

*στους γονείς μου Κυριάκο και Μαλαματή Κατσίκη με σεβασμό*

## I. ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η μονογραφία του κ. Ηλία Κατσίκη, Μαιευτήρα-Γυναικολόγου, Διδάκτωρα του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, για το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS) αποτελεί πολύτιμη συνεισφορά στην ελληνική ιατρική βιβλιογραφία, δεδομένου ότι το σύνδρομο αυτό παρατηρείται στο 8-10% των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας. Ο όρος PCOS, βέβαια, δεν είναι ο καλύτερος δυνατός, πρώτον γιατί η λέξη σύνδρομο χρησιμοποιείται, κυρίως, για σταθερό συνδυασμό συμπτωμάτων ή κλινικοεργαστηριακών ευρημάτων, κάτι που δεν ισχύει για το PCOS, και δεύτερον γιατί ο όρος αυτός χρησιμοποιείται ακόμη και για περιπτώσεις στις οποίες δεν υπάρχει πολυκυστική μορφολογία των ωοθηκών στο υπερηχογράφημα. Για τους λόγους αυτούς άλλωστε έχουν προταθεί διάφορες άλλες ονομασίες για το κλινικοεργαστηριακό αυτό σύνδρομο. Εντούτοις, η χρησιμοποίηση του όρου PCOS είναι δικαιολογημένη, μια και με τον όρο αυτό μπορούν να συνεννοούνται οι γιατροί μεταξύ τους.

Στη μονογραφία αυτή ο κ. Κατσίκης αναφέρεται σε τέσσερα κεφάλαια του συνδρόμου των πολυκυστικών ωοθηκών. Το πρώτο κεφάλαιο πραγματεύεται την ταξινόμηση των γυναικών με το σύνδρομο, τόσο με τα κριτήρια του 1990 όσο και με τα κριτήρια του 2003. Ο συγγραφέας αναφέρεται σε ομάδα 715 γυναικών με PCOS, μια από τις μεγαλύτερες ομάδες στη διεθνή βιβλιογραφία. Η συμβολή του κ. Κατσίκη στον έλεγχο των γυναικών αυτών ήταν πολύ σημαντική. Το δεύτερο, το τρίτο και το τέταρτο κεφάλαιο της μονογραφίας πραγματεύονται τις θεωρίες, που υπάρχουν σήμερα, για την ερμηνεία της υπερανδρογοναιμίας, της πολυκυστικής μορφολογίας και της ανωοθυλακιορρηξίας. Η ενδο-ωοθηκική υπερανδρογοναιμία αποδίδεται, κυρίως, σε μια κληρονομική στεροειδογεννητική διαταραχή στα κύτταρα της έσω θήκης των ωοθυλακίων γυναικών με PCOS. Εξάλλου, οι ενδο-ωοθηκική υπερανδρογοναιμία μπορεί να προάγει την πρόωμη ανάπτυξη των ωοθυλακίων, οδηγώντας σε περίσσεια ωοθυλακίων με διάμετρο 2-5mm (πολυκυστική μορφολογία των ωοθηκών). Τέλος, ο υπερβολικός αριθμός των διαθέσιμων προς επιλογή ωοθυλακίων θα μπορούσε να αναστέλλει τη διαδικασία της επιλογής, ενδεχομένως μέσω αλληλεπίδρασης μεταξύ των ωοθυλακίων και μέσω ουσιών, που παράγονται από τα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας των ωοθυλακίων, όπως η αντι-μουλλεριανική ορμόνη (AMH).

Κύρια χαρακτηριστικά της μονογραφίας η πληρότητα της βιβλιογραφικής ενημέρωσης, η

λεπτομερειακή, αλλά ταυτόχρονα και κριτική, παρουσίαση των δεδομένων, η σαφήνεια της όλης παρουσίασης, η γλαφυρότητα του ύφους και η εξαιρετη χρησιμοποίηση της δημοτικής γλώσσας. Ακόμη, χάρις σε ορισμένες επαναλήψεις, πιθανότατα σκόπιμες, το κάθε ένα από τα κεφάλαια της μονογραφίας αυτής μπορεί να διαβασθεί ως αυτοτελές κείμενο.

Στον κ. Ηλία Κατσίκη, που είναι γνωστός για την εργατικότητα του, τη συστηματικότητά του και το κριτικό του πνεύμα, χαρακτηριστικά που είναι έκδηλα και στη μονογραφία αυτή, αξίζει κάθε έπαινος για το πόνημά του αυτό, που, ασφαλώς, θα είναι πολύτιμο σε όλους τους κλινικούς γιατρούς που αντιμετωπίζουν γυναίκες με το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών.

Δημήτριος Κ. Πανίδης Καθηγητής Ενδοκρινολογίας του Α.Π.Θ.

## II. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το 1935 ο Stein και ο Leventhal δημοσίευσαν την πρώτη ξεκάθαρη κλινική περιγραφή ενός συνδρόμου, που σήμερα αποκαλείται το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS), σε υπογόνιμες γυναίκες, οι οποίες ήταν, συνήθως, παχύσαρκες και εμφάνιζαν υπερτρίχωση, διαταραχές της εμμήνου ρύσεως και διογκωμένες ωοθήκες με περιφερικές κύστεις<sup>(1)</sup>. Η εξαίρεση τμήματος της ωοθήκης, με κωνοειδή εκτομή, οδηγούσε σε αποκατάσταση της γονιμότητας στην πλειονότητα των γυναικών με το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών. Η εικόνα του συνδρόμου έχει, πλέον, διευρυνθεί με την ανεύρεση αντίστασης στην ινσουλίνη σε σημαντικό αριθμό περιπτώσεων<sup>(2-5)</sup>.

Οι νέες ερευνητικές τεχνικές απέτυχαν, μέχρι σήμερα, να αναδείξουν την υποκείμενη αιτία του συνδρόμου, παρά την παρουσία χρόνιας ολιγοή ανωθυλακιορρηξίας, βιοχημικής υπερανδρογοναιμίας ή υπερανδρογονισμού (κλινικές εκδηλώσεις υπερανδρογοναιμίας με φυσιολογικά επίπεδα ανδρογόνων ορού) και χαρακτηριστικών υπερηχογραφικών ευρημάτων πολυκυστικής μορφολογίας των ωοθηκών στις περισσότερες ασθενείς<sup>(4)</sup>. Η διατλαντική διαφωνία, όσον αφορά τα διαγνωστικά κριτήρια του PCOS, αντανάκλαται από τη σημασία που δίνουν οι γιατροί στα κλινικά, ενδοκρινικά και υπερηχογραφικά ευρήματα. Σύμφωνα με τα κριτήρια που τέθηκαν το 1990 (National Institute of Health/National Institutes of Child Health and Human Development), η διάγνωση του συνδρόμου των πολυκυστικών ωοθηκών πρέπει να τίθεται όταν συνυπάρχουν χρόνια ολιγο- ή ανωθυλακιορρηξία και βιοχημική υπερανδρογοναιμία ή υπερανδρογονισμός, ύστερα από τον αποκλεισμό των άλλων γνωστών αιτίων που προκαλούν αυτές τις διαταραχές<sup>(6,7)</sup>.

Στα αίτια αυτά υπάγονται η συγγενής υπερπλασία των επινεφριδίων όψιμης έναρξης, το σύνδρομο Cushing, η πρόωμη ωοθηκική ανεπάρκεια, η παχυσαρκία, οι αρρενοποιητικοί όγκοι των ωοθηκών και των επινεφριδίων, η υπερπρωλακτιναιμία, ο υποθυρεοειδισμός, η μεγαλακρία και διάφορα φάρμακα.

Τα κριτήρια του 1990 αναθεωρήθηκαν το 2003 από το Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group<sup>(7,8)</sup>. Σύμφωνα με τα κριτήρια αυτά, η διάγνωση του PCOS τίθεται όταν η γυναίκα εμφανίζει δύο από τα τρία συμπτώματα ή ευρήματα, που είναι η χρόνια

ολιγο- ή ανωθυλακιόρρηξη, η βιοχημική υπερανδρογοναιμία ή ο υπερανδρογονισμός και η πολυκυστική μορφολογία των ωοθηκών (όγκος της μίας ή και των δύο ωοθηκών  $>10\text{cm}^3$ , αριθμός μικρών ωοθυλακίων διαμέτρου 2-8 mm  $\geq 12$  στη μία ή και στις δύο ωοθήκες). Για τη διάγνωση του συνδρόμου των πολυκυστικών ωοθηκών και με τα κριτήρια αυτά, πρέπει να αποκλεισθούν τα γνωστά αίτια που προκαλούν χρόνια ανωθυλακιόρρηξη και υπερανδρογοναιμία. Τα κριτήρια αυτά δεν έχουν παγκόσμια αποδοχή, ιδιαίτερα στις ΗΠΑ, όπου ο ρόλος των υπερηχογραφικών ευρημάτων αμφισβητείται <sup>(9)</sup>.

### III. ΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΟΣ ΧΑΡΤΗΣ ΤΟΥ PCOS

Στη Β' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική ελέγχθηκαν 715 γυναίκες με τα χαρακτηριστικά του συνδρόμου των πολυκυστικών ωοθηκών. Οι γυναίκες αυτές κατατάχθηκαν σύμφωνα με τα κριτήρια που τέθηκαν από το National Institute of Health-National Institutes of Child Health and Human Development (NIH-NICHHD) το 1990 και από το Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group το 2003 <sup>(10)</sup>. Σκοπός της μελέτης ήταν ο προσδιορισμός των επιπλέον γυναικών που χαρακτηρίζονται ως PCOS, καθώς και οι ενδεχόμενες ευνοϊκές ή οι δυσμενείς συνέπειες που προκύπτουν από το χαρακτηρισμό των επιπλέον αυτών γυναικών ως PCOS, σύμφωνα με τα νεότερα κριτήρια.

Μελετήθηκαν, λοιπόν, 715 γυναίκες, ηλικίας 11-39 ετών (μέση τιμή  $\pm$ σταθερή απόκλιση:  $23,61\pm 5,53$  έτη) με δείκτη μάζας σώματος (BMI)  $26,78\pm 6,96$  kg/m<sup>2</sup>, οι οποίες προσήλθαν στο Εξωτερικό Ιατρείο Γυναικολογικής Ενδοκρινολογίας με ένα ή περισσότερα από τα παρακάτω συμπτώματα και σημεία: ολιγομηνόρροια, πρόβλημα γονιμότητας, υπερτρίχωση, ακμή, απόπτωση των τριχών της κεφαλής ανδρικού τύπου και παχυσαρκία. Επιπλέον, εκτιμήθηκαν 110 εθελόντριες, ηλικίας 17-39 ετών ( $29,57\pm 5,71$  έτη) με BMI  $25,67\pm 6,66$  kg/m<sup>2</sup>, οι οποίες παρουσίαζαν φυσιολογικούς ωοθυλακιόρρηκτικούς κύκλους, διάρκειας  $28\pm 2$  ημερών (προγεστερόνη ορού  $>10$  ng/ml σε δύο συνεχόμενους εμμηνορρυσιακούς κύκλους), χωρίς βιοχημική υπερανδρογοναιμία ή υπερανδρογονισμό και χωρίς πολυκυστική μορφολογία των ωοθηκών (μάρτυρες: M). Συνολικά μελετήθηκαν 825 γυναίκες. Καμία από τις γυναίκες δεν παρουσίαζε γαλακτόρροια και συστηματικές ή άλλες παθήσεις, που θα μπορούσαν να επηρεάσουν τη λειτουργία του γεννητικού άξονα. Επίσης, καμία γυναίκα δεν ανέφερε λήψη φαρμάκων το τελευταίο εξάμηνο, που θα μπορούσαν να επηρεάσουν τη λειτουργία του άξονα υποθάλαμο-υπόφυση-ωοθήκες.

Η αρχική κατάταξη των 715 γυναικών έγινε με τα κριτήρια που τέθηκαν για τη διάγνωση του PCOS από το National Institute of Health-National Institute of Child Health and Human Development (NIH-NICHHD) το 1990 <sup>(9)</sup>. Σύμφωνα με τα κριτήρια αυτά, σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών παρουσίαζαν οι 599 από τις 715 γυναίκες. Συγκεκριμένα, οι 329 γυναίκες, ηλικίας  $22,96\pm 4,91$  ετών με BMI  $26,76\pm 6,69$  kg/m<sup>2</sup> (ομάδα 1Α), εμφάνιζαν χρόνια ολιγο- ή ανωθυλακιόρρηξη (κύκλοι  $>50$  ημέρες), βιοχημική υπερανδρογοναιμία (ολική

τεστοστερόνη ορού >60 ng/dl) και πολυκυστική μορφολογία των ωοθηκών στο υπερηχογράφημα (αριθμός ωοθυλακίων σε κάθε ωοθήκη  $\geq 12$  ή / και όγκος ωοθηκών  $>10 \text{ cm}^3$ ). Εξάλλου, οι 38 γυναίκες, ηλικίας  $25,37 \pm 5,92$  ετών με BMI  $26,67 \pm 6,85 \text{ kg/m}^2$  (ομάδα 1B), παρουσίαζαν χρόνια oligo- ή ανωοθυλακιόρρηξια, υπερανδρογονισμό ή κλινική υπερανδρογοναιμία (δείκτης Ferriman-Gallwey  $>8$ ), με φυσιολογικά επίπεδα ανδρογόνων ορού, και πολυκυστική μορφολογία των ωοθηκών. Ακόμη, οι 181 γυναίκες, ηλικίας  $23,51 \pm 5,65$  ετών με BMI  $27,12 \pm 6,92 \text{ kg/m}^2$  (ομάδα 2A), εμφάνιζαν χρόνια oligo-ή ανωοθυλακιόρρηξια και βιοχημική υπερ ανδρογοναιμία. Τέλος, οι 51 γυναίκες, ηλικίας  $24,89 \pm 6,59$  ετών με BMI  $26,78 \pm 8,76 \text{ kg/m}^2$  (ομάδα 2B), παρουσίαζαν χρόνια oligo- ή ανωοθυλακιόρρηξια και υπερανδρογονισμό.

Στη συνέχεια, οι 715 γυναίκες κατατάχθηκαν με τα κριτήρια που τέθηκαν για τη διάγνωση του PCOS από το Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group το 2003<sup>(7,8)</sup>. Σύμφωνα με τα κριτήρια αυτά, σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών παρουσίαζαν όλες οι γυναίκες (Πίνακας 1). Συγκεκριμένα, οι 329 γυναίκες ανήκαν στην ομάδα 1 A, οι 38 στην ομάδα 1 B, οι 181 στην ομάδα 2 A και οι 51 στην ομάδα 2 B, όπως με τα κριτήρια του 1990. Με τα νέα, όμως, κριτήρια δημιουργήθηκαν τρεις επιπλέον ομάδες με PCOS. Έτσι, 44 γυναίκες, ηλικίας  $24,61 \pm 5,42$  ετών με BMI  $26,02 \pm 5,82 \text{ kg/m}^2$  (ομάδα 3 A), εμφάνιζαν βιοχημική υπερανδρογοναιμία και πολυκυστική μορφολογία των ωοθηκών, 11 γυναίκες, ηλικίας  $23,36 \pm 5,14$  ετών με BMI  $23,52 \pm 3,97 \text{ kg/m}^2$  (ομάδα 3 B), παρουσίαζαν υπερανδρογονισμό και πολυκυστική μορφολογία των ωοθηκών και 61 γυναίκες, ηλικίας  $24,63 \pm 6,68$  ετών με BMI  $27,87 \pm 8,95 \text{ kg/m}^2$  (ομάδα PCOS 4), χρόνια oligo- ή ανωοθυλακιόρρηξια και πολυκυστική μορφολογία των ωοθηκών. Ο αριθμός, δηλαδή, των γυναικών με PCOS αυξήθηκε κατά 19,37%.

Σε όλες τις γυναίκες έγινε αιμοληψία για τον προσδιορισμό των βασικών επιπέδων της θυλακιότροπου ορμόνης (FSH), της ωχρινοτρόπου ορμόνης (LH), της προλακτίνης (PRL), της τεστοστερόνης (T), της Δ4ανδροστενδιόνης (Δ4-A) και της θειικής δεϋδροεπιανδροστερόνης (DHEA-S). Επιπλέον, προσδιορίστηκαν τα επίπεδα της 17α-OH προγεστερόνης (17OHP), της σφαιρίνης που δεσμεύει τις ορμόνες του φύλου (SHBG), της θυρεοτρόπου ορμόνης (TSH), της ελεύθερης θυροξίνης (FT4), της ινσουλίνης (Ins) και της γλυκόζης (Glu). Στη συνέχεια, έγινε η δοκιμασία φόρτισης με 75 gr γλυκόζης από το στόμα (OGTT) και οι αιμοληψίες επαναλήφθηκαν στα 30, 60, 90 και 120 λεπτά.

Οι αιμοληψίες για τον προσδιορισμό των παραπάνω παραμέτρων και η δοκιμασία φόρτισης με γλυκόζη από το στόμα έγιναν μεταξύ της τρίτης και της έβδομης ημέρας αυτόματου εμμηνορρυσιακού κύκλου, στις 9 π.μ., ύστερα από ολονύκτια νηστεία. Την ίδια ημέρα έγινε και υπερηχογραφικός έλεγχος των έσω γεννητικών οργάνων.

Τα ανθρωπομετρικά, τα ορμονικά και τα υπερηχογραφικά χαρακτηριστικά των 715 γυναικών με PCOS και των 110 μαρτύρων παρουσιάζονται στους Πίνακες 2,3 και 5, ενώ οι τιμές της γλυκόζης κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας φόρτισης με 75 gr γλυκόζης από το στόμα φαίνονται στον Πίνακα 4. Η κατάσταση των 715 γυναικών, που παρουσίαζαν χαρακτηριστικά του συνδρόμου των πολυκυστικών ωοθηκών, με τα κριτήρια του 1990<sup>(6)</sup>, έδειξε ότι οι 599 γυναίκες παρουσίαζαν PCOS. Με βάση την κατάταξη αυτή, διακρίθηκαν τέσσερις τύποι του συνδρόμου. Ο πρώτος τύπος (τύπος 1 A) περιλάμβανε 329 γυναίκες (54.9%) με χρόνια oligoή ανωοθυλακιόρρηξια,

βιοχημική υπερανδρογοναιμία και πολυκυστική μορφολογία των ωθηκών (Πίνακες 1,2,3 και 5). Στο δεύτερο τύπο (τύπος 1 B) ανήκαν 38 γυναίκες (6,4%) με χρόνια oligo- ή ανωθυλακιορρηξία, κλινική υπερανδρογοναιμία ή υπερανδρογονισμό (τα επίπεδα των ανδρογόνων στον ορό ήταν φυσιολογικά) και πολυκυστική μορφολογία των ωθηκών (Πίνακες 1,2,3 και 5). Ο τρίτος τύπος (τύπος 2 A) αποτελούνταν από 181 γυναίκες (30,2%) με χρόνια oligo- ή ανωθυλακιορρηξία, βιοχημική υπερανδρογοναιμία, αλλά χωρίς πολυκυστική μορφολογία των ωθηκών (Πίνακες 1,2,3 και 5). Ο τέταρτος, τέλος, τύπος (τύπος 2 B) περιλάμβανε 51 γυναίκες (8,5%) με χρόνια oligo- ή ανωθυλακιορρηξία, κλινική υπερανδρογοναιμία ή υπερανδρογονισμό, αλλά χωρίς πολυκυστική μορφολογία των ωθηκών (Πίνακες 1,2,3 και 5).

Πίνακας 1: Ταξινόμηση των γυναικών με PCOS σύμφωνα με τα κριτήρια που τέθηκαν το 2003 (Η ονομασία των ομάδων προτάθηκε από τον J.E Nestler στο International Meeting of Androgen Excess Society στη Λισσαβόνα, τον Αύγουστο του 2004)

Εξάλλου, η κατάταξη των 715 γυναικών με τα κριτήρια του 2003 <sup>(7,8)</sup> έδειξε ότι όλες οι γυναίκες εμφάνιζαν το σύνδρομο των πολυκυστικών ωθηκών, δεδομένου ότι προστέθηκαν τρεις ακόμη τύποι. Έτσι, στους τύπους 1 A, 1 B, 2 A και 2 B, που περιλάμβαναν 329 (46,0%), 38 (5,3%), 181 (25,3%) και 51 (7,1%) γυναίκες, αντίστοιχα, προστέθηκαν ο τύπος 3 A, στον οποίο ανήκαν 44 γυναίκες (6,2%) με βιοχημική υπερανδρογοναιμία και πολυκυστική μορφολογία των ωθηκών, αλλά με φυσιολογικούς ωθυλακιορρηκτικούς κύκλους, ο τύπος 3 B, ο οποίος περιλάμβανε 11 γυναίκες (1,6%) με κλινική υπερανδρογοναιμία ή υπερανδρογονισμό και πολυκυστική μορφολογία των ωθηκών, αλλά με φυσιολογικούς ωθυλακιορρηκτικούς κύκλους και φυσιολογικά επίπεδα ανδρογόνων ορού και ο τύπος 4, ο οποίος αποτελούνταν από 61 γυναίκες (8,5%) με χρόνια oligo- ή ανωθυλακιορρηξία και πολυκυστική μορφολογία των ωθηκών, αλλά με φυσιολογικά επίπεδα ανδρογόνων ορού και χωρίς υπερανδρογονισμό (Πίνακες 1-5).

Πίνακας 2: Ανθρωπομετρικά στοιχεία των γυναικών των επτά ομάδων με PCOS (1A, 1B, 2A, 2B, 3A, 3B, PCOS 4) και των μαρτύρων (μέση τιμή ± SD).

Στην παραπάνω μελέτη, οι γυναίκες μιας μεγάλης ομάδας με τα χαρακτηριστικά του συνδρόμου των πολυκυστικών ωθηκών κατατάχθηκαν με τα κριτήρια του 1990 <sup>(6)</sup>, καθώς και με τα κριτήρια του 2003 <sup>(7,8)</sup>. Κατά την κατάταξη των γυναικών αυτών με τα κριτήρια του 2003, 116 επιπλέον γυναίκες (19,4%) χαρακτηρίστηκαν ως PCOS. Έτσι, ενώ με τα κριτήρια του 1990 οι γυναίκες με PCOS ήταν 599, με τα κριτήρια του 2003 έφθασαν τις 715. Με τα κριτήρια, δηλαδή, του 2003, τρεις επιπλέον τύποι ή δύο φαινότυποι προστέθηκαν στο PCOS: α) ωθυλακιορρηκτικές γυναίκες με πολυκυστική μορφολογία των ωθηκών και υπερανδρογοναιμία (τύπος 3 A) ή υπερανδρογονισμό (τύπος 3 B) και β) oligo- ή ανωθυλακιορρηκτικές γυναίκες με πολυκυστική μορφολογία των ωθηκών, αλλά χωρίς υπερανδρογοναιμία ή υπερανδρογονισμό. Σε μια πρόσφατη μελέτη, από τον Carmina και τους συνεργάτες του (11) με 326 γυναίκες, οι επιπλέον γυναίκες που διαγνώστηκαν ως PCOS με τα νέα κριτήρια ήταν 21,4%.

Πίνακας 3: Ορμονικά ευρήματα στις γυναίκες των επτά ομάδων με PCOS (1A, 1B, 2A, 2B, 3A, 3B, PCOS 4 ) και των μαρτύρων(M) (μέση τιμή ± SD)

18

Η κατάταξη των 715 γυναικών, σύμφωνα με τα κριτήρια του 2003, έδειξε ότι οι 554 γυναίκες (77,5%) παρουσίαζαν βιοχημική υπερανδρογοναιμία (τύποι 1 A, 2 A, 3 A). Εξάλλου, οι 100 γυναίκες (14%) εμφάνιζαν κλινική υπερανδρογοναιμία ή υπερανδρογονισμό (τύποι 1 B, 2 B, 3 B) (Πίνακας 3). Είναι ενδιαφέρον να αναφερθεί ότι τόσο με τα κριτήρια του 1990 όσο και με τα κριτήρια του 2003, δεν γίνεται διάκριση ανάμεσα στη βιοχημική υπερανδρογοναιμία και στην κλινική υπερανδρογοναιμία ή υπερανδρογονισμό. Δεν γίνεται, δηλαδή, διάκριση ανάμεσα στην ιδιοπαθή υπερανδρογοναιμία (υπερανδρογοναιμία του PCOS) και στην ιδιοπαθή υπερτρίχωση, και τα δύο αυτά σύνδρομα θεωρούνται ότι αποτελούν την ίδια οντότητα. Εντούτοις, πρέπει να διατηρηθεί η διάκριση ανάμεσα στις δύο αυτές διαταραχές, για τις οποίες χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση.

Πίνακας 4: Τιμές γλυκόζης (mg/dl) κατά τη δοκιμασία φόρτισης με 75g γλυκόζης από το στόμα (OGTT) στις γυναίκες των επτά ομάδων με PCOS (1A, 1B, 2A, 2B, 3A, 3B, PCOS 4) και στις μάρτυρες (M) (μέση τιμή ± SD)

Πίνακας 5: Υπερηχογραφικά ευρήματα στις γυναίκες των επτά ομάδων με PCOS (1A, 1B, 2A, 2B, 3A, 3B, PCOS 4) και στις μάρτυρες (M) (μέση τιμή ± SD)

Το συχνότερο χαρακτηριστικό των γυναικών με PCOS ήταν η χρόνια ολιγο- ή ανωθυλακιωρηξία. Έτσι, χρόνια ολιγο- ή ανωθυλακιωρηξία παρουσίαζαν 660 γυναίκες (92,3%). Εξάλλου, πολυκυστική μορφολογία των ωοθηκών, που διαγνώσθηκε είτε από τον μεγάλο αριθμό των μικρών ωοθυλακίων ( $\geq 12$ ), διαμέτρου 2-9 mm, ή από τον αυξημένο όγκο των ωοθηκών ( $>10 \text{ cm}^3$ ) εμφάνιζαν οι 483 γυναίκες (67,6%). Τα ευρήματα αυτά στηρίζουν την άποψη ότι τα χαρακτηριστικά του συνδρόμου των πολυκυστικών ωοθηκών παρουσιάζονται με την εξής σειρά συχνότητας: χρόνια ολιγο- ή ανωθυλακιωρηξία (92,3%), βιοχημική υπερανδρογοναιμία (77,5%), πολυκυστική μορφολογία των ωοθηκών (67,6%) και υπερανδρογονισμό (14%).

Το ερώτημα που προκύπτει ύστερα από την κατάταξη των γυναικών με το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών, σύμφωνα με τα κριτήρια του 2003, αφορά τις ενδεχόμενες δυσμενείς ή ευνοϊκές επιπτώσεις από την αποδοχή των δύο νέων φαινοτύπων του PCOS (τύποι: 3A, 3B και PCOS 4). Μολονότι οι διαδικασίες της Συνόδου του Rotterdam αναγνώρισαν το γεγονός ότι τα κριτήρια μπορεί να μην ήταν κατάλληλα για τις δοκιμασίες που επικεντρώνονται στα κλινικά σημεία των γυναικών με PCOS, στην πραγματικότητα οι γυναίκες αυτές αντιμετωπίζονται ως PCOS. Επιπλέον, καθώς τα κριτήρια αυτά αυξάνουν τη φαινοτυπική ετερογένεια του συνδρόμου, η χρήση τους μειώνει, ενδεχομένως, τις δυνατότητες γενετικών και άλλων μοριακών ερευνών να συμβάλλουν στην εντόπιση μιας κοινής υποκείμενης διαταραχής. Ακόμη, η χρησιμοποίηση αυτών των κριτηρίων εμποδίζει τη μελλοντική έρευνα, δεδομένου ότι θεωρείται βέβαιο ότι οι γυναίκες με

τους δύο νέους φαινοτύπους παρουσιάζουν υψηλότερα ποσοστά παραγόντων κινδύνου για την υγεία τους (μεταβολικές και καρδιαγγειακές παθήσεις) από το γενικό πληθυσμό, όπως και οι γυναίκες με κλασσικό PCOS, παρά την έλλειψη αποδείξεων προς τη συγκεκριμένη κατεύθυνση. Τέλος, τα κριτήρια αυτά έχουν δυνητικά αρνητική οικονομική επίδραση στην ασφάλιση των γυναικών, που διαγιγνώσκονται, πιθανόν, πρόωρα ως ασθενείς με PCOS<sup>(9,12-20)</sup>.

Πρέπει, πάντως, να τονισθεί ότι η ανεύρεση πολυκυστικής μορφολογίας των ωοθηκών μπορεί να βοηθήσει στην πρόβλεψη της απάντησης κατά την πρόκληση πολλαπλής ωοθυλακιορρηξίας. Έτσι, οι γυναίκες με πολλά μικρά ωοθυλάκια ( $\geq 12$ ) είναι περισσότερο ευαίσθητες στη διέγερση με γοναδοτροπίνες σε σύγκριση με τις υπόλοιπες γυναίκες, δεδομένου ότι διαθέτουν μεγαλύτερη δεξαμενή διαθέσιμων μικρών ωοθυλακίων για εξέλιξη<sup>(21)</sup>. Εντούτοις, το ενδεχόμενο αυτό μπορεί να ληφθεί υπόψη κατά την έναρξη της θεραπείας με γοναδοτροπίνες, οπότε γίνεται υπερηχογραφική εκτίμηση των ωοθηκών, χωρίς να απαιτείται προηγούμενη διάγνωση του PCOS.

#### IV. ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΩΟΘΗΚΙΚΗΣ ΥΠΕΡΑΝΔΡΟΓΟΝΑΙΜΙΑΣ ΣΤΟ PCOS: ΜΟΡΙΑΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ

##### IV. 1. Γενικά

Ως υπερανδρογοναιμία ορίζεται η ανεύρεση υψηλών επιπέδων ενός, τουλάχιστον, ανδρογόνου στον ορό του αίματος. Η υπερανδρογοναιμία παρατηρείται σε ποσοστό που κυμαίνεται από 60% έως 80% των γυναικών με το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS). Εξάλλου, ως υπερανδρογονισμός ή κλινική υπερανδρογοναιμία χαρακτηρίζεται η εμφάνιση κλινικών εκδηλώσεων υπερανδρογοναιμίας, με φυσιολογικά επίπεδα ανδρογόνων στον ορό του αίματος. Η κύρια κλινική εκδήλωση του υπερανδρογονισμού είναι η υπερτρίχωση. Η υπερτρίχωση παρατηρείται στο 60% των γυναικών με PCOS<sup>(10)</sup>.

Η βιοσύνθεση των ανδρογόνων στην ανθρώπινη ωοθήκη γίνεται, κυρίως, στα κύτταρα της έσω θήκης, η λειτουργία των οποίων είναι εντονότερη στο PCOS. Η περίσσεια παραγωγής ανδρογόνων στο σύνδρομο μπορεί να ερμηνευθεί από τη δράση ενδοωοθηκικών και εξωωοθηκικών παραγόντων<sup>(22)</sup>.

Στους ενδοωοθηκικούς παράγοντες υπάγονται η ενδογενής διαταραχή της στεροειδογένεσης των κυττάρων της έσω θήκης, η δυσλειτουργία των κυττάρων της κοκκιώδους στιβάδας και παράγοντες από το ωκύτταρο. Εξάλλου, οι εξωωοθηκικοί παράγοντες περιλαμβάνουν την υπερινσουλιναίμία, τις προφλεγμονώδεις κυττοκίνες και τις διαταραχές του άξονα υποθάλαμος- υπόφυση<sup>(22)</sup>.

##### IV. 2. Ωοθηκική υπερανδρογοναιμία

#### IV.2.1. Ενδοθηθικοί παράγοντες

##### IV. 2.1.1. Ενδογενής διαταραχή της στεροειδογένεσης των κυτάρων της έσω θήκης

Σε πρωτογενείς καλλιέργειες από κύτταρα της έσω θήκης των ωοθυλακίων γυναικών με PCOS, που απομονώθηκαν πρόσφατα, βρέθηκε ότι τα κύτταρα αυτά παράγουν περισσότερη δεϋδροεπιανδροστερόνη, 17υδροξυπρογεστερόνη και ανδροστενδιόνη από ό,τι τα κύτταρα της έσω θήκης των ωοθυλακίων, που απομονώθηκαν από γυναίκες χωρίς το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών<sup>(23)</sup>. Με τη βοήθεια μιας μεθόδου διατήρησης ανθρώπινων κυττάρων της έσω θήκης σε μακροχρόνια καλλιέργεια, ο Nelson και οι συνεργάτες του το 1999<sup>(24)</sup> έδειξαν ότι η αυξημένη παραγωγή των στεροειδών αυτών αποτελεί μόνιμο βιοχημικό φαινόμενο των κυττάρων της έσω θήκης ωοθυλακίων γυναικών με PCOS. Δεδομένου ότι οι παραπάνω καλλιέργειες των κυττάρων της έσω θήκης μπορούν να διατηρηθούν μέσω επαναλαμβανόμενων πολλαπλασιασμών του κυτταρικού πληθυσμού, η αυξημένη στεροειδογόνος δραστηριότητα των κυττάρων της θήκης από γυναίκες με PCOS, σε σύγκριση με τα κύτταρα της θήκης εκείνων χωρίς το σύνδρομο, είναι απίθανο να αντανakλά την επίδραση της ορμονικής διέγερσης in vivo, όπως, για παράδειγμα, της αυξημένης LH ή των αυξημένων επιπέδων ινσουλίνης που παρατηρούνται στο PCOS. Κατά συνέπεια, οι παρατηρήσεις αυτές υποδηλώνουν ότι οι διαταραχές στη βιοσύνθεση των ανδρογόνων αποτελούν ενδογενή ιδιότητα των κυττάρων της έσω θήκης ωοθυλακίων γυναικών με PCOS<sup>(22)</sup>.

Διάφορες μελέτες έδειξαν ότι τα κύτταρα της έσω θήκης των ωοθυλακίων γυναικών με PCOS παρουσιάζουν αυξημένη δραστηριότητα των ενζύμων 3β- υδροξυστεροειδική δεϋδρογενάση και κυτόχρωμα P450c17α<sup>(25)</sup>. Το κυτόχρωμα P450c17α έχει διττή δράση: μετατρέπει την προγεστερόνη σε 17- υδροξυπρογεστερόνη με τη δράση του ενζύμου 17α-υδροξυλάση, και, στη συνέχεια, μετατρέπει τη 17- υδροξυπρογεστερόνη σε ανδροστενδιόνη με τη δράση του ενζύμου 17, 20 λυάση. Το κυτόχρωμα P450c17α κωδικοποιείται από το γονίδιο CYP17.

Έχει βρεθεί ότι το mRNA των γονιδίων CYP17 και CYP11A (ένζυμο διαχωρισμού της πλάγιας αλύσου) βρίσκεται σε μεγαλύτερη αφθονία στα κύτταρα της έσω θήκης των ωοθυλακίων γυναικών με PCOS, σε σύγκριση με τα κύτταρα της έσω θήκης των ωοθυλακίων γυναικών χωρίς το σύνδρομο. Έχει, ακόμη, βρεθεί ότι τα επίπεδα της στεροειδογόνου οξείας ρυθμιστικής πρωτεΐνης StAR είναι παρόμοια στα κύτταρα της έσω θήκης των ωοθυλακίων γυναικών με PCOS και μαρτύρων<sup>(24)</sup>. Έχει, τέλος, αναφερθεί ότι ο εκκινητής του CYP17 στα κύτταρα της έσω θήκης των ωοθυλακίων γυναικών με PCOS είναι πιο ενεργός από ό,τι σε εκείνα γυναικών χωρίς το σύνδρομο, ενώ ο εκκινητής του StAR δεν έχει διαφορετική ρύθμιση<sup>(26-28)</sup>. Τα δεδομένα αυτά υποδηλώνουν ότι η μεταγραφή των γονιδίων που κωδικοποιούν ειδικά ένζυμα της στεροειδογένεσης είναι ρυθμισμένη προς τα πάνω στα κύτταρα της έσω θήκης των ωοθυλακίων γυναικών με το σύνδρομο, αλλά αυτό δεν συμβαίνει σε όλα τα στοιχεία του μηχανισμού της στεροειδογένεσης. Το γεγονός αυτό οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή προγεσταγόνων και ανδρογόνων και υποδηλώνει ότι η υπερανδρογοναιμία είναι γενετικά καθορισμένη, άποψη που συμφωνεί με τα αποτελέσματα μελετών σε οικογένειες, που έδειξαν ότι η υπερανδρογοναιμία εμφανίζεται σε πολλά άτομα ως επικρατούν γενετικό στίγμα<sup>(29)</sup>. Είναι, όμως, απίθανο το

ενδεχόμενο η υπερανδρογοναιμία του PCOS να καθορίζεται κυρίως από πολυμορφισμούς ή μεταλλάξεις των γονιδίων, που κωδικοποιούν κάποια συγκεκριμένη στεροειδογόνο ενζυμική δραστηριότητα, όπως του CYP17<sup>(30)</sup> ή του CYP11A<sup>(31-33)</sup>.

Μελέτες, με νέες μοριακές τεχνικές, και γενετική ανάλυση οικογενειών με PCOS έδειξαν ότι στα κύτταρα της έσω θήκης ωοθυλακίων γυναικών με PCOS βρέθηκε αφθονία mRNA που αντιστοιχεί στα γονίδια της δεϋδρογενάσης-6 της αλδεϋδης και της δεϋδρογενάσης-2 της ρετινόλης.

Το mRNA των δύο αυτών γονιδίων αυξάνει την έκφραση της 17α-υδροξυλάσης<sup>(34,35)</sup>.

Επιπλέον, η στερεοειδική δραστηριότητα των ενζύμων φαίνεται να μεταβάλλεται στα κύτταρα της έσω θήκης ωοθυλακίων γυναικών με PCOS. Ένας μηχανισμός είναι η αύξηση της φωσφορυλίωσης της σερίνης του ενζύμου κυτόχρωμα P450c17α, το οποίο προάγει τη δραστηριότητα της λυάσης<sup>(36,37)</sup>. Παράλληλα, η ελάττωση της έκφρασης της πρωτεϊνικής φωσφατάσης 2A, που παρατηρείται στο PCOS, διατηρεί για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα τη φωσφορυλίωση της σερίνης, συντελώντας έτσι στη μοριακή εικόνα της διαταραχής<sup>(38-40)</sup>.

Συμπερασματικά, θα μπορούσε να διατυπωθεί η άποψη ότι στα κληρονομικώς διαταραγμένα κύτταρα της έσω θήκης των ωοθυλακίων γυναικών με PCOS επιδρούν ορμονικοί παράγοντες ενδοωοθηκικής και εξωωοθηκικής προέλευσης, οι οποίοι επιδεινώνουν, ακόμη περισσότερο, την ωοθηκική υπερπαραγωγή ανδρογόνων.

#### IV.2.1.2. Δυσλειτουργία των κυττάρων της κοκκιώδους στιβάδας

Μολονότι η διαταραχή της στεροειδογένεσης των κυττάρων της έσω θήκης φαίνεται ότι αποτελεί τον κύριο υπεύθυνο για την ενδοωοθηκική υπερανδρογοναιμία στο PCOS, διαταραχές των κυττάρων της κοκκιώδους στιβάδας θα μπορούσαν ενδεχομένως να παίξουν κάποιο ρόλο, μέσω των εκκρίσεων των κυττάρων αυτών.

Τα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας των ωοθυλακίων παράγουν ινχιμπίνες, οι οποίες πιστεύεται ότι τροποποιούν άμεσα την ωοθυλακική στεροειδογένεση. Βρέθηκε, λοιπόν, ότι η ινχιμπίνη A ενισχύει τόσο τη βασική όσο και την προκαλούμενη από την LH παραγωγή ανδρογόνων σε καλλιέργειες ανθρωπίνων κυττάρων της έσω θήκης ωοθυλακίων<sup>(41)</sup>. Έτσι, οι ινχιμπίνες θα μπορούσαν να εμπλέκονται στην περίσσεια ωοθηκικών ανδρογόνων στο PCOS, μέσω παρακρινικής επίδρασης από τα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας<sup>(42-44)</sup>.

Η χρήση ανοσολογικών μεθόδων, που ανιχνεύουν διμερείς ινχιμπίνες στον ορό, έδωσε τη δυνατότητα της αποκάλυψης μιας ιδιαίτερης δυσλειτουργίας του συστήματος των ινχιμπινών στο PCOS. Η δυσλειτουργία αυτή περιλαμβάνει την καθαρή αύξηση των επιπέδων των πρόδρομων πρωτεϊνών της α-ινχιμπίνης (pro-a C) στον ορό, που παρουσίαζε θετική συσχέτιση, στατιστικά σημαντική, με τα επίπεδα των ανδρογόνων<sup>(45)</sup>. Πρέπει, πάντως, να σημειωθεί ότι τα βιβλιογραφικά δεδομένα, όσον αφορά τη συμβολή των ινχιμπινών στην υπερανδρογοναιμία του PCOS, είναι ανεπαρκή και αντικρουόμενα και, επομένως, δεν είναι δυνατή η εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων<sup>(46,47)</sup>.

Η AMH (Anti-Müllerian Hormone), η οποία παράγεται από τα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας, θα μπορούσε να υπεισέρχεται στην υπερανδρογοναιμία του PCOS. Έχουν βρεθεί αυξημένα επίπεδα AMH στο PCOS<sup>(48,49)</sup>. Επιπλέον, βρέθηκε θετική συσχέτιση, στατιστικά σημαντική, μεταξύ

των επιπέδων της AMH και των τιμών της τεστοστερόνης και της ανδροστενδιόνης ορού στις ασθενείς με PCOS, όχι, όμως, στις μάρτυρες <sup>(49)</sup>. Το εύρημα αυτό θα μπορούσε να υποδηλώνει θετική παρακρινική επίδραση της AMH στα κύτταρα της έσω θήκης των ωοθυλακίων γυναικών με PCOS. Η ανεύρεση υποδοχέων AMH τύπου II (AMHRII) στα κύτταρα της έσω θήκης των ωοθυλακίων στο στάδιο της ωρίμανσης

<sup>(50)</sup> θα μπορούσε να στηρίζει την ύπαρξη της παρακρινικής επίδρασης της AMH στα κύτταρα της έσω θήκης, όπως αναφέρεται για τα κύτταρα Leydig. Εντούτοις, απαιτούνται και άλλες πειραματικές μελέτες πριν να υποστηριχθεί η θέση για τις επιπτώσεις της AMH στη δυσλειτουργία των κυττάρων της έσω θήκης των ωοθυλακίων γυναικών με PCOS. Πρέπει, για παράδειγμα, να ερευνηθεί αν η ωοθηκική επίδραση της AMH είναι αντίθετη από εκείνη που ασκεί στον όρχι. Έτσι, έχει βρεθεί ότι σε καλλιέργειες κυττάρων Leydig ποντικού η AMH προκαλούσε αναστολή της έκφρασης του CYP17, που προκαλείται από την LH και το κυκλικό AMP

(51)

#### IV.2.1.3. Παράγοντες από το ωκύτταρο

Έχει προταθεί η άποψη ότι το ωκύτταρο μπορεί να διαδραματίζει κάποιο ρόλο στη ρύθμιση της δραστηριότητας των κυττάρων της έσω θήκης, αλλά τα διαθέσιμα στοιχεία είναι ακόμη αντιφατικά. Ο αυξητικός παράγοντας διαφοροποίησης-9 (GDF-9) διεγείρει τη βασική και την προκαλούμενη από την LH βιοσύνθεση ανδρογόνων από τα κύτταρα της έσω θήκης ωοθυλακίων αρουραίων <sup>(52)</sup>. Αντίθετα, η προσθήκη GDF9 in vitro σε ανθρώπινα κύτταρα της έσω θήκης αύξησε τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, αλλά παρεμπόδισε τη σύνθεση προγεστερόνης και ανδρογόνων <sup>(53)</sup>. Έχει αναφερθεί ότι τα επίπεδα έκφρασης του GDF-9 είναι μειωμένα στις πολυκυστικές ωοθήκες <sup>(54)</sup>. Θα μπορούσε, λοιπόν, να υποτεθεί ότι τα χαμηλά επίπεδα GDF-9 αποτελούν μία από τις αιτίες της αυξημένης σύνθεσης ανδρογόνων στα ωοθυλάκια γυναικών με PCOS. Τα στοιχεία, όμως, είναι ανεπαρκή για να τεκμηριώσουν κάποιο ρόλο στο ωκύτταρο, σχετικά με την παθοφυσιολογία της υπερανδρογοναιμίας στο PCOS.

#### IV.2.2. Εξωωθητικοί παράγοντες

##### IV.2.2.1. Ινσουλίνη

Υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις που ενισχύουν την άποψη ότι η ινσουλίνη υπεισέρχεται στη μοριακή παθογένεια της υπερανδρογοναιμίας από τα κύτταρα της έσω θήκης των ωοθυλακίων γυναικών με PCOS. Είναι γνωστό ότι υψηλό ποσοστό ασθενών με PCOS παρουσιάζει αντίσταση στην ινσουλίνη και αντισταθμιστική υπερινσουλιναιμία <sup>(55)</sup>. Εντούτοις, η επίδραση της ινσουλίνης στην υπερπαραγωγή ανδρογόνων από τα κύτταρα της έσω θήκης των ωοθυλακίων μπορεί να παρατηρηθεί και όταν δεν υπάρχει κλινικά εμφανής υπερινσουλιναιμία <sup>(56)</sup>. Η άποψη αυτή ενισχύεται από το γεγονός ότι η χορήγηση διαζοξιδης σε γυναίκες με PCOS και κλινικά φυσιολογική ευαισθησία στην ινσουλίνη μείωσε τα επίπεδα της ελεύθερης τεστοστερόνης, ενώ η καταστολή της LH με GnRH ανάλογα δεν προκάλεσε παρόμοια μεταβολή <sup>(57)</sup>. Φαίνεται ότι η ινσουλίνη διεγείρει τη δραστηριότητα του ενζύμου κυττόχρωμα P450c17α, μέσω των υποδοχέων της στα κύτταρα της έσω θήκης. Η επίδραση αυτή την ινσουλίνης ασκείται είτε με διέγερση της δραστηριότητας της 17α-υδροξυλάσης ή με διέγερση

της έκφρασης του mRNA του CYP17<sup>(58)</sup>.

#### IV.2.2.2. Προφλεγμονώδεις κυττοκίνες

Μολονότι έχει αναγνωρισθεί η ύπαρξη ήπιας χρόνιας φλεγμονής στο PCOS, τα υπάρχοντα βιβλιογραφικά δεδομένα δεν στηρίζουν τη θέση της εμπλοκής της στην υπερπαραγωγή ανδρογόνων. Εντούτοις, έχει αναφερθεί ότι το stress της φλεγμονής αυξάνει την πολλαπλασιαστική δράση της ινσουλίνης στα κύτταρα της θήκης του ωοθυλακίου<sup>(59,60)</sup>. Επιπλέον, η αύξηση της έκφρασης του PAI-1 (Plasminogen Activator Inhibitor-1) συνδυάζεται με υψηλά επίπεδα ανδρογόνων, εύρημα συμβατό με την άποψη ότι ο PAI-1 αποτελεί έναν από τους ρυθμιστές της ωθητικής υπερανδρογοναιμίας στο PCOS. Τα αυξημένα επίπεδα του PAI-1 στις γυναίκες με PCOS υποδηλώνουν ήπια χρόνια φλεγμονή και ενδέχεται να είναι αποτέλεσμα των ορμονικών, μεταβολικών και γενετικών διαταραχών του συνδρόμου<sup>(66,61)</sup>. Η αυξημένη έκφραση του PAI-1 μέσα στα κύτταρα της θήκης και της κοκκιώδους στιβάδας του ωοθυλακίου σε δείγματα ωθηκών από γυναίκες με PCOS καθιστούν σημαντική την άποψη ότι ο παράγοντας αυτός μπορεί να υπεισέρχεται στη λειτουργία των κυττάρων της έσω θήκης και της κοκκιώδους στιβάδας στο σύνδρομο των πολυκυστικών ωθηκών.

#### IV.2.2.3. Διαταραχές του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση

Είναι γνωστό ότι η GnRH εκκρίνεται κατά εκκριτικά επεισόδια. Τα εκκριτικά επεισόδια της GnRH στην πρώιμη παραγωγική φάση του κύκλου

ωοθυλακιορρηκτικών γυναικών είναι 10-12 στο εικοσιτετράωρο (ένα εκκριτικό επεισόδιο κάθε δύο ώρες). Στις γυναίκες με PCOS τα εκκριτικά επεισόδια της GnRH είναι 24, περίπου, το εικοσιτετράωρο (ένα εκκριτικό επεισόδιο κάθε μία ώρα). Έχει υποστηριχθεί η άποψη ότι η αύξηση της συχνότητας των εκκριτικών επεισοδίων της GnRH οφείλεται σε αρρενοποίηση του υποθαλάμου, που γίνεται κατά την ενδομήτρια ζωή. Η έκθεση του υποθαλάμου σε υψηλά επίπεδα οιστρογόνων, για μεγάλο χρονικό διάστημα, κατά την ενδομήτρια ζωή οδηγεί σε αρρενοποιητική ρύθμιση του υποθαλάμου, ενώ η έκθεση σε χαμηλά επίπεδα οιστρογόνων κατά την ενδομήτρια ζωή προκαλεί θηλεοποιητική ρύθμισή του (62). Οι όρχεις του άρρενα εμβρύου κατά τον τρίτο μήνα της ενδομήτριας ζωής παράγουν τεστοστερόνη σε επίπεδα παρόμοια με εκείνα του ενήλικα. Η τεστοστερόνη αυτή μετατρέπεται, με την βοήθεια της αρωματάσης, στον υποθάλαμο, σε οιστραδιόλη, με αποτέλεσμα την αρρενοποίηση του υποθαλάμου. Στο θήλυ έμβρυο, εφόσον υπάρχει κάποια ενδογενής παραγωγή ανδρογόνων (συγγενής υπερπλασία επινεφριδίων της μητέρας) ή η ενζυμική υποδομή του υποθαλάμου (αρωματάση) ή του λιπώδη ιστού (μακροσωμικά έμβρυα) είναι έντονη, ο υποθάλαμος αρρενοποιείται. Οι περισσότεροι, όμως, ερευνητές δέχονται ότι ο γοναδοστάτης (το κέντρο του υποθαλάμου που ρυθμίζει τα εκκριτικά επεισόδια της GnRH) των γυναικών με PCOS εμφανίζει μειωμένη ευαισθησία στην ανασταλτική δράση της συνδυασμένης επίδρασης οιστρογόνων και προγεστερόνης. Στις ωοθυλακιορρηκτικές γυναίκες, η συνδυασμένη δράση οιστρογόνων και προγεστερόνης, ύστερα από την ωοθυλακιορρηξία, οδηγεί σε αραίωση των εκκριτικών επεισοδίων της GnRH. Στο PCOS είτε δεν γίνεται ωοθυλακιορρηξία, τα επίπεδα δηλαδή της προγεστερόνης είναι πολύ χαμηλά, ή και όταν γίνεται ωοθυλακιορρηξία ο ουδός του γοναδοστάτη στην ανασταλτική δράση της προγεστερόνης είναι αυξημένος<sup>(63-65)</sup>.

Έχει αναφερθεί ότι τα συχνά εκκριτικά επεισόδια της GnRH διεγείρουν την έκφραση του γονιδίου της β- υπομονάδας της LH, με αποτέ-  
λεσμα την αύξηση των επιπέδων της LH. Αντίθετα, τα αραιά εκκριτικά επεισόδια της GnRH, που παρατηρούνται στην όψιμη εκκριτική φάση των ωοθυλακιωρρηκτικών γυναικών, διεγείρουν την έκφραση του γονιδίου της β- υπομονάδας της FSH, με αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων της FSH και την επιλογή του κυρίαρχου ωοθυλακίου. Η αύξηση των επιπέδων της LH έχει ως αποτέλεσμα της υπερπαραγωγή ανδρογόνων από τα κύτταρα της έσω θήκης των ωοθυλακίων <sup>(66-68)</sup>.

Έχει βρεθεί ότι ένας άλλος παράγοντας ωοθηκικής προέλευσης, ο παράγοντας που εξασθενεί το κύμα των γοναδοτροπινών (Gonadotrophin Surge-Attenuating Factor: GnSAF), ρυθμίζει και καταστέλλει την έκκριση της LH, μειώνοντας την ευαισθησία της υπόφυσης. Τα επίπεδα του παράγοντα αυτού είναι χαμηλά στις ασθενείς με PCOS <sup>(69,70)</sup>. Τα χαμηλά επίπεδα του GnSAF εμπλέκονται ενδεχομένως στην ανεύρεση υψηλών τιμών LH, προάγοντας, έτσι, την υπερανδρογοναιμία στις γυναίκες με PCOS.

### **IV.3. Επινεφριδική υπερανδρογοναιμία**

Η υποτιθέμενη διαταραχή της ρύθμισης της δραστηριότητας του ενζύμου κυτόχρωμα P450c17α, που κωδικοποιείται από το CYP17, ευθύνεται για την υπερανδρογοναιμία όχι μόνο από τις ωοθήκες αλλά και από τα επινεφρίδια <sup>(70)</sup>. Υπάρχουν ενδείξεις που υποδηλώνουν ότι η επινεφριδική υπερανδρογοναιμία αποτελεί γενετικά καθορισμένη διαταραχή στην έκφραση του συνδρόμου των πολυκυστικών ωοθηκών <sup>(71,72)</sup>.

Η αλλαγή του μεταβολισμού της κορτιζόλης έχει προταθεί ως ένας άλλος υποκείμενος μηχανισμός της λειτουργικής επινεφριδικής υπερανδρογοναιμίας στο PCOS <sup>(73)</sup>. Ο αυξημένος περιφερικός μεταβολισμός της κορτιζόλης, που μπορεί να οφείλεται είτε στην αυξημένη αδρανοποίηση της κορτιζόλης από την 5α- αναγωγή ή στην παρεμπόδιση της επανεργοποίησης της κορτιζόλης από την κορτιζόνη από την 11βυδροξυστεροειδική δεϋδρογενάση 1, οδηγεί σε μείωση της καταστολής

της έκκρισης της ACTH. Σημειώνεται ότι η αντίσταση στην ινσουλίνη μπορεί εν μέρει να ευθύνεται για την αύξηση της δραστηριότητας της 5ααναγωγής της κορτιζόλης, χωρίς να επηρεάζει το ρυθμό παραγωγής της κορτιζόλης. Έτσι, ο άξονας υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια ενδέχεται να διεγείρεται και ο ρυθμός παραγωγής τόσο της κορτιζόλης όσο και των επινεφριδικών ανδρογόνων μπορεί να είναι αυξημένος. Μολονότι τα επίπεδα της κορτιζόλης διατηρούνται στα φυσιολογικά όρια, λόγω αυξημένου μεταβολισμού της κορτιζόλης, οι τιμές των επινεφριδικών ανδρογόνων αυξάνονται.

Πρέπει, πάντως, να σημειωθεί ότι οι εκτροπές της επινεφριδικής λειτουργίας θεωρούνται ότι έχουν περιορισμένη κλινική σημασία στην εκδήλωση της υπερανδρογοναιμίας που παρατηρείται στο σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών <sup>(70)</sup>.

## **V. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΗΣ ΠΟΛΥΚΥΣΤΙΚΗΣ ΜΟΡΦΟ**

### **ΛΟΓΙΑΣ ΤΩΝ ΩΟΘΗΚΩΝ ΣΤΟ PCOS**

#### **V.1. Γενικά**

Το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS), που παρατηρείται στο 5% έως 10% των

γυναικών της αναπαραγωγικής ηλικίας, αποτελεί την συχνότερη αιτία ανωθυλακιωρρηκτικής υπογονιμότητας και υπερανδρογοναιμίας <sup>(10,74)</sup>. Παρά τις σημαντικές προσπάθειες για τον προσδιορισμό των αιτιών που προκαλούν το PCOS, η παθοφυσιολογία του παραμένει αδιευκρίνιστη. Κατά συνέπεια, η αποκάλυψη των μηχανισμών που προκαλούν το σύνδρομο αποτελεί μείζονα στόχο της έρευνας στον τομέα της γυναικολογικής ενδοκρινολογίας και της αναπαραγωγικής ιατρικής.

Ο φαινότυπος του συνδρόμου των πολυκυστικών ωθηκών χαρακτηρίζεται από χρόνια oligo- ή ανωθυλακιωρρηξία, υπερανδρογοναιμία ή υπερανδρογονισμό και πολυκυστική μορφολογία των ωθηκών <sup>(7,8,10,75)</sup>. Υπάρχουν ισχυρά βιβλιογραφικά δεδομένα που στηρίζουν την άποψη ότι οι ωθήκες των γυναικών με PCOS περιέχουν διπλάσιο έως τριπλάσιο από το φυσιολογικό αριθμό ωθυλακίων, από το στάδιο των πρωτογενών ωθυλακίων μέχρι εκείνο που το μέγεθός τους φθάνει τα 2-5 mm (ωθυλάκια με άντρο) <sup>(76,77)</sup>. Ακόμη, υπάρχουν ισχυρά βιβλιογραφικά δεδομένα που ενισχύουν τη θέση ότι τα ωθυλάκια στο PCOS σταματούν να αυξάνουν σε μέγεθος και να αναπτύσσονται όταν η διάμετρος τους φθάσει τα 4-7 mm. Με βάση τα παραπάνω δεδομένα διατυπώθηκε η υπόθεση ότι το πρόβλημα των ωθυλακίων στο PCOS είναι διπλό <sup>(22)</sup>: πρώτον, η πρώιμη ωθυλακική ανάπτυξη είναι εξεσημασμένη και δεύτερον, η επιλογή ενός κυρίαρχου ωθυλακίου από την αυξημένη σε μέγεθος δεξαμενή και, στη συνέχεια, η ωρίμανσή του δεν συμβαίνει (διακοπή της ανάπτυξης των ωθυλακίων- ωθυλακική αδράνεια). Δεν έχει, μέχρι σήμερα, διευκρινισθεί αν η πρωτοπαθής διαταραχή (ή διαταραχές) εντοπίζεται (ή εντοπίζονται) στα κύτταρα της έσω θήκης, στα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας ή στο ωκύτταρο.

## **V.2. Παθοφυσιολογία της πολυκυστικής μορφολογίας των ωθηκών**

Η ωθηκική υπερανδρογοναιμία, όπως αναφέρθηκε, αποδίδεται, κυρίως, σε κληρονομική διαταραχή της στεροειδογένεσης που παρατηρείται στα κύτταρα της έσω θήκης των ωθυλακίων γυναικών με το σύνδρομο των πολυκυστικών ωθηκών. Άλλοι παράγοντες, ενδο-ωθηκικής ή έξω-ωθηκικής προέλευσης, ενδέχεται να εμπλέκονται στην ωθηκική υπερανδρογοναιμία στο PCOS, μολονότι δεν φαίνεται να αποτελούν τους βασικούς υπεύθυνους <sup>(24,78,79)</sup>.

Ο ρόλος των στεροειδών του φύλου στην ανάπτυξη των ωθυλακίων πριν από το σχηματισμό του άντρου παραμένει αδιευκρίνιστος. Εντούτοις, υπάρχουν πολλά βιβλιογραφικά δεδομένα που διαφωτίζουν την επίδραση των ανδρογόνων στην πρώιμη ανάπτυξη των ωθυλακίων. Έτσι:

1. η έκφραση του γονιδίου του υποδοχέα των ανδρογόνων είναι πολύ υψηλή στα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας των ωθυλακίων στο στάδιο πριν από το σχηματισμό του άντρου, καθώς και στα αρχικά στάδια του σχηματισμού του. Εμφανίζει θετική συσχέτιση με τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων της κοκκιώδους στιβάδας των ωθυλακίων, καθώς και με την ανάπτυξη του ωθυλακίου, και αρνητική συσχέτιση με την απόπτωση των κυττάρων της κοκκιώδους στιβάδας και με την ωθυλακική ατρησία <sup>(80)</sup>. Σε μοντέλο από πρωτεύοντα θηλαστικά, χωρίς την παρουσία ανδρογόνων <sup>(81)</sup> βρέθηκε ότι τα μέσα επίπεδα του υποδοχέα των ανδρογόνων στα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας ανώριμων ωθυλακίων ήταν 4,2 φορές υψηλότερα από εκείνα των κυττάρων της κοκκιώδους στιβάδας προ-ωθυλακιωρρηκτικών ωθυλακίων.

2. σε καλλιέργειες ωοθυλακίων ποντικών, πριν από το στάδιο σχηματισμού του άντρου, η προσθήκη ανδρογόνων διεγείρει την ανάπτυξη των ωοθυλακίων <sup>(82)</sup>.

3. σε φυσιολογικούς θηλυκούς πιθήκους η δεκαήμερη θεραπεία με ανδρογόνα αυξάνει τον αριθμό των ωοθυλακίων, που βρίσκονται στο στάδιο πριν από το σχηματισμό του άντρου ή των μικρών ωοθυλακίων με άντρο διαμέτρου 1 mm, δρώντας μέσω ανδρογονικών υποδοχέων <sup>(80,81,83)</sup>. Οι ωοθήκες των πιθήκων αυτών παρουσιάζουν εικόνα παρόμοια με εκείνη γυναικών με το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών <sup>(83)</sup>.

4. in vitro μελέτες σε πρωτεύοντα δείχνουν ότι τα ανδρογόνα προάγουν την απαντητικότητα στις γοναδοτροπίνες και τη στεροειδογένεση στα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας των ωοθυλακίων <sup>(84)</sup>.

5. τα ανδρογόνα προάγουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων της έσω θήκης, αλλά και των κυττάρων της κοκκιώδους στιβάδας, και αναστέλλουν την απόπτωση των κυττάρων αυτών <sup>(83,85)</sup>.

6. η τεστοστερόνη ενισχύει την έκφραση των υποδοχέων της FSH στο ωοθυλάκιο, εύρημα που υποδηλώνει ότι τα ανδρογόνα προάγουν έμμεσα την ανάπτυξη των ωοθυλακίων και τη βιοσύνθεση των οιστρογόνων, μεγεθύνοντας τη δράση της FSH <sup>(86)</sup>.

7. στις ωοθήκες των πρωτευόντων θηλαστικών, τα ανδρογόνα προάγουν την έκφραση των γονιδίων του παρόμοιου με την ινσουλίνη αυξητικού παράγοντα-1 (IGF-1) και του υποδοχέα του IGF-1, επίδραση που ενδεχομένως εμπλέκεται στην ευωδοτική δράση των ανδρογόνων στην ανάπτυξη των ωοθυλακίων <sup>(87)</sup>.

8. στη συγγενή υπερπλασία των επινεφριδίων, στους αρρενοποιητικούς όγκους και στη θεραπεία με εξωγενή ανδρογόνα (άτομα που επιχειρούν αλλαγή φύλου από γυναίκα σε άνδρα) παρατηρείται αυξημένος αριθμός μικρών ωοθυλακίων με άντρο, εικόνα παρόμοια με εκείνη γυναικών με το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών <sup>(88,89)</sup>. Πολλά από τα μικρά αυτά ωοθυλάκια εμφανίζουν υγιή χαρακτηρι

στικά, όσον αφορά τη στεροειδογόνο και την αναπτυξιακή δυνατότητα <sup>(85,90)</sup>.

9. ο αριθμός των ωοθυλακίων στο υπερηχογράφημα με μέγεθος 2-5 mm εμφανίζει θετική συσχέτιση με τα επίπεδα της τεστοστερόνης και της ανδροστενδιόνης(91). Το εύρημα αυτό ενισχύει την άποψη ότι ο αυξημένος αριθμός των μικρών ωοθυλακίων οφείλεται στις τροφικές επιδράσεις των ανδρογόνων, που είναι αυξημένα είτε τοπικά στην ωοθήκη, όπως στο PCOS, ή συστηματικά, όπως στη συγγενή υπερπλασία των επινεφριδίων, στους αρρενοποιητικούς όγκους και στη θεραπεία με εξωγενή ανδρογόνα <sup>(91)</sup>.

Τα παραπάνω βιβλιογραφικά δεδομένα στηρίζουν τη θέση ότι τα ανδρογόνα δεν είναι στην

πραγματικότητα ατρησιογόνα στις ωθήκες των πρωτευνόντων θηλαστικών και των ανθρώπων. Η θέση αυτή είναι αντίθετη με προηγούμενα δεδομένα από αρουραίους, που έχουν, σε μεγάλο βαθμό, συμβάλλει στην προσέγγιση ότι τα ανδρογόνα είναι ατρησιογόνα<sup>(92,93)</sup>, άποψη που αποτελούσε τον ακρογωνιαίο λίθο στην παθοφυσιολογία του PCOS, για μεγάλο χρονικό διάστημα. Εντούτοις, σε καλλιέργεια ωοθυλακίων ποντικών, η προσθήκη ανδρογόνων διήγειρε την ανάπτυξη των ωοθυλακίων, που βρίσκονταν στο στάδιο πριν από το σχηματισμό του άντρου<sup>(82)</sup>. Τα αντίθετα αυτά ευρήματα θα μπορούσαν να ερμηνευτούν από τις σημαντικές διαφορές μεταξύ των ειδών σε ποικίλλες πειραματικές συνθήκες, όπως η χρησιμοποίηση αρουραίων που είχαν υποβληθεί σε υποφυσεκτομή, με αποτέλεσμα την έλλειψη της FSH (92,93)

## VI. ΘΕΩΡΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΗΣ ΑΝΩΟΘΥΛΑΚΙΟΡΡΗΞΙΑΣ ΣΤΟ PCOS

### VI.1. Γενικά

Έχουν αναφερθεί τρεις θεωρίες για την ερμηνεία της ανωοθυλακιορρηξίας στο σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών:

1. η θεωρία της αυτοανασταλτικής επίδρασης στη δεξαμενή των διαθέσιμων προς επιλογή ωοθυλακίων, λόγω του υπερβολικού αριθμού τους.
2. η θεωρία της πρώιμης επίδρασης της LH στα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας των διαθέσιμων προς επιλογή ωοθυλακίων.
3. η θεωρία της ωοθυλακικής αδράνειας, λόγω αντίστασης στην ινσουλίνη και αντισταθμιστικής υπερινσουλιαιμίας.

### VI.2. Θεωρία της αυτοανασταλτικής επίδρασης στη δεξαμενή των διαθέσιμων προς επιλογή ωοθυλακίων, λόγω του υπερβολικού αριθμού τους

Οι πολυκυστικές ωοθήκες εμφανίζουν αυξημένη δεξαμενή αναπτυσσόμενων ωοθυλακίων, ο αριθμός των οποίων είναι διπλάσιος έως τριπλάσιος εκείνου των φυσιολογικών ωοθηκών, στις κλάσεις 1 έως 5, εκτός από τη δεξαμενή των αρχέγονων ωοθυλακίων που είναι φυσιολογική<sup>(76)</sup>. Πιο πρόσφατα, ο Webber και οι συνεργάτες του<sup>(77)</sup> μελέτησαν ξανά τα δεδομένα αυτά, εξετάζοντας βιοψίες από τον φλοιό των ωοθηκών από φυσιολογικές ωοθυλακιορρηκτικές γυναίκες, από ωοθυλακιορρηκτικές γυναίκες με PCOS και από ανωοθυλακιορρηκτικές γυναίκες με PCOS. Οι ερευνητές αυτοί βρήκαν μεγαλύτερη (εξαπλάσια) αύξηση του αριθμού των αναπτυσσόμενων πρωτογενών ωοθυλακίων στις ανωοθυλακιορρηκτικές γυναίκες με PCOS, σε σύγκριση με εκείνων των μαρτύρων.

Διατυπώθηκε, λοιπόν, η υπόθεση ότι το πρόβλημα των ωοθυλακίων στο PCOS είναι διπλό, με δύο ανωμαλίες που συνδέονται μεταξύ τους<sup>(22)</sup>: πρώτον, η ενδο-ωοθηκική υπερανδρογοναιμία μπορεί να προάγει την πρώιμη ανάπτυξη των ωοθυλακίων, με αποτέλεσμα την περίσσεια ωοθυλακίων με διαστάσεις 2-5 mm. Δεύτερον, ο υπερβολικός αριθμός διαθέσιμων προς επιλογή

ωοθυλακίων θα μπορούσε να αναστέλλει τη διαδικασία της επιλογής, ενδεχομένως μέσω αλληλεπίδρασης μεταξύ των ωοθυλακίων, που ασκείται και μέσω ουσιών οι οποίες παράγονται από τα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας, όπως η αντι-μουλλεριακή ορμόνη (AMH). Οι ουσίες αυτές θα μπορούσαν να προκαλέσουν αναστρέψιμη αντίσταση των κυττάρων της κοκκιώδους στιβάδας στη διαφοροποιητική επίδραση της FSH.

VI.2.1. Ενδοωθηθική υπερανδρογοναιμία: προαγωγή της πρώιμης ανάπτυξης των ωοθυλακίων  
Η περίσσεια ωοθυλακίων στις ανωθυλακιόρρηκτικές γυναίκες με PCOS θα μπορούσε να οφείλεται είτε στην αύξηση του ρυθμού εισόδου στην ανάπτυξη (μετατροπή των αρχέγονων ωοθυλακίων σε πρωτογενή) ή στην επιτάχυνση του ρυθμού ανάπτυξης, στη συνέχεια.

VI.2.1.1. Αύξηση του ρυθμού εισόδου των ωοθυλακίων στην ανάπτυξη

Η πρώτη στράτευση των ωοθυλακίων πιστεύεται ότι αποτελεί μια συνεχή διεργασία. Αμέσως ύστερα από τον σχηματισμό των ωοθυλακίων, κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ζωής, μερικά ωοθυλάκια εισέρχονται στη φάση της ανάπτυξης, αλλά η μεγάλη πλειοψηφία τους παραμένει σε φάση ηρεμίας. Οι παράγοντες που πυροδοτούν την αρχική στράτευση δεν έχουν πλήρως διευκρινισθεί, αλλά ο *kit-ligand*<sup>(94)</sup> και ο βασικός αυξητικός παράγοντας των ινοβλαστών (bFGF)<sup>(95)</sup> φαίνονται ως πιθανοί

υποψήφιοι. Οι παράγοντες αυτοί διεγείρουν μερικά αρχέγονα ωοθυλάκια, που εισέρχονται στη φάση της ανάπτυξης, ενώ τα υπόλοιπα παραμένουν σε ηρεμία για μήνες ή για χρόνια. Στη συνέχεια, τα ωοθυλάκια εισέρχονται στη δεξαμενή των αναπτυσσόμενων μεγάλων πρωτογενών ωοθυλακίων, φτάνουν στο στάδιο πριν από το σχηματισμό του άντρου ύστερα από μερικούς μήνες και, τελικά, χρειάζονται, περίπου, 70 επιπλέον ημέρες για να φτάσουν σε μέγεθος τα 2 mm (στάδιο του άντρου mid-antral stage).

Η έναρξη της ανάπτυξης βρίσκεται, επίσης, κάτω από αρνητικό έλεγχο, που ασκείται από την AMH. Πράγματι, οι ωοθήκες ποντικών που στερούνται του γονιδίου της AMH (AMHKO) χάνουν τα αρχέγονα ωοθυλάκια τους νωρίτερα από τις ωοθήκες ποντικών της ομάδας των μαρτύρων<sup>(96)</sup>. Η μεγάλη αυτή ελάττωση προκαλείται από τον αυξημένο ρυθμό στράτευσης των αρχέγονων ωοθυλακίων στα AMHKO θηλυκά ποντίκια, καθώς στα ενήλικα και προ-εφηβικά AMHKO ποντίκια ανευρίσκονται περισσότερα ωοθυλάκια στο στάδιο πριν από το σχηματισμό του άντρου και ωοθυλάκια στο στάδιο με μικρό άντρο. Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν ότι η AMH μπορεί να αναστέλλει την έναρξη της ανάπτυξης των ωοθυλακίων, τη μετατροπή, δηλαδή, των αρχέγονων σε πρωτογενή ωοθυλάκια. Ο Durlinger και οι συνεργάτες του<sup>(97)</sup> επιβεβαίωσαν, στη συνέχεια, τα ευρήματα αυτά, με μια μελέτη στην οποία ωοθηκικός ιστός νεογέννητων ποντικών καλλιεργήθηκε *in vitro* με απουσία ή με παρουσία AMH. Η AMH προκάλεσε μείωση του αριθμού των αναπτυσσόμενων ωοθυλακίων κατά 40% έως 50% ύστερα από 2-4 ημέρες καλλιέργειας. Για το λόγο αυτό, η AMH μπορεί να θεωρηθεί ως ανασταλτικός παράγοντας της έναρξης της ανάπτυξης. Εντούτοις, καθώς η AMH δεν παράγεται από τα αρχέγονα ωοθυλάκια, αλλά από εκείνα που βρίσκονται σε κατάσταση πρώιμης ανάπτυξης, φαίνεται πιθανό ότι δρα στα ωοθυλάκια που βρίσκονται σε κατάσταση ηρεμίας (αρχέγονα ωοθυλάκια), αλλά από εκείνα που βρίσκονται σε κατάσταση πρώιμης ανάπτυξης (πρωτογενή ωοθυλάκια)<sup>(98)</sup>, είναι πιθανό ότι η AMH δρα στα

ωοθυλάκια που βρίσκονται σε κατάσταση ηρεμίας με παρακρινικό τρόπο, με προέλευση από τα γειτονικά αναπτυσσόμενα ωοθυλάκια.

Τι συμβαίνει όμως στις ωοθήκες γυναικών με PCOS; Είναι αυξημένος ο ρυθμός εισόδου στην ανάπτυξη; Έχει αναφερθεί <sup>(76,77)</sup> ότι η δεξαμενή των αρχέγονων ωοθυλακίων είναι φυσιολογική στις ωοθήκες γυναικών με PCOS, παρόμοια με εκείνη της ομάδας των μαρτύρων. Θεωρητικά, εάν θα ήταν αυξημένος ο ρυθμός εισόδου των ωοθυλακίων στην ανάπτυξη, οι γυναίκες με PCOS θα παρουσίαζαν πρώιμη εξάντληση των ωοθυλακίων, πρώιμη, δηλαδή, εμμηνόπαυση, θέση που ισχύει στην περίπτωση των ποντικών AMHKO, όχι όμως στην περίπτωση των γυναικών με PCOS(30). Επιπλέον, η ωοθηκική παραγωγή AMH είναι αυξημένη στο PCOS. Παραμένει, λοιπόν, ασαφές αν η έναρξη της ωοθυλακιογένεσης είναι διαταραγμένη ή όχι στις γυναίκες με το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών.

#### VI.2.1.2. Επιτάχυνση του ρυθμού ανάπτυξης των ωοθυλακίων

Ύστερα από την αρχική στράτευση (μετατροπή των αρχέγονων ωοθυλακίων σε πρωτογενή), τα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας των πρωτογενών ωοθυλακίων πολλαπλασιάζονται. Το ωοκύτταρο συνεχίζει να αναπτύσσεται, σχηματίζεται η διαφανής ζώνη, διαφοροποιούνται τα κύτταρα της έσω θήκης και αναπτύσσεται η αγγειακή παροχή. Σε σύγκριση με την αρχική διαδικασία της στράτευσης, είναι γνωστά πολύ περισσότερα στοιχεία σχετικά με το φαινόμενο αυτό. Οι αλληλεπιδράσεις ωοκυττάρου-κυττάρων της κοκκιώδους στιβάδας-κυττάρων της έσω θήκης ενδέχεται να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη των πρώιμων ωοθυλακίων μέσω ουσιών που εκκρίνουν τα κύτταρα αυτά.

Στο PCOS υπάρχει μια «πολυωοθυλακική κατάσταση» ύστερα από το στάδιο του αρχέγονου ωοθυλακίου, που φαίνεται ότι αποτελεί ένα από τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα της πολυκυστικής μορφολογίας των ωοθηκών <sup>(76,77)</sup>. Η ενδοωοθηκική υπερανδρογοναιμία, που είναι το κύριο γνώρισμα του PCOS <sup>(100)</sup>, θεωρείται ως ο κύριος ένοχος για την περίσσεια αυτή των ωοθυλακίων, εάν ληφθούν υπόψη οι σημαντικές επιδράσεις της στην ανάπτυξη των μικρών ωοθυλακίων, όπως αναφέρθηκε.

#### VI.2.2. Αναστολή της διαδικασίας της επιλογής (διακοπή της εξέλιξης των ωοθυλακίων)

Διακοπή της εξέλιξης των ωοθυλακίων σημαίνει ότι η επιλογή ενός κυρίαρχου ωοθυλακίου είναι διαταραγμένη στο PCOS, παρά τον αυξημένο αριθμό των διαθέσιμων προς επιλογή ωοθυλακίων. Η δεύτερη αυτή ανωμαλία στην ωοθυλακιογένεση ερμηνεύει την ανωοθυλακιορρηξία στο σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών.

Η διακοπή της εξέλιξης των ωοθυλακίων δεν έχει, μέχρι σήμερα, διευκρινισθεί απόλυτα. Επιπλέον, σε αντίθεση με την περίσσεια των μικρών ωοθυλακίων, δεν παρατηρείται πάντοτε στις γυναίκες με PCOS και μερικές από αυτές εμφανίζουν ωοθυλακιορρηξία ακόμη και κάθε μήνα <sup>(10,101,102)</sup>. Τέλος, η διακοπή της εξέλιξης των ωοθυλακίων μπορεί να αντιστραφεί εύκολα στις περισσότερες περιπτώσεις με φαρμακολογικούς χειρισμούς, που στοχεύουν στην αύξηση της ποσότητας της FSH που θα φθάσει στις ωοθήκες. Επομένως, πολλά επιλέξιμα ωοθυλάκια θα μπορούσαν να διασωθούν, γεγονός που υποδηλώνει ότι άγνωστος παράγοντας ή παράγοντες τα προστατεύει ή τα προστατεύουν από την ατρησία, η οποία θα συνέβαινε φυσιολογικά λόγω της στασιμότητάς τους <sup>(34)</sup>. Η κύρια κλινική συνέπεια της πρόκλησης ωοθυλακιορρηξίας στο PCOS

είναι ο γνωστός αυξημένος κίνδυνος για το σύνδρομο υπερδιέγερσης των ωοθηκών.

Διάφοροι μηχανισμοί θα μπορούσαν να προταθούν για την ερμηνεία της διακοπής της εξέλιξης των ωοθυλακίων στο PCOS. Ο κάθε ένας από αυτούς αποκλείει τους άλλους, αλλά ο ένας ή ο άλλος μπορεί να επικρατούν σε διαφορετικές συνθήκες.

#### VI.2.2.1. Απουσία της διακυκλικής ανόδου της FSH στο PCOS

Μολονότι, η ανοωθυλακιωρηκτικές γυναίκες με φυσιολογικά επίπεδα γοναδοτροπινών εμφανίζουν βιοδραστικά και ανοσοδραστικά επίπεδα FSH στο εύρος εκείνων που παρατηρούνται σε φυσιολογικούς ωοθυλακιωρηκτικούς εμμηνορρυσιακούς κύκλους<sup>(104,105)</sup>, οι γυναίκες αυτές δεν παρουσιάζουν τη διακυκλική αύξηση της FSH. Ο αυξημένος αριθμός των επιλέξιμων ωοθυλακίων θα μπορούσε να ερμηνεύσει το φαινόμενο αυτό, λόγω της υψηλής παραγωγής ινχιμπίνης Β, που οδηγεί στην καταστολή της απελευθέρωσης της FSH με αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση. Εντούτοις, δεν υπάρχει καμιά ευδιάκριτη αύξηση των επιπέδων της ινχιμπίνης Β στον ορό των γυναικών με PCOS και τα επίπεδα της FSH και της ινχιμπίνης Β δεν εμφανίζουν αρνητική συσχέτιση<sup>(46,106)</sup>. Επομένως, η απουσία της διακυκλικής αύξησης της FSH οφείλεται, πιθανότατα, στην απουσία ωοθυλακιωρηξίας και στην, κατά συνέπεια, απουσία ωχρού σωματίου και λύσης του κατά το πέρας του προηγούμενου κύκλου. Ως εκ τούτου, είναι μάλλον ένα δευτερογενές φαινόμενο, παρά μια πρωτοπαθής διαταραχή.

#### VI.2.2.2. Διαταραχή των θετικών τοπικών επιλογέων στο PCOS

Είναι γνωστό ότι το σύστημα των παρόμοιων με την ινσουλίνη αυξητικών παραγόντων (IGF-1 και IGF-2) εμπλέκεται, σε μεγάλο βαθμό, στην ανάπτυξη του κυρίαρχου ωοθυλακίου. Εντούτοις, δεν υπάρχουν, μέχρι σήμερα, πειστικά στοιχεία τα οποία να στηρίζουν την υπόθεση ότι κάποια διαταραχή στο σύστημα των IGFs αποτελεί κεντρική ανωμαλία, που προκαλεί τη διακοπή της εξέλιξης των ωοθυλακίων στο PCOS. Το γεγονός ότι το σύστημα των IGFs δεν συμμετέχει στη διακοπή της εξέλιξης των ωοθυλακίων είναι κατανοητό, δεδομένου ότι οι μηχανισμοί που ευθύνονται για τη διακοπή της εξέλιξης των ωοθυλακίων αφορούν τα επιλέξιμα και όχι τα επιλεγμένα ωοθυλάκια<sup>(107-109)</sup>.

#### VI.2.2.3. Περίσσεια των αρνητικών τοπικών επιλογέων στο PCOS

Πειραματικά και κλινικά δεδομένα ενισχύουν την άποψη ότι η διακοπή της εξέλιξης των ωοθυλακίων οφείλεται στην περίσσεια τοπικού ανασταλτικού παράγοντα (ή παραγόντων) της δραστηριότητας της FSH. Έτσι, για την πρόκληση ωοθυλακιωρηξίας με ανθρώπινες εμμηνοπαυσιακές γοναδοτροπίνες (hMG) ή καθαρής FSH στις γυναίκες με PCOS προτείνονται συγκεκριμένα πρωτόκολλα, από τα οποία αυτό που χρησιμοποιείται συχνότερα είναι το αποκαλούμενο « της χαμηλής και βαθμιαία αυξανόμενης δόσης»<sup>(110)</sup>. Το πρωτόκολλο αυτό σχεδιάστηκε αφού λήφθηκε υπόψη η γνωστή παροδική ωοθηκική ανθεκτικότητα στην FSH. Επιβεβαίωση των παραπάνω προσέφερε η μελέτη του Coffier και των συνεργατών του<sup>(111)</sup>, οι οποίοι παρατήρησαν ότι η απάντηση της οιστραδιόλης στις αυξανόμενες δόσεις ανασυνδυασμένης FSH εμφανίσθηκε με υψηλότερες δόσεις της ορμόνης στις γυναίκες με PCOS από ό,τι στις γυναίκες της ομάδας ελέγχου. Σημειώνεται, επίσης, ότι τα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας ωοθυλακίων με άντρο παράγουν φυσιολογικά ή αυξημένα ποσά οιστραδιόλης in vitro

<sup>(112)</sup>. Το εύρημα αυτό υποδηλώνει ότι η *in vivo* λειτουργική ανωμαλία δεν οφείλεται σε εγγενή παράγοντα των κυττάρων της κοκκιώδους στιβάδας, αλλά το *in vivo* περιβάλλον των κυττάρων αυτών ασκεί ανασταλτική επίδραση.

Ανάμεσα στους πιθανούς ανασταλτικούς παράγοντες, δεν έχει επιβεβαιωθεί είτε στον ορό ή στο ωοθυλακικό υγρό η ύπαρξη αυξημένων επιπέδων κάποιας ουσίας που θα μπορούσε να εμποδίζει την ενεργοποίηση των υποδοχέων της FSH <sup>(113)</sup>. Η πρωτεΐνη- 4, που συνδέει τον IGF (IGFBP4) μπορεί να αποτελεί ενδιαφέροντα υποψήφιο. Έχει, λοιπόν, βρεθεί ότι η έκφραση της IGFBP-4 εξαρτάται από την έκφραση του υποδοχέα της

LH, ο οποίος εμφανίζεται πρόωρα στα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας των ωοθυλακίων γυναικών με PCOS(114). Αντίθετα, βρέθηκε ότι οι συγκεντρώσεις της IGFBP-4 στα ωοθυλάκια διαμέτρου 5-7 mm γυναικών με PCOS ήταν παρόμοιες με εκείνες ωοθυλακίων της ομάδας μαρτύρων, που είχαν δεχθεί την επίδραση ανδρογόνων <sup>(107)</sup>. Επιπλέον, τα προ-ωοθυλακιορρηκτικά ωοθυλάκια γυναικών με PCOS παρουσίαζαν φυσιολογική έκφραση της IGFBP-4. Τέλος, έχει υποστηριχθεί από ορισμένους ερευνητές <sup>(108)</sup> ότι οι μεταβολές των IGFBPs μπορεί να συντηρούν την ανωοθυλακιορρηκτική κατάσταση στο PCOS, είναι, όμως, απίθανο να πυροδοτούν την ανάπτυξη του συνδρόμου.

Ένας παράγοντας, που εκκρίνεται τοπικά από τα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας των διαθέσιμων προς επιλογή ωοθυλακίων και αναστέλλει τη δράση της FSH, θα μπορούσε να είναι η AMH. Έχει βρεθεί ότι οι γυναίκες με το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών εμφανίζουν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα AMH στον ορό και στο ωοθυλακικό υγρό από τις φυσιολογικές ωοθυλακιορρηκτικές γυναίκες <sup>(48,49,115)</sup>. Ακόμη, τα υψηλά επίπεδα της AMH στον ορό παρουσιάζουν στενή θετική συσχέτιση με τον αριθμό των ωοθυλακίων, διαμέτρου 2-5 mm στο υπερηχογράφημα <sup>(116)</sup>. Αντίθετα, υπήρχε αρνητική συσχέτιση ανάμεσα στα επίπεδα της AMH και στις τιμές της FSH ορού στις γυναίκες με PCOS, αλλά όχι στις γυναίκες της ομάδας ελέγχου. Επιπλέον, έχει αναφερθεί αρνητική συσχέτιση ανάμεσα στα επίπεδα της AMH και στις συγκεντρώσεις της οιστραδιόλης ορού στις γυναίκες με PCOS <sup>(48)</sup>. Κατά συνέπεια, μπορεί να διατυπωθεί η άποψη ότι η περίσσεια της AMH εμπλέκεται στην έλλειψη της επαγόμενης από την FSH δραστηριότητας της αρωματάσης, που χαρακτηρίζει τη διακοπή της εξέλιξης των ωοθυλακίων στο PCOS <sup>(118)</sup>. Το γεγονός ότι η αναλογία της AMH προς τον αριθμό των ωοθυλακίων δεν βρέθηκε αυξημένη υποδηλώνει ότι κάθε ωοθυλάκιο παράγει φυσιολογική ποσότητα AMH <sup>(49)</sup>.

Η ανασταλτική, λοιπόν, επίδραση της AMH δεν θα ήταν το αποτέλεσμα της ενδο-ωοθυλακικής περίσσειας της ορμόνης, αλλά, ενδεχομένως,

του υπερβολικού τόνου της AMH στο μικροπεριβάλλον των επιλέξιμων ωοθυλακίων, δρώντας μέσω αλληλεπίδρασης ωοθυλακίου προς ωοθυλάκιο. Θα μπορούσε όμως να προταθεί και η άποψη της ενδοκρινικής δράσης της AMH, καθώς τα επίπεδα της ορμόνης αυτής στην κυκλοφορία στις γυναίκες με PCOS είναι 2-3 φορές υψηλότερα εκείνων των φυσιολογικών γυναικών <sup>(49)</sup>. Εντούτοις, η υψηλή, ανεξάρτητη, θετική συσχέτιση μεταξύ του αριθμού των ωοθυλακίων και των επιπέδων της AMH στον ορό συνηγορεί υπέρ της υπόθεσης ότι η περίσσεια ωοθυλακίων με διάμετρο 2-5 mm είναι υπεύθυνη για την υπερβολική παραγωγή AMH.

Τα στοιχεία που αναφέρθηκαν, όσον αφορά την AMH, καθιστούν την ορμόνη αυτή κατάλληλο

υποψήφιο για την ερμηνεία της αυτοανασταλτικής δράσης στα επιλέξιμα ωοθυλάκια, ειδικότερα στην αρωματάση, ελέγχοντας, έτσι, τη διαδικασία της επιλογής. Τα επίπεδα της FSH στο PCOS είναι στα κατώτερα φυσιολογικά όρια. Επομένως, τα επίπεδα αυτά δεν είναι ικανά να αναστείλουν τις συγκεντρώσεις της AMH, έτσι ώστε να επιτραπεί η διαφυγή των ωοθυλακίων από τον τονικό έλεγχο της AMH και να αρχίσει να εκφράζεται αρωματάση στα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας. Η υπόθεση της AMH ενισχύεται και από την αρνητική σχέση που βρέθηκε μεταξύ του αριθμού των μικρών (2-5 mm) και των μεγαλύτερων (6-9 mm) ωοθυλακίων με άντρο στο υπερηχογράφημα, τόσο στις φυσιολογικές γυναίκες όσο και στις γυναίκες με PCOS<sup>(118)</sup>. Η αρνητική αυτή σχέση υποδηλώνει έναν ανασταλτικό μηχανισμό, που ασκείται από τα επιλέξιμα ωοθυλάκια στην περαιτέρω ωρίμανσή τους. Το παραπάνω φαινόμενο, που παρατηρείται και φυσιολογικά, εκφράζεται εντονότερα στο PCOS.

Εκτός από την παρουσία ανασταλτικών παραγόντων της FSH, όπως η AMH, που συμμετέχει, ενδεχομένως, στη διακοπή της εξέλιξης των ωοθυλακίων, με μείωση των δράσεων της FSH στη διαφοροποίηση των κυττάρων της κοκκιώδους στιβάδας, άλλοι μηχανισμοί περιλαμβάνουν τα υψηλά επίπεδα της LH και τις υψηλές συγκεντρώσεις της ινσουλίνης.

### **VI.3. Θεωρία της πρώιμης επίδρασης της LH στα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας των διαθέσιμων προς επιλογή ωοθυλακίων**

Στις φυσιολογικές ωοθυλακιορρηκτικές γυναίκες τα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας των ωοθυλακίων αναπτύσσουν υποδοχείς LH στο μέσον της όψιμης παραγωγικής φάσης<sup>(119)</sup>. Στη συνέχεια, η LH αναλαμβάνει τον έλεγχο της τελικής ανάπτυξης του ωοθυλακίου και ενισχύει την παραγωγή οιστραδιόλης και προγεστερόνης από τα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας, ενώ ταυτόχρονα αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό τους<sup>(120)</sup>. Μολονότι τα αυξημένα επίπεδα της LH στον ορό δεν παρατηρούνται πάντα στις ασθενείς με PCOS και δεν φαίνεται να αποτελούν προϋπόθεση για την ανωοθυλακιορρηξία, η παρουσία πρόωρης δράσης της LH στα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας ενισχύεται από κάποια πειραματικά δεδομένα. Η θεωρία της πρόωρης δράσης της LH δίνει μια εναλλακτική ερμηνεία για τη διακοπή της εξέλιξης των ωοθυλακίων.

Σε καλλιέργειες κυττάρων της κοκκιώδους στιβάδας από ανωοθυλακιορρηκτικές γυναίκες με PCOS, ωοθυλακιορρηκτικές γυναίκες με PCOS και μάρτυρες με την προσθήκη LH, τα κύτταρα αυτά απάντησαν πολύ νωρίτερα στη δράση της LH με την έκκριση οιστραδιόλης (σε μέγεθος ωοθυλακίου 4 mm αντί για 10 mm) στις ανωοθυλακιορρηκτικές γυναίκες με PCOS από ότι εκείνα των δύο άλλων ομάδων γυναικών<sup>(121)</sup>. Επιπλέον, η έκφραση του mRNA του υποδοχέα της LH ήταν πολύ εντονότερη στα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας των ωοθυλακίων με άντρο στις γυναίκες με πολυκυστική μορφολογία των ωοθηκών (5mm)<sup>(122)</sup>. Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν την πιο πρώιμη απόκτηση υποδοχέων της LH στις ανωοθυλακιορρηκτικές γυναίκες. Διατυπώθηκε, λοιπόν, η υπόθεση ότι τα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας των ανωοθυλακιορρηκτικών γυναικών με PCOS βρίσκονται σε πρόωρα προχωρημένο στάδιο ανάπτυξης, που οδηγεί στη διακοπή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, στασιμότητα της αύξησης του ωοθυλακίου και ανωοθυλακιορρηξία<sup>(121,122)</sup>. Πράγματι, η πρόωρη έκθεση ανθρώπινων κυττάρων της κοκκιώδους στιβάδας ωοθυλακιορρηκτικών γυναικών στην LH *in vitro* ανέστειλε τον πολλαπλασιασμό τους, σε βαθμό που η ανάπτυξη του κυρίαρχου

ωοθυλακίου διακόπηκε <sup>(123,124)</sup>. Η παρουσία σημαντικής θετικής συσχέτισης μεταξύ των επιπέδων της LH και των συγκεντρώσεων της ινχιμπίνης Β του ορού στις γυναίκες με PCOS, όχι, όμως, στις μάρτυρες <sup>(125)</sup>, συμφωνεί με τα παραπάνω βιβλιογραφικά δεδομένα και υποδηλώνει ότι στις γυναίκες με PCOS η LH δρα νωρίτερα στα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας από ό,τι στις μάρτυρες.

#### **VI.4. Θεωρία της ωοθυλακικής αδράνειας, λόγω αντίστασης στην ινσουλίνη και αντισταθμιστικής υπερινσουλιαιμίας**

Η υπερινσουλιαιμία, ως αποτέλεσμα της αντίστασης των ιστών στη δράση της ινσουλίνης, θεωρήθηκε υπεύθυνη στη διαδικασία της πρώιμης διαφοροποίησης των κυττάρων της κοκκιώδους στιβάδας <sup>(101)</sup>. Η ινσουλίνη in vitro αυξάνει την ικανότητα των κυττάρων της κοκκιώδους στιβάδας να απαντούν στην LH, εύρημα το οποίο ενισχύει την άποψη ότι τα αυξημένα επίπεδα της ορμόνης αυτής στις ανωθυλακιόρρηκτικές γυναίκες με PCOS ενδέχεται να αποτελούν τον κύριο παράγοντα που προκαλεί τη διακοπή της εξέλιξης των ωοθυλακίων <sup>(126)</sup>. Στην περίπτωση αυτή, η υπερινσουλιαιμία μπορεί να διαταράσσει τη στροφή από την FSH στην LH, που προάγει τη σωστή ωοθυλακική αύξηση μέχρι την ωοθυλακιόρρηξη.

Αντίθετα, άλλοι ερευνητές <sup>(127)</sup>, ενοχοποίησαν την αντίσταση στην ινσουλίνη στο επίπεδο των κυττάρων της κοκκιώδους στιβάδας, παρά την υπερινσουλιαιμία. Οι ερευνητές αυτοί εξέτασαν την ανταπόκριση των κυττάρων της κοκκιώδους στιβάδας των ωοθυλακίων γυναικών με PCOS στην ανασυνδυσασμένη FSH πριν και κατά τη διάρκεια της έγχυσης ινσουλίνης, με τη χρήση υπερινσουλιαιμικής ευγλυκαιμικής αντλίας και διαπίστωσαν ότι η ανταπόκριση των κυττάρων αυτών ενισχύθηκε από την ινσουλίνη, ύστερα από τη βελτίωση της ευαισθησίας των ιστών στην ινσουλίνη με θεραπεία με πιογλιταζόνη.

Πρέπει, πάντως, να σημειωθεί ότι υποστηρίχθηκε και η άποψη ότι αντί να είναι η πρωτογενής αιτία της ανωθυλακιόρρηξίας στο PCOS, η υπερινσουλιαιμία ή αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης μπορεί να θεωρηθεί ως δευτερεύων παράγοντας, ο οποίος με μη ειδικό τρόπο επιδεινώνει τη διακοπή της εξέλιξης των ωοθυλακίων <sup>(22)</sup>.

#### **VI.5. Ανωμαλίες του ωοκυττάρου**

Η άποψη της συμβολής του ωοκυττάρου στην ανωθυλακιόρρηξη των γυναικών με PCOS είναι η λιγότερο τεκμηριωμένη. Έχει αναφερθεί ότι η χορήγηση ανδρογόνων σε θηλυκούς πιθήκους κατά την ενδομήτρια ζωή και, στη συνέχεια, η πρόκληση πολλαπλής ωοθυλακιόρρηξίας και εξωσωματικής γονιμοποίησης στους πιθήκους αυτούς οδήγησε σε διαταραχή της αναπτυξιακής επάρκειας των ωοκυττάρων, όπως αξιολογήθηκε από το μειωμένο ποσοστό ζυγωτών που εξελίχθηκαν σε βλαστοκύστες. Μια εύλογη ερμηνεία για το εύρημα αυτό θα μπορούσε να ήταν η μειωμένη λήψη των πρωτεϊνών ή και των προϊόντων μεταγραφής που προέρχονται από τη μητέρα (από το ωάριο), τα οποία είναι σημαντικά για την ενεργοποίηση των εμβρυϊκών γονιδίων <sup>(128)</sup>.

Κάποια πρωτογενής διαταραχή των ωοκυττάρων θα μπορούσε, επίσης, να περιλαμβάνεται στη διαταραγμένη ωοθυλακιόγένεση των γυναικών με το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών, καθώς τα επίπεδα του mRNA του αυξητικού παράγοντα διαφοροποίησης-9 (GDF-9) φαίνεται ότι είναι μειωμένα στα πρωτογενή ωοκύτταρα των γυναικών αυτών κατά τη διάρκεια της φάσης της

αύξησης και της διαφοροποίησης τους<sup>(54)</sup>. Εντούτοις, δεν έχει, ακόμη, αποσαφηνισθεί αν τα ελαττωμένα επίπεδα του mRNA του GDF-9 συμμετέχουν στη διακοπή της εξέλιξης των ωοθυλακίων στο PCOS ή είναι απλά η συνέπεια μιας άλλης πρωτογενούς διαταραχής. Πρέπει, πάντως, να σημειωθεί ότι η πιθανότητα της παρουσίας ενδογενών διαταραχών του ωοκυττάρου ανοίγει νέους δρόμους και ο GDF-9, όπως και άλλοι παράγοντες του ωοκυττάρου (οστική μορφογενετική πρωτεΐνη -15: BMP-15) θα μπορούσαν να προστεθούν στον κατάλογο των υπόπτων.

#### **VI.6. Απουσία σταθερότητας στη διακοπή της εξέλιξης των ωοθυλακίων στο PCOS**

Το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών αποτελεί, στην πραγματικότητα, αιτία oligo-ωοθυλακιωρρηξίας παρά ανωοθυλακιωρρηξίας. Κατά διαστήματα, για άγνωστους λόγους, ένα ωοθυλάκιο γίνεται κυρίαρχο και μπορεί να δραπέτεύσει από την ανασταλτική ενδοωοθηκική επίδραση και να προχωρήσει προς την ωοθυλακιωρρηξία και το σχηματισμό ωχρού σωματίου. Λόγω αυτών των τυχαίων ωοθυλακιωρρηξιών, το ποσοστό γονιμότητας στις γυναίκες που δεν υποβάλλονται σε θεραπεία δεν είναι μηδενικό, μολονότι είναι μικρότερο από ότι στις φυσιολογικές ωοθυλακιωρρηκτικές γυναίκες. Επιπλέον, μερικές γυναίκες με PCOS εμφανίζουν τακτική ωοθυλακιωρρηξία (τύποι: 3A, 3B) και φυσιολογική γονιμότητα παρά την ύπαρξη βιοχημικής υπερανδρογοναιμίας ή υπερανδρογονισμού<sup>(75)</sup>.

Οι προσπάθειες να διευκρινισθούν οι παράγοντες που ξεχωρίζουν τις ωοθυλακιωρρηκτικές από τις ανωοθυλακιωρρηκτικές γυναίκες με το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών μπορεί να δώσουν σημαντικές πληροφορίες. Δεδομένα, όμως, που να αναφέρονται σε αυτούς τους παράγοντες είναι σπάνια στη διεθνή βιβλιογραφία.

Σε πειράματα in vitro, με καλλιέργειες κυττάρων της κοκκιδώδους στιβάδας, παρατηρήθηκε ότι πρόωρη έκφραση υποδοχέων της LH στα κύτταρα αυτά υπήρχε μόνο στις ανωοθυλακιωρρηκτικές γυναίκες με PCOS<sup>(121)</sup>. Διατυπώθηκε, λοιπόν, η άποψη ότι το φαινόμενο αυτό είχε

σχέση με την υπερινσουλιναίμια, η οποία, στην πράξη, δεν παρουσιάζεται σε όλες τις γυναίκες με PCOS. Από κλινικά στοιχεία είναι φανερό ότι η παχυσαρκία ή η υπερινσουλιναίμια ασκούν αρνητική επίδραση στη συχνότητα της ωοθυλακιωρρηξίας<sup>(129)</sup>. Εντούτοις, ακόμη και αν η χρήση των ευαίσθητοποιητών στη δράση της ινσουλίνης βελτίωσε σημαντικά το ποσοστό ωοθυλακιωρρηξίας, δεν γίνονται όλες οι γυναίκες με PCOS ωοθυλακιωρρηκτικές με τέτοιες θεραπείες<sup>(130)</sup>. Εξάλλου, κανένας δείκτης της υπερινσουλιναίμιας δεν θα μπορούσε να προβλέψει με ακρίβεια την έκβαση της θεραπείας<sup>(131)</sup>. Επιπλέον, μερικές ωοθυλακιωρρηκτικές γυναίκες με PCOS παρουσιάζουν τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα της υπερινσουλιναίμιας και της αντίστασης στη δράση της ινσουλίνης<sup>(132)</sup>. Αντίθετα, λεπτόσωμες γυναίκες με PCOS και oligομηνόρροια μπορεί να μην παρουσιάζουν καμία ένδειξη υπερινσουλιναίμιας και αντίστασης στη δράση της ινσουλίνης, παρά τη χρήση πολύπλοκων μεθόδων<sup>(133)</sup>. Κατά συνέπεια, αντί να είναι πρωτογενής αιτία της ανωοθυλακιωρρηξίας στο PCOS, η υπερινσουλιναίμια ή και η αντίσταση στην ινσουλίνη θα μπορούσαν να θεωρηθούν ως δευτερεύουσες αιτίες, οι οποίες με μη ειδικό τρόπο επιδεινώνουν τη διακοπή της εξέλιξης των ωοθυλακίων. Δεν έχει, ακόμη, διευκρινισθεί ποιος είναι αυτός ο μη ειδικός τρόπος. Είναι κατά τη διάρκεια της πρώιμης ανάπτυξης των ωοθυλακίων, μέσω της αύξησης του αριθμού τους, λόγω της προκαλούμενης από την ινσουλίνη

υπερλειτουργίας των κυττάρων της έσω θήκης, με αποτέλεσμα την υπερανδρογοναιμία, ή είναι μέσω των βλαπτικών επιδράσεων της υπερινσουλιναϊμίας ή και της αντίστασης στη δράση της ινσουλίνης στα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας;

Έχει υποστηριχθεί και η υπόθεση ότι η ανωθυλακιορρηξία στο PCOS οφείλεται στην αυτοανασταλτική επίδραση στη δεξαμενή των διαθέσιμων προς επιλογή ωθυλακίων, λόγω του υπερβολικού αριθμού τους <sup>(22)</sup>. Με βάση τη θεωρία αυτή, ο μεγάλος αριθμός ωθυλακίων και τα υψηλά επίπεδα της AMH πρέπει να παρατηρούνται στις ανωθυλακιορρηκτικές γυναίκες με PCOS. Τα σχετικώς πρόσφατα ιστομορφομετρικά στοιχεία

<sup>(77)</sup> παρέχουν στήριξη στην παραπάνω άποψη, εφόσον βρέθηκε ότι μεγάλος αριθμός πρωτογενών ωθυλακίων παρατηρήθηκε, κυρίως, στις ανωθυλακιορρηκτικές γυναίκες με PCOS. Ακόμη, έχει αναφερθεί ότι ο αριθμός των ωθυλακίων διαμέτρου 2-5 mm ήταν μικρότερος στις γυναίκες με τακτική εμμηνορρυσία, από ό,τι στις περιπτώσεις με ακανόνιστους κύκλους ή αμηνόρροια <sup>(77)</sup>. Επιπλέον, τα επίπεδα της AMH στον ορό ήταν χαμηλότερα στην πρώτη ομάδα γυναικών από ό,τι στη δεύτερη. Τέλος, στη μεγαλύτερη σειρά γυναικών, που κατατάχθηκαν στην ομάδα II oligo-ή ανωθυλακιορρηξίας, σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, βρέθηκε ότι οι συγκεντρώσεις της AMH στον ορό παρουσίαζαν υψηλή θετική συσχέτιση με το μεσοδιάστημα ανάμεσα στις εμμηνορρυσίες <sup>(116)</sup>.

Η ηλικία των γυναικών θα μπορούσε, επίσης, να διαφοροποιήσει τις ωθυλακιορρηκτικές από τις ανωθυλακιορρηκτικές γυναίκες με PCOS. Αναφέρθηκε, λοιπόν, ότι η μείωση της εφεδρείας των ωθυλακίων, που οφείλεται στη γήρανση των ωθηκών, ενδέχεται να ευθύνεται, σε μεγάλο βαθμό, για την υψηλότερη συχνότητα τακτικών εμμηνορρυσιακών κύκλων στις γυναίκες με PCOS και ηλικία άνω των 35 ετών <sup>(134)</sup>. Έτσι, οι γυναίκες με PCOS και τακτικούς εμμηνορρυσιακούς κύκλους ήταν σημαντικά μεγαλύτερες σε ηλικία από εκείνες με oligo- ή αμηνόρροια <sup>(22)</sup>. Επιπλέον, η ηλικία αποτελούσε αρνητικό καθοριστικό παράγοντα για τον αριθμό των ωθυλακίων διαμέτρου 2-5 mm σε γυναίκες με PCOS <sup>(118)</sup>. Τέλος, βρέθηκε σημαντική αρνητική συσχέτιση ανάμεσα στην ηλικία και στα επίπεδα της AMH στις γυναίκες με PCOS <sup>(116)</sup>.

Επομένως, η ωθυλακιορρηξία στις γυναίκες με PCOS, είτε αυτόματη ή προκλητή, εξαρτάται ιδιαίτερα από τον αριθμό των μικρών ωθυλακίων. Το εύρημα αυτό ενισχύει την υπόθεση ότι ο αριθμός των ωθυλακίων είναι, κυρίως, υπεύθυνος για τη διακοπή της εξέλιξης τους και ότι η αρνητική επίδρασή του μπορεί να ασκείται μέσω της υπερβολικής παραγωγής AMH.

## VII. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Το πρόβλημα των ωθυλακίων στο σύνδρομο των πολυκυστικών ωθηκών είναι διπλό. Πρώτον, η ενδοωθηκική υπερανδρογοναιμία προάγει την πρόωμη αύξηση των ωθυλακίων και οδηγεί σε περίσσεια ωθυλακίων με διάμετρο 2-5 mm. Δεύτερον, η μειωμένη δράση της FSH ή και η πρόωρη δράση της LH εμποδίζουν την επιλογή ενός κυρίαρχου ωθυλακίου από την αυξημένη αυτή δεξαμενή.

Στην πραγματικότητα, οι δύο αυτές ανωμαλίες ενδέχεται να είναι μόνο μία, σε μερικές, τουλάχιστον, ασθενείς με PCOS. Με βάση τα πρόσφατα παθοφυσιολογικά δεδομένα η ενδοωθηκική υπερανδρογοναιμία μπορεί να αποτελεί τον κύριο ένοχο για τη διακοπή της εξέλιξης των ωθυλακίων. Έτσι, η ενδοωθηκική υπερανδρογοναιμία φαίνεται να οδηγεί σε περίσσεια

ωοθυλακίων, τα οποία, με τη σειρά τους, αυξάνουν τα ενδοωθηκικά επίπεδα της AMH, που θα μπορούσαν, στη συνέχεια, να ασκούν ανασταλτική επίδραση στην επαγόμενη από την FSH δραστηριότητα της αρωματάσης. Κατά συνέπεια, η διακοπή της εξέλιξης των ωοθυλακίων θα μπορούσε να είναι το αποτέλεσμα της περίσσειάς τους, μέσω ενός φαινομένου αυτοαναστολής στην ομάδα τους, που οφείλεται στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των ωοθυλακίων <sup>(118)</sup>.

Η υπόθεση αυτή δεν αποκλείει ότι η υπερινσουλιναμία ενδέχεται να διαδραματίζει κάποιο ρόλο στην πρόωρη εξέλιξη της διαφοροποίησης των κυττάρων της κοκκιώδους στιβάδας, που οδηγεί στην επιδείνωση της διακοπής της εξέλιξης των ωοθυλακίων. Οι εγγενείς ανωμαλίες των ωοκυττάρων, όπως η έκφραση του GDF-9, μπορεί να εμπλέκονται στη διακοπή της εξέλιξης των ωοθυλακίων στο PCOS, όπως και στα προβλήματα της επιβίωσης των εμβρύων. Τέλος, η βελτίωση του ποσοστού ωοθυλακιορρηξίας ύστερα από λαπαροσκοπική χειρουργική επέμβαση στις ωοθήκες, ακόμη και όταν είναι ετερόπλευρη και χωρίς οποιαδήποτε άλλη θεραπεία <sup>(135)</sup>, εγείρει μεγάλη αβεβαιότητα σχετικά με την αναστρεψιμότητα της διακοπής της εξέλιξης των ωοθυλακίων, εάν, δηλαδή, η

αναστρεψιμότητα αυτή εξαρτάται από ενδοωθηκικούς ή από εξωωθηκικούς παράγοντες.

Η τρέχουσα φαρμακευτική αντιμετώπιση της διαταραχής της ωοθυλακιορρηξίας στο PCOS συνίσταται στη μείωση της υπερινσουλιναμίας και στη διόρθωση της σχετικής ανεπάρκειας της FSH <sup>(136,137)</sup>. Όσον αφορά τα πρόσφατα παθοφυσιολογικά δεδομένα, οι θεραπείες που έχουν χρησιμοποιηθεί εμπειρικά για πολλά έτη παραμένουν οι πλέον κατάλληλες. Ιδανικά, θα έπρεπε να χορηγούνται αντι-ανδρογόνα, που δεν εμφανίζουν αντι-γοναδοτροπικές ή τερατογόνες δράσεις, ή εναλλακτικά, θα έπρεπε να χορηγούνται αρνητικοί τροποποιητές της δραστηριότητας των κυττάρων της έσω θήκης, που δεν επηρεάζουν τις λειτουργίες των κυττάρων της κοκκιώδους στιβάδας. Μέχρι σήμερα, δεν υπάρχουν τέτοιες φαρμακευτικές ουσίες.

Τέλος, η έρευνα στη γενετική, που δεν έχει συμβάλει αρκετά, μέχρι σήμερα, στο συγκεκριμένο θέμα, θα δώσει, ενδεχομένως, στο μέλλον τη δυνατότητα στο έργο με τίτλο « Η Διαταραχή Της Ωοθυλακιογένεσης Στο PCOS» να ανέβει με νέους ηθοποιούς και καινούρια πλοκή.

#### BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Stein IF, Leventhal ML. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *Am J Obstet Gynecol* 1935; 29: 181-91.
2. Chang RJ, Nakamura RM, Judd HL, Kaplan SA. Insulin resistance in nonobese patients with polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1983; 57: 356-9.
3. Dunaif A, Segal KR, Futterweit W, Dobrjansky A. Profound peripheral insulin resistance, independent of obesity, in polycystic ovary syndrome. *Diabetes* 1989; 38: 1165-74.
4. Ehrmann DA. Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 2005; 352: 1223-36.
5. Norman R. Polycystic ovary syndrome: a guide to clinical management. *N Engl J Med* 2005;

353: 2625.

6. Zawadski JK, Dunaif A. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: Towards a rational approach. In: Dunaif A, Givens JR, Haseltine FP, Merriam GE, eds. Polycystic Ovary Syndrome. Current Issues in Endocrinology and Metabolism. Boston: Blackwell, 1992: 377-84.
7. 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). Hum Reprod 2004; 19: 41-7.
8. 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.
9. Azziz R. Controversy in clinical endocrinology diagnosis of polycystic ovarian syndrome: the Rotterdam criteria are premature. J Clin Endocrinol Metab 2006; 90: 781-5.
10. Πανίδης Δ, Κήτα Μ, Κασιόκης Η, Καρκανάκη Α, Σπανός Ν, Διαμάντη-Κανδαράκη Ε. Ταξινόμηση 715 γυναικών σύμφωνα με τα Κριτήρια του 1990 και του 2003 για τη διάγνωση του συνδρόμου των πολυκυστικών ωοθηκών. Εφ Γυν Αναπαρ και Εμμην 2007; 19: 85-92.
11. Carmina E, Rosato F, Jann A, Rizzo M, Longo RA. Relative prevalence of different androgen excess disorders in 350 women referred because of clinical hyperandrogenism. J Clin Endocrinol Metab 2006; 91: 2-6.
12. Azziz R. Evaluation for insulin resistance and comorbidities related to insulin resistance in polycystic ovary syndrome. In: Diamanti-Kandarakis E, Nestler E, Panidis D, Pasquali R, eds. Insulin Resistance and Polycystic Ovarian Syndrome. New Jersey: Humana Press, 2007: 1-13.
13. Demissie M, Legro RS, Dunaif A. The insulin resistance of polycystic ovary syndrome. In: Diamanti-Kandarakis E, Nestler E, Panidis D, Pasquali R, eds. Insulin Resistance and Polycystic Ovarian Syndrome. New Jersey: Humana Press, 2007: 349-354.
14. Diamanti-Kandarakis E. Pharmaceutical intervention in metabolic and cardiovascular risk factors in polycystic ovary syndrome. In: Diamanti-Kandarakis E, Nestler E, Panidis D,

Pasquali R, eds. *Insulin Resistance and Polycystic Ovarian Syndrome*. New Jersey: Humana Press, 2007: 431-449.

15. Jakubowicz D, Sharma TS. Insulin resistance and early pregnancy loss in polycystic ovary syndrome. In: Diamanti-Kandarakis E, Nestler E, Panidis D, Pasquali R, eds. *Insulin Resistance and Polycystic Ovarian Syndrome*. New Jersey: Humana Press, 2007: 451-465.

16. Nader S. Chronic treatment of polycystic ovary syndrome. In: Diamanti-Kandarakis E, Nestler E, Panidis D, Pasquali R, eds. *Insulin Resistance and Polycystic Ovarian Syndrome*. New Jersey: Humana Press, 2007:115-132.

17. Norman RJ, Moran LJ. Diet and lifestyle factors in the etiology and management of polycystic ovary syndrome. In: Diamanti-Kandarakis E, Nestler E, Panidis D, Pasquali R, eds. *Insulin Resistance and Polycystic Ovarian Syndrome*. New Jersey: Humana Press, 2007: 451-465.

18. Panidis D, Georgopoulos NA. Late pregnancy complications in polycystic ovary syndrome. In: Diamanti-Kandarakis E, Nestler E, Panidis D, Pasquali R, eds. *Insulin Resistance and Polycystic Ovarian Syndrome*. New Jersey: Humana Press, 2007:209-221.

19. Pasquali R, Gambineri A. Insulin resistance. In: Diamanti-Kandarakis E, Nestler E, Panidis D, Pasquali R, eds. *Insulin Resistance and Polycystic Ovarian Syndrome*. New Jersey: Humana Press, 2007:397-415.

20. Ryan C, Nestler JE. Insulin-sensitizing drugs for the treatment of infertility in polycystic ovary syndrome. In: Diamanti-Kandarakis E, Nestler E, Panidis D, Pasquali R, eds. *Insulin Resistance and Polycystic Ovarian Syndrome*. New Jersey: Humana Press, 2007:209-221.

21. Van Der Meer M, Hompes PG, De Boer JA, Schats R, Schoemaker J. Cohort size rather than follicle-stimulating hormone threshold level determines ovarian sensitivity in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 423-6.

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

10: 107-17.

23. Gilling-Smith C, Willis DS, Beard RW, Franks S. Hypersecretion of androstenedione by isolated thecal cells from polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79: 1158-65.

24. 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.

25. Nelson VL, Qin KN, Rosenfield RL, Wood JR, Penning TM, Legro RS, Strauss JF III, 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.

26. Wickenheisser JK, Quinn PG, Nelson VL, Legro RS, Strauss JF 3rd, McAllister JM. Dif

ferential activity of the cytochrome P450 17alpha-hydroxylase and steroidogenic acute regulatory protein gene promoters in normal and polycystic ovary syndrome theca cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:2304-11.

1. Wickenheisser JK, Nelson-DeGrave VL, Quinn PG, McAllister JM. Increased cytochrome P450 17alpha-hydroxylase promoter function in theca cells isolated from patients with polycystic ovary syndrome involves nuclear factor-1. *Mol Endocrinol* 2004; 18:588-605.

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

3. Legro RS, Spielman R, Urbanek M, Driscoll D, Strauss JF III and Dunaif A. Phenotype and genotype in polycystic ovary syndrome. *Recent Prog Horm Res* 1998; 53: 217-56.

4. Gharani N, Waterworth DM, Williamson R, Franks S. 5' polymorphism of the CYP17 gene is not associated with serum testosterone levels in women with polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 4174-80.

5. Gharani N, Waterworth D, Batty S, White D, Gilling-Smith C, Conway G, McCarthy, M, Franks S, Williamson R. Association of the steroid synthesis gene CYP11a with polycystic ovary syndrome and hyperandrogenism. *Hum Mol Genet* 1997; 3: 397-402.

6. Urbanek M, Legro RS, Driscoll DA, Azziz R, Ehrmann DA, Norman RJ, Strauss JF 3rd, Spielman RS, Dunaif A. Thirty-seven candidate genes for polycystic ovary syndrome: strongest evidence for linkage is with follistatin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 8573-8.

7. SanMillan JL, Sancho J, Calvo RM, Escobar-Morreale HF. Role of the pentanucleotide (tttta)<sub>n</sub> polymorphism in the promoter of the CYP11a gene in the pathogenesis of hirsutism. *Fertil Steril* 2001; 75: 797-802.

8. Wickenheisser JK, Nelson-DeGrave VL, Hendricks KL, Legro RS, Strauss JF 3rd, McAllister JM. Retinoids and retinol differentially regulate steroid biosynthesis in ovarian theca cells isolated from normal cycling women and women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 4858-65.

9. Oksjoki S, Soderstrom M, Inki P, Vuorio E, Anttila L. Molecular profiling of polycystic ovaries for markers of cell invasion and matrix turnover. *Fertil Steril* 2005; 83: 937-44.

10. Zhang LH, Rodriguez H, Ohno S, Miller WL. Serine phosphorylation of human P450c17

increases 17, 20-lyase activity: implications for adrenarche and the polycystic ovary syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995; 92: 10619-23.

11. Pandey AV, Miller WL. Regulation of 17, 20 lyase activity by cytochrome b5 and by serine phosphorylation of P450c17. *J Biol Chem* 2005; 280: 13265-71.
12. Pandey AV, Mellon SH, Miller WL. Protein Phosphatase 2A and phosphoprotein SET regulate androgen production by P450c17. *J Biol Chem* 2003; 278: 2837-44.
13. Wood JR, Nelson VL, Ho C, Jansen E, Wang CY, Urbanek M, McAllister JM, Mossel

man S, Strauss JF 3rd. The molecular phenotype of polycystic ovary syndrome (PCOS) theca cells and new candidate PCOS genes defined by microarray analysis. *J Biol Chem* 2003; 278: 26380-90.

40. Akhtar MK, Kelly SL, Kaderbhai MA. Cytochrome b(5) modulation of 17{alpha} hydroxylase and 17-20 lyase (CYP17) activities in steroidogenesis. *J Endocrinol* 2005; 187: 267-74.

41. Hillier SG, Yong EL, Illingworth PJ, Baird DT, Schwall RH, Mason AJ. Effect of recombinant inhibin on androgen synthesis in cultured human thecal cells. *Mol Cell Endocrinol* 1991; 75: R1-R6.

42. Udoff LC and Adashi EY. Intraovarian regulation of ovarian androgen secretion in PCOS. In Azziz R, Nestler JE and Dewailly D (eds) *Androgen Excess Disorders in Women* Lippincott±Raven, Philadelphia, USA 1997, pp 295-301.

43. Lewis KA, Gray PC, Blount AL, MacConell LA, Wiater E, Bilezikjian LM, Vale W. Beta-glycan binds inhibin and can mediate functional antagonism of activin signalling. *Nature* 2000; 404:411-4.

44. McConell LA, Leal MA, Vale WW. The distribution of betaglycan protein and mRNA in rat brain, pituitary, and gonads: implications for a role for betaglycan in inhibin-mediated reproductive functions. *Endocrinol* 2002; 143: 1066-75.

45. Pigny P, Desailly R, Cortet-Rudelli C, Duhamel A, Deroubaix-Allard D, Racadot A, Dewailly D. Serum a-inhibin levels in PCOS: relationship to the serum androstenedione level. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 1939-43.

46. Pigny P, Cortet-Rudelli C, Decanter C, Deroubaix D, Soudan B, Duhamel A, Dewailly

D. Serum levels of inhibins are differentially altered in patients with PCOS: effects of being overweight and relevance to hyperandrogenism. *Fertil Steril* 2000; 73: 972-7.

47. Knight PG, Glister C. TGF- $\beta$  superfamily members and ovarian follicle development. *Reproduction* 2001; 121: 503-12.
48. Cook CL, Siow Y, Brenner AG, Fallat ME. Relationship between serum mullerian-inhibiting substance and other reproductive hormones in untreated women with polycystic ovary syndrome and normal women. *Fertil Steril* 2002; 77: 141-6.
49. Pigny P, Merlen E, Robert Y, Cortet-Rudelli C, Decanter C, Jonard S, Dewailly D. Elevated serum level of anti-mullerian hormone (AMH) in polycystic ovary syndrome: relationship to the ovarian follicle excess and to the follicular arrest. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5957-62.
50. Ingraham HA, Hirokawa Y, Roberts LM, Mellon SH, McGee E, Nachtigal MW, Visser JA. Autocrine and paracrine Mullerian inhibiting substance hormone signalling in reproduction. *Recent Prog Horm Res* 2000; 55: 53-67.
51. Laurich VM, Trbovich AM, O'Neill FH, Houk CP, Sluss PM, Payne AH, Donahoe PK, Teixeira J. Mullerian inhibiting substance blocks the protein kinase A-induced expression of cytochrome P450 7 $\alpha$ hydroxylase/C (17 $\pm$ 20) lyase mRNA in a mouse Leydig cell

line independent of cAMP responsive element binding protein phosphorylation. *Endocrinology* 2002; 143: 3351-60.

52. Solovyeva EV, Hayashi M, Margi K, Barkats C, Klein C, Amsterdam A, Hsueh AJ, Tsafiri A. Growth differentiation factor-9 stimulates rat theca-interstitial cell androgen biosynthesis. *Biol Reprod* 2002; 63: 1214-8.
1. Yamamoto N, Christenson LK, McAllister JM, Strauss JF III. Growth differentiation factor-9 inhibits 3 $\beta$ -adenosine monophosphate-stimulated steroidogenesis in human granulosa and theca cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 2849-56.
2. Teixeira Filho FL, Baracat EC, Lee TH, Suh CS, Matsui M, Chang RJ, Shimasaki S, Erickson GF. Aberrant expression of growth differentiation factor-9 in oocytes of women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 1337-44.
3. Franks S. Anovulation in polycystic ovary syndrome. In: Diamanti-Kandarakis E, Nestler E, Panidis D, Pasquali R, eds. *Insulin Resistance and Polycystic Ovarian Syndrome*. New Jersey: Humana Press, 2007:297-302.
4. Diamanti-Kandarakis E, Kouli C, Alexandraki K, Spina G. Failure of mathematical indices to accurately assess insulin resistance in lean, overweight, or obese women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004; 89: 1273-6.
5. Baillargeon JP, Carpentier A. Respective role of insulin and LH in the ovarian steroidogenic production of non-obese women with PCOS and normal insulin levels-Final results Abstract [P1-565] presented in the 88th Annual Meeting of the Endocrine Society 2006, Boston, MA

6. Munir I, Yen HW, Geller DH, Torbati D, Bierden RM, Weitsman SR, Agarwal SK, Magoffin DA. Insulin augmentation of 17alpha-hydroxylase activity is mediated by phosphatidyl inositol 3-kinase but not extracellular signal-regulated kinase-1/2 in human ovarian theca cells. *Endocrinology* 2004; 145: 175-83.
7. Spaczynski RZ, Arici A, Duleba AJ. Tumor necrosis factor-alpha stimulates proliferation of rat ovarian theca-interstitial cells. *Biol Reprod* 1999; 61: 993-8.
8. Kwintkiewicz J, Foyouzi N, Piotrowski P, Rzepczynska I, Duleba AJ. Mevastatin inhibits proliferation of rat ovarian theca-interstitial cells by blocking the mitogen-activated protein kinase pathway. *Fertil Steril* 2006; 86 Suppl 4: 1053-8.
9. Sills ES, Drews CD, Perloe M, Tucker MJ, Kaplan CR, Palermo GD. Absence of profound hyperinsulinism in polycystic ovary syndrome is associated with subtle elevations in the plasminogen activator inhibitor system. *Gynecol Endocrinol* 2003; 17: 231-7.
10. Πανίδης Δ, Ρούσσοι Δ. Νεότερες απόψεις για την παθογένεια του συνδρόμου των πολυκυστικών ωοθηκών. *Materia Medica Greca* 1991; 19: 493-502.
11. 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.
  
64. 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 follicle-stimulating hormone responsiveness, to estradiol negative feedback in the female. *Endocrinology* 2005; 146: 4281-91.
  
65. Unsworth WP, Taylor JA, Robinson JE. Prenatal programming of reproductive neuroendocrine function: the effect of prenatal androgens on the development of estrogen positive feedback and ovarian cycles in the ewe. *Biol Reprod* 2005; 72: 619-27.
  
66. Pielecka J, Moenter SM. Effect of steroid milieu on gonadotropin-releasing hormone-1 neuron firing pattern and luteinizing hormone levels in male mice. *Biol Reprod* 2006; 74: 931-7.
  
67. de Koning J, Lambalk CB, Helmerhorst FM, Helder MN. Is GnRH self-priming an obligatory feature of the reproductive cycle? *Hum Reprod* 2001; 16: 209-14.
  
68. Panidis D, Farmakiotis D, Rousso D, Katsikis I, Kourtis A, Diamanti-Kandarakis E. Serum luteinizing hormone levels are markedly increased and significantly correlated with Delta 4-androstendione levels in lean women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2005; 84: 538-40.

69. Fowler PA, Sorsa-Leslie T, Harris W, Mason HD. Ovarian gonadotrophin surge-attenuating factor (GnSAF): where are we after 20 years of research? *Reproduction* 2003;

126: 689-99.

70. Rosenfield RL. Ovarian and adrenal function in polycystic ovary syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1999; 28: 265-93.

71. Yildiz BO, Woods KS, Stanczyk F, Bartolucci A, Azziz R. Stability of adrenocortical steroidogenesis over time in healthy women and women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 5558-62.

72. Azziz R. Heritability of adrenal androgen secretion in sisters of women with PCOS. Abstract [P1-555] presented in the 88th Annual Meeting of the Endocrine Society 2006, Boston, MA.

73. Tsilchorozidou T, Honour J, Conway G. Altered cortisol metabolism in polycystic ovary syndrome: insulin enhances 5 $\alpha$ -reduction but not the elevated adrenal steroid production rates. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5907-13.

74. Franks S. Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1995; 333:853-61.

75. Diamanti-Kandarakis E, Panidis D. Unravelling the phenotypic map of polycystic ovary syndrome (PCOS): a prospective study of 634 women with PCOS. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007; [Epub ahead of print].

76. Hughesdon PE. Morphology and morphogenesis of the Stein-Leventhal ovary and of so-called 'hyperthecosis'. *Obstet Gynecol Surv* 1982; 37:59-77.

77. Webber LJ, Stubbs S, Stark J, Trew GH, Margara R, Hardy K, Franks S. Formation and early development of follicles in the polycystic ovary. *Lancet* 2003; 362:1017-21.

78. Legro RS, Driscoll D, Strauss JF, Fox J, Dunaif A. Evidence for a genetic basis for hyper

androgenemia in polycystic ovary syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 14956-60.

1. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, Janssen OE, Legro RJ, Norman RJ, Taylor AE, Witchel SF. Positions statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an Androgen Excess Society guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:4237-45.

2. 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: 2479-85.
3. Hillier SG, Tetsuka M, Fraser HM. Location and developmental regulation of androgen receptor in primate ovary. *Hum Reprod* 1997; 12:107-11.
  4. Murray AA, Gosden RG, Allison V, Spears N. Effect of androgens on the development of mouse follicles growing in vitro. *J Reprod Fertil* 1998; 113: 27-33.
  5. Vendola KA, Zhou J, Adesanya OO, Weil SJ, Bondy CA. Androgens stimulate early stages of follicular growth in the primate ovary. *J Clin Invest* 1998; 101: 2622-9.
  6. Hillier SG. Hormonal control of folliculogenesis and luteinization in Findlay. *Molecular Biology of the Female Reproductive System*. Academic Press, San Diego 1994; pp1-37.
  7. Takayama K, Fukaya T, Sasano H, Funayama Y, Suzuki T, Takaya R, Wada Y, Yajima A. Immunohistochemical study of steroidogenesis and cell proliferation in polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod* 1996; 11: 1387-92.
  8. 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: 2951-6.
  9. Vendola KA, Zhou J, Wang J, Bondy CA. Androgens promote the IGF-1 and IGF-1 receptor gene expression in the primate ovary. *Hum Reprod* 1999; 14: 2328-32.
  10. Kase N, Kowal W, Perloff L, Soffer L. In vitro production of androgens by a virilizing adrenal adenoma and associated polycystic ovaries. *Acta Endocrinol* 1963; 44: 15-19.
  11. Pache TD, Fauser BC. Polycystic ovaries in female-to-male transsexuals. *Clin Endocrinol* 1993; 39: 702-3.
  12. Pache TD, Hop WC de Jong FH, Leerentveld RA, van Geldorp H, Van de Kamp TM, Gooren LJ, Fauser BC. 17 $\beta$ -Oestradiol, androstenedione and inhibin levels in fluid from individuals' follicles of normal and polycystic ovaries, and in ovaries from androgen treated female to male transsexuals. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1992; 36: 565-71.
  13. Jonard S, Robert Y, Cortet-Rudelli C, Pigny P, Decanter C, Dewailly D. Ultrasound examination of polycystic ovaries: is it worth counting the follicles? *Hum Reprod* 2003; 18:598-603.
  14. Daniel SA, Armstrong DT. Androgens in the ovarian microenvironment. *Semin Reprod Endocrinol* 1982; 4:89-100.
- 
93. Billig H, Furuta I, Hsueh JW. Estrogens inhibit and androgens enhance ovarian granulosa cell apoptosis. *Endocrinology* 1993; 133:2204-12.
  94. Parrott JA, Skinner MK. Kit-ligand/stem cell factor induces primordial follicle development and initiates folliculogenesis. *Endocrinology* 1999; 140: 4262-71.

95. Nilsson E, Parrott JA, Skinner MK. Basic fibroblast growth factor induces primordial follicle development and initiates folliculogenesis. *Mol Cell Endocrinol* 2001; 175: 123-130.
96. Durlinger AL, Kramer P, Karels B, de Jong FH, Uilenbroek JT, Grootegoed JA, Themmen AP. Control of primordial follicle recruitment by anti-Mullerian hormone in the mouse ovary. *Endocrinology* 1999; 140: 5789-96.
97. Durlinger AL, Gruijters MJ, Kramer P, Karels B, Ingraham HA, Nachtigal MW, Uilenbroek JT, Grootegoed JA, Themmen AP. Anti-Mullerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary. *Endocrinology* 2002; 143: 1076-84.
98. Weenen C, von Bergh ARM, Cranfield M, Groome NP, Laven JSE, Kramer P, Fauser BCJM, Themmen APN. Anti-Mullerian hormone (AMH) expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. *Mol Hum Reprod* 2004; 10: 77-83.
99. Dahlgren E, Johansson S, Lindstedt G, Knutsson F, Oden A, Janson PO, Mattson LA, Crona N, Lundberg PA. Women with polycystic ovary syndrome wedge resected in 1956 to 1965: a long-term follow-up focusing on natural history and circulating hormones. *Fertil Steril* 1992; 57: 505-13.
100. Strauss JFIII, Dunaif A. Molecular mysteries of polycystic ovary syndrome. *Mol Endocrinol* 1999; 13: 800-5.
101. Franks S, Mason H, White D, Willis D. Etiology of anovulation in polycystic ovary syndrome. *Steroids* 1998; 63: 306-7.
102. Carmina E, Lobo RA. Do hyperandrogenic women with normal menses have polycystic ovary syndrome? *Fertil Steril* 1999; 71: 319-22.
103. Homburg R, Amsterdam A. Polycystic ovary syndrome: loss of the apoptotic mechanism in the ovarian follicles? *J Endocrinol Invest* 1998; 21: 552-7.
104. Fauser BC, Pache TD, Lamberts SW, Hop WC, de Jong FH, Dahl KD. Serum bioactive and immunoreactive luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone levels in women with cycle abnormalities, with or without polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 73: 811-7.
105. VanDessel HJ, Schoot BC, Schipper I, Dahl KD, Fauser BC. Circulating immunoactive and

bioactive FSH concentrations in anovulatory infertile women and during gonadotrophin induction of ovulation using a decremental dose regimen. *Hum Reprod* 1996; 11: 478-85.

106. Laven JSE, Imani B, Eijkemans MJC, de Jong FH, Fauser BCJM. Absent biologically relevant associations between serum inhibin B concentrations and characteristics of polycystic ovary syndrome in normogonadotropic anovulatory infertility. *Hum Reprod*

2001; 16: 1359-64.

107. Magoffin DA, San Roman GA, Muderspach LI. Insulin-like growth factor binding proteins in a natural pre-ovulatory follicle from a woman with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 1995; 10: 2248-52.

108. Cataldo NA. Insulin-like growth factor binding proteins: do they play a role in polycystic ovary syndrome? *Semin Reprod Endocrinol* 1997; 15: 123-136.

109. Giudice LC. Growth factor action on ovarian function in polycystic ovary syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1999; 28: 325-39.

110. Hamilton-Fairley D, Franks S. Common problems in induction of ovulation. *Bailliere's Clin Obstet Gynecol* 1990; 4: 609-25.

111. Coffier 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: 1742-7.

112. Almahbobi G, Anderiesz C, Hutchinson P, McFarlane JR, Wood C, Trounson AO. Functional integrity of granulosa cells from polycystic ovaries. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1996;

44: 571-80.

113. Schipper I, Rommerts FF, Ten Hacken PM, Fauser BC. Low levels of FSH receptor activation inhibitors in serum and follicular fluid from normal controls and anovulatory patients with or without polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 1325-31.

114. Zhou J, Wang J, Penny D, Monget P, Arraztoa JA, Fogelson LJ, Bondy CA. Insulin-like growth factor binding protein 4 expression parallels luteinizing hormone receptor expression and follicular luteinization in the primate ovary. *Biol Reprod* 2003; 62: 22-9.

115. Fallat ME, Siow Y, Marra M, Cook C, Carrillo A. Mullerian inhibiting substance in follicular

fluid and serum- a comparison of patients with tubal factor infertility, polycystic ovarian syndrome and endometriosis. *Ferti Steril* 1997; 67: 962-5.

116. Laven JS, Mulders AG, Themmen AP, de Jong FH, Fauser BC. Anti-mullerian hormone (AMH) serum concentrations in normo-ovulatory and anovulatory women. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 318-23.

117. Jakimiuk AG, Jakowicki JA, Magoffin DA. Follicular development in polycystic ovary syndrome. *Assist Reprod Rev* 1997; 7: 54-7.

118. Jonard S, Dewailly D, Pigny P, Robert Y, Decanter C. What are the determinants of the antral follicle number at ovarian ultrasonography (U/S) in PCOS? ESHRE Congress, oral communication (O- 119). *Hum Reprod* 2003; 18 (Suppl1): 42.

119. Erickson GF, Wang C, Hsueh AG. FSH induction of functional LH receptors in granulosa cells cultured in a chemically defined medium. *Nature* 1979; 279: 336-8.

120. Πανίδης Δ, Ρούσσος Δ, Κούρτης Α, Κατσίκης Η. Ωχρινοτρόπος ορμόνη. Ενδοκρινολογία Αναπαραγωγής στη Γυναίκα και στον Άνδρα. Γράμμα, Θεσσαλονίκη 2004; σελ. 213-233.

1. Willis DS, Willis D, Watson H, Mason HT, Galea R, Brincat M, Franks S. Premature response to luteinizing hormone of granulosa cells from anovulatory women with polycystic ovary syndrome: relevance to mechanism of anovulation. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 3984-91.

2. Jakimiuk AJ, Weitsman SR, Navab A, Magoffin DA. Luteinizing hormone receptor, steroidogenesis acute regulatory protein, and steroidogenic enzyme messenger ribonucleic acids are overexpressed in thecal and granulosa cells from polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 1318-23.

3. Yong EL, Baird DT, Yates R, Reichert LE, Hillier SG. Hormonal regulation of the growth and steroidogenic function of human granulosa cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 74: 842-9.

4. Hillier SG. Current concepts of the roles of follicle stimulating hormone and luteinizing hormone in folliculogenesis. *Hum Reprod* 1994; 9: 188-91.

5. Cortet-Rudelli C, Pigny P, Decanter C, Leroy M, Maunoury-Lefebvre C, Thomas-Desrousseaux P, Dewailly D. Obesity and serum luteinizing hormone level have an independent and opposite effect on the serum inhibin B level in patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2002; 77: 281-7.

6. Willis DS, Mason HD, Gilling-Smith C, Franks S. Modulation by insulin of follicle stimulating hormone and luteinizing hormone actions in human granulosa cells of normal and polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 302-9.

127. Coffier MS, Patel K, Dahan MH, Yoo RY, Malcom PJ, Chang RJ. Enhanced granulosa cell responsiveness to follicle-stimulating hormone during insulin infusion in women with polycystic ovary syndrome treated with pioglitazone. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5624-31.

1. 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; 87:1111-9.
2. Kiddy DS, Sharp PS, White DM, Scanlon MF, Mason HD, Bray CS, Polson DW, Reed MJ, Franks S. Differences in clinical and endocrine features between obese and non-obese subjects with polycystic ovary syndrome: an analysis of 263 consecutive cases. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1990; 32: 213-20.
3. Costello MF, Eden JA. A systematic review of the reproductive system effects of metformin in patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2003; 79:1-13.
4. Nestler JE, Stovall D, Akhter N, Luorno MJ, Jakubowicz DJ. Strategies for the use of insulin-sensitizing drugs to treat infertility in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2002;77:209-15.
5. Carmina E, Lobo RA. Polycystic ovaries in hirsute women with normal menses. *Am J Med* 2001; 111: 602-6.

133. Ovesen P, Moller J, Ingerslev HJ, Jorgensen JO, Mengel A, Schmitz O, Alberti KG, Moller N. Normal basal and insulin-stimulated fuel metabolism in lean women with the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77: 1636-40.

134. Elting MW, Kwee J, Korsen TJM, Rekers-Mombarg LTM, Schoemaker J. Aging women with polycystic ovary syndrome who achieve regular menstrual cycles have a smaller follicle cohort than those who continue to have irregular cycles. *Fertil Steril* 2003; 79: 1154-60.

135. Amer SAK, Li TC, Cooke ID. Repeated laparoscopic ovarian diathermy is effective in women with anovulatory infertility due to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2003;

79: 1211-5.

136. Legro RS, Barnhart HX, Schlaff WD et al. Clomiphene, metformin or both for infertility in the polycystic ovary syndrome. *N Eng J Med* 2007; 356: 551- 66.

137. Panidis D, Farmakiotis D. Treatment of infertility in the polycystic ovary syndrome . *N Eng J*

Med 2007; 356:1999.

«γράμμα»® Θ. Βαρθολομαίος 2310 926629