

Masterarbeit

**Genetische Ursachen
des Polyzystischen Ovar Syndroms (PCOS)**

eingereicht von

Dr.med.univ.

Martina Kollmann

zur Erlangung des akademischen Grades

Master of Science

(MSc)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt am

Institut für Humangenetik

unter der Anleitung von

Assoz. Prof.in Priv.-Doz.in Mag.a Dr.in rer.nat. Ellen Heitzer

ao.Univ.-Prof. Mag. Dr.rer.nat. Dr.scient.med. Erwin Petek

Graz, 01.09.2017

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, 01.09.2017

I. Inhaltsverzeichnis

II. Abkürzungen	4
III. Abbildungsverzeichnis	5
IV. Tabellenverzeichnis.....	6
V. Zusammenfassung.....	7
VI. Abstract	8
VII. Einleitung	9
A. Polyzystisches Ovar Syndrom.....	9
1. Diagnostische Kriterien.....	9
2. PCOS Phänotypen	11
3. Neuere Studien	12
4. Ätiologie.....	12
5. Pathophysiologie	14
6. Kurz- und Langzeitkonsequenzen des PCOS.....	15
B. Genetik	17
1. Aufbau und Funktion der DNA.....	18
2. Multifaktorielle Erkrankungen / genomweiten Assoziationsstudien (GWAS).....	20
3. Epigenetik.....	25
C. Zielsetzung der Masterarbeit	26
VIII. Material und Methoden	27
IX. Ergebnisse	28
A. Familienstudien und PCOS	28
B. Zwillingsstudien	29
C. Identifikation von Risikogenen	30
D. Genomweite Assoziationsstudien (GWAS) und PCOS	30
E. Epigenetik und PCOS.....	32
X. Diskussion	34
XI. Literaturverzeichnis.....	38

II. Abkürzungen

AE-PCOS	Androgen Excess and PCOS Society
AMH	Anti Müller Hormon
ANDR	Andorstendion
DHEAS	Dehydroepiandrosteronsulfat
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ESHRE	European Society of Human Reproduction and Endocrinology
FAI	Freier Androgen Index
FSH	Follikel Stimulierendes Hormon
FT	Freies Testosteron
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormon
GWAS	Genomweite Assoziationsstudie
HA	Hyperandrogenismus
LH	Luteinisierendes Hormon
mL	Milliliter
Mm	Millimeter
mtDNA	Mitochondriale DNA
NIH	National Institutes of Health
OA	Oligoanovulation
OHSS	Hyperstimulationssyndrom
OR	Odds ratio
PCO	Polyzystische Ovarien
PCOS	Polyzystisches Ovar Syndrom
RNA	Ribonukleinsäure
SHGB	Sex Hormone Binding Globulin
SNP	Single-Nucleotid Polymorphism
T	Testosteron

III. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Verschiedene PCOS Phänotypen (Azziz et al., 2009)	11
Abbildung 2: Potentielle Ursachen für die Entstehung von Schwangerschaftskomplikationen bei PCOS Patientinnen (Palomba et al., 2015)	16
Abbildung 3: zeigt eine Zelle, Chromosomen, Gene und die DNA	18
Abbildung 4: Zusammenspiel von Genetik und Umwelt in der Pathogenese	20
Abbildung 5: Genomweite Assoziationsstudien – Studiendesign (Manolio, 2010)	21
Abbildung 6: Ergebnisse von verschiedenen GWAS in einer Metaanalyse zusammengefasst (Manolio, 2010)	23
Abbildung 7: GWAS Catalog www.ebi.ac.uk/gwas und bisher identifizierte merkmalsassoziierte SNPs; screenshot vom 29.07.2017	24
Abbildung 8: Das Diagramm zeigt die derzeit bekannten Assoziation für das Polyzystische Ovar Syndrom (http://www.ebi.ac.uk/gwas).	32

IV. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Familienstudien und PCOS (Unluturk et al., 2007).....	29
Tabelle 2:	Zusammenfassung der derzeit vorhandenen GWAS (Jones and Goodarzi, 2016).....	31

V. Zusammenfassung

Einleitung

Das Polyzystische Ovar Syndrom (PCOS) ist eine heterogene endokrinologische Erkrankung, die verschiedene Körpersysteme beeinflusst und zu metabolischen und reproduktiven Komplikationen führen kann. Die Ätiologie des PCOS ist noch nicht genau geklärt. Derzeit wird vermutet, dass es durch das Zusammenspiel von genetischen, intrauterinen und stochastischen Faktoren sowie Umwelteinflüssen zur Ausbildung eines PCOS kommt. Die Durchführung von genomweiten Assoziationsstudien (GWAS) und Analyse von Methylierungsmustern brachte neue Einblicke. Auf die durchgeführten Familienstudien, GWAS und neuen Studien zur Epigenetik sollte in dieser Arbeit ausführlich eingegangen werden.

Material und Methoden

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine Literaturrecherche mit Zusammenfassung und Konklusion der vorliegenden Studien zum Thema ‚Genetische Ursachen des Polyzystischen Ovar Syndroms (PCOS)‘. Aussagen aus unterschiedlichen Quellen werden gegenübergestellt, Unterschiede und Widersprüche herausgearbeitet und kritisch analysiert. Der Schwerpunkt wird auf die zu diesem Thema durchgeführten genomweiten Assoziationsstudien (GWAS) und neuen Studien zur Epigenetik gelegt.

Ergebnisse und Zusammenfassung

Bereits 1968 wurde eine Arbeit veröffentlicht, welche auf genetische Ursachen des PCOS eingeht. Das PCOS betreffend wurden bisher in GWAS 16 merkmalsassoziierte Lokalisationen gefunden. Die vielversprechendsten Assoziationen sind die am Locus 2p16.3 (*LHCGR*, *FSHR*) und 11p14.1 (*FSHB*). Die an diesen Loci liegenden Gene spielen eine sehr wichtige Rolle in der Follikulogenese und Ovulation. Ein verändertes Methylierungsmuster konnte in ovariellen Gewebe und subkutanem Fettgewebe von PCOS Patientinnen gefunden werden und könnte für die Entstehung der verschiedenen PCOS Phänotypen eine ursächliche Rolle spielen.

VI. Abstract

Introduction

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is a heterogeneous endocrine disorder which affects several body systems and leads to reproductive and metabolic complications. The etiology of PCOS is not particularly mapped, but a complex interaction of various factors can be assumed. It seems that the disorder arises from interactions between genetic, environmental and intrauterine factors. With the performance of genome-wide association studies (GWAS) new insights were brought into the heritability of PCOS. The aim of this thesis is to report data regarding family studies, GWAS and epigenetic studies and PCOS.

Material and Methods

A literature search of the standard medical databases was performed. Data from analyzed studies was extracted and reported in a systematic way.

Results and Conclusion

The first evidence for a genetic basis of PCOS was already reported in 1968. The performance of GWAS has led to the discovery of 16 robust loci for PCOS. The most promising loci contain genes with clear roles in reproductive (*LHCGR*, *FSHR*, *FSHB*). High-throughput methylation arrays have been used to identify alterations in methylation in PCOS ovary and adipose.

VII. Einleitung

A. Polyzystisches Ovar Syndrom

Das Polyzystische Ovar Syndrom (PCOS) ist eine heterogene endokrinologische Erkrankung, die verschiedene Körpersysteme beeinflusst und zu metabolischen und reproduktiven Komplikationen führen kann (Fauser et al., 2012; Norman et al., 2007; Wild, 2002). Ein Zusammenhang zwischen vergrößerten Ovarien und Subfertilität wurde erstmalig bereits vor fast 300 Jahren erwähnt. Vallisneri gilt als Erstbeschreiber des Krankheitsbildes und beschrieb eine Patientin folgendermaßen ‘a young peasant woman who was moderately plump, infertile, with ovaries larger than normal that, like doves’ eggs, were lumpy, shiny and whitish’ (Vallisneri, 1721). Der häufig verwendete Begriff der ‘polyzystischen Ovarien’ wurde 1935 von Stein und Leventhal eingeführt (Stein and Leventhal, 1935). Seit den Mitte 50ern werden die damit verbundenen Symptome (Subfertilität, Menstruationsstörungen und Hyperandrogenismus [HA]) als ‚Polyzystisches Ovar Syndrom‘ bezeichnet (DAVIS et al., 1956; Keetel et al., 1957).

Die Prävalenz des PCOS variiert je nach Ethnizität, Body Mass Index (BMI) und der verwendeten diagnostischen Kriterien (Alvarez-Blasco et al., 2006; Asunción et al., 2000; Azziz et al., 2009; Group, 2004a; Group, 2004b; Li et al., 2013; Wang and Alvero, 2013). Studien geben für Frauen im gebärfähigen Alter eine Prävalenz von 5-10% an. In einer Population mit Frauen mit höherem BMI (>25) wird die Prävalenz mit bis zu 30% angegeben (Alvarez-Blasco et al., 2006; Apridonidze et al., 2005; Asunción et al., 2000; Li et al., 2013; March et al., 2010).

1. Diagnostische Kriterien

Derzeit gibt es drei gültige diagnostische Kriterien. Die National Institutes of Health [NIH] Kriterien, welche 1990 veröffentlicht wurden beinhalten für die Diagnosestellung den HA und

Ovulationsstörungen (OS). Die Ultraschalluntersuchung spielt bei diesen Kriterien keine Rolle. 2004 wurden die ESHRE/ASRM Kriterien veröffentlicht, welche derzeit –vor allem in Europa- am häufigsten verwendet werden. Demnach müssen zwei der drei folgenden Kriterien vorhanden sein um die Diagnose PCOS stellen zu können: Oligomenorrhoe/Amenorrhoe, klinischer und/oder biochemischer Hyperandrogenismus und polyzystische Ovarien (PCO) im Ultraschall (Group REA-SPCW, 2004a,b). Die ‚Androgen Excess and PCOS Society‘ (AE-PCOS) hat 2006 Kriterien veröffentlicht, welche das Vorhandensein eines HA (klinisch und/oder biochemisch) und eine ovarielle Dysfunktion (Oligoanovulation [OA] und/oder polyzystische Ovarien) fordern (Azziz et al., 2009).

a) Hyperandrogenismus und metabolische Marker

Ein HA kann entweder klinisch und/oder biochemisch vorliegen. Der klinische HA kann sich als Hirsutismus, Akne oder androgene Alopezie äußern. Derzeit gibt es aber noch keine exakten Kriterien um den klinischen HA zu objektivieren und die Beurteilung des klinischen Erscheinungsbildes ist relativ subjektiv (Group, 2004b; group, 2004). Es sollten daher biochemische Analysen durchgeführt werden. Zur Bestimmung herangezogen werden kann das gesamte Testosteron (T), das freie Testosteron (FT), der freie Androgen Index (FAI), das Dehydroepiandrosteronsulfat (DHEAS) und das Androstendion (ANDR). Das FT und der FAI sind die besten Parameter um eine Hyperandrogenämie zu beurteilen (Cibula et al., 2000; Imani et al., 2000; Vermeulen et al., 1999).

b) Oligo- und/oder Anovulation

Oligoovulation bezeichnet die unregelmäßige Ovulation und Anovulation das Fehlen des Eisprungs. PCOS Patientinnen werden häufig mit einer Oligomenorrhoe (Abstand zwischen den Monatsblutungen ist größer als 35 Tage) oder Amenorrhoe (das Fehlen der Menstruation) vorstellig. Diese Symptome sind mit einer Oligo- und/oder Anovulation assoziiert.

c) Polyzystische Ovarien

Wie oben bereits erwähnt wurde die dem PCOS entsprechende Morphologie der Ovarien bereits vor 300 Jahren erstmalig von Vallisneri beschrieben (Vallisneri, 1721). Der Begriff der ‘polyzystischen Ovarien’ wurde hingegen erst 1935 von Stein und Leventhal eingeführt (Stein and Leventhal, 1935). Und erst 2003 wurden PCO Teil der diagnostischen Kriterien (Group, 2004b; group, 2004). Die von der ESHRE/ASRM publizierten Kriterien heben die Wichtigkeit der Sonographie in der Diagnostik des PCOS hervor (Group REA-SPCW, 2004a,b). Das Konsensus Manuskript spricht von PCO wenn 12 oder mehr Follikel in einer Größe von 2-9 mm auf einem Ovar vorhanden sind oder wenn das ovarielle Volumen vergrößert (>10 mL) ist. Diese Definition sollte nicht angewendet werden, wenn die Patientin eine hormonelle Kontrazeption einnimmt oder wenn die Ovarien sonstige Auffälligkeiten beziehungsweise einen dominanten Follikel oder ein Corpus luteum enthalten (Group, 2004b).

2. PCOS Phänotypen

Verschiedene diagnostische Kriterien führen zu unterschiedlichen PCOS Phänotypen. Die NIH Kriterien beschreiben sechs verschiedene Phänotypen. Die Hinzunahme von PCO als Kriterium durch die ESHRE/ASRM Kriterien führt zu vier weiteren Phänotypen. Die 2006 publizierten Kriterien der AE-PCOS Society sehen den HA als essentiell an und inkludieren neun verschiedene Phänotypen (siehe Abbildung 1) (Azziz et al., 2009).

Group	PCOS by NIH 1990 (HA + OA + PCO or HA + OA) n = 85						Added using AE-PCOS 2006 (HA + PCO), n = 14			Further added using ESHRE/ASRM 2003 (OA + PCO), n = 78
	I	I	I	I	I	I	II	II	II	III
Phenotypes	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Biochemical HA	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-
Clinical HA	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
OA	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
PCO	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+
NIH 1990	■	■	■	■	■	■	□	□	□	□
AE-PCOS 2006	■	■	■	■	■	■	■	■	■	□
ESHRE/ASRM 2003	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■

HA, Hyperandrogenism; OA, Oligo-anovulation; PCO, Polycystic ovaries;
 ■, phenotype included in criteria; □, phenotype not included in criteria.

Abbildung 1. Verschieden PCOS Phänotypen (Azziz et al., 2009)

3. Neuere Studien

Seit der Publikation des ESHRE/ASRM Konsensus Statements sind mehrere Studien veröffentlicht worden, welche eine Anpassung der PCO Kriterien fordern. Durch die Verwendung von neuen Ultraschallgeräten scheint die Verwendung des derzeitigen Cut Offs (12 Follikel) nicht mehr adäquat. Durch die verbesserte Auflösung neuer Geräte können bei vielen gesunden Frauen 12 oder mehr Follikel pro Ovar nachgewiesen werden (Duijkers and Klipping, 2010; Johnstone et al., 2010; Jokubkiene et al., 2012). Eine Gruppe der AE-PCOS Society hat neuere Studien zusammengefasst (Dewailly et al., 2011; Duijkers and Klipping, 2010; Johnstone et al., 2010; Kristensen et al., 2012; Lujan et al., 2013) und empfiehlt eine dringende Aktualisierung der Kriterien (Dewailly et al., 2013). Aufgrund der derzeit vorhandenen Daten sollte die Follikelanzahl auf ≥ 25 angehoben werden, wenn neuere Geräte verwendet werden. Sollte ein älteres Gerät verwendet werden, ist es besser das ovarielle Volumen zu bestimmen. Die von der ESHRE/ASRM empfohlenen Kriterien (≥ 10 mL) können dann verwendet werden (Dewailly et al., 2013).

Als zusätzlicher Biomarker wird die Verwendung des Anti Müller Hormons (AMH), welches von den ovariellen Granulosazellen produziert wird, diskutiert (Dewailly et al., 2011; Dewailly et al., 2013; La Marca and Sunkara, 2013). Der AMH Spiegel scheint gut mit der Anzahl der Follikel pro Ovar übereinzustimmen (Dewailly et al., 2011; Pigny et al., 2006).

4. Ätiologie

Die Ätiologie des PCOS ist noch nicht genau geklärt. Eine komplexe Interaktion von mehreren Faktoren wird angenommen. Derzeit wird vermutet, dass es durch das Zusammenspiel von genetischen Faktoren, Umweltfaktoren, intrauterinen Faktoren und stochastischen Faktoren zur Ausbildung eines PCOS kommt (de Melo et al., 2015).

Bereits 1968 wurde eine Arbeit veröffentlicht, welche auf genetische Ursachen des PCOS eingeht (Cooper et al., 1968). Die Durchführung von genomweiten Assoziationsstudien (GWAS) brachte neue Einblicke (Jones and Goodarzi, 2016; Liu et al., 2016). Zudem gibt es mehr und mehr Hinweise, dass für die Entstehung der verschiedenen PCOS Phänotypen epigenetische Veränderungen eine ursächliche Rolle spielen (Ilie and Georgescu, 2015; Xu et al., 2010; Xu et al., 2011a; Yu et al., 2015). Auf die durchgeführten GWAS und neuen Studien zur Epigenetik sollte in dieser Arbeit ausführlich eingegangen werden.

Die Heterogenität des PCOS und das Vorhandensein der verschiedenen Phänotypen lässt weitere ätiologische Faktoren vermuten.

Umweltfaktoren wurden in einem Review von Merkin et al. zusammengefasst (Merkin et al., 2016). Die Hauptumweltfaktoren scheinen Umweltgifte, die Ernährung, der sozioökonomische Status und die Herkunft zu sein (Merkin et al., 2016). Studien haben gezeigt, dass sich PCOS Symptome mit der Einnahme von bestimmten Nahrungsergänzungsmitteln und einem Gewichtsverlust bei übergewichtigen Patientinnen besserten (Merkin et al., 2016). Außerdem wurde ein Zusammenhang eines niedrigen sozioökonomischen Status und bestimmten PCOS Phänotypen gefunden (Merkin et al., 2016).

Der dritte Faktor, welcher eine wichtige Rolle in der Entstehung eines PCOS spielt, ist das intrauterine Milieu während der Schwangerschaft und die hormonellen und ernährungstechnischen Gegebenheiten in der frühen Kindheit (Barker, 1995; de Melo et al., 2015; Dumesic et al., 2007; Dumesic et al., 2014). Hales und Baker haben 1992 gezeigt, dass eine schlechte Ernährung in der Fetalperiode und frühen Kindheit einen großen Einfluss auf die spätere körperliche Konstitution und eine schlechte Entwicklung der endokrinen Pankreas hat (Barker, 1992; Hales and Barker, 1992, 2013). Weiter wurde postuliert, dass Kinder mit einer intrauterinen Wachstumsverzögerung, welche nach der Geburt rasch an Gewicht zunehmen ein PCOS entwickeln können (de Zegher and Ibáñez, 2006). Experimentelle

Studien und klinische Beobachtungen unterstützen die Hypothese, dass eine intrauterine fetale Programmierung durch einen erhöhten Androgen Spiegel eine Rolle in der Entwicklung eines PCOS hat (Abbott et al., 2005; Abbott et al., 2002; Abbott et al., 2013; Melo et al., 2010; Palomba et al., 2012).

5. Pathophysiologie

Die ovarielle Steroidogenese benötigt eine Stimulation durch Gonadotropinen. Demzufolge spielt das Luteinisierende Hormon (LH) eine wichtige Rolle bei Entstehung einer Hyperandrogenämie bei PCOS Patientinnen (Burt Solorzano et al., 2012). Die pulsatile Ausschüttung des Gonadotropin Releasing Hormons (GnRH) aus dem Hypothalamus ist bei Frauen mit PCOS sehr oft gestört. Dies führt oft zu einer vermehrten Freisetzung von LH. Progesteron, das normalerweise die GnRH Freisetzung reguliert, wirkt bei PCOS Patientinnen schlecht (Pastor et al., 1998). Diese Progesteron Resistenz scheint durch den Androgen Exzess hervorgerufen zu sein (Eagleson et al., 2000). Der Spiegel an Follikel stimulierendem Hormon (FSH) im Serum ist bei Frauen mit einem PCOS gewöhnlich normal, wohingegen ovarielle Follikel eine gewisse Resistenz für FSH zeigen. Dies könnte durch erhöhte AMH Spiegel verursacht sein (Burt Solorzano et al., 2012; Burt Solorzano et al., 2010; McCartney and Marshall, 2016). Ovarien von PCOS Frauen reagieren auf die Stimulation mit Gonadotropinen mit einer überschießenden Produktion von Steroiden (Ehrmann, 2005).

Das PCOS ist sehr oft mit einer Insulinresistenz assoziiert, welche wiederum häufig zu einer Hyperinsulinämie führt. Die Hyperinsulinämie führt ihrerseits wieder zur Hyperandrogenämie (McCartney and Marshall, 2016). Die durch eine Hyperinsulinämie vermehrte LH Freisetzung reduziert die Produktion des ‚Sexualhormon-Binding-Globulin‘-Spiegels (SHGB) in der Nebenniere und führt somit zu erhöhten Spiegel von freiem Testosteron (McCartney and Marshall, 2016).

6. Kurz- und Langzeitkonsequenzen des PCOS

Das PCOS ist mit verschiedenen Kurz- und Langzeitkomplikationen assoziiert. Eine Insulinresistenz kann in 60-80% der normalgewichtigen Frauen mit einem PCOS und in 95% der übergewichtigen Frauen mit einem PCOS diagnostiziert werden (Wild et al., 2010). Die Inzidenz des metabolischen Syndroms, des Gestationsdiabetes, der gestörten Glukosetoleranz und des Typ 2 Diabetes ist bei Frauen mit einem PCOS im Vergleich zu Frauen ohne PCOS deutlich erhöht (Moran et al., 2010). Hirsutismus, Akne und eine androgene Alopezie sind klinische Zeichen des Hyperandrogenismus und werden bei Frauen mit einem PCOS häufig gesehen (Azziz et al., 2009). Obwohl PCOS sowohl bei normalgewichtigen als auch übergewichtigen Frauen vorkommt fand eine Metaanalyse, dass Frauen mit einem PCOS häufiger übergewichtig sind als Frauen ohne PCOS (Lim et al., 2012). PCOS Patientinnen weisen häufiger eine Verkalkung der Koronararterien auf und das Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen ist erhöht (Carmina, 2014) (Christian et al., 2003; Talbott et al., 2000; Talbott et al., 2004). Psychiatrische Erkrankungen, vor allem schwere Depressionen, wurden bei PCOS Patientinnen häufiger diagnostiziert (Dokras et al., 2011). Aufgrund der hyperöstrogenen Anovulation und des Hyperinsulinismus haben PCOS Frauen ein höheres Risiko ein Endometriumkarzinom zu entwickeln (odds ratio [OR] 2.7) (Dumesic and Lobo, 2013).

Frauen mit einem PCOS leiden häufiger an unerfülltem Kinderwunsch und entwickeln vermehrt Komplikationen wenn eine Kinderwunschbehandlung erfolgt. Bei einer Schwangerschaft weisen diese Patientinnen eine höhere Rate an perinatalen Komplikationen auf (Azziz et al., 2016; Boomsma et al., 2006; Palomba et al., 2015; Qin et al., 2013). Komplikationen, welche häufiger beobachtet wurden, sind das Auftreten von Mehrlingsschwangerschaften, ovariellen Hyperstimulationssyndromen (OHSS) und Früh-, sowie Spätaborte (Azziz et al., 2016; McCartney and Marshall, 2016; Norman et al., 2007). In der Schwangerschaft zeigen Frauen mit PCOS häufiger einen Gestationsdiabetes, eine Schwangerschaftsinduzierte Hypertonie, eine Präeklampsie, eine Frühgeburt und eine höhere

Secutorate (Boomsma et al., 2006; Kollmann et al., 2015; Palomba et al., 2015; Qin et al., 2013). Die Kinder von PCOS Müttern müssen häufiger kinderärztlich betreut werden und weisen ein niedrigeres Geburtsgewicht auf (Qin et al., 2013). Die exakte Ätiologie der vermehrten Komplikationen ist noch unklar; vermutet wird ein Zusammenspiel verschiedener Faktoren, welche die Trophoblasteninvasion und Plazentation negativ beeinflussen (siehe Abbildung 2) (Boomsma et al., 2006; Kollmann et al., 2015; Palomba et al., 2015; Qin et al., 2013).

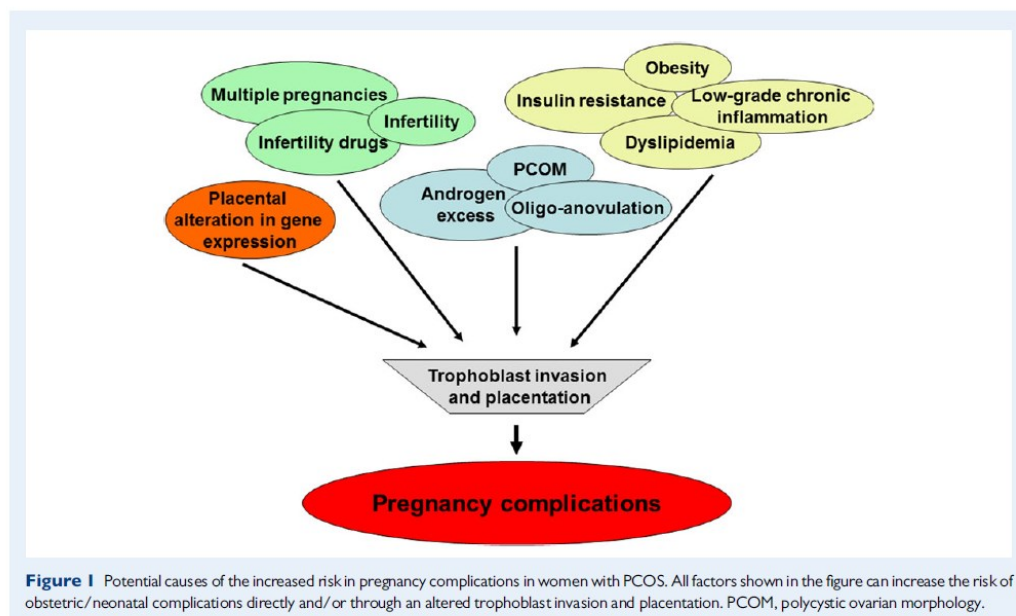


Abbildung 2. Potentielle Ursachen für die Entstehung von Schwangerschaftskomplikationen bei PCOS Patientinnen (Palomba et al., 2015)

B. Genetik

Die Genetik bzw. Molekulargenetik ist eine noch relativ junge Wissenschaft, welche bei der Aufklärung von Krankheitsursachen eine immer bedeutendere Rolle einnimmt. Bereits im 18. und frühen 19. Jahrhundert wurden Experimente zur Vererbung von Merkmalen durchgeführt. Anhand von Kreuzungsexperimenten bei Pflanzen, die er nach mathematischen Erkenntnissen statistisch auswertete, formulierte er drei Vererbungsregeln, die später als Mendelsche Regeln bekannt wurden. Gregor Mendel gilt somit als Begründer der Klassischen Genetik (Murken, 2011). Die Mendelschen Regeln erklären den Vererbungsvorgang bei monogenen Erkrankungen. Zu Beginn des 19. Jahrhunderts wurden Chromosomen als Träger der Erbinformation erkannt und der Begriff des ‚Gens‘ geprägt (Murken, 2011). Ein weiterer Meilenstein wurde 1953 erzielt, als James Watson und Francis Crick die Doppelhelix-Struktur der DNA postulierten. 1975 gelang es Wissenschaftlern die Desoxyribonukleinsäure (DNA) zu sequenzieren und 1990 wurde das ‚Humangenomprojekt‘, mit dem Ziel alle Gene des Menschen zu identifizieren und die gesamte Sequenz der humanen DNA zu entschlüsseln, gestartet. Seit 2003 gilt das Projekt als abgeschlossen, wobei laufend neuere, genauere Versionen des humanen Genoms veröffentlicht werden. Die Referenzsequenz des menschlichen Genoms kann in öffentlich zugänglichen Datenbanken im Internet gefunden werden. Es ist jedoch nicht nur die DNA-Sequenz, welche den biologischen Bauplan ausmacht, sondern chemische Modifizierungen der DNA, wie DNA-Methylierungen und Histonmodifikationen. Veränderungen, welche die Genaktivität regulieren können, die aber nicht in der DNA-Sequenz kodiert sind, werden unter dem Begriff der Epigenetik zusammengefasst. Um die Jahrtausendwende wurde das ‚Humane Epigenom Projekt‘ gestartet, welches die Erstellung von Referenzmethylierungsprofilen für unterschiedliche Gewebe zum Ziel hat. Weitere neuere wissenschaftliche Ziele sind die Entschlüsselung des Transkriptoms, des Proteoms, des Metaboloms und des Mikrobioms (Eckhardt et al., 2004; Murken, 2011).

1. Aufbau und Funktion der DNA

Die DNA ist ein Polymer von Nukleotiden, welche wiederum aus einer organischen Base (einer Purin- oder Pyrimidinbase), einem Zucker (2'-Desoxyribose) und einer Phosphorsäure bestehen. Zwei komplementäre Nukleotidketten werden durch Wasserstoffbrückenbindungen, welche sich zwischen zwei Basen ausbilden, zu einer Doppelhelix verbunden. Die Basen Adenin und Thymin werden durch zwei und Guanin und Cytosin durch drei Wasserstoffbrücken verbunden. Die Basenfolge des DNA-Stranges macht den genetischen Code aus. Menschliche Zellen enthalten - bis auf die Keimzellen - ein diploides Genom. Der Großteil der Erbinformation befindet sich also auf 2 x 23 Chromosomen. Dabei handelt es sich um Molekülkomplexe, welche im Zellkern lokalisiert sind. Einen kleineren Teil der Erbinformation findet man als mitochondriale DNA (mtDNA) in den Mitochondrien der Zelle (Plasmon). Ein haploides, menschliches Genom besteht aus circa 3 Milliarden Basenpaaren, wobei aber nur ein kleiner Teil der gesamten DNA kodierend ist. Ein Abschnitt der DNA, welcher für eines oder mehrere funktionelle Produkte kodiert, wird als Gen bezeichnet. Die Produkte können sowohl Proteine (mRNA vermittelt), aber auch Ribonukleinsäuren sein (rRNA, tRNA, miRNA) sein (siehe Abbildung 3) (Murken, 2011). Das menschliche Genom enthält in etwa 20.000 bis 25.000 Gene, die exprimiert werden können.

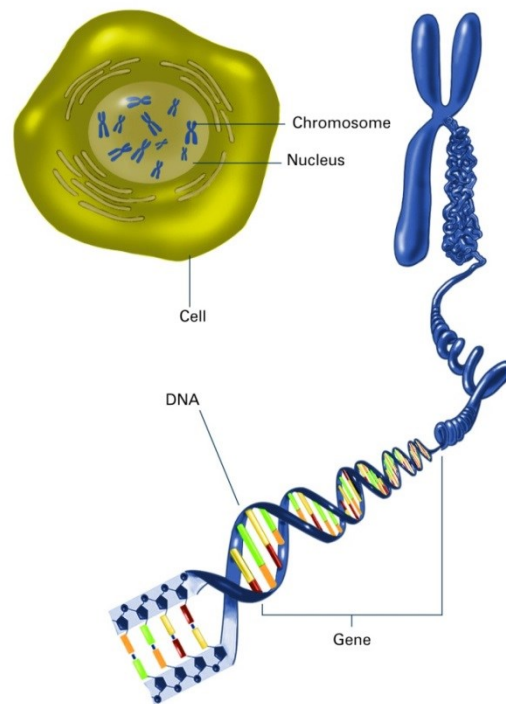


Abbildung 3 zeigt eine Zelle, Chromosomen, Gene und die DNA
<https://images.nigms.nih.gov/Pages/DetailPage.aspx?imageID2=2540>; cc Crabtree + Company

Zwei Hauptschritte (Transkription = RNA-Synthese und Translation = Protein-Synthese) sind notwendig, damit die Geninformation in die Aminosäuresequenz eines spezifischen Protein übersetzt wird. Primär wird bei der Transkription eine Gen-Abschrift (mRNA) erzeugt. Anschließend wird der genetische Code am Ribosom von der mRNA abgelesen, mithilfe von tRNAs entschlüsselt und die Aminosäuren werden laut Codon Abfolge miteinander verbunden. Veränderungen im genetischen Code (Mutation) können zu veränderten Proteinen führen, was zu Fehlfunktionen und somit zur Entwicklung von Erkrankungen führen kann. Dabei unterscheidet man konstitutionelle Mutationen von somatischen Mutationen. Konstitutionelle Mutationen betreffen alle Körperzellen und können innerhalb einer Familie weitervererbt werden. Somatische Mutationen betreffen eine bestimmte Anzahl von Körperzellen und können nicht innerhalb einer Familie vererbt werden. Zudem können Mutationen in den Keimzellen der Eltern auftreten, welche auf die nachfolgende Generation übertragen werden können, obwohl die Eltern nicht betroffen sind. Generell unterscheidet man zwischen Genommutationen, Chromosomenmutationen und Genmutationen (Murken, 2011).

2. Multifaktorielle Erkrankungen / genomweiten Assoziationsstudien (GWAS)

Beim PCOS geht man davon aus, dass es sich um eine multifaktorielle Erkrankung handelt (siehe Abbildung 4). Solche Krankheiten kommen durch das Zusammenspiel genetischer und nicht genetischer Faktoren zustande und folgen keinem Mendel-Erbgang (Murken, 2011).

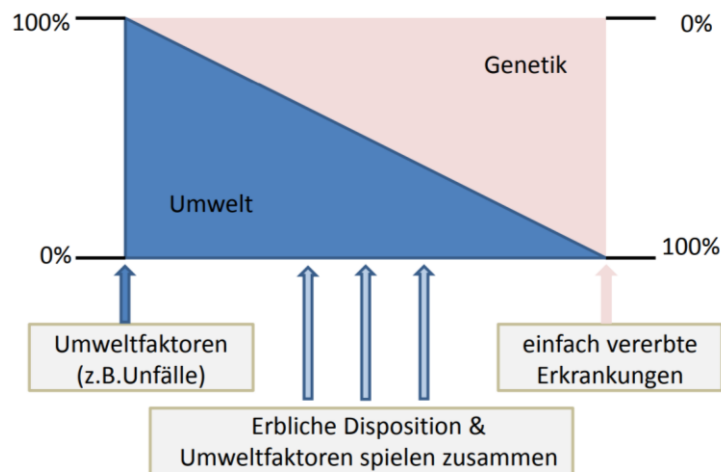


Abbildung 4. Zusammenspiel von Genetik und Umwelt in der Pathogenese

Eine wichtige Eigenschaft von multifaktoriellen Erkrankungen ist, dass sie aus multiplikativen Effekten zwischen den ätiologischen Faktoren resultieren.

Die ursächlichen Gene für multifaktorielle Erkrankungen betreffend gibt es zwei Überlegungen. Die erste geht davon aus, dass für häufige Erkrankungen häufige Allele an einer begrenzten Zahl von Genorten prädisponieren („Common Disease – Common Variant Hypothese“). Die zweite nimmt an, dass viele verschiedene Allele an einem Genort prädisponierend sind (starke allelische Heterogenität und Lokusheterogenität) (Murken, 2011).

Um pathogenetische Genvarianten zu finden bedient man sich bei multifaktoriellen Erkrankungen häufig Assoziationsstudien. Mittels genetischer Assoziationsstudien können bestimmte Haplotypen bzw. Allele mit bestimmten Phänotypen assoziiert werden, d.h. es wird untersucht ob ausgewählte Allele oder Haplotypen bei Erkrankten häufiger vorkommen als bei Kontrollen. Eine Kausalität kann mittels GWAS Studie allerdings nicht begründet werden

kann. Dazu müssen die identifizierten Loci funktionell mit molekularbiologischen und biochemischen Methoden untersucht werden. In Assoziationsstudien werden besonders häufig sogenannte ‚Single-Nucleotid Polymorphism‘ (SNPs) als Marker verwendet. SNPs sind durch einen Austausch eines einzigen Nukleotids charakterisiert und liegen in der Bevölkerung mit einer Frequenz von über 1% vor. Neuere großangelegte Sequenzierstudien haben allerdings gezeigt, dass viele Polymorphismen auch mit wesentlich geringeren Allelfrequenzen in der Bevölkerung vorliegen können. Bei der Durchführung von genomweiten Assoziationsstudien (GWAS) werden hochauflösende DNA-Chips verwendet, welche die gleichzeitige Typisierung von bis zu 1 Million SNPs einer Person erlauben (Abbildung 5) (Liu et al., 2016; MacArthur et al., 2017; Manolio, 2010; Murken, 2011; Visscher et al., 2012; Welter et al., 2014).

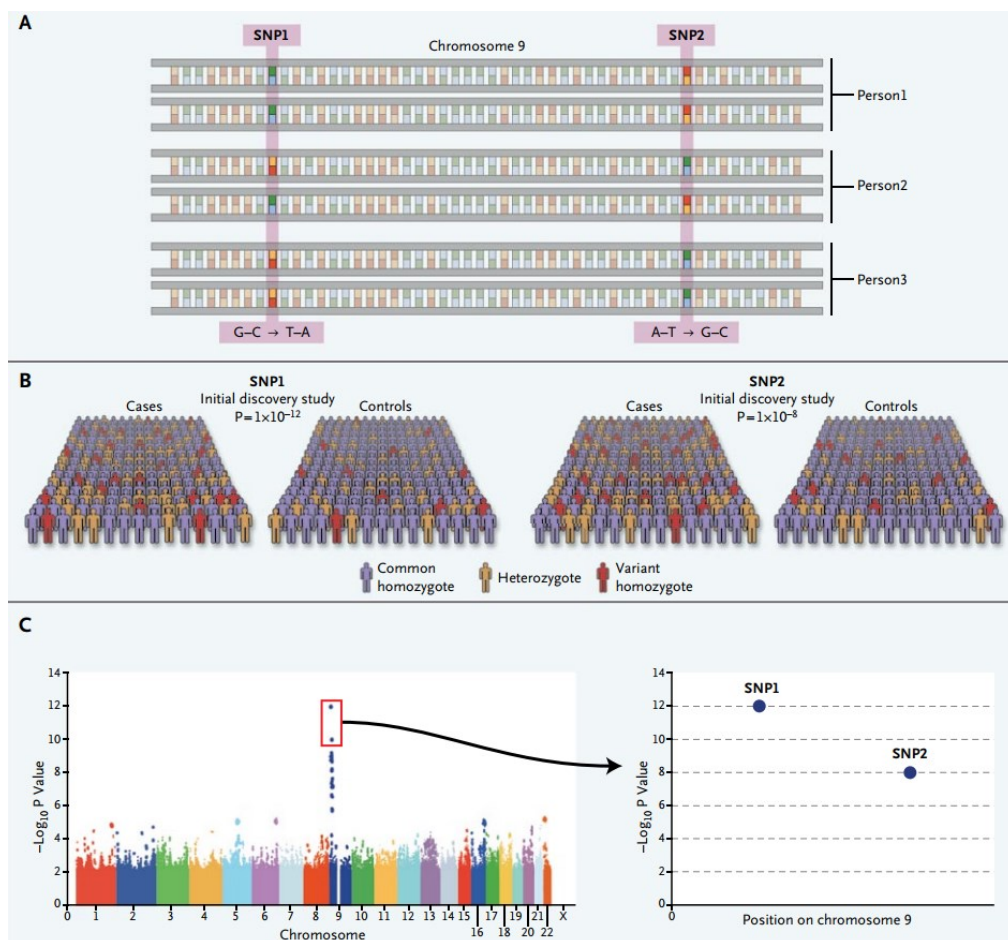


Abbildung 5. Genomweite Assoziationsstudien – Studiendesign (Manolio, 2010) A Ein Genlokus am Chromosom 9 wird einer Genotypisierung unterzogen. B Die Stärke einer Assoziation wird für jeden SNP errechnet. Die Prävalenz der SNPs von Patientinnen wird mit der der Kontrollgruppe verglichen. C Diese Grafik zeigt die p-Werte aller genotypisierten SNPs, welche einer Qualitätskontrolle unterzogen worden sind. Am Chromosom 9 springen die zwei SNPs (SNP1 und SNP2) hervor.

Um Ergebnisse zu generieren, welche eine statistische Signifikanz besitzen, müssen sehr große Kohorten verwendet werden. Man hilft sich damit ab, dass man Daten stufenweise analysiert. SNPs welche eine Signifikanz gezeigt haben (sogenanntes ‚discovery set‘) werden neuerlich genotypisiert (sog. ‚replicant set‘). Dies führt gewöhnlich zu einer kleineren Anzahl an signifikanten SNPs. Diese werden dann in einem dritten Durchgang (sog. ‚second replication set‘) neuerlich getestet. Man kann diesen Vorgang weiter wiederholen und reduziert damit die Anzahl an falsch positiven und falsch negativen Assoziationen (Manolio, 2010). Um Varianten mit einem geringen Krankheitseffekt zu detektieren, ist es meist notwendig die Daten aus mehreren GWAS in einer Metaanalyse zusammenzufassen (Abbildung 6) (MacArthur et al., 2017; Manolio, 2010).

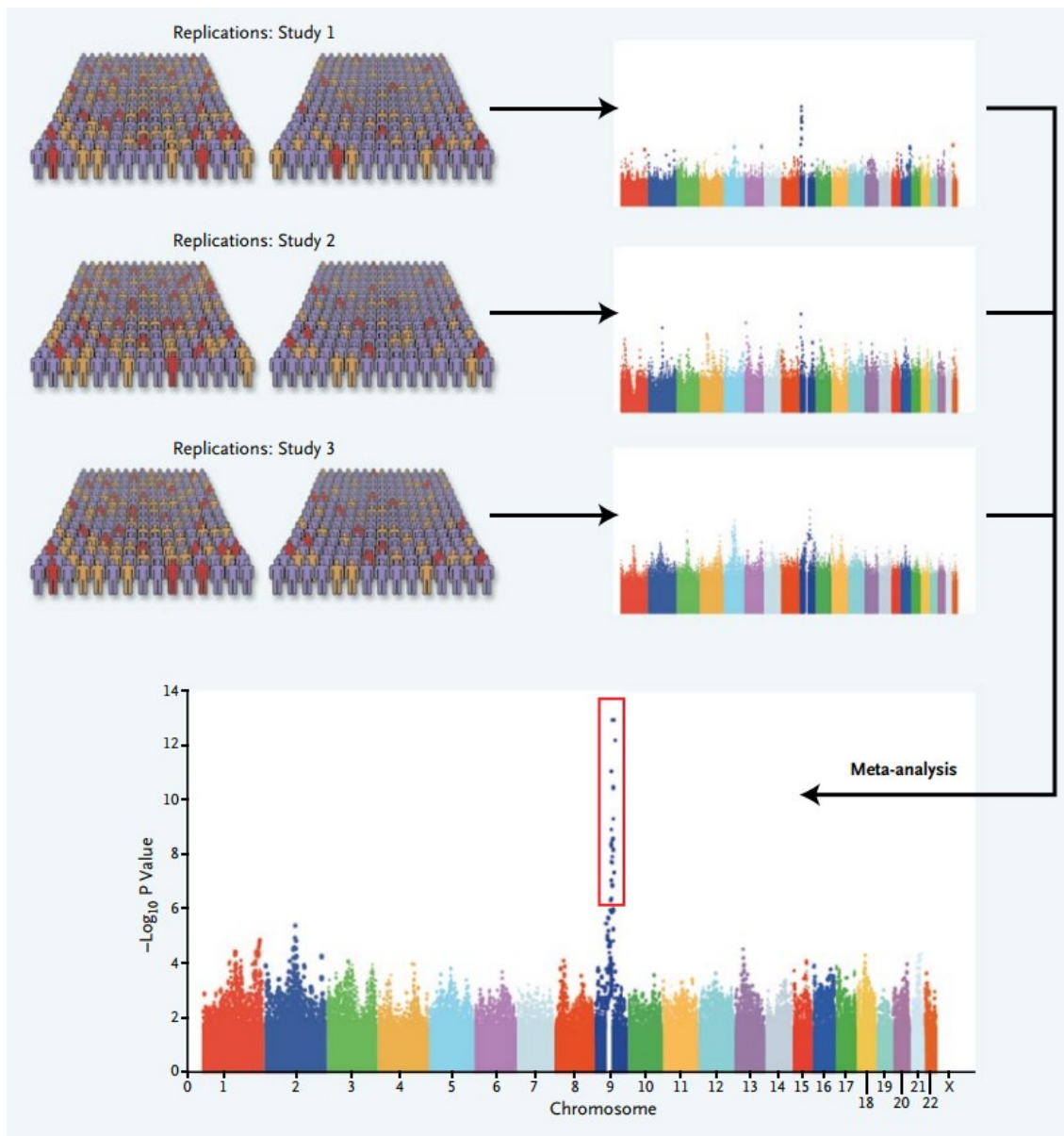


Abbildung 6. Ergebnisse von verschiedenen GWAS kann in einer Metaanalyse zusammengefasst werden. In diesem Beispiel zeigt die Metaanalyse ein signifikantes Signal am Chromosom 9. Die einzelnen Studien könnten dieses Signal eventuell nicht detektieren. (Manolio, 2010)

Die Zahl an durchgeführten GWAS steigt weiterhin jährlich an (MacArthur et al., 2017). ‚GWAS Catalog‘ (www.ebi.ac.uk/gwas) ist eine öffentlich zugängliche Onlinedatenbank, welche durchgeführte GWAS zusammenfasst (Abbildung 7) (MacArthur et al., 2017). Bis zum 1. September 2016 wurden darin 24.218 Merkmals assoziierte SNPs aus 2.518 Publikationen aufgelistet (MacArthur et al., 2017). Die Daten des ‚GWAS Catalog‘ werden in weiteren Datenbanken (z.B. Ensembl, UCSC Genome Browser, PheGenI, HuGE Navigator, GWASdb) verwendet (MacArthur et al., 2017). Um in die Datenbank aufgenommen zu

werden, müssen strikte Qualitätskriterien erfüllt werden: Analyse von >100.000 SNPs mit genomweiter Coverage und p-Wert von $<1 \times 10^{-5}$ (MacArthur et al., 2017).

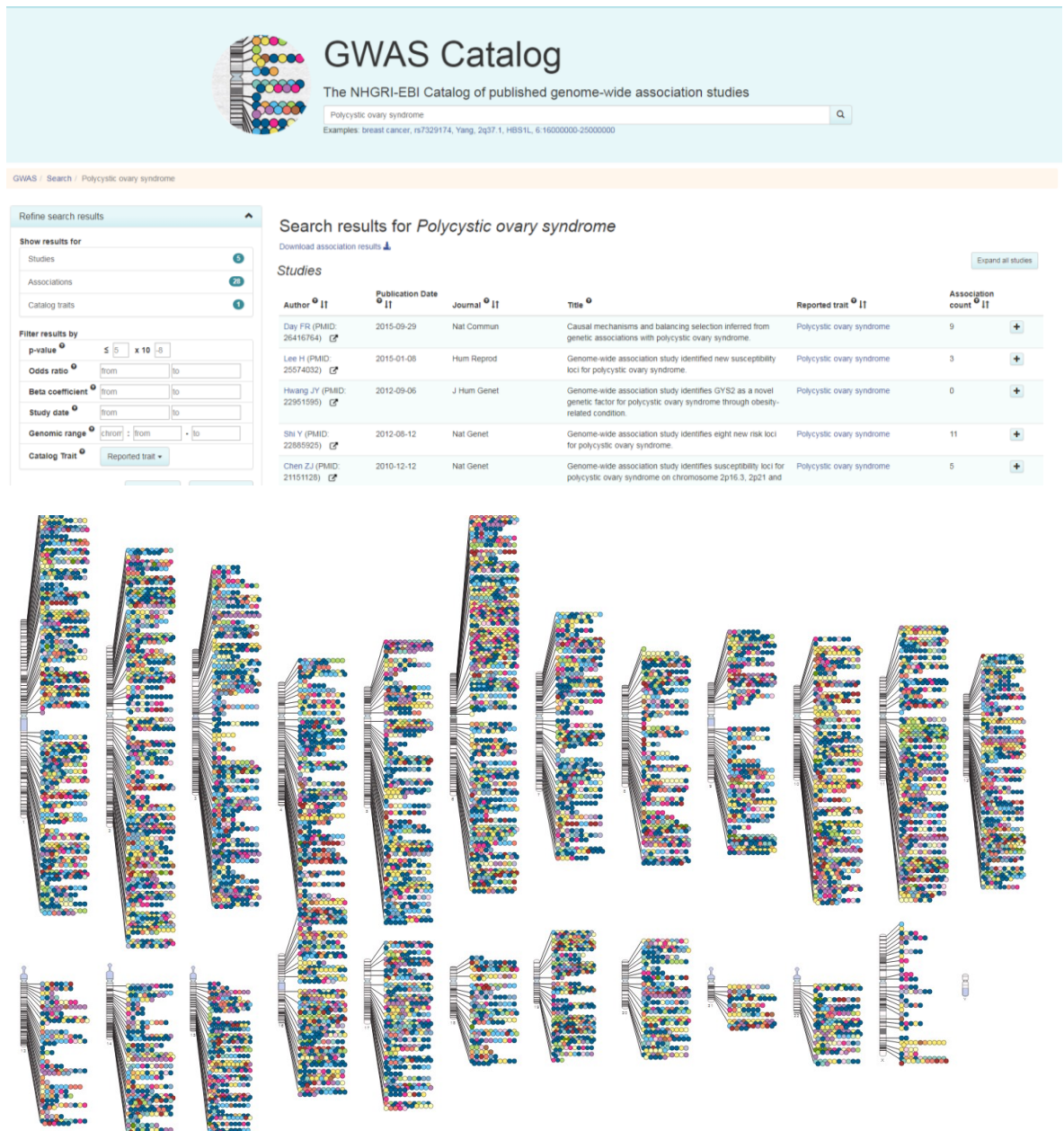


Abbildung 7 GWAS Catalog www.ebi.ac.uk/gwas und bisher identifizierte Merkmal assoziierte SNPs; screenshot vom 29.07.2017

GWAS haben gezeigt, dass nur ca. 12% der mit SNPs assoziierten Merkmale in oder nahe einer proteinkodierenden Genregion liegen. Circa 40% liegen in ‚intergenic regions‘ und weitere 40% in nichtkodierenden Introns (Manolio, 2010). Ein vielversprechender, wenn auch

limitierter Ansatz, um von Merkmal assoziierten SNPs zu den möglicherweise kausalen Varianten zu kommen, ist ein Prozess, welcher unter ‚fine mapping‘ bekannt ist. Dabei werden primär alle Merkmalsassoziierten SNPs zusammengefasst (sog. ‚tag SNP‘) und in einem weiteren Schritt wird geschaut, ob einer dieser SNPs eine stärkere Assoziation als dieser ‚tag SNP‘ aufweist. Dazu werden allerdings sehr große Fallzahlen benötigt. Trotz der Limitationen, welche GWAS haben, sind sie für das Aufklären von komplexen Erkrankungen bzw. das Errechnen von Erkrankungsrisiken sehr wichtig (Manolio, 2010; Visscher et al., 2012).

3. Epigenetik

Die Epigenetik setzt sich mit der Weitergabe von Eigenschaften an Nachkommen auseinander, welche nicht auf Veränderungen der DNA-Sequenz beruhen. Sie beschreibt meiotisch und mitotisch vererbare Veränderungen in der Genregulation und Genexpression, welche ohne Änderung der Genstruktur wirken (Eckhardt et al., 2004; Murken, 2011; Siggins and Ekwall, 2014).

Wie oben erwähnt ist die Aufklärung der Ursachen von komplexen Erkrankungen schwierig. An der Entstehung eines spezifischen Phänotyps spielen verschiedene Faktoren eine Rolle (Genetik, Umwelt). Die Epigenetik bietet einen Erklärungsansatz wie die Wechselwirkung von Umwelt und Genfunktion zu Stande kommen könnte (Murken, 2011).

Jede Zelle des menschlichen Körpers beinhaltet dieselbe genetische Information. Damit aber in den mehr als 200 verschiedenen Gewebetypen nur diejenigen Proteine gebildet werden, die dort auch gebraucht werden, ist es bedeutsam, dass Gene selektiv reguliert und gegebenenfalls auch durch äußere Einflüsse beeinflusst werden können. Vor allem vier Mechanismen sind dafür verantwortlich: DNA-Methylierung, Histonmodifizierung, RNA-Interferenz und genomisches Imprinting (Murken, 2011). DNA-Methylierung ist eine kovalente Modifikation

der DNA in Form von Methylgruppen, welche bei Eukaryonten auf die Pyrimidinbase Cytosin beschränkt ist. Die Übertragung erfolgt mittels DNA-Methyltransferasen auf die 5' Position übertragen wird (Novik et al., 2002) des Cytosins. Die Histonmodifizierungen sind chemische Veränderungen an Histon Proteinen, die den Grad der Kondensierung der DNA beeinflussen. Dies kontrolliert die DNA Zugänglichkeit und damit die Expression. Dichtgepackte DNA ist schwer zugänglich und somit inaktiv, gelockerte DNA ist gut zugänglich und somit aktiv. Möglichkeiten der Histonmodifizierung sind Histon Acetylierung, Histon Methylierung und die Histon Phosphorylierung. RNA-Interferenz ist ein post-transkriptioneller Mechanismus, der der zielgerichteten Abschaltung von Genen dient. Diese wird durch zellfremde DNA, durch virale RNA, aberranten Transkripten repetitiver Sequenzen oder pre-miRNA getriggert. Beim genomischen Imprinting wird ein Allel in Abhängigkeit von der elterlichen Herkunft inaktiviert. Durch DNA-Methylierung erfolgt die Inaktivierung in der frühen Embryogenese. Dieser Vorgang spielt zum Beispiel bei der X-Inaktivierung eine Rolle (Murken, 2011).

C. Zielsetzung der Masterarbeit

Bereits 1968 wurde eine Arbeit veröffentlicht, welche auf genetische Ursachen des PCOS eingeht (Cooper et al., 1968). Die Durchführung von genomweiten Assoziationsstudien (GWAS) brachte neue Einblicke (Jones and Goodarzi, 2016; Liu et al., 2016). Weiter gibt es mehr und mehr Hinweise, dass für die Entstehung der verschiedenen PCOS Phänotypen epigenetische Veränderungen eine ursächliche Rolle spielen (Ilie and Georgescu, 2015; Xu et al., 2010; Xu et al., 2011a; Yu et al., 2015). Auf die durchgeführten Familienstudien, GWAS und neuen Studien zur Epigenetik sollte in dieser Arbeit ausführlich eingegangen werden.

VIII. Material und Methoden

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine Literaturrecherche mit Zusammenfassung und Konklusion der vorliegenden Studien zum Thema ‚Genetische Ursachen des Polyzystischen Ovar Syndroms (PCOS)‘. Aussagen aus unterschiedlichen Quellen werden gegenübergestellt, Unterschiede und Widersprüche herausgearbeitet und kritisch analysiert. Der Schwerpunkt wird auf die zu diesem Thema durchgeführten genomweiten Assoziationsstudien (GWAS) und neuen Studien zur Epigenetik gelegt.

Im Rahmen der Recherche wurden die öffentlich zugängliche Datenbanken PubMed und der GWAS Catalog verwendet. Zusätzlich wurde die Literaturliste von relevanten Studien manuell durchsucht.

IX. Ergebnisse

A. Familienstudien und PCOS

Bereits 1968 wurde eine Arbeit veröffentlicht, welche auf genetische Ursachen des PCOS eingeht. Eine familiäre Häufung legte einen genetischen Hintergrund der Erkrankung nahe und lässt auf eine autosomal dominante Vererbung mit variabler Penetranz (Cooper et al., 1968) schließen. Familienstudien zum PCOS haben vor allem die ovarielle Morphologie, die Zyklustempoanomalien, den Hyperandrogenismus und die Hyperandrogenämie untersucht. Auch auf einen männlichen Phänotyp, welcher sich durch vorzeitigen Haarausfall äußert wurde in Studien eingegangen (siehe Tabelle 1) (Carey et al., 1993; Ferriman and Purdie, 1979; Franks et al., 2001; Franks et al., 1997; Givens, 1988; Govind et al., 1999; Hague et al., 1988; Kahsar-Miller et al., 2001; Legro et al., 1998; Lunde et al., 1989; Wilroy et al., 1975). Givens et al. fanden eine familiäre Häufung von hyperandrogenen und metabolischen Dysregulationen in Familien mit PCOS und vermuteten eine Xchromosomale Vererbung (Givens, 1988; Wilroy et al., 1975). Lunde et al. haben 132 Frauen untersucht und fanden einen signifikant höheren Anteil an PCOS assoziierten Symptomen in nahen Familienangehörigen. Auch von dieser Arbeitsgruppe wurde eine autosomal dominante Vererbung vorgeschlagen (Lunde et al., 1989). Eine Studie mit 250 PCOS Patientinnen und deren Familienmitgliedern zeigte, dass 75% der Probanden zumindest ein weiteres Familienmitglied mit Hirsutismus alleine oder mit einem PCOS und Hirsutismus haben. In dieser Studie wurde eine starke familiäre Häufung beschrieben; 50% der Mütter und Schwestern, 25% der Tanten und 20% der Großmütter wiesen einen Hirsutismus oder einen Hirsutismus kombiniert mit einer Zyklusstörung auf (Kahsar-Miller and Azziz, 1998; Kahsar-Miller et al., 2001). In einer weiteren Studie konnte gezeigt werden, dass 22% der Schwestern von Frauen mit PCOS ebenfalls ein PCOS aufweisen und weitere 24% hatten einen Hirsutismus mit einem regelmäßigen Zyklus (Legro et al., 1998).

Familienstudien und PCOS			
Vorgeschlagene Vererbung	Diagnostische Kriterien	Phänotyp bei Verwandten 1. Grades	Referenz
Autosomal dominant mit variabler Penetranz	Oligomenorrhoe, Hirsutismus, PCO	Frauen: Oligomenorrhoe und PCO	(Cooper et al., 1968)
X-Chromosomale Vererbung	Oligomenorrhoe, Hirsutismus, PCO	Frauen: Hyperandrogenismus, Metabolische Störungen Männer: Oligospermie, LH Hypersekretion	(Givens, 1988; Wilroy et al., 1975)
-	Hirsutismus und/oder Oligomenorrhoe	Frauen: Infertilität, Oligomenorrhoe, Hirsutismus	(Ferriman and Purdie, 1979)
Autosomal dominant	Zyklusanomalien, Hyperandrogenismus, Übergewicht, Infertilität, PCO	Frauen: Hyperandrogene Symptome Männer: vorzeitiger Haarausfall und vermehrter Haarwuchs	(Lunde et al., 1989)
-	Zyklusanomalien, Hirsutismus, Infertilität, PCO, Übergewicht	Frauen: PCO	(Hague et al., 1988)
Monogen	PCO	Frauen: PCO Männer vorzeitiger Haarausfall	(Carey et al., 1993)
Monogen	NIH Kriterien	Frauen: PCOS, Hyperandrogenämie, Insulinresistenz	(Legro et al., 1998)
-	NIH Kriterien	Frauen: PCOS	(Kahsar-Miller et al., 2001)
-	NIH Kriterien	Frauen: PCOS, Insulinresistenz Männer: Insulinresistenz	(Yildiz et al., 2003)

Tabelle 1 Familienstudien und PCOS; PCO=poyzystische Ovarien; SHBG=Sexual Hormon Binding Globulin (Unluturk et al., 2007)

B. Zwillingsstudien

Eine sehr große Zwillingsstudie mit 3.205 Zwillingen lässt eine starke genetische Komponente vermuten (Vink et al., 2006). In kleinen Kohortenstudien mit monozygoten und dizygoten Zwillingen wurde die Hypothese, dass es sich um ein autosomal dominantes

Vererbungsmuster handelt abgelehnt und ein polygenetisches bzw. X-Chromosom assoziiertes Muster favorisiert (Jahanfar et al., 1997; Jahanfar et al., 1995).

C. Identifikation von Risikogenen

Die Suche nach Risikogenen, welche aufgrund der bisher bekannten Pathophysiologie in Frage kommen, war weniger erfolgreich. Mehr als 100 Kandidaten-Gene wurden analysiert und nur ein Gen, welches für den Insulin Rezeptor (INSR) kodiert, konnte in großen GWAS als Risikogen bestätigt werden (Chen et al., 2004; Goodarzi et al., 2011; Jin et al., 2006; Lee et al., 2008; Lee et al., 2006; Mukherjee et al., 2009; Shi et al., 2012; Siegel et al., 2002; Tucci et al., 2001; Xu et al., 2011b).

D. Genomweite Assoziationsstudien (GWAS) und PCOS

Die erste GWAS mit PCOS Patientinnen wurde 2011 publiziert und hat drei prädisponierende Loci identifiziert. Diese GWAS wurde in einer großen Fall-Kontroll Kohorte mit PCOS Patientinnen in einer chinesischen Population durchgeführt (4.082 PCOS Patientinnen laut Rotterdam Kriterien und 6 687 Kontrollen) (Chen et al., 2011). In der ‚discovery cohort‘ wurden 744 PCOS Patientinnen und 895 Kontrollpatientinnen analysiert. Die Replikationskohorte schloss dann 3.338 PCOS Patientinnen und 5.792 Kontrollen ein (Chen et al., 2011). Dabei wurden drei genomische Regionen 2p16.3, 2p21 und 9q33.3 identifiziert, die signifikant mit einem PCOS assoziiert waren. Diese beinhalten vielversprechende Risikogene wie z.B. *LHCGR*, *THADA*, *DENNDIA*, welche in der Pathogenese des PCOS eine Rolle spielen könnten. Die zweite GWAS wurde ebenso bei chinesischen Patientinnen durchgeführt und berichtet über acht neue Risikolokalisationen: 2p16.3, 9q22.32, 11q22.1, 12q13.2, 12q14.3, 16q12.1, 19p13.3 und 20q13.2 (Shi et al., 2012). Der Locus 2p16.3 scheint möglicherweise sowohl auf das Gen *LHCGR* als auch auf das Gen *FSHR* einen Einfluss zu haben. Beide spielen in der weiblichen Reproduktion eine wichtige Rolle (Shi et al., 2012). Zwei weitere GWAS mit kleineren Fallzahlen haben eine weitere Region identifiziert: 8q24.2 (*KHDRBS3*) (Hwang et al., 2012; Lee et al., 2015). Zuletzt wurden zwei europäische GWAS veröffentlicht,

welche weitere Loci identifizieren konnten (Day et al., 2015; Hayes et al., 2015, 2016). Die erste Studie hat 8p32.1 und 11p14.1 als zusätzliche Risikolokalisationen gefunden (Day et al., 2015; Hayes et al., 2015). 8p32.1 liegt zwischen *GATA4* und *NEIL2*. *GATA4* hat Einfluss auf Entwicklung der Gonaden. 11p14.1 betrifft das Gen *FSHB*, welches für die β -Untereinheit von FSH kodiert und *ARL14EP*. Nur ein Signal der chinesischen Kohorten konnte wiedergefunden werden: 9q22.32 (Day et al., 2015; Hayes et al., 2015). Die von Day et al. publizierte Studie hat drei weitere Risikogene suszipiert: *YAP1*, *DENNDIA* und *THADA* (Day et al., 2015). Eine Zusammenfassung der durchgeführten GWAS und gefunden Loci zeigt Tabelle 2.

Tabelle 2. Zusammenfassung der derzeit vorhandenen GWAS (Jones and Goodarzi, 2016)

Lokus	Nächstes Gen	GWAS Index SNP	p-Wert	Ursprüngliche Population
2p16.3	<i>LHCGR</i>	rs13405728	$7,55 \times 10^{-21}$	Chinesisch
2p16.3	<i>FSHR</i>	rs2268361	$9,89 \times 10^{-13}$	Chinesisch
		rs2349415	$2,35 \times 10^{-12}$	Chinesisch
2p21	<i>THADA</i>	rs13429458	$1,73 \times 10^{-23}$	Chinesisch
2q34	<i>ERBB4</i>	rs1351592	$1,2 \times 10^{-12}$	Europäisch
5q31.1	<i>RAD50</i>	rs13164856	$3,5 \times 10^{-9}$	Europäisch
8p32.1	<i>GATA4</i>	rs804279	$8,0 \times 10^{-10}$	Europäisch
9q33.3	<i>DENNDIA</i>	rs2479106	$8,12 \times 10^{-9}$	Chinesisch
9q22.32	<i>C9orf3</i>	rs4385527	$5,87 \times 10^{-9}$	Chinesisch
11p14.1	<i>FSHB</i>	rs11031006	$1,9 \times 10^{-8}$	Europäisch
11q22.1	<i>YAP1</i>	rs1894116	$1,08 \times 10^{-22}$	Chinesisch
		rs11225154	$7,6 \times 10^{-11}$	Europäisch
12q14.3	<i>HMG2</i>	rs2272046	$1,95 \times 10^{-21}$	Chinesisch
12q13.2	<i>RAB5B/SUOX</i>	rs705702	$8,64 \times 10^{-26}$	Chinesisch
12q21.2	<i>KRR1</i>	rs1275468	$1,9 \times 10^{-8}$	Europäisch
16q12.1	<i>TOX3</i>	rs4784165	$3,64 \times 10^{-11}$	Chinesisch
19p13.3	<i>INSR</i>	rs2059807	$1,09 \times 10^{-8}$	Chinesisch
20q13.2	<i>SUMO1P1</i>	rs6022786	$1,83 \times 10^{-9}$	Chinesisch

Im ‚GWAS Catalog‘ (letzter Abruf: 30.07.2017) sind die derzeit 14 Assoziation zum PCOS aufgeführt (siehe Abbildung 8).



Abbildung 8 Das Diagramm zeigt die derzeit bekannten Assoziation für das Polyzystische Ovar Syndrom (<http://www.ebi.ac.uk/gwas>).

In Folgestudien konnten bisher noch keine klaren Assoziationen zwischen den in GWAS gefundenen Loci und typischen phänotypischen Veränderungen gefunden werden (Cui et al., 2013; Eriksen et al., 2012; Goodarzi et al., 2011; Lerchbaum et al., 2011).

E. Epigenetik und PCOS

Die erste Pilotstudie, welche das globale Methylierungsmuster von PCOS Frauen und gesunden Kontrollpatientinnen verglichen hat, hat keinen signifikanten Unterschied gefunden. In der PCOS Gruppe zeigten sich 6,7 % der DNA methyliert und in der Kontrollgruppe 7,1% ($p=0,79$) (Xu et al., 2010).

Eine 2015 veröffentlichte Studie von Yu et al. hat das DNA Methylierungsmuster im Ovarialgewebe von Frauen mit einem PCOS und ohne PCOS verglichen (Yu et al., 2015). Mit der MeDip-chip Methode erfolgte sowohl eine genomweite Analyse als auch die Analyse von 7 potentiellen Genen. Die genomweite Analyse zeigte ein signifikant verändertes Methylierungsmuster bei PCOS Frauen im Vergleich zu Kontrollpatientinnen. Das Gewebe von Frauen mit PCOS zeigt eine Hypermethylierung in Promotorregionen von potentiell interessanten Genen (*SLC2A8*, *NRIP1*, *IGF2BP2*, *AMHR2*) und eine Hypomethylierung in den Genen *INSR* und *AMH* (Yu et al., 2015).

Im Vorfeld sind bereits Studien am Tiermodell durchgeführt worden: Eine Studie bei Zebrafischen hat gezeigt, dass Embryos welche intrauterin einem erhöhten Androgenspiegel ausgesetzt sind ein verändertes Methylierungsmuster aufweisen (Xu et al., 2014). Ein ähnliches Ergebnis fanden auch Zhang et al., welche den Einfluss des intrauterinen Milieus auf Ratten untersuchten (Zhang et al., 2014). Eine Studie an Rhesus Affen hat gezeigt, dass eine pränatale Androgensierung zu einer Veränderung des Methylierungsmusters führen kann (Xu et al., 2011a).

Eine Studie aus dem Jahr 2015 hat versucht, die Risikoloci, welche in den GWAS gefunden wurden in einen funktionellen Kontext zu stellen (Jones et al., 2015). Dafür wurde in subkutanem Fettgewebe von PCOS Patientinnen das DNA Methylierungsmuster untersucht. In dieser Studie wurde eine veränderte Expression der Gene *LHCGR*, *RAB5B* und *INSR* gefunden. Gleichzeitig wurde eine verminderte Methylierung der LHCGR Region und eine vermehrte Methylierung des INSR Locus festgestellt (Jones et al., 2015).

X. Diskussion

Die Identifikation von Risikogenen für das PCOS ist ein Ansatz zur Klärung der Pathophysiologie. Das PCOS betreffend wurden bisher in GWAS 16 Assoziationen gefunden.

Die vielversprechendsten Assoziationen befinden sich an den Loci 2p16.3 (*LHCGR*, *FSHR*) und 11p14.1 (*FSHB*). Diese Gene spielen eine sehr wichtige Rolle in der Follikulogenese und Ovulation (Jones and Goodarzi, 2016), weshalb ein Zusammenhang mit einem PCOS als plausible erscheint.

Der Locus 9q33.3, welcher primär in einer chinesischen GWAS identifiziert wurde (Shi et al., 2012), konnte in Replikationsstudien, welche europäische Kohorten einschlossen, ebenso gefunden werden. Dies könnte darauf hinweisen, dass das *DENNDIA* Gen ein PCOS Risikogen bei verschiedenen Ethnizitäten ist (Eriksen et al., 2012; Goodarzi et al., 2012; Lerchbaum et al., 2011; Welt et al., 2012). *DENNDIA* wird im Hodengewebe, ovariellen Thekazellen und Nebennierenkarzinomen exprimiert (Strauss et al., 2012). Studien, welche die Expression von *DENNDIA* in Thekazellen untersucht haben, haben gefunden, dass eine Variante (*DENNDIA.v2*) in Thekazellen von PCOS Patientinnen häufiger vorkommt. Diese Zellen zeigten in vitro eine gesteigerte Synthese von Androgenen (McAllister et al., 2014).

In verschiedenen Studien wurde die Expression der suszipierten Risikogene und dessen Effekt in unterschiedlichen Gewebearten untersucht (Cortón et al., 2007; Jansen et al., 2004; Wood et al., 2005). Ein übereinstimmendes Ergebnis zweier Studien war die veränderte Expression von Bestandteilen des Wnt-Signalweges im Ovar und den Thekazellen. Der Wnt-Signalweg ist ein Signaltarsduktionsweg, durch welchen Zellen auf Signale von außen reagieren können (Jansen et al., 2004; Wood et al., 2005). Der Wnt-Signalweg ist vornehmlich während der Embryonalentwicklung aktiv und in adulten Zellen zumeist inaktiviert. Allerdings wurde in Tumorzellen häufig eine Reaktivierung nachgewiesen (Behrens and Lustig, 2004; Lustig and Behrens, 2003).

Untersuchungen von Granulosazellen von PCOS Patientinnen mit und ohne Insulinresistenz zeigten eine vermehrte Genexpression von Risikogenen für einen Typ-2 Diabetes bei PCOS Patientinnen mit einer Insulinresistenz. Patientinnen ohne Insulinresistenz wiesen eine vermehrte Expression von pro-inflammatorischen Genen auf (Kaur et al., 2016; Kaur et al., 2012).

Ein limitierender Faktor vieler genannter Studien sind die relativ kleinen Kohorten von PCOS Patientinnen/Geweben welche für die Analyse herangezogen wurden. Ein weiterer Faktor, welcher für die Interpretation der Studienergebnisse sehr wichtig ist, ist die exakte Charakterisierung des Phänotyps. Studien haben gezeigt, dass unterschiedliche Phänotypen verschiedene Komorbiditäten aufweisen (Kollmann et al., 2015; Palomba et al., 2015; Palomba et al., 2010). Ein damit zusammenhängendes Problem, welches von Fachgesellschaften und Experten immer wieder diskutiert wird, sind die verschiedenen diagnostischen PCOS Kriterien, welche derzeit Verwendung finden. Die NIH Kriterien werden vorwiegend in den USA verwendet wohingegen in Europa und Asien die breiteren ESHRE/ASRM Kriterien verwendet werden. Des Weiteren haben sich die diagnostischen Möglichkeiten, die Ultraschalluntersuchung betreffend, im letzten Jahrzehnt extrem verbessert. Wenn neuere Ultraschallgeräte zur Diagnostik verwendet werden ist es notwendig, dass die diagnostischen Kriterien angepasst werden (Dewailly et al., 2011; Dewailly et al., 2013; Kollmann et al., 2014a, b). Eine Analyse aller derzeit vorhandene Daten zur PCO Diagnostik mittels Ultraschall hat gezeigt, dass die Anzahl der Follikel (derzeit) von 12 auf 25 erhöht werden sollte, wenn ein neues Ultraschallgerät verwendet wird und dass das ovarielle Volumen ermittelt werden sollte, wenn ältere Geräte verwendet werden (Dewailly et al., 2013).

Die verschiedenen PCOS Phänotypen betreffend, gibt es mehr und mehr Hinweise, dass für deren Entstehung epigenetische Veränderungen eine ursächliche Rolle spielen (Ilie and Georgescu, 2015; Jones et al., 2015; Xu et al., 2010; Xu et al., 2011a; Yu et al., 2015; Zhang et al., 2014). Ein verändertes Methylierungsmuster konnte in ovariellen Gewebe und

subkutanem Fettgewebe von PCOS Patientinnen gefunden werden (Jones et al., 2015; Yu et al., 2015).

Eine weitere Quelle für eine starke Heterogenität von Studienergebnissen ist der body mass index (BMI) der Patientinnen. Normalgewichtige Patientinnen mit PCOS zeigen meist andere klinische und molekulare Merkmale bzw. Komorbiditäten im Vergleich zu übergewichtigen Patientinnen mit PCOS (Jones et al., 2015; Naderpoor et al., 2017; Naderpoor et al., 2015). Day et. al haben den Einfluss des BMI und der Insulinresistenz auf das PCOS analysiert und festgestellt, dass die analysierten Faktoren eine kausale Rolle in der PCOS Entstehung haben (Day et al., 2015).

Die Verwendung von genetischen Risikofaktoren als diagnostisches/therapeutisches Tool ist ein Ziel der personalisierten Medizin. Bei komplexen Erkrankungen ist dies etwas schwieriger. Aber auch hier gibt es bereits Ansätze, dass Risikogene verwendet werden, um die verschiedenen Ausprägungen/Phänotypen von Erkrankungen vorherzusagen (Lee et al., 2016). Um in Zukunft gute Daten von gut definierten Kohorten zu erhalten, wird es vermehrt notwendig sein, dass sich Forschungsgruppen zusammenschließen und gut definierte/charakterisierte Patientenkollektive untersuchen. Biobanken, welche diese exakt charakterisierten Proben zu Verfügung stellen, könnten dabei helfen.

Der Vorteil von GWAS ist, dass die Regionen im Genom, welche mit bestimmten Erkrankungen in Zusammenhang stehen, sehr rasch und auch preiswert identifiziert werden können. Ein Nachteil ist aber, dass damit zumeist keine kausalen Varianten gefunden werden können. Die derzeitige Herausforderung besteht darin, die kausalen Elemente zu identifizieren und die Rolle der gefundenen Varianten in der Pathogenese zu verstehen. In Folge müssen daher ‚*in silico* Analysen‘, biochemische Assays, Zellkulturen (inklusive 3D-Zellkulturen) oder auch Tiermodelle durchgeführt werden, um einen kausalen Zusammenhang der Erkrankung mit den assoziierten Varianten zu belegen.

Nach Durchführung der ersten GWAS hat sich gezeigt, dass SNPs einen relativ geringen Effekt auf die Ausprägung des Phänotyps haben. Um signifikante Ergebnisse zu bekommen,

ist es deshalb notwendig, dass große Kollektive mit gleichem ethnischen Hintergrund und möglichst distinkten phänotypischen Abgrenzungen untersucht werden (Manolio, 2010; Visscher et al., 2012). Die Notwendigkeit, dass GWAS Ergebnisse in einem weiteren Kollektiv validiert werden müssen, erhöht die Anzahl der notwendigen Probanden weiter.

Dass GWAS methodische Probleme aufweisen, könnte erklären, warum auch unter Einbezug aller tagSNPs nur ein Teil der vorhergesagten Erblichkeit geklärt werden kann. Meist werden nur Bereiche betrachtet, die in $> 1-5\%$ der Population vorkommen. Selten vorkommende SNPs oder Strukturvarianten können möglicherweise mit den verwendeten tagSNPs nicht abgedeckt werden (Manolio, 2010).

Obwohl man weiß, dass sich bei komplexen Erkrankungen die Risikoprädiktion besonders schwierig gestaltet, war man nach der Durchführung der ersten GWAS im Jahr 2005 optimistisch, dass mit diesen Studien die genetischen Ursachen von häufig vorkommenden komplexen Erkrankungen relativ rasch gefunden werden können (Dewan et al., 2006; Visscher et al., 2012). Zusammenfassend muss derzeit aber festgestellt werden, dass die genetischen Ursachen für das PCOS noch nicht geklärt sind.

XI. Literaturverzeichnis

- Abbott, D. H., D. K. Barnett, C. M. Bruns, and D. A. Dumesic, 2005, Androgen excess fetal programming of female reproduction: a developmental aetiology for polycystic ovary syndrome?: *Hum Reprod Update*, v. 11, p. 357-74.
- Abbott, D. H., D. A. Dumesic, and S. Franks, 2002, Developmental origin of polycystic ovary syndrome - a hypothesis: *J Endocrinol*, v. 174, p. 1-5.
- Abbott, D. H., L. E. Nicol, J. E. Levine, N. Xu, M. O. Goodarzi, and D. A. Dumesic, 2013, Nonhuman primate models of polycystic ovary syndrome: *Mol Cell Endocrinol*, v. 373, p. 21-8.
- Alvarez-Blasco, F., J. I. Botella-Carretero, J. L. San Millán, and H. F. Escobar-Morreale, 2006, Prevalence and characteristics of the polycystic ovary syndrome in overweight and obese women: *Arch Intern Med*, v. 166, p. 2081-6.
- Apridonidze, T., P. A. Essah, M. J. Iuorno, and J. E. Nestler, 2005, Prevalence and characteristics of the metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome: *J Clin Endocrinol Metab*, v. 90, p. 1929-35.
- Asunción, M., R. M. Calvo, J. L. San Millán, J. Sancho, S. Avila, and H. F. Escobar-Morreale, 2000, A prospective study of the prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected Caucasian women from Spain: *J Clin Endocrinol Metab*, v. 85, p. 2434-8.
- Azziz, R., E. Carmina, Z. Chen, A. Dunaif, J. S. Laven, R. S. Legro, D. Lizneva, B. Natterson-Horowitz, H. J. Teede, and B. O. Yildiz, 2016, Polycystic ovary syndrome: *Nat Rev Dis Primers*, v. 2, p. 16057.
- Azziz, R., E. Carmina, D. Dewailly, E. Diamanti-Kandarakis, H. F. Escobar-Morreale, W. Futterweit, O. E. Janssen, R. S. Legro, R. J. Norman, A. E. Taylor, S. F. Witchel, and T. F. o. t. P. o. t. P. O. S. o. T. A. E. a. P. Society, 2009, The Androgen Excess and PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report: *Fertil Steril*, v. 91, p. 456-88.
- Barker, D. J., 1992, The fetal origins of adult hypertension: *J Hypertens Suppl*, v. 10, p. S39-44.
- Barker, D. J., 1995, Intrauterine programming of adult disease: *Mol Med Today*, v. 1, p. 418-23.
- Behrens, J., and B. Lustig, 2004, The Wnt connection to tumorigenesis: *Int J Dev Biol*, v. 48, p. 477-87.
- Boomsma, C. M., M. J. Eijkemans, E. G. Hughes, G. H. Visser, B. C. Fauser, and N. S. Macklon, 2006, A meta-analysis of pregnancy outcomes in women with polycystic ovary syndrome: *Hum Reprod Update*, v. 12, p. 673-83.

- Burt Solorzano, C. M., J. P. Beller, M. Y. Abshire, J. S. Collins, C. R. McCartney, and J. C. Marshall, 2012, Neuroendocrine dysfunction in polycystic ovary syndrome: *Steroids*, v. 77, p. 332-7.
- Burt Solorzano, C. M., C. R. McCartney, S. K. Blank, K. L. Knudsen, and J. C. Marshall, 2010, Hyperandrogenaemia in adolescent girls: origins of abnormal gonadotropin-releasing hormone secretion: *BJOG*, v. 117, p. 143-9.
- Carey, A. H., K. L. Chan, F. Short, D. White, R. Williamson, and S. Franks, 1993, Evidence for a single gene effect causing polycystic ovaries and male pattern baldness: *Clin Endocrinol (Oxf)*, v. 38, p. 653-8.
- Carmina, E., 2014, Polycystic ovary syndrome: metabolic consequences and long-term management: *Scand J Clin Lab Invest Suppl*, v. 244, p. 23-6; discussion 26.
- Chen, Z. J., Y. H. Shi, Y. R. Zhao, Y. Li, R. Tang, L. X. Zhao, and Z. H. Chang, 2004, [Correlation between single nucleotide polymorphism of insulin receptor gene with polycystic ovary syndrome]: *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*, v. 39, p. 582-5.
- Chen, Z. J., H. Zhao, L. He, Y. Shi, Y. Qin, Z. Li, L. You, J. Zhao, J. Liu, X. Liang, X. Zhao, Y. Sun, B. Zhang, H. Jiang, D. Zhao, Y. Bian, X. Gao, L. Geng, Y. Li, D. Zhu, X. Sun, J. E. Xu, C. Hao, C. E. Ren, Y. Zhang, S. Chen, W. Zhang, A. Yang, J. Yan, J. Ma, and Y. Zhao, 2011, Genome-wide association study identifies susceptibility loci for polycystic ovary syndrome on chromosome 2p16.3, 2p21 and 9q33.3: *Nat Genet*, v. 43, p. 55-9.
- Christian, R. C., D. A. Dumesic, T. Behrenbeck, A. L. Oberg, P. F. Sheedy, and L. A. Fitzpatrick, 2003, Prevalence and predictors of coronary artery calcification in women with polycystic ovary syndrome: *J Clin Endocrinol Metab*, v. 88, p. 2562-8.
- Cibula, D., M. Hill, and L. Starka, 2000, The best correlation of the new index of hyperandrogenism with the grade of increased body hair: *Eur J Endocrinol*, v. 143, p. 405-8.
- Cooper, H. E., W. N. Spellacy, K. A. Prem, and W. D. Cohen, 1968, Hereditary factors in the Stein-Leventhal syndrome: *Am J Obstet Gynecol*, v. 100, p. 371-87.
- Cortón, M., J. I. Botella-Carretero, A. Benguría, G. Villuendas, A. Zaballos, J. L. San Millán, H. F. Escobar-Morreale, and B. Peral, 2007, Differential gene expression profile in omental adipose tissue in women with polycystic ovary syndrome: *J Clin Endocrinol Metab*, v. 92, p. 328-37.
- Cui, L., H. Zhao, B. Zhang, Z. Qu, J. Liu, X. Liang, X. Zhao, J. Zhao, Y. Sun, P. Wang, T. Li, Y. Shi, and Z. J. Chen, 2013, Genotype-phenotype correlations of PCOS susceptibility SNPs identified by GWAS in a large cohort of Han Chinese women: *Hum Reprod*, v. 28, p. 538-44.
- DAVIS, C. D., J. R. ASHE, and J. AUSTIN, 1956, Sclerotic polycystic ovary syndrome: *South Med J*, v. 49, p. 856-61.

- Day, F. R., D. A. Hinds, J. Y. Tung, L. Stolk, U. Styrkarsdottir, R. Saxena, A. Bjornes, L. Broer, D. B. Dunger, B. V. Halldorsson, D. A. Lawlor, G. Laval, I. Mathieson, W. L. McCardle, Y. Louwers, C. Meun, S. Ring, R. A. Scott, P. Sulem, A. G. Uitterlinden, N. J. Wareham, U. Thorsteinsdottir, C. Welt, K. Stefansson, J. S. Laven, K. K. Ong, and J. R. Perry, 2015, Causal mechanisms and balancing selection inferred from genetic associations with polycystic ovary syndrome: *Nat Commun*, v. 6, p. 8464.
- de Melo, A. S., S. V. Dias, R. e. C. Cavalli, V. C. Cardoso, H. Bettiol, M. A. Barbieri, R. A. Ferriani, and C. S. Vieira, 2015, Pathogenesis of polycystic ovary syndrome: multifactorial assessment from the foetal stage to menopause: *Reproduction*, v. 150, p. R11-24.
- de Zegher, F., and L. Ibáñez, 2006, Prenatal growth restraint followed by catch-up of weight: a hyperinsulinemic pathway to polycystic ovary syndrome: *Fertil Steril*, v. 86 Suppl 1, p. S4-5.
- Dewailly, D., H. Gronier, E. Poncelet, G. Robin, M. Leroy, P. Pigny, A. Duhamel, and S. Catteau-Jonard, 2011, Diagnosis of polycystic ovary syndrome (PCOS): revisiting the threshold values of follicle count on ultrasound and of the serum AMH level for the definition of polycystic ovaries: *Hum Reprod*, v. 26, p. 3123-9.
- Dewailly, D., M. E. Lujan, E. Carmina, M. I. Cedars, J. Laven, R. J. Norman, and H. F. Escobar Morreale, 2013, Definition and significance of polycystic ovarian morphology: a task force report from the Androgen Excess and Polycystic Ovary Syndrome Society: *Hum Reprod Update*.
- Dewan, A., M. Liu, S. Hartman, S. S. Zhang, D. T. Liu, C. Zhao, P. O. Tam, W. M. Chan, D. S. Lam, M. Snyder, C. Barnstable, C. P. Pang, and J. Hoh, 2006, HTRA1 promoter polymorphism in wet age-related macular degeneration: *Science*, v. 314, p. 989-92.
- Dokras, A., S. Clifton, W. Futterweit, and R. Wild, 2011, Increased risk for abnormal depression scores in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis: *Obstet Gynecol*, v. 117, p. 145-52.
- Duijkers, I. J., and C. Klipping, 2010, Polycystic ovaries, as defined by the 2003 Rotterdam consensus criteria, are found to be very common in young healthy women: *Gynecol Endocrinol*, v. 26, p. 152-60.
- Dumesic, D. A., D. H. Abbott, and V. Padmanabhan, 2007, Polycystic ovary syndrome and its developmental origins: *Rev Endocr Metab Disord*, v. 8, p. 127-41.
- Dumesic, D. A., M. O. Goodarzi, G. D. Chazenbalk, and D. H. Abbott, 2014, Intrauterine environment and polycystic ovary syndrome: *Semin Reprod Med*, v. 32, p. 159-65.
- Dumesic, D. A., and R. A. Lobo, 2013, Cancer risk and PCOS: *Steroids*, v. 78, p. 782-5.

- Eagleson, C. A., M. B. Gingrich, C. L. Pastor, T. K. Arora, C. M. Burt, W. S. Evans, and J. C. Marshall, 2000, Polycystic ovarian syndrome: evidence that flutamide restores sensitivity of the gonadotropin-releasing hormone pulse generator to inhibition by estradiol and progesterone: *J Clin Endocrinol Metab*, v. 85, p. 4047-52.
- Eckhardt, F., S. Beck, I. G. Gut, and K. Berlin, 2004, Future potential of the Human Epigenome Project: *Expert Rev Mol Diagn*, v. 4, p. 609-18.
- Ehrmann, D. A., 2005, Polycystic ovary syndrome: *N Engl J Med*, v. 352, p. 1223-36.
- Eriksen, M. B., K. Brusgaard, M. Andersen, Q. Tan, M. L. Altinok, M. Gaster, and D. Glintborg, 2012, Association of polycystic ovary syndrome susceptibility single nucleotide polymorphism rs2479106 and PCOS in Caucasian patients with PCOS or hirsutism as referral diagnosis: *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, v. 163, p. 39-42.
- Fauser, B. C., B. C. Tarlatzis, R. W. Rebar, R. S. Legro, A. H. Balen, R. Lobo, E. Carmina, J. Chang, B. O. Yildiz, J. S. Laven, J. Boivin, F. Petraglia, C. N. Wijeyeratne, R. J. Norman, A. Dunaif, S. Franks, R. A. Wild, D. Dumesic, and K. Barnhart, 2012, Consensus on women's health aspects of polycystic ovary syndrome (PCOS): the Amsterdam ESHRE/ASRM-Sponsored 3rd PCOS Consensus Workshop Group: *Fertil Steril*, v. 97, p. 28-38.e25.
- Ferriman, D., and A. W. Purdie, 1979, The inheritance of polycystic ovarian disease and a possible relationship to premature balding: *Clin Endocrinol (Oxf)*, v. 11, p. 291-300.
- Franks, S., N. Gharani, and M. McCarthy, 2001, Candidate genes in polycystic ovary syndrome: *Hum Reprod Update*, v. 7, p. 405-10.
- Franks, S., N. Gharani, D. Waterworth, S. Batty, D. White, R. Williamson, and M. McCarthy, 1997, The genetic basis of polycystic ovary syndrome: *Hum Reprod*, v. 12, p. 2641-8.
- Givens, J. R., 1988, Familial polycystic ovarian disease: *Endocrinol Metab Clin North Am*, v. 17, p. 771-83.
- Goodarzi, M. O., M. R. Jones, X. Li, A. K. Chua, O. A. Garcia, Y. D. Chen, R. M. Krauss, J. I. Rotter, W. Ankener, R. S. Legro, R. Azziz, J. F. Strauss, A. Dunaif, and M. Urbanek, 2012, Replication of association of DENND1A and THADA variants with polycystic ovary syndrome in European cohorts: *J Med Genet*, v. 49, p. 90-5.
- Goodarzi, M. O., Y. V. Louwers, K. D. Taylor, M. R. Jones, J. Cui, S. Kwon, Y. D. Chen, X. Guo, L. Stolk, A. G. Uitterlinden, J. S. Laven, and R. Azziz, 2011, Replication of association of a novel insulin receptor gene polymorphism with polycystic ovary syndrome: *Fertil Steril*, v. 95, p. 1736-41.e1-11.
- Govind, A., M. S. Obhrai, and R. N. Clayton, 1999, Polycystic ovaries are inherited as an autosomal dominant trait: analysis of 29 polycystic

- ovary syndrome and 10 control families: *J Clin Endocrinol Metab*, v. 84, p. 38-43.
- Group, E. C. W., 2004a, Diagnosis and management of the infertile couple: missing information: *Hum Reprod Update*, v. 10, p. 295-307.
- Group, R. E. A.-S. P. C. W., 2004b, Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome: *Fertil Steril*, v. 81, p. 19-25.
- group, R. E. A.-S. P. c. w., 2004, Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS): *Hum Reprod*, v. 19, p. 41-7.
- Hague, W. M., J. Adams, S. T. Reeders, T. E. Peto, and H. S. Jacobs, 1988, Familial polycystic ovaries: a genetic disease?: *Clin Endocrinol (Oxf)*, v. 29, p. 593-605.
- Hales, C. N., and D. J. Barker, 1992, Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis: *Diabetologia*, v. 35, p. 595-601.
- Hales, C. N., and D. J. Barker, 2013, Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. 1992: *Int J Epidemiol*, v. 42, p. 1215-22.
- Hayes, M. G., M. Urbanek, D. A. Ehrmann, L. L. Armstrong, J. Y. Lee, R. Sisk, T. Karaderi, T. M. Barber, M. I. McCarthy, S. Franks, C. M. Lindgren, C. K. Welt, E. Diamanti-Kandarakis, D. Panidis, M. O. Goodarzi, R. Azziz, Y. Zhang, R. G. James, M. Olivier, A. H. Kissebah, E. Stener-Victorin, R. S. Legro, A. Dunaif, and R. M. Network, 2015, Genome-wide association of polycystic ovary syndrome implicates alterations in gonadotropin secretion in European ancestry populations: *Nat Commun*, v. 6, p. 7502.
- Hayes, M. G., M. Urbanek, D. A. Ehrmann, L. L. Armstrong, J. Y. Lee, R. Sisk, T. Karaderi, T. M. Barber, M. I. McCarthy, S. Franks, C. M. Lindgren, C. K. Welt, E. Diamanti-Kandarakis, D. Panidis, M. O. Goodarzi, R. Azziz, Y. Zhang, R. G. James, M. Olivier, A. H. Kissebah, E. Stener-Victorin, R. S. Legro, A. Dunaif, and R. M. Network, 2016, Corrigendum: Genome-wide association of polycystic ovary syndrome implicates alterations in gonadotropin secretion in European ancestry populations: *Nat Commun*, v. 7, p. 10762.
- Hwang, J. Y., E. J. Lee, M. Jin Go, Y. A. Sung, H. J. Lee, S. Heon Kwak, H. C. Jang, K. Soo Park, H. Byul Jang, J. Song, K. H. Park, H. L. Kim, M. C. Cho, and J. Y. Lee, 2012, Genome-wide association study identifies GYS2 as a novel genetic factor for polycystic ovary syndrome through obesity-related condition: *J Hum Genet*, v. 57, p. 660-4.
- Ilie, I. R., and C. E. Georgescu, 2015, Polycystic Ovary Syndrome-Epigenetic Mechanisms and Aberrant MicroRNA: *Adv Clin Chem*, v. 71, p. 25-45.

- Imani, B., M. J. Eijkemans, F. H. de Jong, N. N. Payne, P. Bouchard, L. C. Giudice, and B. C. Fauser, 2000, Free androgen index and leptin are the most prominent endocrine predictors of ovarian response during clomiphene citrate induction of ovulation in normogonadotropic oligoamenorrhoeic infertility: *J Clin Endocrinol Metab*, v. 85, p. 676-82.
- Jahanfar, S., J. A. Eden, T. Nguyen, X. L. Wang, and D. E. Wilcken, 1997, A twin study of polycystic ovary syndrome and lipids: *Gynecol Endocrinol*, v. 11, p. 111-7.
- Jahanfar, S., J. A. Eden, P. Warren, M. Seppälä, and T. V. Nguyen, 1995, A twin study of polycystic ovary syndrome: *Fertil Steril*, v. 63, p. 478-86.
- Jansen, E., J. S. Laven, H. B. Dommerholt, J. Polman, C. van Rijt, C. van den Hurk, J. Westland, S. Mosselman, and B. C. Fauser, 2004, Abnormal gene expression profiles in human ovaries from polycystic ovary syndrome patients: *Mol Endocrinol*, v. 18, p. 3050-63.
- Jin, L., X. M. Zhu, Q. Luo, Y. Qian, F. Jin, and H. F. Huang, 2006, A novel SNP at exon 17 of INSR is associated with decreased insulin sensitivity in Chinese women with PCOS: *Mol Hum Reprod*, v. 12, p. 151-5.
- Johnstone, E. B., M. P. Rosen, R. Neril, D. Trevithick, B. Sternfeld, R. Murphy, C. Addauan-Andersen, D. McConnell, R. R. Pera, and M. I. Cedars, 2010, The polycystic ovary post-rotterdam: a common, age-dependent finding in ovulatory women without metabolic significance: *J Clin Endocrinol Metab*, v. 95, p. 4965-72.
- Jokubkiene, L., P. Sladkevicius, and L. Valentin, 2012, Number of antral follicles, ovarian volume, and vascular indices in asymptomatic women 20 to 39 years old as assessed by 3-dimensional sonography: a prospective cross-sectional study: *J Ultrasound Med*, v. 31, p. 1635-49.
- Jones, M. R., M. A. Brower, N. Xu, J. Cui, E. Mengesha, Y. D. Chen, K. D. Taylor, R. Azziz, and M. O. Goodarzi, 2015, Systems Genetics Reveals the Functional Context of PCOS Loci and Identifies Genetic and Molecular Mechanisms of Disease Heterogeneity: *PLoS Genet*, v. 11, p. e1005455.
- Jones, M. R., and M. O. Goodarzi, 2016, Genetic determinants of polycystic ovary syndrome: progress and future directions: *Fertil Steril*, v. 106, p. 25-32.
- Kahsar-Miller, M., and R. Azziz, 1998, The development of the polycystic ovary syndrome: family history as a risk factor: *Trends Endocrinol Metab*, v. 9, p. 55-8.
- Kahsar-Miller, M. D., C. Nixon, L. R. Boots, R. C. Go, and R. Azziz, 2001, Prevalence of polycystic ovary syndrome (PCOS) in first-degree relatives of patients with PCOS: *Fertil Steril*, v. 75, p. 53-8.
- Kaur, S., G. Anjali, P. Bhardwaj, J. Taneja, and R. Singh, 2016, Data in support of FSH induction of IRS-2 in human granulosa cells: Mapping the

- transcription factor binding sites in human IRS-2 promoter: Data Brief, v. 6, p. 162-7.
- Kaur, S., K. J. Archer, M. G. Devi, A. Kriplani, J. F. Strauss, and R. Singh, 2012, Differential gene expression in granulosa cells from polycystic ovary syndrome patients with and without insulin resistance: identification of susceptibility gene sets through network analysis: *J Clin Endocrinol Metab*, v. 97, p. E2016-21.
- Keetel, W., J. Bradbury, and F. Stoddard, 1957, Observations on the polycystic ovary syndrome, *Am J Obstet Gynecol*, p. 954-962.
- Kollmann, M., P. Klaritsch, W. P. Martins, F. Guenther, V. Schneider, S. A. Herzog, L. Craciunas, U. Lang, B. Obermayer-Pietsch, E. Lerchbaum, and N. Raine-Fenning, 2015, Maternal and neonatal outcomes in pregnant women with PCOS: comparison of different diagnostic definitions: *Hum Reprod*, v. 30, p. 2396-403.
- Kollmann, M., W. P. Martins, and N. Raine-Fenning, 2014a, Examining the ovaries by ultrasound for diagnosing hyperandrogenic anovulation: updating the threshold for newer machines: *Fertil Steril*, v. 101, p. e25.
- Kollmann, M., W. P. Martins, and N. Raine-Fenning, 2014b, Terms and thresholds for the ultrasound evaluation of the ovaries in women with hyperandrogenic anovulation: *Hum Reprod Update*, v. 20, p. 463-4.
- Kristensen, S. L., C. H. Ramlau-Hansen, C. Y. Andersen, E. Ernst, S. F. Olsen, J. P. Bonde, A. Vested, and G. Toft, 2012, The association between circulating levels of antimüllerian hormone and follicle number, androgens, and menstrual cycle characteristics in young women: *Fertil Steril*, v. 97, p. 779-85.
- La Marca, A., and S. K. Sunkara, 2013, Individualization of controlled ovarian stimulation in IVF using ovarian reserve markers: from theory to practice: *Hum Reprod Update*.
- Lee, E. J., B. Oh, J. Y. Lee, K. Kimm, S. H. Lee, and K. H. Baek, 2008, A novel single nucleotide polymorphism of INSR gene for polycystic ovary syndrome: *Fertil Steril*, v. 89, p. 1213-20.
- Lee, E. J., K. J. Yoo, S. J. Kim, S. H. Lee, K. Y. Cha, and K. H. Baek, 2006, Single nucleotide polymorphism in exon 17 of the insulin receptor gene is not associated with polycystic ovary syndrome in a Korean population: *Fertil Steril*, v. 86, p. 380-4.
- Lee, H., J. Y. Oh, Y. A. Sung, H. Chung, H. L. Kim, G. S. Kim, Y. S. Cho, and J. T. Kim, 2015, Genome-wide association study identified new susceptibility loci for polycystic ovary syndrome: *Hum Reprod*, v. 30, p. 723-31.

- Lee, H., J. Y. Oh, Y. A. Sung, and H. W. Chung, 2016, A genetic risk score is associated with polycystic ovary syndrome-related traits: *Hum Reprod*, v. 31, p. 209-15.
- Legro, R. S., D. Driscoll, J. F. Strauss, J. Fox, and A. Dunaif, 1998, Evidence for a genetic basis for hyperandrogenemia in polycystic ovary syndrome: *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 95, p. 14956-60.
- Lerchbaum, E., O. Trummer, A. Giuliani, H. J. Gruber, T. R. Pieber, and B. Obermayer-Pietsch, 2011, Susceptibility loci for polycystic ovary syndrome on chromosome 2p16.3, 2p21, and 9q33.3 in a cohort of Caucasian women: *Horm Metab Res*, v. 43, p. 743-7.
- Li, R., Q. Zhang, D. Yang, S. Li, S. Lu, X. Wu, Z. Wei, X. Song, X. Wang, S. Fu, J. Lin, Y. Zhu, Y. Jiang, H. L. Feng, and J. Qiao, 2013, Prevalence of polycystic ovary syndrome in women in China: a large community-based study: *Hum Reprod*, v. 28, p. 2562-9.
- Lim, S. S., M. J. Davies, R. J. Norman, and L. J. Moran, 2012, Overweight, obesity and central obesity in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis: *Hum Reprod Update*, v. 18, p. 618-37.
- Liu, H., H. Zhao, and Z. J. Chen, 2016, Genome-Wide Association Studies for Polycystic Ovary Syndrome: *Semin Reprod Med*, v. 34, p. 224-9.
- Lujan, M. E., B. Y. Jarrett, E. D. Brooks, J. K. Reines, A. K. Peppin, N. Muhn, E. Haider, R. A. Pierson, and D. R. Chizen, 2013, Updated ultrasound criteria for polycystic ovary syndrome: reliable thresholds for elevated follicle population and ovarian volume: *Hum Reprod*, v. 28, p. 1361-8.
- Lunde, O., P. Magnus, L. Sandvik, and S. Høglo, 1989, Familial clustering in the polycystic ovarian syndrome: *Gynecol Obstet Invest*, v. 28, p. 23-30.
- Lustig, B., and J. Behrens, 2003, The Wnt signaling pathway and its role in tumor development: *J Cancer Res Clin Oncol*, v. 129, p. 199-221.
- MacArthur, J., E. Bowler, M. Cerezo, L. Gil, P. Hall, E. Hastings, H. Junkins, A. McMahon, A. Milano, J. Morales, Z. M. Pendlington, D. Welter, T. Burdett, L. Hindorff, P. Flicek, F. Cunningham, and H. Parkinson, 2017, The new NHGRI-EBI Catalog of published genome-wide association studies (GWAS Catalog): *Nucleic Acids Res*, v. 45, p. D896-D901.
- Manolio, T. A., 2010, Genomewide association studies and assessment of the risk of disease: *N Engl J Med*, v. 363, p. 166-76.
- March, W. A., V. M. Moore, K. J. Willson, D. I. Phillips, R. J. Norman, and M. J. Davies, 2010, The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample assessed under contrasting diagnostic criteria: *Hum Reprod*, v. 25, p. 544-51.
- McAllister, J. M., B. Modi, B. A. Miller, J. Biegler, R. Bruggeman, R. S. Legro, and J. F. Strauss, 2014, Overexpression of a DENND1A isoform

- produces a polycystic ovary syndrome theca phenotype: *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 111, p. E1519-27.
- McCartney, C. R., and J. C. Marshall, 2016, *CLINICAL PRACTICE. Polycystic Ovary Syndrome: N Engl J Med*, v. 375, p. 54-64.
- Melo, A. S., C. S. Vieira, M. A. Barbieri, A. C. Rosa-E-Silva, A. A. Silva, V. C. Cardoso, R. M. Reis, R. A. Ferriani, M. F. Silva-de-Sá, and H. Bettiol, 2010, High prevalence of polycystic ovary syndrome in women born small for gestational age: *Hum Reprod*, v. 25, p. 2124-31.
- Merkin, S. S., J. L. Phy, C. K. Sites, and D. Yang, 2016, Environmental determinants of polycystic ovary syndrome: *Fertil Steril*, v. 106, p. 16-24.
- Moran, L. J., M. L. Misso, R. A. Wild, and R. J. Norman, 2010, Impaired glucose tolerance, type 2 diabetes and metabolic syndrome in polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis: *Hum Reprod Update*, v. 16, p. 347-63.
- Mukherjee, S., N. Shaikh, S. Khavale, G. Shinde, P. Meherji, N. Shah, and A. Maitra, 2009, Genetic variation in exon 17 of INSR is associated with insulin resistance and hyperandrogenemia among lean Indian women with polycystic ovary syndrome: *Eur J Endocrinol*, v. 160, p. 855-62.
- Murken, 2011, *Taschenlehrbuch Humangenetik*.
- Naderpoor, N., S. Shorakae, S. K. Abell, A. Mousa, A. E. Joham, L. J. Moran, N. K. Stepto, P. M. Spritzer, H. J. Teede, and B. de Courten, 2017, Bioavailable and free 25-hydroxyvitamin D and vitamin D binding protein in polycystic ovary syndrome: Relationships with obesity and insulin resistance: *J Steroid Biochem Mol Biol*.
- Naderpoor, N., S. Shorakae, A. Joham, J. Boyle, B. De Courten, and H. J. Teede, 2015, Obesity and polycystic ovary syndrome: *Minerva Endocrinol*, v. 40, p. 37-51.
- Norman, R. J., D. Dewailly, R. S. Legro, and T. E. Hickey, 2007, Polycystic ovary syndrome: *Lancet*, v. 370, p. 685-97.
- Novik, K. L., I. Nimmrich, B. Genc, S. Maier, C. Piepenbrock, A. Olek, and S. Beck, 2002, Epigenomics: genome-wide study of methylation phenomena: *Curr Issues Mol Biol*, v. 4, p. 111-28.
- Palomba, S., M. A. de Wilde, A. Falbo, M. P. Koster, G. B. La Sala, and B. C. Fauser, 2015, Pregnancy complications in women with polycystic ovary syndrome: *Hum Reprod Update*, v. 21, p. 575-92.
- Palomba, S., A. Falbo, T. Russo, A. Tolino, F. Orio, and F. Zullo, 2010, Pregnancy in women with polycystic ovary syndrome: the effect of different phenotypes and features on obstetric and neonatal outcomes: *Fertil Steril*, v. 94, p. 1805-11.
- Palomba, S., R. Marotta, A. Di Cello, T. Russo, A. Falbo, F. Orio, A. Tolino, F. Zullo, R. Esposito, and G. B. La Sala, 2012, Pervasive developmental disorders in children of hyperandrogenic women with polycystic

- ovary syndrome: a longitudinal case-control study: *Clin Endocrinol (Oxf)*, v. 77, p. 898-904.
- Pastor, C. L., M. L. Griffin-Korf, J. A. Aloji, W. S. Evans, and J. C. Marshall, 1998, Polycystic ovary syndrome: evidence for reduced sensitivity of the gonadotropin-releasing hormone pulse generator to inhibition by estradiol and progesterone: *J Clin Endocrinol Metab*, v. 83, p. 582-90.
- Pigny, P., S. Jonard, Y. Robert, and D. Dewailly, 2006, Serum anti-Mullerian hormone as a surrogate for antral follicle count for definition of the polycystic ovary syndrome: *J Clin Endocrinol Metab*, v. 91, p. 941-5.
- Qin, J. Z., L. H. Pang, M. J. Li, X. J. Fan, R. D. Huang, and H. Y. Chen, 2013, Obstetric complications in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis: *Reprod Biol Endocrinol*, v. 11, p. 56.
- Shi, Y., H. Zhao, Y. Cao, D. Yang, Z. Li, B. Zhang, X. Liang, T. Li, J. Chen, J. Shen, J. Zhao, L. You, X. Gao, D. Zhu, X. Zhao, Y. Yan, Y. Qin, W. Li, J. Yan, Q. Wang, L. Geng, J. Ma, Y. Zhao, G. He, A. Zhang, S. Zou, A. Yang, J. Liu, B. Li, C. Wan, J. Shi, J. Yang, H. Jiang, J. E. Xu, X. Qi, Y. Sun, Y. Zhang, C. Hao, X. Ju, D. Zhao, C. E. Ren, X. Li, W. Zhang, J. Zhang, D. Wu, C. Zhang, L. He, and Z. J. Chen, 2012, Genome-wide association study identifies eight new risk loci for polycystic ovary syndrome: *Nat Genet*, v. 44, p. 1020-5.
- Siegel, S., W. Futterweit, T. F. Davies, E. S. Concepcion, D. A. Greenberg, R. Villanueva, and Y. Tomer, 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*, v. 78, p. 1240-3.
- Siggens, L., and K. Ekwall, 2014, Epigenetics, chromatin and genome organization: recent advances from the ENCODE project: *J Intern Med*, v. 276, p. 201-14.
- Stein, I., and M. Leventhal, 1935, Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries., *Am J Obstet Gynecol*, p. 181-191.
- Strauss, J. F., J. M. McAllister, and M. Urbanek, 2012, Persistence pays off for PCOS gene prospectors: *J Clin Endocrinol Metab*, v. 97, p. 2286-8.
- Talbott, E. O., D. S. Guzick, K. Sutton-Tyrrell, K. P. McHugh-Pemu, J. V. Zborowski, K. E. Remsberg, and L. H. Kuller, 2000, Evidence for association between polycystic ovary syndrome and premature carotid atherosclerosis in middle-aged women: *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, v. 20, p. 2414-21.
- Talbott, E. O., J. V. Zborowski, J. R. Rager, M. Y. Boudreaux, D. A. Edmundowicz, and D. S. Guzick, 2004, Evidence for an association between metabolic cardiovascular syndrome and coronary and aortic calcification among women with polycystic ovary syndrome: *J Clin Endocrinol Metab*, v. 89, p. 5454-61.

- Tucci, S., W. Futterweit, E. S. Concepcion, D. A. Greenberg, R. Villanueva, T. F. Davies, and Y. Tomer, 2001, Evidence for association of polycystic ovary syndrome in caucasian women with a marker at the insulin receptor gene locus: *J Clin Endocrinol Metab*, v. 86, p. 446-9.
- Vallisneri, A., 1721, *Istoria della generazione dell'uomo, e degli animali, se sia da' vermicelli spermatici, o dalle uova.*
- Vermeulen, A., L. Verdonck, and J. M. Kaufman, 1999, A critical evaluation of simple methods for the estimation of free testosterone in serum: *J Clin Endocrinol Metab*, v. 84, p. 3666-72.
- Vink, J. M., S. Sadrzadeh, C. B. Lambalk, and D. I. Boomsma, 2006, Heritability of polycystic ovary syndrome in a Dutch twin-family study: *J Clin Endocrinol Metab*, v. 91, p. 2100-4.
- Visscher, P. M., M. A. Brown, M. I. McCarthy, and J. Yang, 2012, Five years of GWAS discovery: *Am J Hum Genet*, v. 90, p. 7-24.
- Wang, S., and R. Alvero, 2013, Racial and ethnic differences in physiology and clinical symptoms of polycystic ovary syndrome: *Semin Reprod Med*, v. 31, p. 365-9.
- Welt, C. K., U. Styrkarsdottir, D. A. Ehrmann, G. Thorleifsson, G. Arason, J. A. Gudmundsson, C. Ober, R. L. Rosenfield, R. Saxena, U. Thorsteinsdottir, W. F. Crowley, and K. Stefansson, 2012, Variants in DENND1A are associated with polycystic ovary syndrome in women of European ancestry: *J Clin Endocrinol Metab*, v. 97, p. E1342-7.
- Welter, D., J. MacArthur, J. Morales, T. Burdett, P. Hall, H. Junkins, A. Klemm, P. Flicek, T. Manolio, L. Hindorff, and H. Parkinson, 2014, The NHGRI GWAS Catalog, a curated resource of SNP-trait associations: *Nucleic Acids Res*, v. 42, p. D1001-6.
- Wild, R. A., 2002, Long-term health consequences of PCOS: *Hum Reprod Update*, v. 8, p. 231-41.
- Wild, R. A., E. Carmina, E. Diamanti-Kandarakis, A. Dokras, H. F. Escobar-Morreale, W. Futterweit, R. Lobo, R. J. Norman, E. Talbott, and D. A. Dumesic, 2010, Assessment of cardiovascular risk and prevention of cardiovascular disease in women with the polycystic ovary syndrome: a consensus statement by the Androgen Excess and Polycystic Ovary Syndrome (AE-PCOS) Society: *J Clin Endocrinol Metab*, v. 95, p. 2038-49.
- Wilroy, R. S., J. R. Givens, W. L. Wiser, S. A. Coleman, R. N. Andersen, and R. L. Summitt, 1975, Hyperthecosis: an inheritable form of polycystic ovarian disease: *Birth Defects Orig Artic Ser*, v. 11, p. 81-5.
- Wood, J. R., V. L. Nelson-Degrave, E. Jansen, J. M. McAllister, S. Mosselman, and J. F. Strauss, 2005, Valproate-induced alterations in human theca cell gene expression: clues to the association between valproate use and metabolic side effects: *Physiol Genomics*, v. 20, p. 233-43.

- Xu, N., R. Azziz, and M. O. Goodarzi, 2010, Epigenetics in polycystic ovary syndrome: a pilot study of global DNA methylation: *Fertil Steril*, v. 94, p. 781-3.e1.
- Xu, N., A. K. Chua, H. Jiang, N. A. Liu, and M. O. Goodarzi, 2014, Early embryonic androgen exposure induces transgenerational epigenetic and metabolic changes: *Mol Endocrinol*, v. 28, p. 1329-36.
- Xu, N., S. Kwon, D. H. Abbott, D. H. Geller, D. A. Dumesic, R. Azziz, X. Guo, and M. O. Goodarzi, 2011a, Epigenetic mechanism underlying the development of polycystic ovary syndrome (PCOS)-like phenotypes in prenatally androgenized rhesus monkeys: *PLoS One*, v. 6, p. e27286.
- Xu, X., H. Zhao, Y. Shi, L. You, Y. Bian, Y. Zhao, and Z. J. Chen, 2011b, Family association study between INSR gene polymorphisms and PCOS in Han Chinese: *Reprod Biol Endocrinol*, v. 9, p. 76.
- Yildiz, B. O., H. Yarali, H. Oguz, and M. Bayraktar, 2003, Glucose intolerance, insulin resistance, and hyperandrogenemia in first degree relatives of women with polycystic ovary syndrome: *J Clin Endocrinol Metab*, v. 88, p. 2031-6.
- Yu, Y. Y., C. X. Sun, Y. K. Liu, Y. Li, L. Wang, and W. Zhang, 2015, Genome-wide screen of ovary-specific DNA methylation in polycystic ovary syndrome: *Fertil Steril*, v. 104, p. 145-53.e6.
- Zhang, D., J. Cong, H. Shen, Q. Wu, and X. Wu, 2014, Genome-wide identification of aberrantly methylated promoters in ovarian tissue of prenatally androgenized rats: *Fertil Steril*, v. 102, p. 1458-67.