SC, Abbott DH, Zschunke MA, Lesnick TG, Phy JL, Dumesic DA. Follicle luteinization in hyperandrogenic follicles of polycystic ovary syndrome patients undergoing gonadotropin therapy for in vitro fertilization. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91.

Foster DL, Padmanabhan V, Wood RI, Robinson JE. Sexual differentiation of the neuroendocrine control of gonadotrophin secretion: concepts derived from sheep models. *Reprod Suppl* 2002;59:83–99.

Franks S, Stark J, Hardy K. Follicle dynamics and anovulation in polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update* 2008;14:367–378.

Franks, S. Diagnosis of polycystic ovarian syndrome: in defence of the Rotterdam criteria. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91, 786-789

Franks S, Robberts R, Hardy K. Gonadotrophin regimens and oocyte quality in women with polycystic ovaries. *Reprod Biomed Online* 2002;6:181–184.

Gitau R, Adams D, Fisk N, Glover V. Fetal plasma testosterone correlates positively with cortisol *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2005;90:F166–F169.

Gluckman PD, Hanson MA, Cooper C, Thornburg KL. Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease. *N Engl J Med* 2008;359:61–73.

Greaves R, Hunt RW, Zacharin M. Transient anomalies in genital appearance in some extremely preterm female infants may be the result of foetal programming causing a surge in LH and the over activation of the pituitary-gonadal axis. *Clin Endocrinol* 2008; 69:763–768.

Greisen, S., Ledet, T. and Ovesen, P. (2001) Effects of androstenedione, insulin and LH on steroidogenesis in human granulosa luteal cells. *Hum Reprod* 16, 2061-2065

Grimshaw GM, Sitarenios G, Finegan JK. Mental rotation at 7 years: relations with prenatal testosterone levels and spatial play experiences. *Brain Cogn* 1995;29:85–100.

Haisenleder DJ, Dalkin AC, Ortolano GA, Marshall JC, Shupnik MA. A pulsatile gonadotropin-releasing hormone stimulus is required to increase transcription of the gonadotropin subunit genes: evidence for differential regulation of transcription by pulse frequency in vivo. *Endocrinology* 1991;128:509-17.

Hall JE, Taylor AE, Hayes FJ, Crowley WF Jr. Insights into hypothalamic-pituitary dysfunction in polycystic ovary syndrome. *J Endocrinol Invest* 1998;21: 602–611

Hassan, M. A. & Killick, S. R. Ultrasound diagnosis of polycystic ovaries in women who have no symptoms of polycystic ovary syndrome is not associated with subfecundity or subfertility. *Fertil. Steril.* 2003;80, 966–975.

Hickey M, Sloboda DM, Atkinson HC, Doherty DA, Franks S, Norman RJ, Newnham JP, Hart R. The relationship between maternal and umbilical cord androgen levels and polycystic ovary syndrome in adolescence: a prospective cohort study. *Clin Endocrinol Metab.* 2009 Oct;94(10):3714-20.

Hofmann GE, Scott RT Jr, Brzyski RG, Jones HW Jr. Immunoreactive epidermal growth factor concentrations in follicular fluid obtained from in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1990;54:303–307.

Homburg R. Androgen circle of polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod*. 2009 Jul;24(7):1548-55.

Hogeveen KN, Cousin P, Pugeat M, Dewailly D, Soudan B, Hammond GL 2002 Human sex hormone-binding globulin variants associated with hyperandrogenism and ovarian dysfunction. *J Clin Invest* 109:973–981 36.

Hsieh M, Zamah AM, Conti M. Epidermal Growth Factor-Like Growth Factors in the Follicular Fluid: Role in Oocyte Development and Maturation. *Semin Reprod Med* 2009;27:52–61.

Huang, A., Brennan, K. & Azziz, R. Prevalence of hyperandrogenemia in the polycystic ovary syndrome diagnosed by the National Institutes of Health 1990 criteria. *Fertil. Steril.* 2010;93, 1938–1941.

Ibanez L, Potau N, Francois I, DeZegher F Precocious pubarche, hyperinsulinism, and ovarian hyperandrogenism in girls: relation to reduced fetal growth. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:3558–3562.

Ibanez L, Hall JE, Potau N, Carrascosa A, Prat N, Taylor AE Ovarian 17-hydroxyprogesterone hyperresponsiveness to gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist challenge in women with polycystic ovary syndrome is not mediated by luteinizing hormone hypersecretion—evidence from GnRH agonist and human chorionic gonadotropin stimulation testing. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:4103–4107

Jakimiuk AJ, Weitsman SR, Magoffin DA. 5 $\alpha$ -Reductase activity in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:2414–2418.

Jamnongjit M, Gill A, Hammes SR. Epidermal growth factor receptor signaling is required for normal ovarian steroidogenesis and oocyte maturation. *PNAS* 2005;102:16257–16262.

Jonard, S. and Dewailly, D. The follicular excess in polycystic ovaries, due to intraovarian hyperandrogenism, may be the main culprit for the follicular arrest. *Hum Reprod Update* 2004;10, 107-117

Kaiser UB, Sabbagh E, Katzenellenbogen RA, Conn PM, Chin WW. A mechanism for the differential regulation of gonadotropin subunit gene expression by gonadotropin-releasing hormone. *Physiology* 1995;92: 12280–12284

Klein NA, Battaglia DE, Woodruff TK, Padmanabhan V, Giudice LC, Bremner WJ, Soules MR. Ovarian follicular concentrations of activin, follistatin, inhibin, insulin-like growth factor I (IGF-I), IGF-II, IGF-binding protein-2 (IGFBP-2), IGFBP-3, and vascular endothelial growth factor in spontaneous menstrual cycles of normal women of advanced reproductive age. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:4520–4525.

Kwintkiewicz J, Giudice LC. The Interplay of Insulin-Like Growth Factors, Gonadotropins, and Endocrine Disruptors in Ovarian Follicular Development and Function. *Semin Reprod Med* 2009;27:43–51.

Legro RS, Driscoll D, Strauss JF 3rd, Fox J, Dunaif A. Evidence for a genetic basis for hyperandrogenemia in polycystic ovary syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95, 14956-14960

Levine JE, Terasawa E, Hoffman SM, Dobbert MJW, Foecking EM, Abbott DH. Luteinizing hormone(LH) hypersecretion and diminished LH responses to RU486 in a nonhuman primate model for polycystic ovary syndrome (PCOS). Abstract P1-85. 87th Annual Meeting of the Endocrine Society 2005:4-7. San Diego, CA, June.

Loumaye E, Engrand P, Shoham Z, Hillier SG, Baird DT. **Clinical evidence for an LH 'ceiling'** effect induced by administration of recombinant human LH during the late follicular phase of stimulated cycles in World Health Organization type I and type II anovulation. *Hum Reprod* 2003;18, 314-322

Luo, W. and Wiltbank, M.C. Distinct regulation by steroids of messenger RNAs for FSHR and CYP19A1 in bovine granulosa cells. *Biol Reprod* 2006;75, 217-225

Maciel GA, Baracat EC, Benda JA, Markham SM, Hensinger K, Chang RJ, Erickson GF. Stockpiling of transitional and classic primary follicles in ovaries of women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89, 5321-5327

Magendantz, H.G., Darnel Jones, D.E. and Schomberg, D.W. (1972) Virilization during pregnancy associated with polycystic ovary disease. *Obstet. Gynecol.*, 40, 156-162.

Manikkam, M.; Steckler, T.; Padmanabhan, V. Developmental programming: prenatal testosterone excess increases ovarian androgen receptors in fetal sheep. 40th Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction; July 22-25 2007; San Antonio, Tx.

Mather JP, Moore A, Li RH Activins and follistatins: further thoughts on growing family of regulators. *Proc Soc Exp Biol Med* 1997;215:209-222

Merke DP, Cutler GB Jr. New ideas for medical treatment of congenital adrenal hyperplasia. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2001;30: 121-135.

Morishima A, Grumbach MM, Simpson ER, Fisher C, Qin K Aromatase deficiency in male and female siblings caused by a novel mutation and the physiological role of estrogens. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:3689-3698.

Munir I, Yen HW, Geller DH, Torbati D, Bierden RM, Weitsman SR, Agarwal SK, Magoffin DA. Insulin augmentation of 17 $\alpha$ -hydroxylase activity is mediated by phosphatidylinositol 3-kinase but not extracellular signal-regulated kinase-1/2 in human ovarian theca cells. *Endocrinology* 2004;145, 175-183

Nelson VL, Qin KN, Rosenfield RL, Wood JR, Penning TM, Legro RS, Strauss JF 3rd, McAllister JM. The biochemical basis for increased testosterone production in theca cells propagated from patients with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:5925-33.

Nelson VL, Legro RS, Strauss JF III, McAllister JM. Augmented androgen production is a stable steroidogenic phenotype of propagated theca cells from polycystic ovaries. *Mol Endocrinol* 1999;13:946-57.

Nestler JE, Jakubowicz DJ, de Vargas AF, Brik C, Quintero N, Medina F. Insulin stimulates testosterone biosynthesis by human thecal cells from women with polycystic ovary syndrome by activating its own receptor and using inositolglycan mediators as the signal transduction system. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83: 2001–2005

Nestler JE Insulin-like growth factor II is a potent inhibitor of the aromatase activity of human placental cytotrophoblasts. *Endocrinology* 1990;127:2064–2070

Nestler JE Insulin and insulin-like growth factor-I stimulate the 3 - hydroxysteroid dehydrogenase activity of human placental cytotrophoblasts. *Endocrinology* 1989;125:2127–2133

Nestler JE Modulation of aromatase and P450 cholesterol side-chain cleavage enzyme activities of human placental cytotrophoblasts by insulin and insulin-like growth factor I. *Endocrinology* 1987;121:1845–1852

Norman RJ, Milner CR, Groome NP, Robertson DM. Circulating follistatin concentration are higher and activin concentrations are lower in polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod* 2001;16:668–672.

Ozornek MH, Bielfeld P, Krussel JS, Hirchenhain J, Jeyendran RS, Koldovsky U. Epidermal growth factor and leukemia inhibitory factor levels in follicular fluid. Association with in vitro fertilization outcome. *J Reprod Med* 1999;44:367–369.

Padmanabhan V, Manikkam M, Recabarren S, Foster D. Prenatal testosterone excess programs reproductive and metabolic dysfunction in the female. *Mol Cell Endocrinol* 2006;246:165–174.

Pastor CL, Griffin-Korf ML, Aloï JA, Evans WS, Marshall JC. Polycystic ovary syndrome: evidence for reduced sensitivity of the gonadotropin-releasing hormone pulse generator to inhibition by estradiol and progesterone. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83: 582–590

Patel SS, Carr BR. Oocyte quality in adult polycystic ovary syndrome. *Semin Reprod Med* 2008;26:196–203.

Payne AH & Jaffe RB Androgen formation from pregnenolone sulfate by the human fetal ovary. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1974;39 300–304.

Pellatt L, Hanna L, Brincat M, Galea R, Brain H, Whitehead S, Mason H. Granulosa cell production of antimüllerian hormone is increased in polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92, 240-245

Phocas I, Chryssikopoulos A, Sarandakou A, Rizos D, Trakakis E. A contribution to the classification of cases of non-classic 21-hydroxylase-deficient congenital adrenal hyperplasia. *Gynecol Endocrinol* 1995;9:229–238.

Phy JL, Conover CA, Abbott DH, Zschunke MA, Walker DL, Session DR, Tummon IS, Thornhill AR, Lesnick TG, Dumesic DA. Insulin and messenger ribonucleic acid expression of insulin receptor isoforms in ovarian follicles from nonhirsute ovulatory women and polycystic ovary syndrome patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89, 3561-3566.

Qiao J, Feng HL. Extra- and intra-ovarian factors in polycystic ovary syndrome: impact on oocyte maturation and embryo developmental competence. *Hum Reprod Update*. 2011 Jan-Feb;17(1):17-33.

Rebar R, Judd HL, Yen SS, Rakoff J, Vandenberg G, Naftolin F. Characterization of the inappropriate gonadotropin secretion in polycystic ovary syndrome. *J Clin Invest* 1976;57: 1320–1329

Resko JA, Buhl AE, Phoenix CH. Treatment of pregnant rhesus macaques with testosterone propionate: observations on its fate in the fetus. *Biol Reprod* 1987;37:1185–1191.

Resko, JA.; Ellinwood, WE. Sexual differentiation of the brain of primates. In: Serio, M.; Motta, M.; Zanisi, M.; Martini, L., editors. *Sexual Differentiation: Basic and Clinical Aspects*. New York: Raven Press; 1984;p.169-181.

Rice S, Ojha K, Whitehead S, Mason H. Stage-specific expression of androgen receptor, follicle-stimulating hormone receptor, and antimullerian hormone type II receptor in single, isolated, human preantral follicles: relevance to polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92, 1034-1040

Robinson JE, Birch RA, Foster DL, Padmanabhan V. Prenatal exposure of the ovine fetus to androgens sexually differentiates the steroid feedback mechanisms that control gonadotropin releasing hormone secretion and disrupts ovarian cycles. *Arch Sex Behav* 2002;31:35–41.

Rosenfield RL, Barnes RB, Cara JF & Lucky AW. Dysregulation of cytochrome P450c17a as the cause of polycystic ovarian syndrome. *Fertility and Sterility* 1990; 53(5): 785–791.

Rosner, W., Auchus, R. J., Azziz, R., Sluss, P. M. & Raff, H. Position statement: Utility, limitations, and pitfalls in measuring testosterone: an Endocrine Society position statement. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2007;92, 405–413.

Sarlis, N.J., Weil, S.J. and Nelson, L.M. Administration of metformin to a diabetic woman with extreme hyperandrogenemia of nontumoral origin: management of infertility and prevention of inadvertent masculinization of a female foetus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1999;84, 1510–1512.

**Sarma HN, Manikkam M, Herkimer C, Dell’Orco J, Welch KB, Foster DL, Padmanabhan V. Fetal programming: excess prenatal testosterone reduces postnatal luteinizing hormone, but not folliclestimulating hormone responsiveness, to estradiol negative feedback in the female. *Endocrinology* 2005;146:4281–4491. [PubMed: 15976056]**

Sir-Petermann T, Maliqueo M, Angel B, Lura HE, Perez-Bravo F, Recabarren SE. Maternal serum androgen in pregnant women with polycystic ovary syndrome: possible implications in prenatal androgenisation. *Hum Reprod* 2002;17:2573–2579.

Steckler TL, Robertts EK, Doop DD, Lee TM, Padmanabhan V. Developmental programming in sheep: administration of testosterone during 60–90 days of pregnancy reduces breeding success and pregnancy outcome. *Theriogenology* 2007;67:459–467.

Steckler T, Wang J, Bartol FF, Roy SK, Padmanabhan V. Fetal programming: prenatal testosterone treatment causes intrauterine growth retardation, reduces ovarian reserve and increases ovarian follicular recruitment. *Endocrinology* 2005;146:3185–3193.

Steiner RA, Clifton DK, Spies HG, Resko JA. Sexual differentiation and feedback control of luteinizing hormone secretion in the rhesus monkey. *Biol Reprod* 1976;15:206–212.

Stikkelbroeck NM, Hermus ER, Braat DD, Otten BJ. Fertility in women with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Obstet Gynecol Surv* 2003;58:275–284.



Sullivan SD, Moenter SM. Prenatal androgens alter GABAergic drive to gonadotropin-releasing hormone neurons: implications for a common fertility disorder. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:7129–7134

Tao, Z. and Yan, L. Luteinizing hormone and insulin inducing earlier and excess expression of luteinizing hormone receptor messenger ribonucleic acids in granulosa cells of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2005;84, S426-S427

Tesarik J, Mendoza C. Direct non-genomic effects of follicular steroids on maturing human oocytes: oestrogen versus androgen antagonism. *Hum Reprod Update* 1997;3:95–100.

Thiboutot D, Archer DF, Lemay A, Washenik K, Roberts J, Harrison DD A randomized, controlled trial of a low-dose contraceptive containing 20 microg of ethinyl estradiol and 100 microg of levonorgestrel for acne treatment. *Fertil Steril* 2001;76:461–468

Urbanek M, Sam S, Legro RS, Dunaif A. Identification of a polycystic ovary syndrome susceptibility variant in fibrillin-3 and association with a metabolic phenotype. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;91:1660–1666.

Vendola K, Zhou J, Wang J, Bondy CA. Androgens promote insulin-like growth factor-I and insulinlike growth factor-I receptor gene expression in the primate ovary. *Hum Reprod* 1999A;14:2328– 2332.

Vendola K, Zhou J, Wang J, Bondy CA. Androgens promote insulin-like growth factor-I and insulinlike growth factor-I receptor gene expression in the primate ovary. *Hum Reprod* 1999;14, 2328-2332

Vendola KA, Zhou J, Adesanya OO, Weil SJ, Bondy CA. Androgens stimulate early stages of follicle growth in the primate ovarian. *J Clin Invest* 1998;101:2622–2629. [PubMed: 9637695]

Waldstreicher J, Santoro NF, Hall JE, Filicori M, Crowley WF Jr. Hyperfunction of the hypothalamic-pituitary axis in women with polycystic ovarian disease: indirect evidence for partial gonadotroph desensitization. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;66:165-72.

Weenen C, Laven J, Von Bergh A, Cranfield M, Groome N, Visser J, Kramer P, Fauser B, Themmen A. Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. *Mol Hum Reprod* 2004;10:77–83.

Weil S, Vendola K, Zhou J, Bondy CA. Androgen and follicle-stimulating hormone interactions in primate ovarian follicle development. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:2951–2956.

Weil SJ, Vendola K, Zhou J, Adesanya OO, Wang J, Okafor J, Bondy CA. Androgen receptor gene expression in the primate ovary: cellular localization, regulation, and functional correlations. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:2479–2485.

West C, Foster DL, Evans NP, Robinson J, Padmanabhan V. Intra-follicular activin availability is altered in prenatally-androgenized lambs. *Mol Cell Endocrinol* 2001;185:51–59.

Westergaard LG, Andersen CY. Epidermal growth factor (EGF) in human preovulatory follicles. *Hum Reprod* 1989;4:257–260.

Wong I. L., Morris R. S., Lobo R. A., Paulson R. J. & Sauer M. V. Isolated polycystic morphology in ovum donors predicts response to ovarian stimulation. *Hum. Reprod.* 1995;10, 524–528.

Wood RI, Mehta V, Herbosa CG, Foster DL. Prenatal testosterone differentially masculinizes tonic and surge modes of luteinizing hormone secretion in the developing sheep. *Neuroendocrinology* 1995;62:238–247.

Wood JR, Ho CK, Nelson-Degrave VL, McAllister JM, Strauss JF 3rd. The molecular signature of PCOS theca cells defined by gene expression profiling. *J Reprod Immunol* 2004;63, 51-60

Xita N, Georgiou I, Lazaros L, Psofaki V, Kolios G, Tsatsoulis A. The role of sex hormone-binding globulin and androgen receptor gene variants in the development of polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2008; 23:693–698

Xita N, Tsatsoulis A. Review: fetal programming of polycystic ovary syndrome by androgen excess: evidence from experimental, clinical, and genetic association studies. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006 May;91(5):1660-6

Yen SSc, Laughlin GA, Morales AJ. Interface between extra-and intraovarian factors in polycystic ovarian syndrome. *Ann NY Acad Sci* 1993;687:98–111.

Yildiz, B. O., Bolour, S., Woods, K., Moore, A. & Azziz, R. Visually scoring hirsutism. *Hum. Reprod. Update* 2010;16, 51–64.

Zeleznik, J., Little-Ihrig, L. and Ramasawamy, S. Administration of dihydrotestosterone to rhesus monkeys inhibits gonadotropin-stimulated ovarian steroidogenesis. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89, 860-866

Zhao SY, Qiao J, Chen YJ, Liu P, Li J, Yan J. Expression of growth differentiation factor-9 and bone morphogenetic protein-15 in oocytes and cumulus granulosa cells of patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2010; 94:261–267.

Zhou R, Bird IM, Dumesic DA, Abbott DH. Adrenal hyperandrogenism is induced by fetal androgen excess in a rhesus monkey model of polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:6630–6637.

Zhou R, Bruns CM, Bird IM, Kemnitz JW, Goodfriend TL, Dumesic DA, Abbott DA. Pioglitazone improves insulin action and normalizes menstrual cycles in a nonhuman primate model of polycystic ovary syndrome. *Reprod Toxicol* 2007;23:438–448.