

Κλινική μελέτη

Ερμηνεία της πολυκυστικής μορφολογίας και της ανοωθυλακιορρηξίας στο σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών

Η. Κατσίκης
Α. Πιούκα
Α. Πανίδης

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην ανασκόπηση αυτή δίνονται στοιχεία για την ερμηνεία της πολυκυστικής μορφολογίας και της ανοωθυλακιορρηξίας στο σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών. Η ενδο-ωοθηκική υπερανδρογοναιμία μπορεί να προάγει την πρόωμη ανάπτυξη των ωοθυλακίων, με αποτέλεσμα την περίσσεια ωοθυλακίων με διάμετρο 2-5mm. Στη συνέχεια, ο υπερβολικός αριθμός των 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 αντιμυλλεριανική ορμόνη (AMH). Οι ουσίες αυτές θα μπορούσαν να προκαλέσουν αναστρέψιμη αντίσταση των κυττάρων της κοκκιώδους στιβάδας στη διαφοροποιητική επίδραση της FSH. Η ερμηνεία αυτή αποτελεί πρόκληση, δεν αποκλείει, όμως, άλλες υποθέσεις σχετικές με τη διακοπή της ανάπτυξης των ωοθυλακίων, όπως η πρόωμη επίδραση της LH στα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας των διαθέσιμων προς επιλογή ωοθυλακίων. Η υπερινσουλιναίμία, λόγω αντίστασης στην ινσουλίνη, θα μπορούσε να δρα ως δευτερεύουσα αιτία, επιδεινώνοντας την ωοθυλακική αδράνεια είτε μέσω ενίσχυσης της ενδοωοθηκικής υπερανδρογοναιμίας ή με απορρύθμιση των κυττάρων της κοκκιώδους στιβάδας. Η απώλεια του κυκλικού ρυθμού θα μπορούσε να παρεμποδίζει την αύξηση των επιπέδων της FSH κατά τη διάρκεια του κύκλου, επιδεινώνοντας με τον τρόπο αυτό τη διαταραχή της διαδικασίας της ωοθυλακιορρηξίας.

Όροι ευρετηρίου: σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, πολυκυστική μορφολογία των ωοθηκών, ενδο-ωοθηκική υπερανδρογοναιμία, ολιγο-ωοθυλακιορρηξία, ανοωθυλακιορρηξία.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS), που παρατηρείται στο 5% έως 10% των γυναικών της αναπαραγωγικής ηλικίας, αποτελεί τη συχνότερη αιτία ανοωθυλακιορρηκτικής υπογονιμότητας και υπερανδρογοναιμίας^{1,2}. Παρά τις σημαντικές προσπάθειες για τον προσδιορισμό των αιτίων 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 ωοθηκών χαρακτη-

Μονάδα Ενδοκρινολογίας και Ανθρώπινης Αναπαραγωγής της Β' Μαιευτικής και Γυναικολογικής Κλινικής του ΑΠΘ

Αλληλογραφία:
Η. Κατσίκης
Μαιευτήρας-Γυναικολόγος
Στρ. Καλλάρη 4^α
54622 Διαγώνιος Θεσσαλονίκη
Τηλ.: 2310 279443
E-mail: ilkats@otenet.gr
Κατατέθηκε: 15/09/07
Εγκρίθηκε: 10/12/07

ρίζεται από χρόνια oligo- ή ανωθυλακιορρηξία, υπερανδρογοναιμία ή υπερανδρογονισμό και πολυκυστική μορφολογία των ωοθηκών^{2,4}. Μολονότι στην ανασκόπηση αυτή θα δοθούν στοιχεία για την ερμηνεία της πολυκυστικής μορφολογίας και της ανωθυλακιορρηξίας στο PCOS, τα δύο αυτά χαρακτηριστικά του συνδρόμου εμφανίζουν στενή συσχέτιση με την υπερανδρογοναιμία.

Υπάρχουν ισχυρά βιβλιογραφικά δεδομένα που στηρίζουν την άποψη ότι οι ωοθήκες των γυναικών με PCOS περιέχουν διπλάσιο έως τριπλάσιο από το φυσιολογικό αριθμό ωοθυλακίων, από το στάδιο των πρωτογενών ωοθυλακίων μέχρι εκείνο που το μέγεθός τους φθάνει τα 2-5mm (ωοθυλάκια με άντρο)^{5,6}. Ακόμη, υπάρχουν ισχυρά βιβλιογραφικά δεδομένα που ενισχύουν τη θέση ότι τα ωοθυλάκια στο PCOS σταματούν να αυξάνουν σε μέγεθος και να αναπτύσσονται όταν η διάμετός τους φθάσει τα 4-7mm. Με βάση τα παραπάνω δεδομένα διατυπώθηκε η υπόθεση⁷: πρώτον, η πρόωγη ωοθυλακική ανάπτυξη είναι εξεσημασμένη και δεύτερον η επιλογή ενός κυρίαρχου ωοθυλακίου από την αυξημένη σε μέγεθος δεξαμενή και στη συνέχεια η ωρίμανσή του δεν συμβαίνει (διακοπή της ανάπτυξης των ωοθυλακίων - ωοθυλακική 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 ωοκύτταρο.

ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΗΣ ΠΟΛΥΚΥΣΤΙΚΗΣ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ ΤΩΝ ΩΟΘΗΚΩΝ ΣΤΟ PCOS

Η ωοθηκική υπερανδρογοναιμία αποδίδεται κυρίως σε κληρονομική διαταραχή της στεροειδογένεσης, που παρατηρείται στα κύτταρα της έσω θήκης των ωοθυλακίων γυναικών με το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών. Άλλοι παράγοντες ενδο-ωοθηκικής ή εξω-ωοθηκικής προέλευσης ενδέχεται να εμπλέκονται στην ωοθηκική υπερανδρογοναιμία στο PCOS, μολονότι δεν φαίνεται να αποτελούν τους βασικούς υπεύθυνους⁸⁻¹⁰.

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

1. Η έκφραση του γονιδίου του υποδοχέα των ανδρογόνων είναι πολύ υψηλή στα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας των ωοθυλακίων 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 ωοθυλακίων, καθώς και

με την ανάπτυξη του ωοθυλακίου και αρνητική συσχέτιση με την απόπτωση των κυττάρων της κοκκιώδους στιβάδας και με την ωοθυλακική ατρησία¹¹. Σε μοντέλο από πρωτεύοντα θηλαστικά, χωρίς την παρουσία ανδρογόνων¹² βρέθηκε ότι τα μέσα επίπεδα του υποδοχέα των ανδρογόνων στα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας ανώριμων ωοθυλακίων ήταν 4,2 φορές υψηλότερα από εκείνα των κυττάρων της κοκκιώδους στιβάδας προ-ωοθυλακιορρηκτικών ωοθυλακίων.

2. Σε καλλιέργειες ωοθυλακίων ποντικών, πριν από το στάδιο σχηματισμού του άντρου, η προσθήκη ανδρογόνων διεγείρει την ανάπτυξη των ωοθυλακίων¹³.
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 1mm, δρώντας μέσω ανδρογονικών υποδοχέων^{11,12,14}. Οι ωοθήκες των πιθήκων αυτών παρουσιάζουν εικόνα παρόμοια με εκείνη γυναικών με το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών¹⁴.
4. In vitro μελέτες σε πρωτεύοντα δείχνουν ότι τα ανδρογόνα προάγουν την απαντητικότητα στις γοναδοτροπίνες και τη στεροειδογένεση στα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας των ωοθυλακίων¹⁵.
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^{14,16}.
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, μεγενθύνοντας τη δράση της FSH¹⁷.
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 ευδοτική δράση των ανδρογόνων στην ανάπτυξη των ωοθυλακίων¹⁸.
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 ωοθηκών¹⁹. Πολλά από τα μικρά αυτά ωοθυλάκια εμφανίζουν υγιή χαρακτηριστικά όσον αφορά στη στεροειδογένεση και στην αναπτυξιακή δυναμότητα^{16,21}.
9. Ο αριθμός των ωοθυλακίων στο υπερηχογράφημα με μέγεθος 2-5mm εμφανίζει θετική συσχέτιση με τα επίπεδα της τεστοστερόνης και της ανδροστενδι-

όνης²². 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 ανδρογόνα²².

Τα παραπάνω βιβλιογραφικά δεδομένα στηρίζουν τη θέση ότι τα ανδρογόνα δεν είναι στην πραγματικότητα ατροσιογόνα στις ωοθήκες των πρωτεύοντων 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 ατροσιογόνα^{23,24}, άποψη που αποτελούσε τον ακρογωνιαίο λίθο στην παθοφυσιολογία του PCOS για μεγάλο χρονικό διάστημα. Εντούτοις, σε καλλιέργεια ωοθυλακίων ποντικών, η προσθήκη ανδρογόνων διέγειρε την ανάπτυξη των ωοθυλακίων που βρίσκονταν στο στάδιο πριν από το σχηματισμό του άνδρου¹³. 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^{23,24}.

ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΗΣ ΑΝΩΘΥΛΑΚΙΟΡΡΗΞΙΑΣ ΣΤΟ PCOS

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 αντιισταμυστικής υπερινσουλιναμίας.

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 φυσιολογική⁵. Πιο πρόσφατα, ο Webber και οι συνεργάτες του⁶ μελέτησαν ξανά τα δεδομένα αυτά, εξετάζοντας βιοψίες από τον φλοιό των ωοθηκών από φυσιολογικές ωοθυλακιορρηκτικές γυναίκες, από ωοθυλακιορρηκτικές γυναίκες με PCOS και από ανωοθυ-

λακιορρηκτικές γυναίκες με PCOS. Οι ερευνητές αυτοί βρήκαν μεγαλύτερη (εξαπλάσια) αύξηση του αριθμού των αναπτυσσόμενων πρωτογενών ωοθυλακίων στις ανωοθυλακιορρηκτικές γυναίκες με PCOS, σε σύγκριση με εκείνη των μαρτύρων.

Διατυπώθηκε λοιπόν η υπόθεση ότι το πρόβλημα των ωοθυλακίων στο PCOS είναι διπλό, με δύο ανωμαλίες που συνδέονται μεταξύ τους⁷: α) η ενδο-ωοθηκική υπερανδρογοναιμία μπορεί να προάγει την πρώιμη ανάπτυξη των ωοθυλακίων, με αποτέλεσμα την περίσσεια ωοθυλακίων με διαστάσεις 2-5mm, β) 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-μουλλερινική ορμόνη (AMH). Οι ουσίες αυτές θα μπορούσαν να προκαλέσουν αναστρέψιμη αντίσταση των κυττάρων της κοκκιώδους στιβάδας στη διαφοροποιητική επίδραση της FSH.

α) Ενδοωοθηκική υπερανδρογοναιμία: προαγωγή της πρώιμης ανάπτυξης των ωοθυλακίων

Η περίσσεια ωοθυλακίων στις ανωοθυλακιορρηκτικές 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.

• Αύξηση του ρυθμού εισόδου των ωοθυλακίων στην ανάπτυξη

Η πρώτη σκέψη των ωοθυλακίων πιστεύεται ότι αποτελεί μια συνεχή διεργασία. Αμέσως ύστερα από το 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-ligand²⁵ και ο βασικός αυξητικός παράγοντας των ινοβλαστών (bFGF)²⁶ 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 άνδρου ύστερα από μερικούς μήνες και τελικά χρειάζονται περίπου 70 επιπλέον ημέρες για να φτάσουν σε μέγεθος τα 2mm (στάδιο του άνδρου- 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 ΑΜΗ (ΑΜΗΚΟ) χάνουν τα αρχέγονα ωοθυλάκια τους νωρίτερα από τις ωοθήκες ποντικών της ομάδας των μαρτύρων²⁷. Η μεγάλη αυτή ελάττωση προκαλείται από τον αυξημένο ρυθμό στράτευσης των αρχέγονων ωοθυλακίων στα ΑΜΗΚΟ θηλυκά ποντίκια, καθώς στα ενήλικα και προ-εφηβικά ΑΜΗΚΟ 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 ΑΜΗ μπορεί να αναστέλλει την έναρξη της ανάπτυξης των ωοθυλακίων, τη μετατροπή δηλαδή των αρχέγονων σε πρωτογενή ωοθυλάκια. Ο Durlinger και οι συνεργάτες του²⁸ επιβεβαίωσαν στη συνέχεια τα ευρήματα αυτά με μια μελέτη στην οποία ωοθηκικός ιστός νεογέννητων ποντικών καλλιεργήθηκε *in vitro* με απουσία ή με παρουσία ΑΜΗ. Η ΑΜΗ προκάλεσε μείωση του αριθμού των αναπτυσσόμενων ωοθυλακίων κατά 40% έως 50% ύστερα από 2-4 ημέρες καλλιέργειας. Για το λόγο αυτό η ΑΜΗ μπορεί να θεωρηθεί ως ανασταλτικός παράγοντας της έναρξης της ανάπτυξης. Εντούτοις, καθώς η ΑΜΗ 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)²⁹ είναι πιθανό ότι η ΑΜΗ 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^{5,6} 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 ΑΜΗΚΟ, όχι όμως στην περίπτωση των γυναικών με PCOS³⁰. Επιπλέον, η ωοθηκική παραγωγή ΑΜΗ είναι αυξημένη στο PCOS. Παραμένει, λοιπόν, ασαφές αν η έναρξη της ωοθυλακιογένεσης είναι διαταραγμένη ή όχι στις γυναίκες με το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών.

- **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 διαδι-

κασία 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^{5,6}. Η ενδοωοθηκική υπερανδρογοναιμία, που είναι το κύριο γνώρισμα του PCOS³¹, 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.

- β) **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^{2,32,33}. 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 τους³⁴. 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.

- **Απουσία της διακυκλικής απόδοσης της FSH στο PCOS**

Μολονότι η ανοωοθυλακιορρηκτικές γυναίκες με φυσιολογικά επίπεδα γοναδοτροπινών εμφανίζουν βιοδραστικά και ανοσοδραστικά επίπεδα FSH στο εύρος εκείνων που παρατηρούνται σε φυσιολογικούς

ωοθυλακιορρηκτικούς εμμηνορροσιακούς κύκλους^{35,36}, 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^{37,38}. Επομένως, η απουσία της διακυκλικής αύξησης της FSH οφείλεται πιθανότατα στην απουσία ωοθυλακιορρηξίας 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.

• 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 στα επιλέξιμα και όχι στα επιλεγμένα ωοθυλάκια^{39,41}.

• 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 ωοθυλακιορρηξίας 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»⁴². 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 του⁴³, οι οποίοι παρατήρησαν ότι η απάντηση της οιστραδιόλης στις αυξανόμενες δόσεις ανασυνδυασμένης FSH εμφανίστηκε με υψηλότερες δόσεις της ορμόνης στις γυναίκες με PCOS απ' ό,τι στις γυναίκες της ομάδας ελέγχου. Σημειώνεται επίσης ότι τα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας ωοθυλακί-

ων με άντρο παράγουν φυσιολογικά ή αυξημένα ποσά οιστραδιόλης in vitro⁴⁴. 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, είτε στο ωοθυλακικό υγρό η ύπαρξη αυξημένων επιπέδων κάποιας ουσίας που θα μπορούσε να εμποδίζει την ενεργοποίηση των υποδοχέων της FSH⁴⁵. Η πρωτεΐνη-4, που συνδέει τον IGF (IGFBP-4) 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 PCOS⁴⁶. Αντίθετα, βρέθηκε ότι οι συγκεντρώσεις της IGFBP-4 στα ωοθυλάκια διαμέτρου 5-7mm γυναικών με PCOS ήταν παρόμοιες με εκείνες ωοθυλακίων της ομάδας μαρτύρων που είχαν δεχθεί την επίδραση ανδρογόνων³⁹. Επιπλέον, τα προ-ωοθυλακιορρηκτικά ωοθυλάκια γυναικών με PCOS παρουσίαζαν φυσιολογική έκφραση της IGFBP-4. Τέλος, έχει υποστηριχθεί από ορισμένους ερευνητές⁴⁰ ότι οι μεταβολές των IGFBPs μπορεί να συντηρούν την ανωοθυλακιορρηκτική κατάσταση στο PCOS, είναι όμως άπιθανο 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^{47,49}.

Ακόμη, τα υψηλά επίπεδα της AMH στον ορό παρουσιάζουν στενή θετική συσχέτιση με τον αριθμό των ωοθυλακίων, διαμέτρου 2-5mm στο υπερηχογράφημα⁵⁰. 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 PCOS⁴⁸. 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 PCOS⁵¹. Το γεγονός ότι η αναλογία της AMH προς τον αριθμό των ωοθυλακίων δεν βρέθηκε αυξημένη υποδηλώνει ότι κάθε ωοθυλάκιο παράγει φυσιολογική ποσότητα AMH⁴⁹.

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 γυναικών⁴⁹. 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 2-5mm είναι υπεύθυνη για την υπερβολική παραγωγή AMH.

Τα στοιχεία που αναφέρθηκαν, όσον αφορά στην 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 (2-5mm) και των μεγαλύτερων (6-9mm) ωοθυλακίων με άντρο στο υπερηχογράφημα, τόσο στις φυσιολογικές γυναίκες, όσο και στις γυναίκες με PCOS⁵². 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.

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 μέσο της όψιμης παραγωγικής φάσης⁵³. 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 τους⁵⁴. 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 4mm αντί για 10mm) στις ανωοθυλακιορρηκτικές γυναίκες με PCOS απ' ότι εκείνα των δύο άλλων ομάδων γυναικών⁵⁵. 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)⁵⁶. 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^{55,56}. 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^{57,58}. Η παρουσία σημαντικής θετικής συσχέτισης μεταξύ των επιπέδων της LH και των συγκεντρώσεων της ινχιπίνης Β του ορού στις γυναίκες με PCOS, όχι όμως στις μάρτυρες⁵⁹, συμφωνεί με τα παραπάνω βιβλιογραφικά δεδομένα και υποδηλώνει ότι στις γυναίκες με PCOS η LH δρα νωρίτερα στα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας απ' ότι στις μάρτυρες.

Θεωρία της ωοθυλακικής αδράνειας, λόγω αντίστασης στην ινσουλίνη και αντισταθμιστικής υπερινσουλιναϊμίας

Η υπερινσουλιναϊμία, ως αποτέλεσμα της αντίστασης των ιστών στη δράση της ινσουλίνης, θεωρήθηκε υπεύθυνη στη διαδικασία της πρώιμης διαφοροποίησης των κυττάρων της κοκκιώδους στιβάδας³². 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 ανωοθυλακιορρηκτικές γυναίκες με PCOS ενδέχεται να αποτελούν τον κύριο παράγοντα

που προκαλεί τη διακοπή της εξέλιξης των ωοθυλακίων⁶⁰. Στην περίπτωση αυτή η υπερινσουλιναμία μπορεί να διαταράσσει τη στροφή από την FSH στην LH, που προάγει τη σωστή ωοθυλακική αύξηση μέχρι την ωοθυλακιορρηξία.

Αντίθετα, άλλοι ερευνητές⁶¹ ενοχοποίησαν την αντίσταση στην ινσουλίνη στο επίπεδο των κυττάρων της κοκκιώδους στιβάδας, παρά την υπερινσουλιναμία. Οι ερευνητές αυτοί εξέτασαν την ανταπόκριση των κυττάρων της κοκκιώδους στιβάδας των ωοθυλακίων γυναικών με PCOS στην ανασυνδυασμένη FSH πριν και κατά τη διάρκεια της έγχυσης ινσουλίνης, με τη χρήση υπερινσουλιναμικής 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 ανωοθυλακιορρηξίας στο PCOS, η υπερινσουλιναμία ή αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης μπορεί να θεωρηθεί ως δευτερεύων παράγοντας, ο οποίος με μη ειδικό τρόπο επιδεινώνει τη διακοπή της εξέλιξης των ωοθυλακίων⁷.

Summary

Katsikis I, Piouka A, Panidis D

The explanation of the follicular excess and anovulation in polycystic ovary syndrome

Helen Obstet Gynecol 20(1):70-79, 2008

The follicular abnormalities responsible for the polycystic appearance of the ovaries and for the anovulation in polycystic ovary syndrome were reviewed. The intra-ovarian hyperandrogenism may promote early follicular growth, leading to a 2-5mm follicle excess. The ensuing excessive number of selectable follicles would inhibit the selection process, presumably through follicle to follicle interaction involving granulosa cell products such as the anti-Mullerian hormone (AMH). These factors would induce a reversible refractoriness to the FSH-induced differentiation of granulosa cells. This explanation challenges but does not exclude other hypotheses about the follicular arrest, such as the premature LH action on the granulosa cell of selectable follicles. Hyperinsulinaemia, due to insulin resistance, would act as a second hit, worsening the follicular arrest either through amplification of the intra-ovarian hyperandrogenism or through dysregulation of the granulosa cell. The loss of cyclic rhythm would prevent the inter-cycle elevation of FSH, thus perpetuating the impairment of the ovulation process.

Key words: polycystic ovary syndrome, polycystic ovarian

morphology, intra-ovarian hyperandrogenism, oligo-ovulation, anovulation.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Franks S. Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1995; 333:853-61.
2. Πανίδης Δ, Κήτα Μ, Κατούνης 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. *Εφηβ Γυν Αναπ Εμμην* 2007; σελ. 85-92.
3. 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.
4. 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].
5. Hughesdon PE. Morphology and morphogenesis of the Stein-Leventhal ovary and of so-called 'hyperthecosis'. *Obstet Gynecol Surv* 1982; 37:59-77.
6. 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.
7. Jonard S, Dewailly D. The follicular excess in polycystic ovaries, due to intra-ovarian hyperandrogenism, may be the main culprit for the follicular arrest. *Hum Reprod Update* 2004; 10:107-17.
8. Legro RS, Driscoll D, Strauss JF, Fox J, Dunaif A. Evidence for a genetic basis for hyperandrogenemia in polycystic ovary syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95:14956-60.
9. Nelson VL, Legro RS, Strauss JF, McAllister JM. Augmented androgen production is a stable steroidogenic phenotype of propagated theca cells from polycystic ovaries. *Mol Endocrinol* 1999; 13:946-57.
10. 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.
11. Weil SJ, Vendola K, Zhou J, Adesanya OO, Wang J, Okafor J, Bondy CA. Androgen receptor gene expression in the primate ovary: cellular localiza-

- tion, regulation, and functional correlations. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:2479-85.
12. Hillier SG, Tetsuka M, Fraser HM. Location and developmental regulation of androgen receptor in primate ovary. *Hum Reprod* 1997; 12:107-11.
 13. 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.
 14. 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.
 15. Hillier SG. Hormonal control of folliculogenesis and luteinization in Findlay. *Molecular Biology of the Female Reproductive System*. Academic Press, San Diego 1994; p. 1-37.
 16. 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.
 17. 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.
 18. 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.
 19. 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.
 20. Fache TD, Fauser BC. Polycystic ovaries in female-to-male transsexuals. *Clin Endocrinol* 1993; 39:702-3.
 21. Pache TD, Hop WC de Jong FH, Leerentveld RA, van Geldorp H, Van de Kamp TM, Gooren LJ, Fauser BC. 17β -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.
 22. 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.
 23. Daniel SA, Armstrong DT. Androgens in the ovarian microenvironment. *Semin Reprod Endocrinol* 1982; 4:89-100.
 24. Billig H, Furuta I, Hsueh JW. Estrogens inhibit and androgens enhance ovarian granulosa cell apoptosis. *Endocrinology* 1993; 133:2204-12.
 25. Parrott JA, Skinner MK. Kit-ligand/stem cell factor induces primordial follicle development and initiates folliculogenesis. *Endocrinology* 1999; 140:4262-71.
 26. Nilsson E, Parrott JA, Skinner MK. Basic fibroblast growth factor induces primordial follicle development and initiates folliculogenesis. *Mol Cell Endocrinol* 2001; 175:123-130.
 27. 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.
 28. 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.
 29. Weenen C, von Bergh ARM, Cranfield M, Groorne 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.
 30. 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.
 31. Strauss JFIII, Dunaif A. Molecular mysteries of polycystic ovary syndrome. *Mol Endocrinol* 1999; 13:800-5.
 32. Franks S, Mason H, White D, Willis D. Etiology of anovulation in polycystic ovary syndrome. *Steroids* 1998; 63:306-7.
 33. Carmina E, Lobo RA. Do hyperandrogenic women with normal menses have polycystic ovary syndrome? *Fertil Steril* 1999; 71:319-22.
 34. Homburg R, Amsterdam A. Polycystic ovary syndrome: loss of the apoptotic mechanism in the ovarian follicles? *J Endocrinol Invest* 1998; 21:552-7.
 35. Fauser BC, Fache TD, Lamberts SW, Hop WC, de Jong FH, Dabi 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.
 36. VanDessel HJ, Schoot BC, Schipper I, Dahl KD, Fauser BC. Circulating immunoreactive and bioactive FSH concentrations in anovulatory infertile women

- and during gonadotrophin induction of ovulation using a *décémentai* dose regimen. *Hum Reprod* 1996; 11:478-85.
37. 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.
 38. 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.
 39. 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.
 40. Cataldo NA. Insulin-like growth factor binding proteins: do they play a role in polycystic ovary syndrome? *Semin Reprod Endocrinol* 1997; 15:123-136.
 41. Giudice LC. Growth factor action on ovarian function in polycystic ovary syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1999; 28:325-39.
 42. Hamilton-Fairley D, Franks S. Common problems in induction of ovulation. *Bailliere's Clin Obstet Gynecol* 1990; 4:609-25.
 43. 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.
 44. 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.
 45. 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.
 46. 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.
 47. 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.
 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, Decander 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. 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.
 51. Jakimiuk AG, Jakowicki JA, Magoffin DA. Follicular development in polycystic ovary syndrome. *Assist Reprod Rev* 1997; 7:54-7.
 52. 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 (Suppl 1):42.
 53. 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.
 54. Πανίδης Δ, Ρούσσος Δ, Κούρτης Α, Κατσίκης Η. Ωχρινοτρόπος ορμόνη. *Ενδοκρινολογία Αναπαραγωγής στη Γυναίκα και στον Άνδρα. Γράμμα, Θεσσαλονίκη* 2004; σελ. 213-233.
 55. 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.
 56. 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.
 57. 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.
 58. Hillier SG. Current concepts of the roles of follicle stimulating hormone and luteinizing hormone in folliculogenesis. *Hum Reprod* 1994; 9:188-91.
 59. 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.
60. 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.
61. 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.