

Ο ρόλος των γονιδίων στο Σύνδρομο των Πολυκυστικών Ωοθηκών: Προδιάθεση και Μηχανισμοί

Χριστίνα Κουσκούτη, Ελισάβετ Κουστένη, Παναγιώτης Χριστόπουλος, Ευθύμιος Δεληγεώργου

Τμήμα Παιδικής-Εφηβικής Γυναικολογίας και Επανορθωτικής Χειρουργικής, Β' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, «Αρεταίειο» Νοσοκομείο

Αλληλογραφία: Χριστίνα Κουσκούτη
Γ. Λύρα 54, 145 61 Κηφισιά
Τηλ.: 6977778000, 210 6254433, Fax: 210 6206262
E-mail: christina@kouskoutis.com

Περίληψη

Το Σύνδρομο των Πολυκυστικών Ωοθηκών (ΣΠΩ), με κύρια χαρακτηριστικά την υπερανδρογοναιμία ή/και τον υπερανδρογονισμό, την ωοθηκική δυσλειτουργία ή/και πολυκυστική μορφολογία καθώς και συνοδές μεταβολικές διαταραχές, αποτελεί τη συχνότερη ενδοκρινική διαταραχή των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας. Η παρατηρούμενη συνύπαρξη ατόμων με το σύνδρομο στις ίδιες οικογένειες αλλά και οι ενδείξεις ότι για την ανάπτυξη του συνδρόμου απαιτείται η αλληλεπίδραση πολλαπλών γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων, έδωσαν το έναυσμα για τη διενέργεια πλήθους γενετικών ερευνών στο ΣΠΩ. Στις έρευνες αυτές μελετήθηκαν αρκετά γονίδια, αναφορικά με τη συσχέτισή τους ή μη με το σύνδρομο, τα οποία ανήκουν σε τέσσερις κατηγορίες: τα σχετιζόμενα με την αντίσταση στην ινσουλίνη, τα σχετιζόμενα με τη βιοσύνθεση και τη δράση των ανδρογόνων, τα σχετιζόμενα με την κωδικοποίηση φλεγμονωδών κυτταροκινών και λοιπά υποψήφια γονίδια. Παρά την πρόοδο που έχει σημειωθεί στη διαλεύκανση των γενετικών μηχανισμών του ΣΠΩ, οι έρευνες εξακολουθούν να αντιμετωπίζουν σημαντικούς περιορισμούς και προκλήσεις, οι οποίοι χρειάζεται να υπερκεραστούν, προκειμένου να ανοιχτούν νέοι δρόμοι στη διαγνωστική και θεραπευτική προσέγγιση του συνδρόμου.

Λέξεις κλειδιά: Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών (ΣΠΩ), γενετική προδιάθεση, γενετικοί μηχανισμοί, γονίδια

Εισαγωγή

Το Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών (ΣΠΩ) αποτελεί τη συχνότερη ενδοκρινική πάθηση των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας (Carmina and Lobo, 1999). Πρόκειται για μία ετερογενή διαταραχή, της οποίας κύρια χαρακτηριστικά είναι η

υπερανδρογοναιμία ή/και ο υπερανδρογονισμός, η ωοθηκική δυσλειτουργία ή/και πολυκυστική μορφολογία και σε σημαντικό ποσοστό των γυναικών οι συνοδές μεταβολικές διαταραχές (Dunaif, 1997). Το ΣΠΩ περιγράφηκε για πρώτη φορά από τους

Stein και Leventhal το 1935 ως ανεξάρτητη οντότητα (Stein and Leventhal, 1935) και μέχρι σήμερα συνιστά μία λειτουργική διαταραχή αδιευκρίνιστης αιτιολογίας.

Μέχρι σήμερα έχουν προταθεί τρεις επίσημοι ορισμοί του συνδρόμου, γεγονός που αντικατοπτρίζει την ετερογένεια των φαινοτύπων του. Ο ορισμός του US National Institutes of Health (NIH), το 1990, θέτει ως απαραίτητα κριτήρια τον υπερανδρογονισμό ή/και υπερανδρογοναιμία και τη χρόνια ανωοθυλακιορρηξία, ενώ συγχρόνως προϋποθέτει τον αποκλεισμό όλων των πιθανών καταστάσεων που προκαλούν παρόμοιες διαταραχές (Zawadzki and Dunaif, 1992). Με βάση τον ορισμό της ESHRE στο Rotterdam, το 2003, για τη διάγνωση του συνδρόμου απαιτούνται τουλάχιστον δύο από τα εξής τρία κριτήρια: 1) αραιομηνόρροια / ανωοθυλακιορρηξία, 2) κλινικός ή/και βιοχημικός υπερανδρογονισμός ή 3) πολυκυστική απεικόνιση των ωοθηκών (The Rotterdam ESHRE/ASRM, 2004). Τέλος, πρόσφατως, η Androgen Excess Society (AES), το 2006, πρότεινε ως κριτήρια την περίσσεια ανδρογόνων (υπερανδρογονισμός ή/και υπερανδρογοναιμία), την ωοθηκική δυσλειτουργία (ολιγο-ανωοθυλακιορρηξία ή/και πολυκυστική μορφολογία) και τον αποκλεισμό άλλων καταστάσεων που προκαλούν παρόμοιες διαταραχές (Azziz et al., 2006).

Αναλόγως με το ποια κριτήρια θα χρησιμοποιηθούν για τον ορισμό του ΣΠΩ, παρουσιάζεται μία μικρή διακύμανση στη συχνότητα εμφάνισης του συνδρόμου. Παρόλα αυτά, κατά μέσο όρο η επίπτωση του συνδρόμου κυμαίνεται στο 6.5-8.0% μεταξύ των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας, χρησιμοποιώντας τα κριτήρια του NIH και αυτή η συχνότητα παρατηρείται αυξημένη κατά 20-60% με τα κριτήρια του Rotterdam. Η συχνότητα του ΣΠΩ στους πρώτου βαθμού συγγενείς των ασθενών σημειώνει στατιστικά σημαντική αύξηση, γεγονός που ενισχύει την άποψη περί ύπαρξης γενετικής προδιάθεσης για την εκδήλωση του συνδρόμου (Azziz, 2007).

Αναπτύχθηκε, λοιπόν, η πεποίθηση ότι η ανάπτυξη του ΣΠΩ απαιτεί την αλληλεπίδραση πολλαπλών γενετικών - κληρονομικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Το γεγονός αυτό έδωσε το έναυσμα για τη διενέργεια πληθώρας μελετών, οι οποίες προσπαθούν να διαλευκάνουν τους γενετικούς μηχανισμούς του συνδρόμου. Η ανασκόπηση αυτή επιχειρεί να παρουσιάσει τα σύγχρονα δεδομένα των ερευνών σχετικά με τα γονίδια που εμπλέκονται στο σύνδρομο, αλλά και τους περιορισμούς που αυτές παρουσιάζουν.

Στοιχεία που υποδηλώνουν γενετική βάση του Συνδρόμου

i: Οικογενής κατανομή - συσσώρευση: κατά καιρούς, διάφορες μελέτες καταγράφουν τη συσσώρευση ατόμων με υπερανδρογονισμό, ΣΠΩ και συνοδές μεταβολικές διαταραχές ανάμεσα στα μέλη ίδιων οικογενειών, χωρίς όμως να υπάρξει απόδειξη για τον τρόπο κληρονομικής μεταβίβασης (Ferriman and Purdie, 1979; Lunde et al., 1989). Αντιπροσωπευτικά, σε έρευνα των Kahsar-Miller και Azziz, το 35% των μητέρων και το 40% των αδελφών των ασθενών με ΣΠΩ εμφάνιζαν και οι ίδιες το σύνδρομο (Kahsar-Miller et al., 2001).

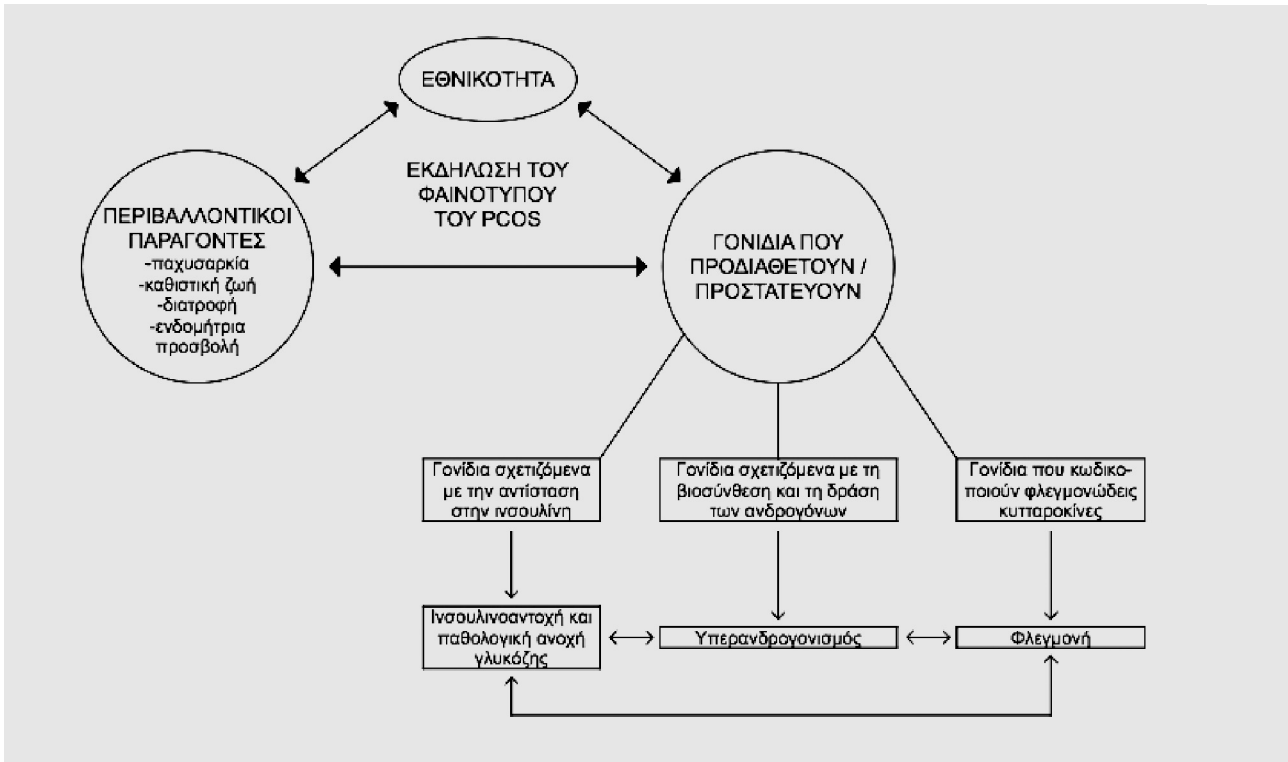
ii: Ανδρικός φαινότυπος: Υπάρχουν περιορισμένα στοιχεία για τους άνδρες συγγενείς των ατόμων με ΣΠΩ, τα οποία προτείνουν την πρόωγη αραίωση του τριχωτού της κεφαλής, την αυξημένη υπερτρίχωση, τα αυξημένα επίπεδα θειικής δεϋδροεπιανδροστερόνης (dehydroepiandrosterone sulfate, DHEAS), την υπεραπάντηση στην εκλυτική ορμόνη των γοναδοτροπινών (Gonadotropin Releasing Hormone, GnRH) και στην φλοιοεπινεφριδιοτρόπο ορμόνη (Adrenal Corticotrophic Hormone, ACTH), την ινσουλινοαντοχή και την παθολογική ανοχή γλυκόζης ως το αρσενικό ισοδύναμο του συνδρόμου (Legro, 2000; Legro et al., 2002).

iii: Μελέτες διδύμων: Από τις λίγες μελέτες που έχουν διεξαχθεί σχετικά με τη συχνότητα του συνδρόμου σε δίδυμα αδέρφια, προτείνεται ότι η παθογένεια του ΣΠΩ βασίζεται στην αλληλεπίδραση τόσο γενετικών όσο και περιβαλλοντικών παραγόντων (Jahanfar et al., 1995; Jahanfar et al., 1997).

Στοιχεία τα οποία υποδεικνύουν την επίδραση εξωγενών παραγόντων στο Σύνδρομο

i: Συμβολή περιβαλλοντικών παραγόντων: Παίζουν καθοριστικό ρόλο στη διαμόρφωση του φαινοτύπου των ατόμων με ΣΠΩ, γεγονός το οποίο διαφαίνεται από το ότι πάρα τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των εθνικοτήτων, η κλινική εμφάνιση του συνδρόμου παρουσιάζει παρόμοιο επιπολασμό στις διάφορες χώρες. Όταν συγκρίθηκαν Ιαπωνέζες με Ιταλίδες και Ισπανόφωνες Αμερικανίδες που έπασχαν από το σύνδρομο, διαπιστώθηκε ότι δεν υπήρχαν διαφορές ως προς τα μετρούμενα επίπεδα τεστοστερόνης και επινεφριδιακών ορμονών, την αντίσταση στην ινσουλίνη και τη αύξηση του όγκου των ωοθηκών. Η διαφορά αφορούσε μόνο στο μικρότερο βαθμό παχυσαρκίας και στην έλλειψη υπερτρίχωσης των Ιαπωνέζων (Carmina et al.,

Σχήμα 1: Η αλληλεπίδραση των γονιδίων που σχετίζονται με την ινσουλινοαντοχή, τον υπερανδρογονισμό και τη φλεγμονή, τόσο μεταξύ τους όσο και με τους περιβαλλοντικούς παράγοντες (Escobar-Morreale et al., 2005).



1992). Ακόμα μία σκέψη είναι ότι η συσσώρευση περιστατικών του ΣΠΩ σε μία οικογένεια πιθανώς να οφείλεται στην αυξημένη έκθεση των ατόμων αυτών σε κοινούς περιβαλλοντικούς παράγοντες, οι οποίοι ευνοούν την εκδήλωση του συνδρόμου, χωρίς την ανάμιξη του γονιδιακού μηχανισμού (Dunaif et al., 1993).

ii: *Επιδράσεις κατά την ενδομήτρια ανάπτυξη:* Η ενδομήτρια έκθεση σε περίσσεια ανδρογόνων μπορεί να οδηγήσει σε υπερανδρογονισμό και ωοθηκική δυσλειτουργία κατά την ενήλικη ζωή, παρά την ομαλοποίηση των τιμών των ανδρογόνων μετά τη γέννηση, καθώς και σε καθυστέρηση της ενδομήτριας ανάπτυξης που προδιαθέτει στην ανάπτυξη αντίστασης στην ινσουλίνη (Xita and Tsatsoulis, 2006).

Υποψήφια γονίδια για να ερμηνεύσουν τη γενετική βάση του Συνδρόμου

Τα γονίδια τα οποία έχουν μελετηθεί γύρω από το ΣΠΩ μπορούν να διαχωριστούν, όπως φαίνεται και στο Σχήμα 1, με βάση το σημείο της παθοφυσιολο-

γίας του συνδρόμου, όπου παρεμβάλλεται το καθένα, σε:

- I. Γονίδια σχετιζόμενα με τη βιοσύνθεση και τη δράση των ανδρογόνων
- II. Γονίδια σχετιζόμενα με την αντίσταση στην ινσουλίνη
- III. Γονίδια τα οποία κωδικοποιούν φλεγμονώδεις κυτταροκίνες
- IV. Άλλα υποψήφια γονίδια (Escobar-Morreale et al., 2005).

Τα πλέον μελετημένα γονίδια, για τις ως άνω κατηγορίες, είναι τα ακόλουθα:

- I. Γονίδια σχετιζόμενα με τη βιοσύνθεση και τη δράση των ανδρογόνων

Το γεγονός ότι ο υπερανδρογονισμός, κλινικός ή/και βιοχημικός, περιλαμβάνεται και στους τρεις διαφορετικούς ορισμούς του συνδρόμου αποδεικνύει ότι αποτελεί ένα από τα βασικά χαρακτηριστικά του συνδρόμου. Οι στεροειδείς ορμόνες, με κύριο εκπρόσωπο τα ανδρογόνα, παίζουν πρωταρχικό ρόλο στην κλινική έκφραση του συνδρόμου και για το λόγο αυτό, τα γονίδια τα οποία εμπλέκονται στη βιοσύνθεση και τη δράση τους απετέλεσαν έναν από τους κύριους στόχους των γενετικών

ερευνών στο ΣΠΩ.

(Οι θέσεις δράσης των γονιδίων της στεροειδογένεσης απεικονίζονται στο Σχήμα 2)

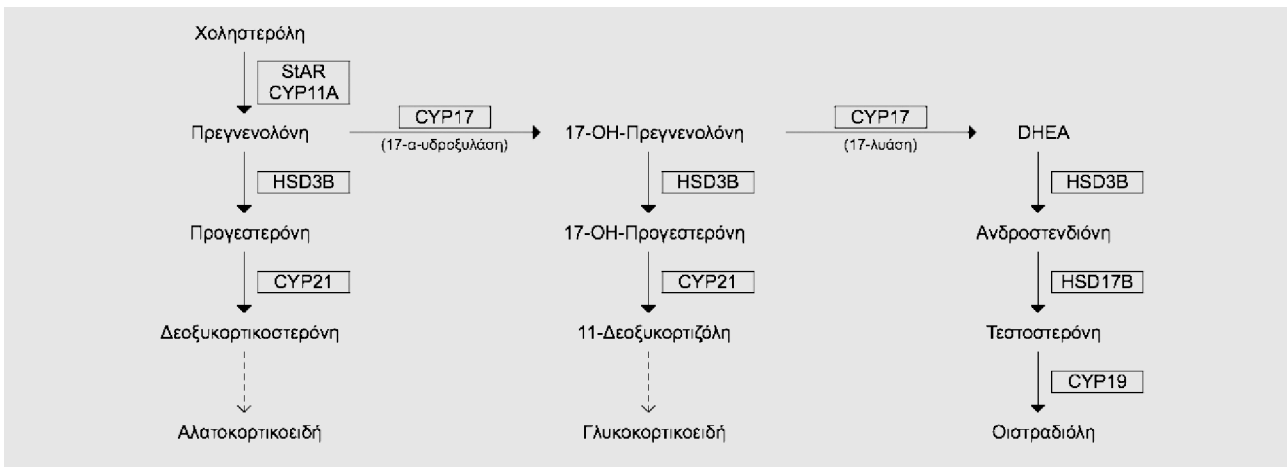
- **HSD3B2**: το γονίδιο της 3-β-υδροξυστεροειδοαφυδρογονάσης, καταλύει τη μετατροπή των Δ5 στεροειδών σε Δ4 στεροειδή, αλλά δεν έχει τεκμηριωθεί η συσχέτισή του με το σύνδρομο.
- **HSD11B1**: το γονίδιο της 11-β-υδροξυστεροειδοαφυδρογονάσης, ρυθμίζει την αδρανοποίηση της κορτιζόλης σε κορτιζόνη, αλλά η συσχέτισή του με το ΣΠΩ δεν είναι αποδεδειγμένη (Gambineri et al., 2006).
- **HSD17B3 και HSD17B5**: τα γονίδια για δύο τύπους της 17-β-υδροξυστεροειδοαφυδρογονάσης, καταλύει τη μετατροπή της ανδροστενδιόνης σε τεστοστερόνη. Οι μεταλλάξεις του γονιδίου της σχετίζονται με την εκδήλωση του άρρενος ψευδεμφροδιτισμού και υπήρξε η υπόθεση ότι φαινοτυπικά θήλεα άτομα με ωοθηκική ανεπάρκεια του ενζύμου θα εμφάνιζαν διαταραχές της εμμήνου ρύσεως λόγω συσσώρευσης ανδροστενδιόνης. Δεν υπάρχει τεκμηριωμένη συσχέτιση με το σύνδρομο για το HSD17B3, ενώ υπάρχει θετική συσχέτιση για το HSD17B5 (Qin et al., 2006; Goodarzi et al., 2008).
- **CYP11A**: το γονίδιο του ενζύμου της αποκοπής των πλαγίων αλυσίδων της χοληστερόλης (side-chain cleavage enzyme, SCCE), συμμετέχει στο πρώτο βήμα της στεροειδογένεσης και για το οποίο δεν τεκμηριώθηκε η ύπαρξη κάποιου ρόλου στην παθογένεια του ΣΠΩ.
- **CYP21**: το γονίδιο της 21-υδροξυλάσης, μετατρέπει τη 17-OH-προγεστερόνη σε 11-δεοξυκορτιζόλη, αλλά η συσχέτισή του με το σύνδρομο δεν τεκμηριώθηκε.
- **CYP17**: το γονίδιο του ενζύμου P450c17a, έχει διττό ρόλο 17-α-υδροξυλάσης και 17-λυάσης, οπότε μέσω αυτού καταλύεται η μετατροπή της προγενολόνης σε 17-OH-προγενολόνη και της προγεστερόνης σε 17-OH-προγεστερόνη και από αυτά καταλύει την παραγωγή διυδροεπιανδροστερόνης και ανδροστενδιόνης. Ο ρόλος του στο σύνδρομο παραμένει αντικρουόμενος (Diamanti-Kandarakis et al., 1999).
- **CYP19**: το γονίδιο της αρωματάσης μετατρέπει τα ανδρογόνα σε οιστρογόνα και η δράση της μπορεί να υποστεί περιορισμό στα κύτταρα του ωοφόρου δίσκου ή του ωοθυλακίου, με αποτέλεσμα τη συσσώρευση ανδρογόνων. Υπάρχει θετική συσχέτιση του γονιδίου της με το ΣΠΩ.
- **AR**: το γονίδιο του υποδοχέα των ανδρογόνων (Androgen receptor, AR) στο χρωμόσωμα Xq11-

12. Είναι σήμερα γνωστό ότι πολλές από τις εκδηλώσεις του ΣΠΩ, όπως η υπογονιμότητα και το ανδρογονικό πλεόνασμα, εκφράζονται μέσω του ανδρογονικού υποδοχέα. Υπάρχει αντικρουόμενος ρόλος της σχέσης μεταξύ αυξημένης τεστοστερόνης πλάσματος και ύπαρξης μακρύτερων CAG αλληλουχιών στο γονίδιο AR (Hickey et al., 2002).

- **SHBG (sex hormone binding globulin)**: το γονίδιο της δεσμευτικής σφαιρίνης των ορμονών του φύλου, ρυθμίζει την πρόσβαση και άρα τη δράση της τεστοστερόνης και της οιστραδιόλης στους ιστούς. Μειωμένες συγκεντρώσεις της είναι χαρακτηριστικές σε υπερανδρογονικές γυναίκες και συμβάλλουν στην αυξημένη απόδοση των ανδρογόνων στους ιστούς. Υπάρχει τεκμηριωμένη συσχέτιση με έναν (TAAAA)_n πολυμορφισμό στον υποκινητή του γονιδίου, και μάλιστα, χαμηλότερα επίπεδα SHBG σχετίζονται με μακρύτερα (TAAAA)_n αλληλία τόσο σε ασθενείς, όσο και σε μάρτυρες (Ferk et al, 2007).
- **SRD5A**: το γονίδιο της στεροειδικής-5α-ρεδοκτάσης, καταλύει την τεστοστερόνη στη δραστική διυδροτεστοστερόνη μέσα στον πυρήνα. Μεταγραφικοί παράγοντες του γονιδίου έχουν εντοπιστεί στις ωοθήκες, όπου η δραστηριότητα της 5α-ρεδοκτάσης πιθανόν καταστέλλει τα ωοθυλάκια, και στα τριχοθυλάκια, όπου πιστεύεται ότι συμβάλλει στις διάφορες μορφές υπερτρίχωσης των γυναικών με ΣΠΩ. Υπάρχει θετική συσχέτιση του γονιδίου με το σύνδρομο (Goodarzi et al., 2006).
- **HLA-A11 και HLA-DRB1**: τα γονίδια αυτά του μείζονος συστήματος ιστοσυμβατότητας συσχετίζονται με ανεπάρκεια της 21-υδροξυλάσης, τα γονίδια της οποίας παρεμβάλλονται στις περιοχές HLA στο χρωμόσωμα 6. Η συσχέτιση των γονιδίων αυτών με το ΣΠΩ είναι τεκμηριωμένη με σύγχρονα δεδομένα (Kaibe et al, 2006).
- **Γοναδοτροπίνες**: όσον αφορά τις γοναδοτροπίνες, δεν έχει τεκμηριωθεί κάποια συσχέτιση με το σύνδρομο για τα γονίδια της β-υπομονάδας της ωχρινοποιητικής ορμόνης (luteinizing hormone, LH) - LHβ, του υποδοχέα της LH - LHR, της β-υπομονάδας της θυλακιοτρόπου ορμόνης (follicle stimulating hormone, FSH) - FSHβ, του υποδοχέα της FSH - FSHR και του υποδοχέα της GnRH - GnRHR.

II. Γονίδια σχετιζόμενα με την αντίσταση στην ινσουλίνη

Η ινσουλινοαντοχή θεωρείται πλέον στενά συνυφασμένη με το ΣΠΩ, καθώς είναι γνωστό ότι σημαντικό ποσοστό των ασθενών με το σύνδρομο εμφα-

Σχήμα 2: Τα γονίδια της στεροειδογένεσης και οι θέσεις δράσης τους στην αλυσίδα της στεροειδογένεσης.

νίζει συνοδές μεταβολικές διαταραχές. Μάλιστα, τα αυξημένα επίπεδα ινσουλίνης των ατόμων αυτών φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθολογία του συνδρόμου, αφού η ινσουλίνη δρα στην ωθητική και ενισχύει τη δράση της LH στα κοκκιοκύτταρα, επιδρώντας με τον τρόπο αυτό στη στεροειδογένεση. Θεωρήθηκε λοιπόν, ότι γονιδιακές παραλλαγές οι οποίες επηρεάζουν την απάντηση στην ινσουλίνη, ίσως συσχετίζονται με αυξημένη συχνότητα εκδήλωσης ΣΠΩ. Γονίδια που σχετίζονται με αντίσταση στην ινσουλίνη και έχουν μελετηθεί είναι:

- **INS:** το γονίδιο της ινσουλίνης στο χρωμόσωμα 11p5.5, για το οποίο διερευνήθηκε η συσχέτιση μεταξύ των πολυμορφισμών VNTR έμπροσθεν του γονιδίου και του συνδρόμου, χωρίς αυτή τελικά να τεκμηριωθεί (Waterworth et al., 1997; Vankova et al., 2002).
- **INSR:** το γονίδιο του υποδοχέα της ινσουλίνης στο χρωμόσωμα 19, στο οποίο ένας απλός νουκλεοτιδικός πολυμορφισμός στον τομέα της κινάσης της τυροσίνης προκαλεί αυξημένη φωσφορυλίωση στη σερίνη με αποτέλεσμα μειονέκτημα στο μηχανισμό σηματοδότησης, όμως ο ρόλος του στο PCOS παραμένει αντικρουόμενος (Conway et al., 1994; Sorbara et al., 1994; Dunaif et al., 1995; Siegel et al., 2002).
- **IRS-1 και IRS-2:** τα γονίδια του υποστρώματος του υποδοχέα της ινσουλίνης-1 και του υποστρώματος του υποδοχέα της ινσουλίνης-2 (Insulin receptor substrate-1 and Insulin receptor substrate-2), στα οποία ένα μειονέκτημα οδηγεί σε μειωμένη δραστηριότητα της κινάσης της φωσφατιδυλινοσιτόλης-3 (PI-3 kinase) και κατά συνέπεια αδυναμία

της αύξησης της πρόσληψης γλυκόζης από τα κύτταρα. Ο ρόλος του IRS-2 είναι αντικρουόμενος, ενώ υπάρχει θετική συσχέτιση για το IRS-1 (Ehrmann et al., 2002).

- **IGF-system:** από το σύστημα των ινσουλινόμορφων αυξητικών παραγόντων (Insulin-like growth factors, IGF) υπάρχει θετική συσχέτιση με το σύνδρομο μόνο για τον IGF-1, ο οποίος στο ΣΠΩ παρορσιάζει αυξημένη ηπατική έκφραση και έκκριση και, λαμβάνοντας υπ' όψιν ότι διεγείρει την αδρενεργική και ωθητική ανδρογονική έκφραση, οδηγεί σε υπερανδρογονισμό (Giudice, 1999).
- **PPAR-γ:** μεταγραφικός παράγοντας ο οποίος εντοπίζεται στον πυρήνα και ρυθμίζει την έκφραση των γονιδίων, ενώ αποτελεί τον κύριο στόχο των θειαζολιδινεδιονών. Ο ρόλος του στο σύνδρομο είναι αντικρουόμενος (Hara et al., 2002; Orio et al., 2003).
- **Pon1:** το γονίδιο της παροξωνάσης, η οποία είναι ένα υψηλής πυκνότητας αντιοξειδωτικό ένζυμο, το οποίο όταν ελλείπει δημιουργείται στρες, που ενδεχομένως παραβλάπτει τη δράση της ινσουλίνης. Υπάρχει τεκμηριωμένη συσχέτιση του γονιδίου με το σύνδρομο (Fenkci et al., 2007).
- **CAPN10:** το γονίδιο της Calpain-10, η οποία είναι μία πρωτεάση της κυστεΐνης, η οποία παίζει ρόλο στην έκκριση και στη δράση της ινσουλίνης. Ο ρόλος του γονιδίου στο ΣΠΩ εξακολουθεί να είναι αντικρουόμενος (Ehrmann et al., 2002; Escobar-Morreale et al., 2002).

III. Γονίδια τα οποία κωδικοποιούν φλεγμονώδεις κυτταροκίνες

Η χρόνια φλεγμονή συμβάλλει στην ανάπτυξη του

Πίνακας 1. Γονίδια τα οποία σύμφωνα με τα σύγχρονα δεδομένα συμβάλλουν στην ανάπτυξη PCOS (Azziz, 2007).

ADRB2	Beta 2 adrenergic receptor
AGT	Angiotensinogen
CAPN5	Calpain 5
CYP11B2	Aldosterone synthase
CYP19	Aromatase
CYP1A1	Cytochrome P450, family1, sybfamily A, polypeptide 1
D19S884	Chromosome 19 microsatellite (in gene for fibrillin-3)
EPHX	Microsomal epoxide hydrolase
FEM1A	Fem-1 homolog a
GSTM1	Glutathione S transferase M1
GSTT1	Glutathione S-transferase theta 1
HLA-A	Major histocompatibility complex, class I, A
HLA-B	Major histocompatibility complex, class I,B
HLA-DRB1	Major histocompatibility complex, class II, DR beta 1
HSD17B5	17-Beta hydroxysteroid dehydrogenase, type V
IGF2	Insulin-like growth factor 2
IL1A	Interleukin 1 alpha
IL6	Interleukin 6
IL6R	Interleukin 6 receptor
IL6ST	Interleukin 6 signal transducer
IRS1	Insulin receptor substrate 1
MMP1	Matrix metalloproteinase 1
PC1	Plasma cell membrane glycoprotein 1
PON1	Paraoxonase
PPP1R3A	Protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 3A
SHBG	Sex hormone binding globulin
SRD5A1	Steroid 5-alpha reductase type 1
SRD5A2	Steroid 5-alpha reductase type 2
TNFR2	Tumor necrosis factor receptor 2

ΣΠΩ, καθώς οι φλεγμονώδεις κυτταροκίνες επιτείνουν την αντίσταση στην ινσουλίνη. Κεντρικό ρόλο στη σχέση αυτή παίζει η παχυσαρκία που εμφανίζουν σε μεγάλο ποσοστό τα άτομα με το σύνδρομο, καθώς φαίνεται ότι η έκφραση φλεγμονωδών κυτοκινών στο λιπώδη ιστό είναι αυξημένη (Fernandez-Real and Ricart, 1999). Η συσχέτιση της χρόνιας φλεγμονής με το ΣΠΩ οδήγησε στη διερεύνηση των γονιδίων των παραγόντων της φλεγμονής. Πιο συγκεκριμένα:

- TNFA: το γονίδιο του παράγοντα άλφα νέκρωσης όγκων (tumor necrosis factor alpha, TNF-α), ο

οποίος διευκολύνει τη δράση της ινσουλίνης και του IGF-1 στην ωοθήκη. Έχουν μελετηθεί ποικίλοι πολυμορφισμοί του γονιδίου αυτού χωρίς να έχει υπάρξει τεκμηρίωση συσχέτισης με το σύνδρομο.

- TNFRSF1B: Υπάρχει θετική συσχέτιση του γονιδίου του τύπου 2 διαλυτού υποδοχέα του TNF-α (tumor necrosis factor receptor 2, TNFR2) στο χρωμόσωμα 1p36.2 με το σύνδρομο, καθώς ο υποδοχέας φαίνεται να παράγεται σε μεγαλύτερο βαθμό (Uysal et al., 1998; Fernandez-Real et al., 2000; Peral et al., 2002).

- IL-6: το γονίδιο της ιντερλευκίνης-6 (interleukin-

6,IL-6), για το οποίο υπάρχει τεκμηριωμένη συσχέτιση με το σύνδρομο, τόσο για πολυμορφισμούς που συμβάλλουν στην ανάπτυξη ΣΠΩ, όσο και για πολυμορφισμούς που ασκούν μία προστατευτική δράση έναντι αυτού (Walch et al., 2004).

- IL-6R: το γονίδιο του υποδοχέα της IL-6 για το οποίο υπάρχει αποδεδειγμένη συσχέτιση η οποία, όσον αφορά την α-υπομονάδα φαίνεται να συμβάλλει στην ανάπτυξη του συνδρόμου, ενώ όσον αφορά τη β-υπομονάδα φαίνεται να ασκεί έναν προστατευτικό ρόλο.

IV. Άλλα υποψήφια γονίδια

- EPHX: το γονίδιο της μικροσωμικής εποξικής υδρολάσης στο χρωμόσωμα 1q42.1. Η μικροσωμική εποξική υδρολάση είναι μία πρωτεΐνη, η οποία καταλύει τη φάση I υδρολύσης των εποξειδίων, παίζοντας σημαντικό ρόλο στη διαδικασία αποτοξίνωσης κατά το μεταβολισμό ενδογενών και εξωγενών συστατικών. Υπάρχει τεκμηριωμένη συσχέτιση του EPHX με το σύνδρομο, χωρίς ωστόσο να είναι απόλυτα σαφής ο ακριβής μηχανισμός δράσης του (Hassett et al., 1994; Hartsfield et al., 1998; Hippelainen and Heinonen, 2003).

Από τη συγκέντρωση των στοιχείων που έχουν προκύψει από τις πολυάριθμες έρευνες που έχουν διεξαχθεί τα τελευταία χρόνια για τη διαλεύκανση του γενετικού μηχανισμού του PCOS, καταρτίστηκαν κάποιοι πίνακες οι οποίοι κατατάσσουν τα υποψήφια γονίδια σε τρεις κατηγορίες: 1)σε αυτά τα οποία τελικά δεν συμβάλλουν στην ανάπτυξη του συνδρόμου, 2)σε αυτά για τα οποία τα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα ως προς το ρόλο τους, καθώς υπάρχουν τόσο θετικές όσο και αρνητικές συσχετίσεις από τις έρευνες, και τέλος 3)σε αυτά τα οποία φαίνεται να έχουν κάποια περισσότερο θετική συσχέτιση με το σύνδρομο (Πίνακας 1), αν και ακόμα και για τα περισσότερα από αυτά τα γονίδια χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση ως προς τον ακριβή τους ρόλο (Azziz, 2007).

Περιορισμοί και προκλήσεις των γενετικών ερευνών στο Σύνδρομο

Παρά το γεγονός ότι η κληρονομικότητα στο ΣΠΩ είναι πλέον κοινώς αποδεκτή και θεωρείται ισχυρά αποδεδειγμένη, δεν κατέστη δυνατή η τεκμηρίωση του γενετικού υπόβαθρου του συνδρόμου. Το ΣΠΩ, συνιστώντας μία σύνθετη διαταραχή, παρουσιάζει ιδιαίτερη δυσκολία για γενετική ανάλυση, λόγω της πολυπλοκότητας του υποκείμενου γενετι-

κού μοντέλου καθώς και πιθανών αλληλεπιδράσεων μεταξύ γονιδίων καθώς και μεταξύ γονιδίων και περιβάλλοντος.

Μέχρι σήμερα, στις διάφορες έρευνες για το γενετικό μηχανισμό του συνδρόμου, υπήρχε μικρή επαναληψιμότητα στις συσχετίσεις μεταξύ γονιδιακών παραλλαγών και ΣΠΩ.

Η έλλειψη κοινώς αποδεκτών κριτηρίων και ορισμού για το σύνδρομο είναι ένας καθοριστικός περιοριστικός παράγοντας. Είναι γνωστό ότι υπάρχουν τρεις κατηγορίες κριτηρίων, του NIH, της ESHRE και της AES. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα έρευνες για το ίδιο γονίδιο, οι οποίες βασίζονται, όμως, σε διαφορετικά κριτήρια να καταλήγουν και σε διαφορετικά συμπεράσματα (Unluturk et al., 2007).

Κατ' άλλους συγγραφείς (Escobar-Morreale et al., 2005), σπουδαιότερο ρόλο στην ετερογένεια που εμφανίζεται παίζει το σχετικά μικρό μέγεθος δείγματος του υπό μελέτη πληθυσμού, το οποίο αδυνατεί να προσδώσει στις έρευνες την απαιτούμενη στατιστική δύναμη για να ανιχνεύσουν τις ήπιες επιδράσεις, τις οποίες οι γονιδιακές παραλλαγές πιθανόν να έχουν στη σύνθετη παθογένεια του ΣΠΩ, ενώ συγχρόνως αυξάνει την πιθανότητα στατιστικού λάθους.

Σημείο τριβής για τη διερεύνηση της οικογενούς διασποράς του συνδρόμου εξακολουθεί να αποτελεί ο μη σαφής ορισμός του ανδρικού φαινοτύπου, ο οποίος αντιστοιχεί στο σύνδρομο. Αν και έχουν προταθεί ορισμένα κλινικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά, δεν υπάρχουν σαφή κριτήρια για την ταυτοποίηση του υπερανδρογονισμού στα άτομα αυτά. Ένα ακόμα στοιχείο που πρέπει να ληφθεί υπ' όψιν είναι η μη τυχαία επιλογή οικογενειών, εντάσσοντας στα δείγματα των μελετών, οικογένειες των οποίων πολλά μέλη εμφανίζουν το σύνδρομο και αποκλείοντας αυτές χωρίς κανέναν πάσχοντα συγγενή. Μία τέτοια επιλογή δείγματος οδηγεί συχνά σε λανθασμένες εκτιμήσεις.

Επιπλέον, η υπογονιμότητα η οποία χαρακτηρίζει το ΣΠΩ, δυσχεραίνει τη μελέτη οικογενειών με περισσότερες από μία γενεές, η οποία όμως είναι απαραίτητη για την ταυτοποίηση γονιδιακών τόπων. Άλλοι παράγοντες οι οποίοι δυσχεραίνουν την τεκμηρίωση του γενετικού μηχανισμού στο ΣΠΩ είναι αφενός η ασάφεια ως προς τον τύπο της κληρονομικότητας και κατά πόσο αυτή είναι αυτοσωμική επικρατούσα, μονογονιδιακή ή φυλοσύνδετη και αφετέρου η ποικίλου βαθμού διεισδυτικότητα των υπευθύνων γονιδίων που απολήγει σε δυσχέρεια καθορισμού φαινοτύπου.

Τέλος, για την κατανόηση της σύνθετης παθογένειας του συνδρόμου είναι αναγκαία η διαλεύκανση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων, η οποία ίσως αποτελεί και το κλειδί για το γονιδιακό υπόβαθρο.

Γίνεται, λοιπόν, σαφές, ότι είναι αναγκαίο να υπερκεραστούν αρκετοί περιορισμοί προκειμένου να υπάρξει στο μέλλον σαφής τεκμηρίωση του σύνθετου γενετικού μηχανισμού, ο οποίος υποκρύπτεται πίσω από το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών.

Επίλογος

Η εξέλιξη στον τομέα της Μοριακής Βιολογίας, ιδιαίτερα μετά την επιτυχή χαρτογράφηση του ανθρώπινου γονιδιώματος, σηματοδότησε την αρχή μίας νέας εποχής στην Ιατρική. Το ενδιαφέρον για την αποκάλυψη και την ταυτοποίηση των γονιδίων που σχετίζονται με το Σύνδρομο των Πολυκυστικών Ωοθηκών και τη διαλεύκανση του γενετικού του μηχανισμού, αντικατοπτρίζεται στο μεγάλο αριθμό δημοσιεύσεων κατά τη διάρκεια της τελευταίας δεκαετίας σχετικά με το θέμα αυτό.

Παρά τους περιορισμούς που παρουσιάζονται στις σύγχρονες γενετικές έρευνες για το ΣΠΩ, νέες μέθοδοι και τεχνικές ανακαλύπτονται καθημερινά στον τομέα της γενετικής έρευνας, προσδοκώντας να δώσουν λύσεις. Η προοπτική της ταυτοποίησης των γονιδίων και των πρωτεϊνών που σχετίζονται με το Σύνδρομο των Πολυκυστικών Ωοθηκών, καθώς και η αντίληψη των αλληλεπιδράσεών τους με το περιβάλλον, θα ανοίξει νέους δρόμους για την ανάπτυξη περισσότερο επακριβών διαγνωστικών τεχνικών, τον καθορισμό νέων θεραπευτικών στόχων και την πρόωπη αναγνώριση προδιατεθειμένων, λόγω του γενετικού τους υπόβαθρου, ατόμων.

The role of genes in the polycystic ovary syndrome: predisposition and mechanisms

C. Kouskouti, E. Kousteni, P. Christopoulos, E. Deligeoroglou

Division of Pediatric-Adolescent Gynecology and Reconstructive Surgery, 2nd Department of Obstetrics and Gynecology University of Athens, Aretaieion Hospital

Correspondence: Christina Kouskouti
G. Lyra 54, 145 61 Kifissia, Greece
Tel.: 6977778000, 210 6254433,
Fax: 2106206262
E-mail: christina@kouskoutis.com

Summary

The Polycystic Ovary Syndrome (PCOS), mainly characterized by clinical and/or biochemical hyperandrogenism, ovarian dysfunction and/or polycystic morphology and associated metabolic disorders, is the most common endocrine disorder in women of reproductive age. The observed aggregation of PCOS cases within the same families and the persuasion that the interaction between multiple genetic and environmental factors is necessary for the development of the syndrome, has triggered the conduct of genetic studies on PCOS. These studies have focused on many genetic polymorphisms, investigating their possible positive or negative correlation with the syndrome, which can be grouped in four categories: those related with insulin resistance, those that interfere with the biosynthesis and the action of the androgens, those that encode inflammatory cytokines and other candidate genes. Despite the progress that has been made in the elucidation of the genetic mechanisms of the PCOS, the genetic studies on the syndrome still face many obstacles and challenges, which need to be overcome, in order to obtain new approaches in the diagnostics and therapeutics of PCOS.

Key words: polycystic ovary syndrome (PCOS), genetic predisposition, genetic mechanisms, genes

Βιβλιογραφία

- Azziz, R. (2007) The Polycystic ovary syndrome: Current concepts on pathogenesis and clinical care. In: Springer (Ed.), Springer Science and Business Media, New York, 1-15 & 29-42.
- Azziz, R., Carmina, E., Dewailly, D. et al. (2006) Positions statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an Androgen Excess Society guideline. *J.Clin. Endocrinol. Metab.* 91,4237-4245.
- Carmina, E. and Lobo, R.A. (1999) Polycystic ovary syndrome (PCOS): arguably the most common endocrinopathy is associated with significant morbidity in women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 84, 1897-1899.
- Carmina, E., Koyama, T., Chang, L. et al. (1992) Does ethnicity influence the prevalence of adrenal hyperandrogenism and insulin resistance in polycystic ovary syndrome? *Am. J. Obstet. Gynecol.* 167, 1807-1812.
- Conway, G.S., Avey, C. and Rumsby, G. (1994) The tyrosine kinase domain of the insulin receptor gene is normal in women with hyperinsulinaemia and polycystic ovary syndrome. *Hum. Reprod.* 9, 1681-1683.
- Diamanti-Kandarakis, E., Bartzis, M.I., Zapanti, E.D. et al. (1999) Polymorphism T->C (-34 bp) of gene CYP17 promoter in Greek patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil. Steril.* 71, 431-435.
- Dunaif, A. (1997) Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocr. Rev.* 18, 774-800.
- Dunaif, A., Sorbara, L., Delson, R. and Green, G. (1993) Ethnicity and polycystic ovary syndrome are associated with independent and additive decreases in insulin action in Caribbean-Hispanic women. *Diabetes*, 42, 1462-1468.
- Dunaif, A., Xia, J., Book, C.B. et al. (1995) Excessive insulin receptor serine phosphorylation in cultured fibroblasts and in skeletal muscle. A potential mechanism for insulin resistance in the polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Invest.* 96, 801-810.
- Ehrmann, D.A., Schwarz, P.E., Hara, M. et al. (2002) Relationship of Calpain-10 genotype to phenotypic features of polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87, 1669-1673.
- Ehrmann, D.A., Tang, X., Yoshiuchi, I. et al. (2002) Relationship of insulin receptor substrate-1 and -2 genotypes to phenotypic features of polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87, 4297-4300.
- Escobar-Morreale, H.F., Luque-Ramirez, M. and San Millan, J.L. (2005) The molecular-genetic basis of functional hyperandrogenism and the polycystic ovary syndrome. *Endocrine Reviews*, 26, 251-282.
- Escobar-Morreale, H.F., Peral, B., Villuendas, G. et al. (2002) Common single nucleotide polymorphisms in intron 3 of the Calpain-10 gene influence hirsutism. *Fertil. Steril.* 77, 581-587.
- Fencki, I.V., Serteser, M., Fencki, S. and Kose, S. (2007) Paraoxonase levels in women with polycystic ovary syndrome. *J. Reprod. Med.* 52, 879-883.
- Ferk, P., Teran, N. and Gersak, K. (2007) The (TAAAA)n microsatellite polymorphism in the SHBG gene influences serum SHBG levels in women with polycystic ovary syndrome. *Hum. Reprod.* 22, 1031-1036.
- Fernandez-Real, J.M. and Ricart, W. (1999) Insulin resistance and inflammation in an evolutionary perspective: the contribution of cytokine genotype / phenotype to thriftiness. *Diabetologia*, 42,1367-1374.
- Fernandez-Real, J.M., Vendrell, J., Ricart, W. et al. (2000) Polymorphism of the tumor necrosis factor - alpha receptor 2 gene is associated with obesity, leptin levels, and insulin resistance in young subjects and diet-treated type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*, 23, 831-837.
- Ferriman, D. and Purdie, A.W. (1979) The inheritance of polycystic ovarian disease and a possible relationship to premature balding. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 11, 291-300.
- Gambineri, A., Vicennati, V., Genghini, S. et al. (2006) Genetic variation in 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase predicts adrenal hyperandrogenism among lean women with polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 91,2295-2302.
- Giudice, L.C. (1999) Growth factor action on ovarian function in polycystic ovary syndrome. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* 28, 325-339.
- Goodarzi, M.O., Jones, M.R., Antoine, H.J. et al. (2008) Nonreplication of the 5' 17- β Hydroxysteroid Dehydrogenase gene association with polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 93, 300-303.
- Goodarzi, M.O., Shah, N.A., Antoine, H.J. et al. (2006) Variants in the 5 α -reductase type 1 and type 2 genes are associated with polycystic ovary syndrome and the severity of hirsutism in affected women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 91, 4085-4091.
- Hara, M., Alcoser, S.Y., Qaadir, A. et al. (2002) Insulin resistance is attenuated in women with polycystic ovary syndrome with the Pro12Ala polymorphism in the PPAR- γ gene. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87, 772-775.
- Hartsfield, J.K., Sutcliffe, M.J., Everett, E.T. et al. (1998) Assignment of microsomal epoxide hydrolase (EPHX1) to human chromosome 1q42.1 by in situ hybridization. *Cytogenet. Cell. Genet.* 83, 44-45.
- Hassett, C., Aicher, L., Sidhu, J.S. and Omiecinski, C.J. (1994) Human microsomal epoxide hydrolase: genetic polymorphism and functional expression in vitro of amino acid variants. *Hum. Mol. Genet.* 3, 421-428.
- Hickey, T., Chandy, A. and Norman, R.J. (2002) The androgen receptor CAG repeat polymorphism and X-chromosome inactivation in Australian Caucasian women with infertility related to polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87, 161-165.
- Hippelainen, M. and Heinonen, S. (2003) Two exonic single nucleotide polymorphisms in the microsomal epoxide hydrolase gene are associated with polycystic ovary syndrome. *Fertil. Steril.* 79, 1353-1357.
- Jahanfar, S., Eden, J.A., Nguyen, T. et al. (1997) A twin study of polycystic ovary syndrome and lipids. *Gynecol. Endocrinol.* 11, 111-117.
- Jahanfar, S., Eden, J.A., Warren, P. et al. (1995) A twin study of polycystic ovary syndrome. *Fertil. Steril.* 63, 478-486.
- Kahsar-Miller, M.D., Nixon, C., Boots, L. et al. (2001) Prevalence of polycystic ovary syndrome (PCOS) in first-degree relatives of patients with PCOS. *Fertil.*

- Steril. 75, 53-58.
- Kaibe, M., Takakuwa, K., Murakawa, H. et al. (2006) Studies on the human leukocyte antigens in patients with polycystic ovary syndrome in a Japanese population - possible susceptibility of HLA-A11 and -DRB1*0403 to patient population with polycystic ovary syndrome. *Am. J. Reprod. Immunol.* 55, 301-306.
- Legro, R.S. (2000) Is there a male phenotype in polycystic ovary syndrome families? *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 13, 1307-1309.
- Legro, R.S., Kunselman, A.R., Demers, L. et al. (2002) Elevated dehydroepiandrosterone sulfate levels as the reproductive phenotype in the brothers of women with polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87, 2134-2138.
- Lunde, O., Magnus, P., Sandvik, L. and Hoglo, S. (1989) Familial clustering in the polycystic ovarian syndrome. *Gynecol. Obstet. Invest.* 28, 23-30.
- Orio, F., Matarese, G., Biase, S. et al. (2003) Exon 6 and 2 peroxisome proliferator-activated receptor- γ polymorphisms in the polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88, 5887-5892.
- Peral, B., San Millan, J.L., Castello, R. et al. (2002) The methionine 196 arginine polymorphism in exon 6 of the TNF receptor 2 gene (TNFRSF1B) is associated with the polycystic ovary syndrome and hyperandrogenism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87, 3977-3983.
- Qin, K., Ehrmann, D.A., Cox, N. et al. (2006) Identification of a functional polymorphism of the human type 5 $17\text{-}\beta$ Hydroxysteroid Dehydrogenase gene associated with polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 91, 270-276.
- Siegel, S., Futterweit, W., Davies, T.F. et al. (2002) A C/T single nucleotide polymorphism at the tyrosine kinase domain of the insulin receptor gene is associated with polycystic ovary syndrome. *Fertil. Steril.* 78, 1240-1243.
- Sorbara, L.R., Tang, Z., Cama, A. et al. (1994) Absence of insulin receptor gene mutations in three insulin-resistant women with the polycystic ovary syndrome. *Metabolism* 43, 1568-1574.
- Stein, I.F. and Leventhal, L.M. (1935) Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 29, 181-191.
- The Rotterdam ESHRE/ASRM (2004) Sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS) *Fertil. Steril.* 81, 19-25.
- Unluturk, U., Harmanaci, A., Kocaeefe, C. and Yildiz, B.O. (2007) The genetic basis of the polycystic ovary syndrome: A literature review including discussion of PPAR- γ . *PPAR Research*, Article ID 49109.
- Uysal, K.T., Wiesbrock, S.M. and Hotamisligil, G.S. (1998) Functional analysis of tumor necrosis factor receptors in TNF- α mediated insulin resistance in genetic obesity. *Endocrinology*, 139, 4832-4838.
- Vankova, M., Vrbikova, J., Hill, M. et al. (2002) Association of insulin gene VNTR polymorphism with polycystic ovary syndrome. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 967, 558-565.
- Walch, K., Grimm, C., Zeillinger, R. et al. (2004) A common interleukin-6 gene promoter polymorphism influences the clinical characteristics of women with polycystic ovary syndrome. *Fertil. Steril.* 81, 1638-1641.
- Waterworth, D.M., Bennett, S.T., Gharani, N. et al. (1997) Linkage and association of insulin gene VNTR regulatory polymorphism with polycystic ovary syndrome. *Lancet*, 349, 986-990.
- Xita, N. and Tsatsoulis, A. (2006) Review: Fetal programming of polycystic ovary syndrome by androgen excess: evidence from experimental, clinical and genetic association studies. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 91, 1660-1666.
- Zawadzki, J.K. and Dunaif, A. (1992) Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: towards a rational approach. In: Dunaif A, Givens JR, Haseltine FP, Merriam GR (Eds.) Blackwell Scientific Publications, pp. 377-384.