

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta



Studijní program: Molekulární biologie a biochemie organismů

Karolína Petrásková

Inzulinová rezistence v kontextu ovariálního cyklu a PCOS
Insulin resistance in the context of the ovarian cycle and PCOS

Typ závěrečné práce:

Bakalářská práce

Vedoucí práce/Školitel: doc. RNDr. PhDr. Ing. Jana Jaklová Dytrtová, Ph.D.

Praha, 2024

Poděkování: Ráda bych poděkovala mé školitelce doc. RNDr. PhDr. Ing. Janě Jaklové Dytrtové, Ph.D. za její nekončící trpělivost a ochotu pomoci. Děkovná slova patří i mé rodině, která mě podporovala po celou cestu mých studií.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 26.4.2024

Karolína Petrásková

ABSTRAKT

Syndrom polycystických ovaríí (PCOS) je endokrinní onemocnění, které vzniká v důsledku hormonální nerovnováhy. Hlavními kritérii pro stanovení diagnózy PCOS jsou hyperandrogenismus, oligo-/anovulace a polycystická ovaria, která se u žen s PCOS často vyskytují. Až 80 % patientek zároveň trpí inzulínovou rezistencí, která je původem mnoha dalších zdravotních problémů. V této práci jsem se však zaměřila pouze na důsledek kompenzace inzulínové rezistence, tedy hyperinzulinémií. Následkem hyperinzulinémie dochází k abnormální stimulaci folikulárních thekálních a granulózových buněk, což vede ke zvýšené steroidogenezi. Též je narušen například folikulární vývoj a maturace oocytů. Dále je původem špatné kvality oocytů vedoucí k infertilitě. Hlavním cílem této práce je shrnout dostupné informace z odborné literatury o následcích hyperinzulinémie v souvislosti s ovariaálním cyklem a PCOS, včetně popisu signálních drah inzulínu ve folikulárních buňkách. Hlavním výstupem je porovnání ovariaálních cyklů a folikulárního vývoje zdravé ženy a ženy s PCOS včetně hlavních faktorů patofyziologie PCOS.

Klíčová slova: Inzulínová rezistence, hyperinzulinémie, hyperandrogenismus, hormonální regulace, PCOS

ABSTRACT

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is an endocrine disease caused by hormonal dysbalance. The main criteria for PCOS are hyperandrogenism, oligo-/anovulation and polycystic ovary. Almost 80 % of PCOS woman are also insulin resistance. Insulin resistance is a source of many health problems and diseases. This thesis aims to explore hyperinsulinemia as a consequence of insulin resistance. Hyperinsulinemia ensues as a compensation for high level of glucose in bloodstream because of insulin resistance. High levels of insulin overstimulate steroidogenesis in follicular cells such as theca cells and granulosa cells. Futhermore, hyperinsulinemia leads to follicular arrest, which can result in infertility. The main aim of this thesis is to summarise information found in scientific publication about hyperinsulinemia in connection with the ovarian cycle and PCOS, including a description of the signaling pathway of insulin in the ovary. Moreover, it aims to compare the ovarian cycle and follicle maturation of healthy woman and woman with PCOS, including pathophysiology such as hyperandrogenism, polycystic ovaries and anovulation.

Key words: Insulin resistance, hyperinsulinemia, hyperandrogenism, hormonal regulation, PCOS

Obsah

1	Úvod	1
2	Ovariální cyklus zdravé ženy a ženy s PCOS.....	2
2.1	Ovariální cyklus zdravé ženy	2
2.1.1	Fáze ovariálního cyklu a hormonální regulace	2
2.1.2	Vývoj folikulů	4
2.1.3	Mechanismus působení LH a FSH na ovaria	6
2.1.4	Steroidogeneze v tekálních a granulózových folikulárních buňkách.....	6
2.1.5	Hormony a jejich funkce	7
2.2	Ovariální cyklus ženy s PCOS	9
3	Patofyziologie syndromu polycystických ovaríí.....	10
3.1	Polycystická ovaria a anovulace	11
3.2	Hyperandrogenismus.....	13
3.2.1	Globulin vázající pohlavní steroidní hormony	14
4	Inzulinová rezistence	14
4.1	Inzulin.....	15
4.2	Hyperinzulinémie	16
4.3	Mechanismus působení inzulínu na tekální a granulózové buňky	17
5	Obezita	19
6	Závěr	21
7	Seznam literatury a zdrojů	23

SEZNAM ZKRATEK

3 β -HSD	3 β -hydroxysteroid dehydrogenáza
Akt	Protein kináza B
AMH	Anti-Müllerův hormon
AO	Oligo-/anovulace
cAMP	Cyklický adenosylmonofosfát
cAMP	Cyklický adenosylmonofosfát
DM2	Diabetes mellitus II. typu
FoxO	Transkripční faktor forkhead box protein
FSH	Folikul stimulační hormon
GB	Granulózové buňky
GLU	Glukóza
GLUT	Glukózový transportér
GLUT	Transportér glukózy
GnRH	Gonadoliberin, gonadotropiny uvolňující hormon
HA	Hyperandrogenismus
HDL	Lipoproteiny s vysokou hustotou
HINS	Hyperinzulinémie
HPG	Hypotalamo-hypofyzárně-gonadální osa
IL-6	Interleukin-6
INS	Inzulin
INSR	Inzulinový receptor
IR	Inzulinová rezistence
IRS	Substrát inzulinového receptoru
IRS	Substrát inzulinového receptoru
LDL	Lipoproteiny s nízkou hustotou

LH	Luteinizační hormon
MAPK	Mitogenem aktivované proteinkinázy
OC	Ovariální cyklus
OC	Ovariální cyklus
P450arom (CYP19A1)	Enzym cytochromu P450 – aromatáza
P450c17 (CYP17A1)	Enzym cytochromu P450 – 17,20-lyáza a 17 α -hydroxyláza
P450scc (CYP11A)	Enzymy cytochromu P450 štěpící postranní řetězce cholesterolu
PCO	Polycystická ovaria
PCOS	Syndrom polycystických ovarií
PI3K	Fosfatidylinositol-OH kináza
PKA	Protein kináza A
SHBG	Globulin vázající pohlavní steroidní hormony
StAR	Steroidogenní akutní regulační protein
TAG	Triacylglycerol
TB	Tekální buňky
TNF α	Faktor nádorové nekrózy α

1 ÚVOD

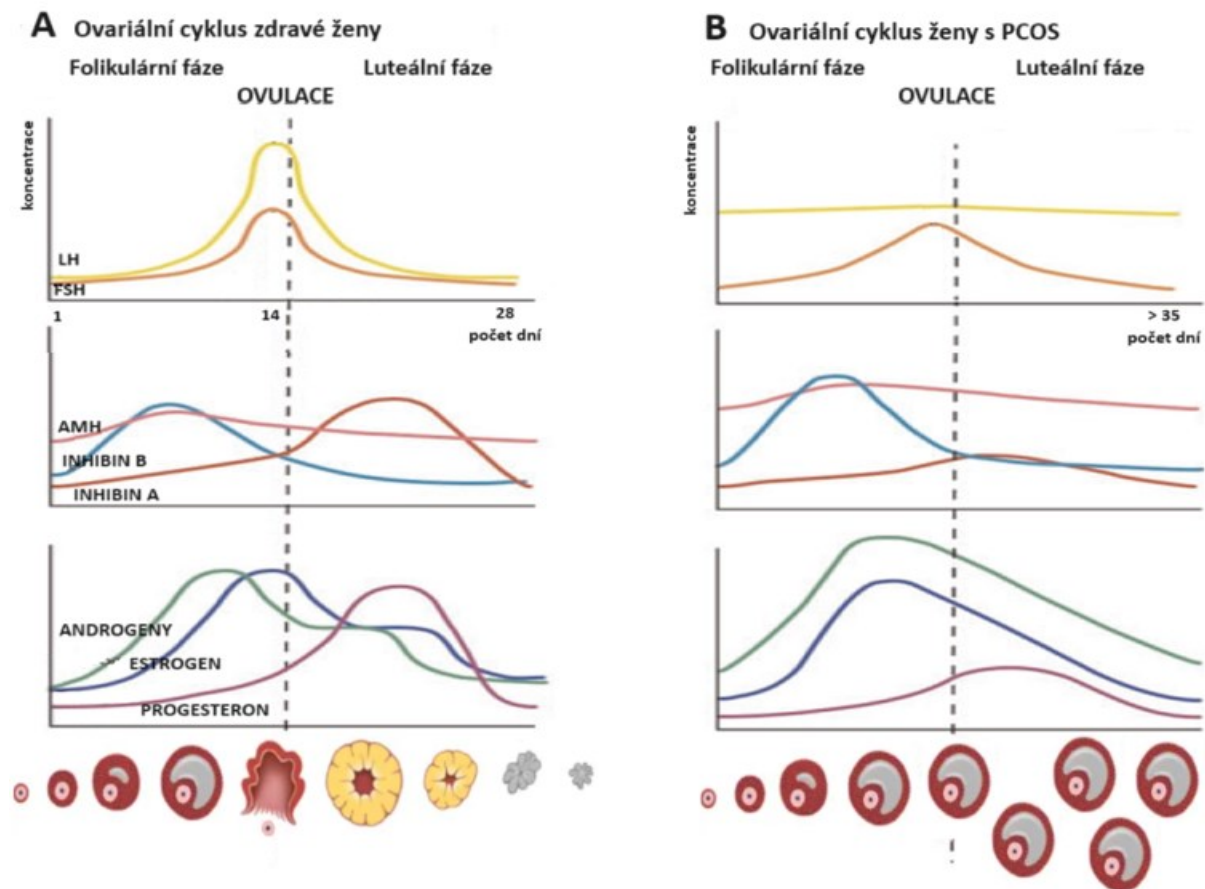
Syndrom polycystických ovaríí (PCOS) se řadí mezi endokrinní onemocnění, zasahuje však do mnoha oblastí života ženy. PCOS trpí přibližně 5-10 % žen reprodukčního věku. V jeho rozvoji hrají roli genetické predispozice i vliv prostředí. Mezi hlavní kritéria pro stanovení diagnózy PCOS se řadí hyperandrogenismus, oligo-/anovulace a polycystická ovaria. Hyperandrogenismus se úzce pojí s hirsutismem, alopecií a akné. Anovulace a polycystická ovaria jsou zase příčinou infertility. Kromě toho se u žen s PCOS objevují zvýšená rizika pro rozvoj některých onemocnění typických pro dnešní populaci jako například kardiovaskulární onemocnění, metabolický syndrom, či obezita v abdominální oblasti (tzv. androidní obezita). Až 80 % pacientek trápí inzulínová rezistence, která je prvním krokem pro rozvoj diabetes mellitus II. typu. Dále mají ženy s PCOS vyšší pravděpodobnost rozvoje gestačního diabetes i rakoviny prsu, ovaríí a děložního hrdla. PCOS se také často pojí s úzkostmi, depresí a mozkovou mlhou či problémy se spánkem doprovázené nekončící únavou v důsledku nedostatku některých minerálů a vitamínů, které je nutné doplňovat doplňky stravy.

Vzhledem ke komplexnosti a rozmanitosti onemocnění však stále není přesně stanovená jeho příčina. Západní medicína vyznává léčbu, která spočívá v potlačení vedlejších příznaků podáváním synteticky vyrobených hormonů v podobě hormonální antikoncepce a následně léčba v centru asistované reprodukce. K úspěšné léčbě však výrazně přispívá i celková změna životního stylu zahrnující redukci váhy, kvalitní a pestrý jídelníček, vybrané doplňky stravy, každodenní pohyb i dobrou spánkovou rutinu a zlepšení práce se stresem.

V důsledku inzulínové rezistence dochází k oslabení signalizační dráhy inzulínu, což vede k defektu transportu glukózy do buněk, a tedy nadměrné koncentraci glukózy v krvi. Na to reagují β -buňky pankreatu hypersekrecí inzulínu a vzniká stav nazývaný hyperinzulinémie. Abnormální hladiny inzulínu narušují správné fungování hypotalamo-hypofyzárně-gonadální osy a hyperstimulují folikulární buňky vede ke zvýšené steroidogenezi, což má za následek hormonální nerovnováhu provázanou výše uvedenými zdravotními riziky.

Cílem této bakalářské práce je především shrnout dostupné informace o hormonální nerovnováze a jejích příčinách i důsledcích u žen s PCOS. Dále si práce klade za cíl vysvětlit mechanismus působení inzulínu v normálním a nadměrném množství s důrazem na objasnění jeho role v maturaci folikulů a dysregulaci hormonálního profilu ženy s PCOS. V neposlední řadě je záměrem vytvořit představu, proč jsou výše uvedená kritéria tolik klíčová pro PCOS a zaslouží si své místo v diagnóze tohoto onemocnění a zmínit roli obezity při této nemoci.

2 OVARIÁLNÍ CYKLUS ZDRAVÉ ŽENY A ŽENY S PCOS



Obrázek 1: **A** – zdravý ovulační cyklus (OC); hladina luteinizačního hormonu (LH), folikul stimulačního hormonu (FSH) i estrogenů se zvýší před ovulací (14. den) a umožní uvolnění oocytu z dominantního folikulu, koncentrace progesteronu a inhibinu A produkované žlutým tělískem roste až v luteální fázi, hladina inhibinu B, anti-Müllerova hormonu (AMH) i androgenů je zvýšená ve folikulární fázi, poté jejich produkce postupně klesá. **B** – OC ženy s PCOS; konstantně vysoké hladiny LH, koncentrace FSH je běžná až snižená, progesteron a inhibin A jsou zpravidla deficitní z důvodu anovulace, androgeny a estrogeny jsou sekretovány ve zvýšené míře po celou délku OC, hladiny AMH a inhibinu B jsou často zvýšené (Charifson & Trumble, 2019; upraveno)

2.1 Ovariální cyklus zdravé ženy

2.1.1 Fáze ovulačního cyklu a hormonální regulace

Ukázkový ovulační cyklus (OC) trvá 28 dní, ovulace nastává 14. den od 1. dne menstruace. Jeho délka je však individuální. Za zdravý cyklus se pokládá délka v rozmezí 21-35 dní. Na Obrázek 1 lze vidět koncentrace jednotlivých hormonů během OC. OC je dělen na folikulární

a luteální fázi. Folikulární fáze zahrnuje menstruaci a následnou regeneraci endometria, dozrání a výběr dominantního folikulu a vrcholí ovulací. Pro folikulární fázi jsou typické zvýšené hladiny androgenů, inhibinu B a anti-Müllerova hormonu (AMH) produkovaných folikulárními buňkami. Za zmínku stojí i náhlé zvýšení hladiny estrogenů, luteinizačního hormonu (LH) a folikul stimulačního hormonu (FSH) před ovulací. Luteální fáze je charakteristická vznikem žlutého tělíska (corpus luteum) z Graafova folikulu. Žluté tělísko je endokrinní orgán produkující inhibin A a progesteron, jejichž hladiny jsou v luteální fázi typicky zvýšené ². V případě, že nedojde k oplození, žluté tělísko maximálně 16. den od vzniku zaniká. Následně dochází k poklesu hormonů produkovaných žlutým tělískem i adenohipofýzou a cyklus se uzavře dostavením menstruace. Pokles hladin hormonů mimo jiné vede FSH k rekrutaci dalších primordiálních folikulů ³.

Obrázek 2 popisuje hormonální regulaci OC a steroidogenezi. Cyklická sekrece hormonů v různých hladinách je řízena hypotalamo-hypofyzárně-gonadální osou. Kisspeptin, produkovaný buňkami v hypotalamu, stimuluje neurony produkující gonadoliberin (GnRH) k pulzní sekreci GnRH ⁴. GnRH působením na adenohipofýzu zajišťuje tvorbu LH a FSH ⁵, které putují krevním řečištěm k ovariím a svým působením na tekální buňky (TB) a granulóзовé buňky (GB) zajišťují jejich diferenciaci i růst, ovulaci i steroidogenezi. Pohlavní steroidní hormony dávají zpětnou vazbu hypotalamu a hypofýze ke tvorbě hormonů ².

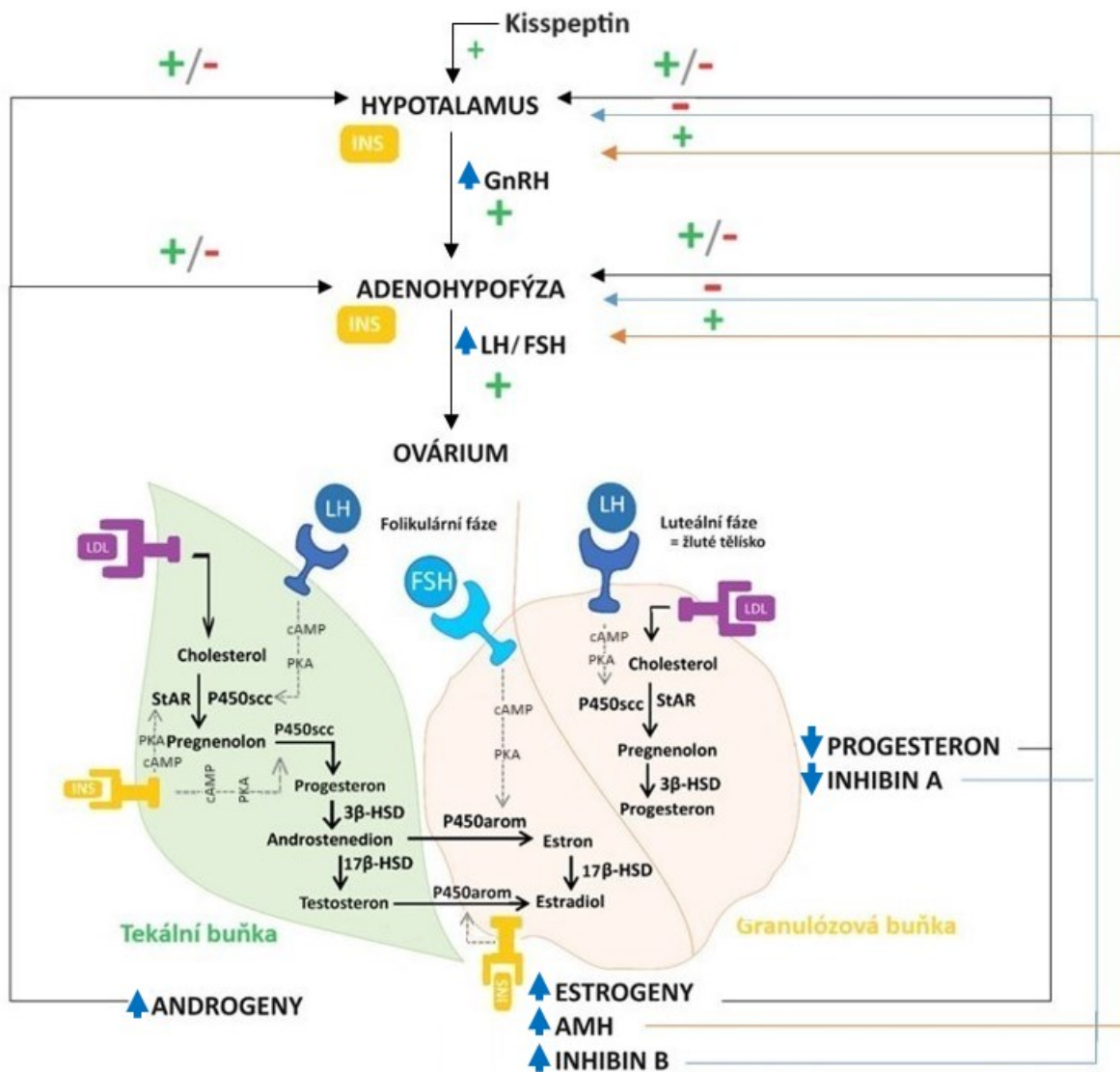
Produkce kisspeptinu je ovlivněna leptinem a estrogeny. Jeho větší produkce začíná v pubertálním období, kdy začíná folikulární vývoj ². GnRH i LH jsou sekretovány pulzně s odlišnou intenzitou v závislosti na fázi OC ⁶. Nízkofrekvenční pulzy GnRH jsou zodpovědné za tvorbu FSH, zatímco ty vysokofrekvenční indukují tvorbu LH. ⁵. Ve folikulární fázi LH svým působením na cytochrom P450 v TB zajišťuje syntézu androgenů, která probíhá v několika krocích. V luteální fázi LH stimuluje žluté tělísko k syntéze progesteronu, jenž je během folikulární fáze potlačena růstovými faktory ve folikulární tekutině. FSH zvyšuje aktivitu enzymu aromatázy v GB, která přeměňuje androgeny na estradiol, případně estron. Na TB se mimo jiné nachází i receptory pro inzulin (INS) stimulující enzymatickou aktivitu, a tedy tvorbu androgenů. Koncentrace androgenů, progestinů a estrogenů dává zpětnou vazbu hypotalamu a hypofýze k syntéze hormonů ^{2,7}. Jakmile hladina estrogenu překročí prahovou hodnotu po dobu delší než dva dny, negativní zpětná vazba se změní na pozitivní a estrogeny způsobí zvýšení frekvence pulzní sekrece GnRH hypotalamem s cílem zvýšit hladiny LH a FSH před ovulací ⁷.

2.1.2 Vývoj folikulů

Vývoj folikulů probíhá v ovariu. Folikuly se skládají z oocyty a somatických buněk mezi které řadíme buňky stromatu a TB i GB. Spolupráce těchto buněk zajišťuje vývoj dominantního folikulu i jeho následnou ovulaci, vytvoření žlutého tělíska a hormonální sekreci. Jejich aktivita je řízena působením LH a FSH sekretovanými adenohipofýzou. Zásoby primordiálních folikulů s oocytem zastaveném v diplotenním stadiu meiózy I. jsou vytvořeny prenatálně. Během pubertálního období je cyklickým působením hormonů LH a FSH zahájena rekrutizace vždy pouze několika primordiálních folikulů, jejichž vývoj se dělí na preantrální a antrální období. Preantrální období je charakteristické růstem a proliferací několika folikulů s oocyty a vzniku tekálních buněk z vaziva obklopující folikul. Toto období je nezávislé na koncentraci FSH v krvi protékající ovariem ^{2,7}.

Antrální období je závislé na stimulaci FSH. Toto období je charakteristické výběrem dominantního folikulu a jeho růstu. Dominantní folikul je nejrychleji rostoucí a nejvíce citlivý k FSH v počátečních stádiích a zároveň musí být schopen produkce AMH a inhibinu B, jenž potlačují vývoj ostatních folikulů i produkci estradiolu, který posiluje expresi FSH receptoru ⁸. S rostoucí velikostí folikulu klesá jeho potřeba i citlivost k FSH. Toto období vrcholí ovulací dominantního folikulu. Ostatní folikuly zanikají apoptózou. Dominantní folikul je chráněn před apoptózou FSH, IGF-1 a některými cytokiny (IL-6), které spouští antiapoptotické signální dráhy vedoucí k supresi tvorby proapoptotických faktorů zprostředkované transkripčním faktorem FoxO. Antiapoptotické dráhy jsou shodou okolností podobné signalizačním drahám INS, tedy PI3K/AKT nebo RAS/MAPK/ERK signalizačním kaskádám (viz 4.3), které jsou kritické pro diferenciaci granulózových buněk ⁹. Estradiol má negativní přímý efekt na transkripci proapoptotických faktorů přes svůj receptor v jádře ².

Během preantrálního období je zásadní vytvoření obalu folikulu. GB jsou v úzkém spojení s oocytem a TB, které tvoří svrchní obal folikulu. Funkce GB i TB spočívá ve tvorbě pohlavních steroidních hormonů (Obrázek 2) ¹⁰. TB vznikají z vaziva obalujícího folikul během preantrálního období. Prudké zvýšení hladiny LH krátce před ovulací způsobí luteinizaci GB, tedy expresi receptorů pro LH na jejich povrchu. Po ovulaci dochází k užšímu propojení luteinovaných GB a TB a jejich přeměně na žluté tělísko, které následně díky stimulaci LH sekretuje progesteron ¹¹. Kvalita žlutého tělíska je ovlivněna zánětem, nedostatkem některých minerálů či vitaminů, onemocněním štítné žlázy a mimo jiné i problémy se sekrecí INS ¹².



Obrázek 2: Hypotalamo-hypofyzárně-gonadální (HPG) osa; GnRH = gonadoliberin, LH = luteinizační hormon, FSH = folikul stimulační hormon, LDL = nízkohustotní lipoprotein, INS = inzulin, StAR = steroidogenní akutní regulační protein, 3/17β-HSD = 3/17β-hydroxysteroid dehydrogenáza, P450scc = enzym cytochromu P450 odštěpující postranní řetězec cholesterolu, P450arom = enzym aromatáza cytochromu P450, cAMP = cyklický adenomonofosfát, PKA = protein kináza A, modré šipky značí hladiny hormonů u žen s PCOS; Kisspeptin společně se (steroidními) hormony regulují pulzní sekreci GnRH hypotalamem. GnRH stimuluje adenohypofýzu ke tvorbě LH a FSH, gonadotropiny působí na folikulární granulózové a tekální buňky, kde spouští steroidogenezi, vzniklé hormony působí zpětnou vazbou na hypotalamus a hypofýzu a cyklus je tímto uzavřen. INS reguluje aktivitu hypotalamu, hypofýzy i enzymů účastnících se steroidogeneze. Působí jako koefektor LH a FSH, jejich signalizační dráhy jsou tedy v určitých místech propojené (Sreerangaraja Urs et al., 2020; upraveno).

2.1.3 Mechanismus působení LH a FSH na ovaria

Obrázek 4 znázorňuje signalizační dráhu LH i FSH a INS. FSH a LH receptory se řadí do rodiny receptorů spřažených s G-proteiny. Po navázání FSH tedy dochází k aktivaci adenylát cyklázy, která tvoří cyklický adenosylmonofosfát (cAMP) z adenosyltrifosfátu (ATP). Zvýšená koncentrace cAMP aktivuje protein kinázu A (PKA), která přes fosforylaci cAMP regulačního element-vazebného proteinu (CREB) reguluje transkripci genů enzymů cytochromu P450, steroidogenního akutního regulačního proteinu (StAR) a inhibinu A¹³. cAMP také stimuluje aktivitu ERK 1/2, která je součástí MAPK signalizační dráhy. V neposlední řadě cAMP zvyšuje aktivitu fosfatidylinositol-3-OH kinázy (PI3K) a expresi substrátů inzulinového receptoru (IRS-1/-2). LH stabilizuje IRS-1 a zvyšuje jeho koncentraci v luteinizovaných GB díky působení cAMP¹⁴. FSH zvyšuje expresi a aktivitu IRS-2. IRS jsou součástí PI3K/Akt a MAPK signalizačních drah, kde jsou vazbou na tyrozin-kinázový receptor fosforylovány. Po fosforylaci změny konformaci, což umožní vazbu podjednotek PI3K a spuštění PI3K/Akt dráhy, či vazbu GRB2-SOS a zahájení MAPK dráhy. IRS jsou klíčové i v signalizaci INS, což z nich dělá místo, kde se tyto dráhy setkávají¹⁵. Aktivovaná protein kináza B (Akt) zajišťuje expresi a translokaci glukózového transportéru (GLUT), syntézu proteinů a glykogenu v GB¹⁶ i expresi některých genů. Akt inhibuje transkripční faktor forkhead box protein (FoxO). FoxO zprostředkovává expresi proapoptotických faktorů, DNA opravy i přerušení životního cyklu buňky. Výsledkem inaktivace FoxO3a je spuštění antiapoptotických drah¹⁷, kdy vysoká hladina LH působí jako alternativa FSH v ochraně před artrezií¹⁸. FoxO1 má pro změnu potenciál kontrolovat biosyntézu cholesterolu a metabolismus v GB během růstu folikulů inhibicí exprese enzymů steroidogeneze. LH má inhibiční efekt na expresi FoxO1. Po jeho inaktivaci fosforylací Akt je tedy umožněna steroidogeneze. Během luteinizace dochází působením LH ke ztrátě exprese FoxO1, což vede ke zvýšení steroidogeneze. FoxO3a i FoxO1 zároveň blokují FSH-indukovanou expresi genů steroidogeneze jako je StAR, CYP19 a CYP11a1¹⁹.

2.1.4 Steroidogeneze v tekálních a granulózových folikulárních buňkách

Steroidogeneze ve folikulárních buňkách je zobrazena na Obrázek 2. Syntézy se účastní několik enzymů, mezi které patří StAR, 3 β -hydroxysteroid dehydrogenáza (3 β -HSD), jež přeměňuje pregnolon na androstendion, případně 17 β -HSD, která zajišťuje přeměnu androstendionu na testosteron i přeměnu estronu na estradiol, a cytochrom P450, který dělíme na několik typů. Mezi cytochrom P450 patří enzym štěpící postranní řetězce cholesterolu (P450_{scc}, CYP11A), aromatáza (P450_{arom}, CYP19A1) a cytochrom P450c17 (CYP17A1),

který vykazuje 17,20-lyázovou a 17 α -hydroxylázovou aktivitu. Enzymy jsou situované na membránách mitochondrií nebo endoplazmatického retikula, kde biosyntéza probíhá. Substrátem pro ovariální steroidní hormony je cholesterol, který se do buněk dostává endocytózou ve formě nízkohustotního lipoproteinu (LDL), případně vysokohustotního lipoproteinu (HDL) navázaným na svůj receptor. LDL či HDL jsou poté přeneseny StAR do mitochondrií. Po luteinizaci jsou na povrchu GB exprimovány LH receptory. Zvýšená hladina cAMP aktivuje PKA, která fosforylací aktivuje hormon senzitivní lipázu, jenž zajistí uvolnění cholesterolu z LPL. Volný cholesterol může být přeměněn na pregnenolon díky P450_{scc}²⁰. Pregnenolon je poté zpracován 3 β -HSD na progesteron v endoplazmatickém retikulu²¹. V luteinizovaných GB je progesteron sekretován do krevního řečiště, v TB buňkách syntéza pokračuje tvorbou androgenů. Enzymy katalyzující tvorbu androgenů a jejich přeměnu na estrogeny jsou řízeny hladinami LH, FSH²² a INS²³. Ve folikulární fázi, tedy před luteinizací GB a vznikem žlutého tělíska, GB exprimují na svém povrchu hlavně FSH receptor. FSH stimuluje aktivitu aromatázy, která transformuje androgeny z TB na estrogeny, jenž GB uvolňují do krevního řečiště. Jako substrát pro aromatázu slouží androstendion i testosteron, výsledným estrogenem bývá estradiol, případně estron²⁴. Steroidní hormony poté působí jako regulátory produkce hormonů hypotalamu a hypofýzy a mají mnoho dalších funkcí.

2.1.5 Hormony a jejich funkce

Luteinizační hormon (LH) je produkován adenohipofýzou. Před ovulací stimuluje aktivitu proteolytických enzymů, které oslabí stěnu folikulu a umožní jeho prasknutí. Krátce před ovulací dojde k prudkému nárůstu jeho hladiny, což vede k proliferaci GB a jejich diferenciaci na luteinizované GB, a tedy vytvoření žlutého tělíska. Dále v TB zajišťuje tvorbu androgenů stimulací aktivity cytochromu P450, ve žlutém tělísku pak zprostředkovává syntézu progesteronu⁵ působením na enzym 3 β -hydroxysteroid dehydrogenázu, jehož aktivita byla ve folikulární fázi potlačena².

Progesteron je steroidní hormon zodpovědný za přípravu endometria pro implantaci oplozeného vajíčka a udržení těhotenství. V luteální fázi, případně v rané fázi těhotenství, je produkován žlutým tělískem, později přebírá tuto funkci placenta⁷. Progesteron vyvažuje negativní účinky estrogenu. Je důležitý při ochraně před rakovinou prsu²⁵ a srdečními chorobami²⁶, podporuje tvorbu hormonů štítné žlázy²⁷, pomáhá s lepším zvládnutím stresu²⁸. Dále zastavuje růst endometria redukcí počtu receptorů pro estrogen, snižuje zánět v těle¹², zvyšuje bazální teplotu a podporuje kvalitní spánek²⁹. Nízké hladiny progesteronu mohou

vést k problémům s fertilitou, potratům i předčasným porodům³⁰. Progesteron je syntetizován z cholesterolu, který je dodáván do folikulárních buněk v podobě LDL či HDL³¹.

Folikul stimulační hormon (FSH) zajišťuje růst a maturaci malých folikulů a reguluje expresi i proliferaci GB. V preovulačním stádiu chrání dominantní folikul před apoptózou spuštěním antiapoptotických drah. Má vliv na expresi a aktivitu enzymů StAR, P450 a 3 β -HSD enzymů²¹. Je klíčový pro diferenciaci a luteinizaci GB a stimuluje aromatázu k přeměně androgenů na estradiol. Receptory pro FSH se nachází pouze na GB nikoliv TB^{2,7}.

Do skupiny **estrogenů** řadíme estradiol, estron a estriol. Estrogeny mají vliv na metabolismus tukové tkáně, svalů, jater i INS. Díky modulaci exprese genů regulujících adipogenezi, lipogenezi a lipolýzu snižují riziko rozvoje glukózové tolerance a obezity v abdominální oblasti³². Regulace metabolismu a množství bílé tukové tkáně probíhá na základě poměru estrogením receptorů (ER α /ER β) na povrchu adipocytů³³, jež je ovlivněn koncentrací leptinu v krevním séru³⁴. Estradiol, tvořený ve větším množství během folikulární fáze granulózovými buňkami, je hlavním estrogenem u člověka. Tento estrogen má na svědomí zvýšení senzitivity buněk k INS, avšak pouze pokud se jeho koncentrace pohybuje ve fyziologických hodnotách. Nadměrná produkce estradiolu přispívá k rozvoji inzulinové rezistence (IR) i diabetes mellitus II. typu (DM2) a hyperinzulinémie (HINS)³⁵. Fyziologické hladiny estradiolu v kombinaci s ER α mají protektivní účinek na β -buňky, chrání je před oxidativním stresem^{36,37}. Zároveň však estradiol jeho funkce spočívá ve stimulaci β -buněk přes ER α k biosyntéze a sekreci INS. To může skončit HINS a následným vyčerpáním β -buněk a jejich poničením³⁸. Deficit estradiolu vede k obezitě, zánětlivým procesům ve svalech a tukové tkáni³⁹ či ateroskleróze²⁶. Na adenohipofýzu estradiol působí inhibičně i stimulačně v závislosti na jeho koncentraci a fázi OC, ve které se žena nachází. Dále je zodpovědný za tvorbu cervikální hlenu a růst endometria. V neposlední řadě estrogeny glykosylací globulinu vázajícího pohlavní steroidní hormony (SHBG) prodlužují jeho čas clearance a tím zvyšují jeho koncentraci v krvi⁴⁰, což napomáhá vyrovnání hladiny androgenů. Estrogeny mají svou funkci i ve folikulárním vývoji, kdy inhibují apoptózu⁴¹. Stimulací adenohipofýzy navíc pomáhají zvýšit koncentrace FSH a LH důležité pro folikulární vývoj i ovulaci⁴².

Androgeny jsou tvořeny v ovariích i kůře nadledvin. Mezi androgeny sekretované TB řadíme testosteron a androstendion. Oba slouží jako substráty pro tvorbu estrogenů v GB, testosteron je navíc sekretován do krevního oběhu⁴³, kde se váže na SHBG a je transportován do cílových tkání⁴⁴. Periferní tkáně, například tuková tkáň či svaly, přeměňují androgeny a

jejich prekuzory na androgeny volně cirkulující v krevním oběhu. Androgeny ovlivňují sexuální spokojenost a libido, náladu, energii i psychický stav ženy⁴⁵. Mají také podstatný vliv na vývoj folikulů. V preantrálních a raných antrálních stádiích stimulují folikuly k růstu, naopak v pozdních antrálních stádiích podporují atrezii spuštěním apoptotických drah⁴⁶. Pouze dominantní folikul je uchráněn před apoptózou sníženou expresí receptorů pro androgeny i FSH na jeho povrchu⁴⁷. Při vyřazení androgenních receptorů z provozu dochází u myši ke zvýšení folikulární atrezie a redukci ovulace⁴⁸. Receptory pro androgeny se nachází na povrchu GB preantrálních a antrálních folikulů, kde zvyšují jejich senzitivitu k LH a FSH díky vyšší expresi jejich receptorů⁴⁹, a tím podporují folikulární růst. Androgeny podporují také transkripci enzymů cytochromu P450⁴⁹. Tím zesilují steroidogenezi v ovariích včetně tvorby estradiolu, pro který jsou substrátem⁵⁰. Jejich nadměrné množství v krvi se nazývá hyperandrogenismus (HA).

Antimüllerův hormon (AMH) patří do rodiny transformujících růstových faktorů- β (TGF- β)⁸. Společně s inhibinem B je produkován především preantrálními a malými i středními antrálními folikuly⁴². AMH reguluje množství primordiálních folikulů, které projdou rekrutací a snižuje citlivost GB k FSH⁵¹. Dále stimuluje preantrální folikuly k růstu a inhibuje maturaci antrálních folikulů⁵². V neposlední řadě potlačuje expresi enzymů cytochromu P450, čímž omezuje folikulární růst⁸. Jeho receptory jsou lokalizovány na povrchu GB i hypotalamu. Působením na hypotalamus zvyšují produkci GnRH, tedy nepřímo i koncentraci LH⁵³. Deficience AMH vede k rekrutaci většího počtu primordiálních folikulů, jehož výsledkem je kumulace folikulů v antrálním stádiu neboli polycystická ovaria (PCO)⁴², což následně vede ke zvýšení jeho koncentrace.

2.2 Ovariální cyklus ženy s PCOS

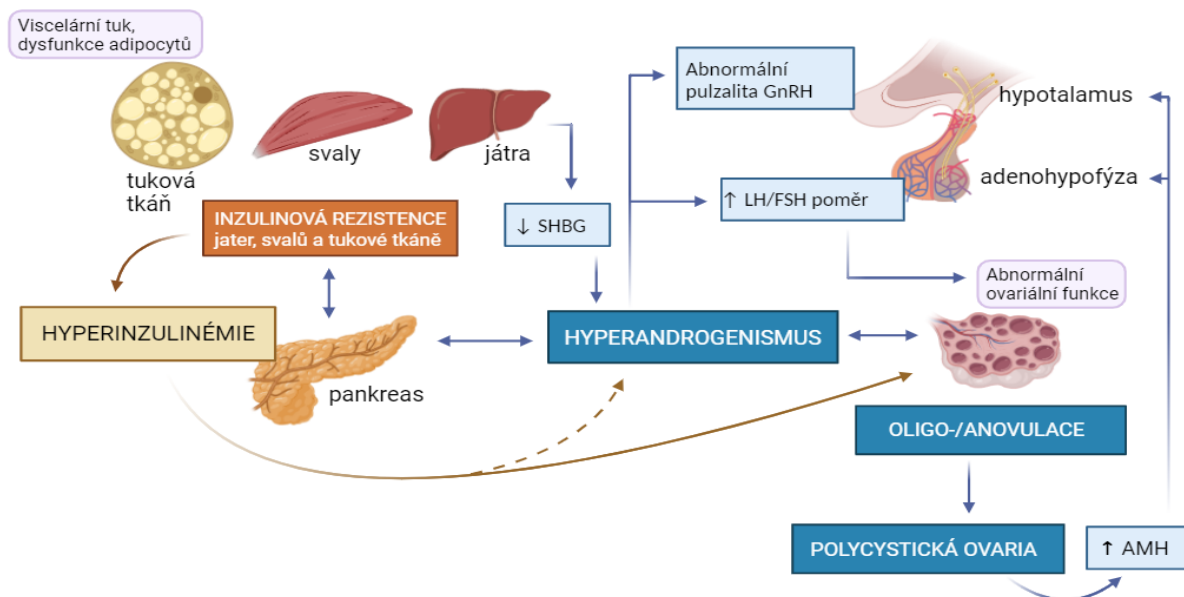
Důvodem hormonální nerovnováhy u žen s PCOS je narušení signalizace HPG osy. Hormonální profil ženy s PCOS, který lze vidět na Obrázek 1, nám napovídá, že hladiny LH, inhibinu B, AMH, estrogenů a androgenů jsou zvýšené, zatímco koncentrace inhibinu A a progesteronu produkovaných žlutým tělískem se pohybují v nižších koncentracích, než jsou běžné fyziologické hodnoty. Hladina FSH může být fyziologická i nižší u žen s normálním OC¹. U pacientek s PCOS často nalézáme výrazně zvýšenou frekvenci i amplitudu pulzní sekrece GnRH. Možnou příčinou tohoto stavu je fakt, že abnormální sekrece GnRH snižuje senzitivitu hypotalamu a adenohipofýzy k estradiolu a progesteronu, zpětná vazba tedy není tak účinná jako u fyziologického OC⁵⁴. Uvažuje se i o vlivu nepravidelné a zvýšené sekrece

kisspeptinu, výsledky studií jsou však sporné^{55,56}. Nadměrná stimulace adenohipofýzy má za následek přebytečnou tvorbu LH a běžnou či redukovanou produkci FSH⁵⁷. Poměr LH/FSH může být u pacientek v porovnání s ženami se zdravým OC až 2,5x větší⁴⁶. Vysoká hladina LH hyperstimuluje TB k sekreci androgenů a narušuje folikulární růst a vývoj⁵⁸, který je zpravidla zhoršený i následkem HA, IR a HINS⁵⁹. INS má vliv nejen na vývoj folikulů, ale také na ovariální steroidogenezi. Vazbou INS na INSR se aktivují signální dráhy, které jsou podobné drahám LH a FSH receptoru (Obrázek 4), vedoucí většinou ke stimulaci enzymů k aktivitě. Při PCOS a IR tedy dochází k hyperstimulaci enzymů v TB účastnících se steroidogeneze díky INS i LH, což vede k nadměrné produkci androgenů a hormonální nerovnováze²³. Vliv na steroidogenezi může mít i dyslipidemie, která se řadí mezi časté zdravotní problémy obézních žen s PCOS. V krevním séru byla změřena nízká hladina HDL a vysoká koncentrace LDL a triacylglyceridů (TAG). Obojí je spojováno s IR a HA⁶⁰. LDL je hlavním zdrojem cholesterolu při steroidogenezi v ovariích. Dá se tedy říci, že ženy s PCOS mají téměř neomezené množství substrátu pro tvorbu pohlavních steroidních hormonů³¹.

3 PATOFYZIOLOGIE SYNDROMU POLYCYSTICKÝCH OVARIÍ

Syndrom polycystických ovarí (PCOS) je komplexní endokrinologické onemocnění zasahující do mnoha oblastí zdraví i života ženy. Jeho rozvoj je ovlivněn genetickými predispozicemi⁶¹ i prostředím, kterému je žena vystavena⁶². První kritéria pro diagnózu byla ustanovena v roce 1990 Národním institutem zdraví (NIH) a zahrnují hyperandrogenismus (HA) i chronickou oligo-/anovulaci (AO)⁶³. V roce 2003 ESHRE/ASRM Rotterdamská kritéria přehodnotila požadavky pro určení diagnózy PCOS. Stanovila, že žena musí splňovat alespoň dvě ze tří těchto kritérií: AO, HA nebo polycystická ovaria (PCO)⁶⁴. V roce 2006 Androgen Excess Society (AES) navrhla přehodnocení kritérií. Pro diagnózu PCOS žena musí mít HA v kombinaci s AO nebo PCO⁶⁵. Součástí Rotterdamských kritérií je i rozdělení žen do 4 fenotypů na základě těchto 3 hlavních a snadno odhalitelných příznaků v různých kombinacích⁶⁴. Toto rozdělení je často používáno ve vědeckých studiích. Studie z roku 2022 však podala návrh pro rozdělení pacientek na obézní a štíhlé ženy s PCOS. Poukazuje na významnou roli obezity a s ní spojených metabolických problémů při určování fenotypu PCOS a také na to, že s redukcí váhy se fenotyp může změnit⁶⁶. Obezita výrazně zvyšuje rizika rozvoje IR a DM2, zatímco u štíhlých žen s PCOS je riziko srovnatelné s běžnou populací⁶⁷. Dalším možným faktorem, o jehož zařazení mezi kritéria se vedou debaty je

snížená hladina SHBG, která se zpravidla při PCOS i IR vyskytuje ⁶⁸. Na Obrázek 3 můžeme vidět shrnutí nejzásadnějších zdravotních problémů pojících se s PCOS a IR.



Obrázek 3: Narušení HPG osy vede k několika zdravotním komplikacím včetně inzulínové rezistence (IR), hyperandrogenismu (HA) a polycystickým ovarii (PCO). Abnormální pulzilita gonadoliberinu (GnRH) v hypothalamu vede k neobvyklé sekreci luteinizačního hormonu (LH) a folikul stimulačního hormonu (FSH), a tedy odchýlení poměru LH/FSH od fyziologických hodnot. To je příčinou abnormální funkce ovarii a následné oligo-/anovulace. Tento stav může dojít až ke vzniku PCO. Folikuly zastavené v raném stadiu antrálního období sekretují AMH. Zvýšené množství AMH ovlivňuje pulzní sekreci GnRH hypothalamem. Vaječníky produkují androgeny, jejichž sekrece je z důvodu abnormální ovariální funkce zvýšená. V důsledku HA vzniká IR. Kompenzací je zvýšená tvorba inzulínu (INS). Hyperinulinemie (HINS) ovlivňuje tvorbu viscerálního tuku a funkci adipocytů. Také přispívá k IR jater, svalů a tukové tkáni. IR jater zpomaluje jejich metabolismus. Následkem toho se do oběhu uvolňuje méně globulinu vázajícího pohlavně steroidní hormony (SHBG), což výrazně přispívá k rozvoji HA; vytvořeno v BioRender.com ⁶⁹, inspirováno Harada, 2022

3.1 Polycystická ovaria a anovulace

Ženy s PCOS často trápí nepravidelný až chybějící OC, jehož délka se pohybuje od 35 a více dní. Hlavní příčinou je hormonální nerovnováha, která je současně i příznakem PCOS. Abnormality v signalizaci HPO osy znemožňují výběr dominantního folikulu, jeho vývoj i následnou ovulaci. Výsledkem je akumulace antrálních folikulů v ovariu, které se mění v cysty ⁴². Za PCO se považuje výskyt 12 a více antrálních folikulů o velikosti 5-10 mm

v 1 ovariu ⁷¹. V roce 1982 byla publikována histologická studie poukazující na zvýšené množství antrálních, ale i primárních a sekundárních folikulů v ováriích pocházejících z žen s PCOS. Naopak počet primordiálních folikulů byl snížený ⁷². Anomálie ve folikulárním růstu a počtu antrálních folikulů jsou často příčinou anovulace, špatné kvality oocytů a infertility ⁷³. Mezi možné příčiny PCO se řadí HA a zvýšená hladina AMH. Androgeny potlačují selekci dominantního folikulu ⁷⁴. Malé antrální folikuly společně s preantrálními a středními folikuly produkují AMH, dominantní folikul už nikoliv ⁷¹. Zvýšené hladiny AMH inhibují genovou expresi aromatázy v GB a snižují senzitivitu folikulů k FSH redukcí počtu FSH receptorů, což vede k zastavení jejich maturace ve stadiu malých antrálních folikulů ⁷⁵. Z důvodu jejich akumulace může být hladina AMH u žen s PCOS 2-3x vyšší než u zdravých žen ⁵³. Ke zvýšené hladině zároveň napomáhá i přebytek LH, který u žen s PCOS trpících AO stimuluje genovou expresi AMH v GB. U zdravých žen dochází naopak k inhibici ⁷⁶. Pulzní frekvence GnRH je regulována AMH ⁵³, progesteronem a estradiolem, jejichž receptory se nachází na neuronech GnRH. Během OC zdravé ženy je stimulace GnRH neuronů AMH přiměřená a v pravidelných cyklech řízených vývojem folikulů. Ženy s PCOS však mají zvýšenou koncentraci AMH a expresi AMH receptorů na GnRH neuronech, což vede k nadměrné produkci GnRH. Za fyziologického OC zvýšený progesteron zpomaluje pulzy GnRH ve prospěch FSH, který iniciuje růst folikulů pro další cyklus. Při anovulačních cyklech však nedochází ke tvorbě progesteronu ani zpomalení frekvence pulzů GnRH sekrece. To vše vede ke zvýšení poměru LH/FSH v krevním séru ⁷⁷. Nedostatek FSH je limitující pro aromatizaci androgenů na estradiol ⁷⁸. U žen s PCOS ale funkci stimulantu zastává nadbytek INS a společně s estrogény tvořené tukovou tkání je jejich výsledná hladina zvýšená. Testosteron zvyšuje frekvenci pulzů GnRH, což opět vede k větší produkci LH. Větší poměr LH/FSH je znamením větší stimulace GB k proliferaci ⁷⁹ a tvorbě androgenů působením na své receptory na GB a TB ⁵³. FSH receptory jsou exprimovány na povrchu GB ve všech stádiích folikulárního vývoje ⁸⁰. LH receptory jsou u žen s PCOS vystaveny na povrchu GB už od malého antrálního folikulu, běžně jsou však exprimovány až u dominantního folikulu po luteinizaci ⁸¹. To vede k podezření, zda se klíč k abnormální funkci antrálních folikulů a hormonální nerovnováze nenachází již v preantrálním vývoji folikulů ⁴². Z matematického modelu vývoje folikulů ⁸² vyplývá, že pro vývoj jednoho dominantního folikulu je nutná určitá variabilita v senzitivě k FSH, případně LH. Nejvíce senzitivní folikul poté potlačí vývoj všech ostatních folikulů, čehož výsledkem je atrezie ⁸². Folikuly žen s PCOS však podléhají atrezii méně často zřejmě z důvodu vysokých hladin AMH, estradiolu i LH ⁴². Folikuly jsou zároveň schopné dosáhnout raného antrálního stádia bez FSH receptorů na svém

povrchu ⁸³. Pro růst folikulů je klíčové působení IGF-1 a INS, jenž stimuluje preantrální růst a brání atrezii ⁸⁴. Uvažuje se i pozitivním vlivu pohlavních steroidních hormonů ⁸⁵. I přesto že však existuje určitá heterogenita v citlivosti ke gonadotropinům, vyšší senzitivitu vykazuje více folikulů než pouze jeden. Při vývoji více folikulů najednou dochází i k větší produkci estradiolu, jehož nárůst je tak vysoký, že to může vést k potlačení maturace folikulů ⁸². Tento model podporují studie ukazující, že GB vypěstované z folikulárních buněk žen s PCOS byly hypersenzitivní k FSH a produkovaly větší množství estradiolu, případně progesteronu, již při menších koncentracích FSH ^{86,87}, což částečně značí jejich adaptaci na zvýšenou koncentraci AMH. Estradiol a progesteron dávají negativní zpětnou vazbu adenohypofýze ke tvorbě hormonů a dochází k narušení produkce FSH důležité pro vyvolání ovulace ⁴². Nedostatek progesteronu a nadbytek estradiolu jsou také příčinou abnormálního růstu endometria vedoucí k infertilitě, zvýšenému riziku rakoviny ^{25,30} i nepravidelné menstruaci. Důležité je i zmínit, že při anovulačních cyklech nedochází ke vzniku žlutého tělíska, tedy ani tvorbě progesteronu a inhibinu A typických pro luteální fázi OC ³.

3.2 Hyperandrogenismus

HA je způsobený nadměrnou tvorbou androgenů v ovariích a kůře nadledvin. Vzniká důsledkem abnormální stimulace enzymů účastnících se steroidogeneze v TB v důsledku HINS a hormonální nerovnováhy. U pacientek s PCOS je výskyt častý, proto se řadí mezi hlavní kritéria pro stanovení této diagnózy ⁶³. Mezi klinické příznaky HA patří alopecie, akné a hirsutismus ⁸⁸. Vyšší hladina volného testosteronu v krvi je zpravidla spojována i s výskytem obezity v abdominální a stehenní oblasti ⁸⁹ a možnými změnami v sekreci hormonů adipocyty v důsledku výkyvů váhy a zánětu tukové tkáně. Při HA je u žen s PCOS hyperaktivován receptor pro androgen v hypotalamu, ovariích, kosterním svalstvu i tukové tkáni ⁹⁰. Větší počet androgenních receptorů byl také nalezen na buňkách endometria ⁹¹, což může ovlivnit jeho kvalitu i fertilitu. HA je jedním z hlavních faktorů způsobujících přerušování folikulárního růstu a zhoršený vývoj i maturaci oocyty vedoucí k anovulaci a PCO ⁹². Jde ruku v ruce se zvýšenou hladinou AMH, která přispívá k jeho zhoršení ⁹³. Zde je důležité zmínit, že oba faktory mají vliv na pulzilitu GnRH ^{53,58}. Při nadměrné koncentraci androgeny snižují senzitivitu neuronů hypotalamu k progesteronu a estrogenům, brání tedy správnému fungování negativní zpětné vazby. Svě receptory mají i na povrchu neuronů produkujících GnRH, které stimuluje k vyšší aktivitě a zodpovídají za sekreci GnRH. Navýšení sekrece GnRH a vysoké hladiny estrogenů i LH znemožní preovulační zvýšení jejich koncentrace. Nedochází tedy k vytvoření potřebného impulzu pro ovulaci a vytvoření žlutého tělíska ⁹⁰, což

vede k deficitu progesteronu. Pro navození PCOS u myši se ve vědecké praxi podává nadměrné androgenů gravidním myším. Uvažuje se tedy o tom, zda právě vysoké dávky androgenů během těhotenství neaktivují neurony GnRH k syntéze, a tedy zvýšení koncentrace LH u embrya⁹⁴. Prenatální expozice androgenů způsobila abnormální folikulogenezi a příznaky HA i u potomků člověka⁶¹. Proto HA zaujímá své místo mezi možnými vysvětleními dědičnosti a rozvinutí PCOS u potomků, kdy prvotním zdrojem androgenů a signálem pro rozvoj PCOS je sama matka. Androgenní receptory se nachází i na adipocytech zejména v abdominální oblasti a jsou příčinou dysfunkce adipocytů a viscerální obezity⁹⁵.

3.2.1 Globulin vázající pohlavní steroidní hormony

SHBG je syntetizován játry v relativně konstantních koncentracích. Jeho funkce spočívá v udržování správné hladiny pohlavních steroidních hormonů a regulaci jejich transportu do cílových tkání jimiž jsou například hypotalamus a gonády, které exprimují SHBG receptor⁹⁶. SHBG syntézu inhibují IGF-1, INS i androgeny^{97,98}. INS inhibuje syntézu redukcí HNF-4 α , což je transkripční faktor SHBG genu⁹⁹. HINS v kombinaci s akumulací tuku v játrech může vést k nealkoholickému ztučnění jater až steatóze jater¹⁰⁰, jejichž důsledkem dochází ke zpomalení metabolismu jater a omezení genové exprese SHBG genu, tedy snížení hladiny SHBG v séru⁹⁹. Nízká koncentrace SHBG je jednou z příčin vysoké hladiny biologicky aktivního volného testosteronu v krevním oběhu, který výrazně přispívá v rozvoji HA¹⁰¹. Dále souvisí se zvýšeným rizikem kardiovaskulárních chorob¹⁰², DM2¹⁰³, metabolického syndromu i gestačního diabetu⁴⁴, tedy onemocněními spojovanými s PCOS a IR. Několik studií však potvrdilo, že redukcí váhy dochází ke zvýšení hladiny SHBG, snížení koncentrace INS a zlepšení IR^{44,97,104}, čili ustálení zdravotního stavu a snížení rizikových predispozic k výše zmíněným onemocněním.

4 INZULINOVÁ REZISTENCE

IR se projevuje sníženou schopností buněk reagovat na INS díky defektu některých kroků signalizační dráhy spuštěné vazbou INS na INSR, jejíž důsledkem je i snížená exprese GLUT a narušení metabolismu GLU¹⁰⁵. Mezi možné příčiny IR patří nadměrná konzumace rafinovaného cukru a trans-mastných kyselin, stres, nedostatek spánku, alkohol a kouření, nedostatek hořčiku, nekvalitní střevní mikroflóra i toxiny z životního prostředí jako například bisfenol A, ftalát nebo tributyltin. Tyto hormonální disruptory zároveň způsobují hormonální nerovnováhu¹⁰⁶. Klíčové jsou i genetické predispozice k IR a obezitě^{1,107} nebo HA, který

výrazně přispívá k rozvoji IR a jejímu zhoršení¹⁰⁸. IR může postihnout v zásadě každou buňku exprimující INSR na svém povrchu. Nejvíce postižené jsou však inzulinově-senzitivní periferní tkáně, tedy játra, kosterní svaly a tuková tkáň. IR je často spojována s obezitou v abdominální oblasti a dysfunkcí adipocytů¹⁰⁹. Pankreas reaguje na IR zvýšenou sekrecí INS jako kompenzaci nedostatečné signalizace a neustále vysoké hladiny GLU v krvi. Při dlouhodobém nelepším se zatížení β -buněk může dojít k jejich vyčerpání až poškození¹¹⁰. HINS je příčinou snížené produkce SHBG játry⁹⁸ a zvýšené steroidogeneze¹¹¹. Důsledků IR na zdraví ženy je hned několik. Hladiny INS jsou sice zvýšené, ne však natolik pro stanovení diagnózy DM2 ($5,7 < IR < 6,5$). Při IR dochází k poruchám hlavních funkcí INS a při dlouhotrvajícím nelepším se stavu může dojít až k rozvoji DM2¹¹². Díky narušení transportu GLU do buněk trápí tkáň ztráta hlavního zdroje energie, což je částečně kompenzováno HINS. Dále nedochází k inhibici lipolýzy a glukoneogeneze, což má za následek hyperglykémii a zvýšenou koncentraci volných mastných kyselin¹¹³. To nazpět zhoršuje stav IR. Volné mastné kyseliny jsou navíc příčinou kardiovaskulárních onemocnění a zhoršení kvality endotelu cév¹¹⁴ i vzniku nealkolických ztlustělých jater¹⁰⁰. IR výrazně přispívá k ukládání volných mastných kyselin do tukové tkáně a následné obezitě a je také jedním z faktorů metabolického syndromu¹¹⁵.

Tyto zdravotní rizika zde však nejsou více rozebrána, protože patří mezi témata nad rámec této práce. Důležitý pro tuto práci je spíše následek IR, a to již zmíněný HINS. Abnormálně vysoká hladina INS totiž hyperstimuluje folikulární buňky ke steroidogenezi. Také dochází k narušení folikulárního vývoje a některých drah klíčových pro správné fungování buněk i maturaci oocyty. Dále bude mírně rozebrána obezita a její následky.

4.1 Inzulin

INS je peptid tvořený 2 řetězci spojenými 2 disulfidickými můstky¹¹⁶ sekretovaný β -buňkami slinivky břišní v reakci na zvýšenou koncentraci glukózy (GLU) v krevním řečišti. INS je jediný hormon, který přímo ovlivňuje a dokáže snížit hladinu GLU v krvi. IGF-1 působí podobně avšak s nižší účinností¹¹⁷, FSH a LH dokáží zařídít příjem GLU pouze v ovariích¹⁸. INS je syntetizován ve formě preproinzulinu. Proteolytickým štěpením preproinzulinu vzniká proinzulin a následným vystřížením C-peptidu vzniká INS. V Golgiho aparátu je INS společně s malou koncentrací proinzulinu zabalen do sekrečních váčků¹¹³ a sekretován. Sekrece probíhá neustále v menším množství. Při stimulaci β -buněk například zvýšenou koncentrací GLU v okolí buňky je vyvolána sekrece většího množství INS. Mezi další stimuly

patří některé jiné sacharidy, aminokyseliny (hlavně lysin a arginin) nebo acetylcholin¹¹⁸. Po uvolnění do krevního řečiště se INS váže na inzulínový receptor (INSR)¹¹⁹, a tím spustí signalizační dráhy vedoucí k lipogenezi, syntéze glykogenu a proteinů, proliferaci buněk, expresi GLUT a hlavně steroidogenezi¹¹³. Na buňkách produkujících kisspeptin a GnRH neuronech i buňkách adenohipofýzy se nachází receptory pro INS. Znamená to, že INS má přímý účinek na sekreci kisspeptinu, GnRH i LH^{120,121}, jejichž hladina je u žen s PCOS zpravidla zvýšená. Může způsobit i abnormální senzitivitu adenohipofýzy ke GnRH, což také přispívá ke zvýšené sekreci LH¹²¹. Lze tedy usoudit, že nadměrné hladiny LH vznikají v důsledku HINS. Důležité je také zmínit, že INS je autoregulátor exprese genu pro INSR, kterou reguluje vazbou na INSR umístěný v jádře¹²².

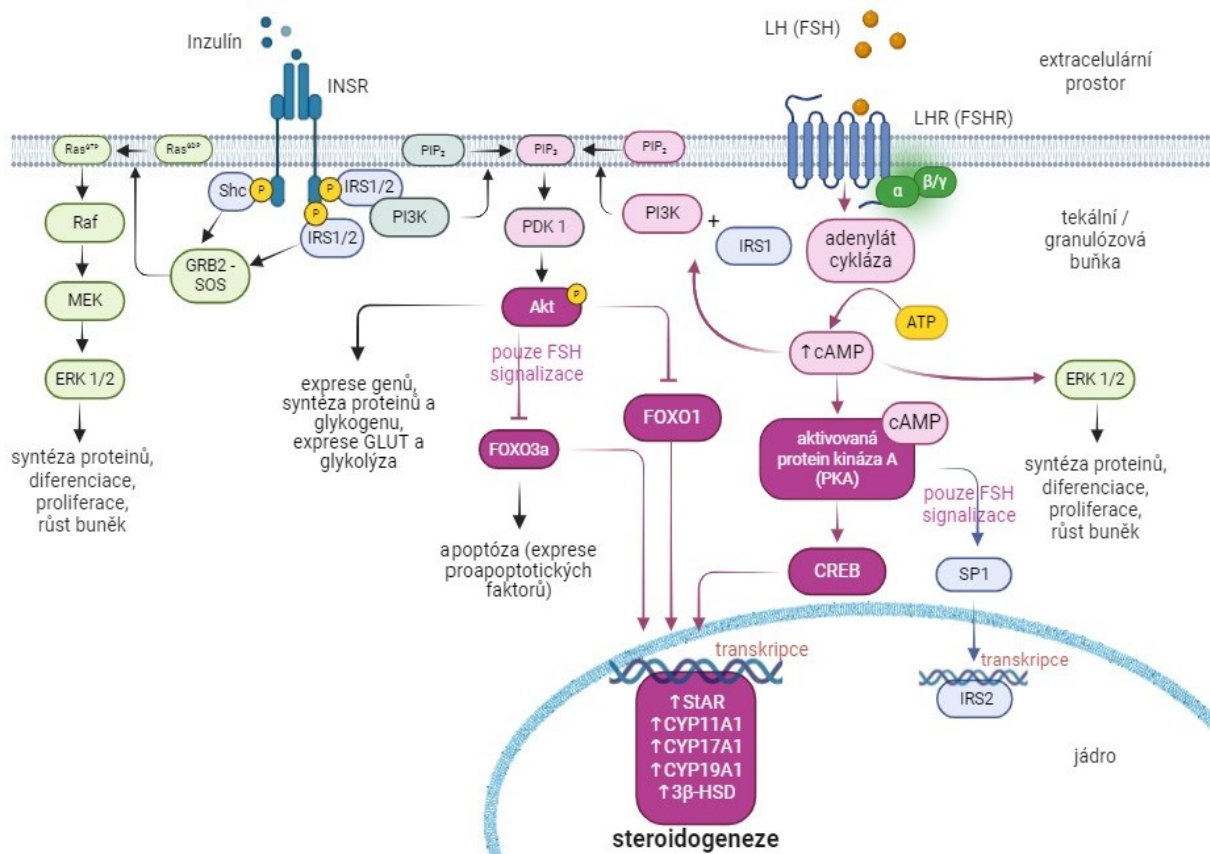
4.2 Hyperinzulinémie

HINS neboli nadměrné množství INS v krvi vzniká jako kompenzace IR periferních tkání¹²³. Sekrece INS v důsledku přílišné stimulace GLU probíhá až do případného vyčerpání β -buněk¹²⁴. HINS narušuje správné fungování HPG osy a je tedy příčinou hormonální nerovnováhy. INSR se nachází na TB¹²⁵ i GB¹²⁶. INS kooperuje s gonadotropiny, jeho vazbou na INSR se spustí signalizační dráhy vedoucí ke stimulaci enzymatické aktivity cytochromu P450, a tedy biosyntéze androgenů a estrogenů^{23,59} u žen s PCOS i zdravých žen. TB žen s PCOS jsou ale pravděpodobně více senzitivní k INS. Hladiny INS jsou v preovulačních folikulech běžně zvýšené, avšak HINS má na maturaci i kvalitu oocytů negativní vliv¹²⁷. Steroidogeneze a množství androgenů pozitivně koreluje s množstvím INS v krvi. HINS se tedy zpravidla vyskytuje v kombinaci s HA a společně redukuje senzitivitu GnRH neuronů k progesteronu, čímž omezují negativní zpětnou vazbu na sekreci GnRH¹²⁸. Pokud dívky trpí HA a IR během rané fáze puberty například důsledkem obezity, dochází k redukci pulzů GnRH a abnormální regulaci pulzality LH podobné ženám s PCOS¹²⁸, je tedy možné, že rozvoj PCOS začíná v období puberty. HINS také výrazně inhibuje syntézu SHBG, což značně přispívá HA⁹⁹. HA, IR a HINS způsobují hypersekreci LH, což vede k přerušení folikulárního růstu, selhání výběru dominantního folikulu a akumulaci malých antrálních folikulů, tedy PCO (3.1)¹²⁹. HINS také narušuje funkci tukové tkáně a způsobuje její akumulaci v abdominální oblasti¹³⁰. Dále je příčinou dyslipidemie, glukózové intolerance ve svalech i tukové tkáni a zhoršuje IR periferních tkání¹³¹.

4.3 Mechanismus působení inzulínu na tekální a granulózové buňky

Ovariální tkáň může být rezistentní, IR však postihuje hlavně periferní tkáně jako jsou játra, kosterní svalstvo a tuková tkáň. Větší důsledek na ovariální tkáň má HINS, jenž vzniká v důsledku IR. Hlavní signální dráhy v TB a GB jsou zobrazeny na Obrázek 4. INS je koefektor LH a FSH a jeho pole působnosti je velmi rozsáhlé. Signální dráhy jsou spuštěny vazbou INS na jeho receptor. INSR je membránový receptor složený z extracelulární α podjednotky a transmembránové β podjednotky spojených disulfidovými můstky. Součástí β podjednotky je tyrozin kinázová doména, která je po vazbě INS na INSR aktivována. Autofosforylace tyrozinových zbytků umožní vazbu Shc proteinů¹³². Shc spustí Ras/MAPK/ERK dráhu vedoucí k proteinové syntéze, proliferaci a diferenciaci buněk i jejich růstu. Další možnou cestou je vazba substrátů inzulínového receptoru (IRS). V ovariu se nachází IRS-1 a IRS-2. Po vazbě INS na α podjednotku INSR dochází k fosforylaci IRS-1/-2 a následná změna konformace IRS umožní poskládání podjednotek PI3K. Tím se spustí PI3K/Akt dráha vedoucí k aktivaci Akt. Akt1 se vyskytuje v GB i TB primordiálních, preantrálních a antrálních folikulů, naopak není exprimována ve žlutém tělísku ani dominantním folikulu¹³³. Výsledkem této signální dráhy je exprese a translokace GLUT4, potlačení apoptózy, syntéza glykogenu a také steroidogeneze. Akt fosforyluje transkripční faktor FoxO1, případně FoxO3a, jenž v jádře blokuje transkripci steroidních enzymů. Fosforylací FoxO1 dochází k jeho inaktivaci a označení pro degradaci proteázami. Tím je umožněna transkripce genů enzymů steroidogeneze a steroidních hormonů. PI3K/Akt dráha může být aktivována mimo jiné i LH a FSH. Společně s LH reguluje INS expresi LDL receptoru na povrchu TB a GB. Přes své signální dráhy zvyšuje senzitivitu GB k LH i FSH díky regulaci exprese LH a FSH receptorů¹³⁴ a tím nepřímo ovlivňuje hladinu cAMP¹¹¹. Jak už bylo výše zmíněno, hlavní signální dráha gonadotropinů je cAMP/PKA. Vysoká koncentrace cAMP však může stimulovat k vyšší aktivitě i PI3K a také zajišťuje vyšší expresi i aktivitu IRS-1/-2. Tím cAMP podporuje signalizaci PI3K/Akt dráhy¹³³. Výsledkem je abnormální stimulace TB a GB, která vede k nadměrné tvorbě steroidních pohlavních hormonů¹³⁵.

U žen s PCOS je následkem HINS zvýšená exprese INSR a dochází k hyperaktivaci signálních drah INS. Hladina IRS-1, který je součástí MAPK dráhy, se běžně zvyšuje při růstu folikulů, u žen s PCOS je však snížena. IRS-2 se je naopak součástí PI3K signální dráhy. Předpokládá se, že má svou roli ve spuštění antiapoptotických drah. Hyperexprese IRS-2 u žen s PCOS v antrálních folikulech může tedy blokovat apoptózu a způsobit



Obrázek 4: LH = luteinizační hormon, FSH = folikulstimulační hormon, LHR (FSHR) = receptor pro LH (FSH), INSR = receptor pro inzulin, IRS = substrát inzulinového receptoru, PI3K = fosfatidylinositol-3-kináza, PIP_{2/3} = fosfatidylinositol-(3),4,5-(bi)trifosfát, PDK1 = pyruvát dehydrogenáza kináza 1, Akt = proteinkináza B, FoxO1/3a = forkhead box protein O1/3a, cAMP = cyklický adenosylmonofosfát, CREB = vazebný protein pro cAMP responzivní element, ERK = extracelulární signální regulační kináza, SP1 = transkripční faktor specifický protein 1; vytvořeno v BioRender.com⁶⁹

akumulaci antrálních folikulů¹³⁶. K expresi IRS-2 dochází po stimulaci FSH i LH. Díky defektu signalizační dráhy FSH u žen s PCOS, GB pocházející od žen s PCOS nebyly schopné exprimovat IRS-2 ve vyšším množství po stimulaci FSH na rozdíl od GB žen se zdravým OC¹³⁷. Studie však poukazují na přítomnost většího množství LH receptorů na povrchu GB u žen s PCOS již před luteinizací a působením vysokých hladin LH v kombinaci s HINS tedy dochází k abnormální stimulaci TB i GB. Receptory pro FSH a INS jsou lokalizovány na povrchu GB a TB v normálním i zvýšeném množství¹⁶. Nadměrná stimulace TB a GB je příčinou přílišné tvorby androgenů a estrogenů, a tedy hormonální nerovnováhy. U TB žen s PCOS byla zároveň objevena vyšší exprese i aktivita klíčových enzymů steroidogeneze jako jsou StAR, P450scc, P450arom, P450c17 a 3β-HSD. Nadměrné množství

androgenů ve folikulární tekutině negativně ovlivňuje maturaci folikulů, v krevním oběhu je výsledkem HA (3.2.). Androgeny také zvyšují expresi genů cytochromu P450 a LH receptoru působením přes jaderný androgenní receptor, čímž zvyšují senzitivitu TB a GB k LH i tvorbu androgenů a estrogenů^{22,49}. Androgeny tedy samy přispívají ke zhoršení HA a hormonální nerovnováze⁴⁹.

5 OBEZITA

Tuková tkáň by měla tvořit minimálně 22 % tělesné váhy, aby byl OC pravidelný a byla ustanovena hormonální rovnováha². Obezita během puberty je však příčinou nepravidelného OC i vyššího objemu ovarií v porovnání s dívkami s váhou odpovídající jejich tělesným předpokladům. Uvažuje se tedy o možné souvislosti obezity s rozvojem PCOS během pubertálního období¹³⁸. Obezita v dětství a pubertálním období má za následek i mnoho dalších zdravotních komplikací od IR, DM2, hypertenze i dyslipidemie až po nealkoholické ztučnění jater, spánkovou apnou a deprese. U obézních žen s PCOS jsou navíc zvýšená rizika infertility, potratů, gestačního diabetu, HA i metabolického syndromu¹³⁹. Mezi příčiny vzniku obezity patří malý či velký gestační věk dítěte, PCOS u matky i intrauterinní HA. Následkem může být časná nebo naopak pozdní menarche v kombinaci s vyššími hladinami leptinu a prozánětlivých adipokinů, které se u obézních lidí často vyskytují¹³⁹. Před menarche dochází ke zvýšení koncentrace leptinu a díky tomu i kisspeptinu. Tím je odstartován OC a s ním spojené pravidelné změny hladin hormonů². Obezita se však často pojí s hyperleptinemií. Vysoká hladina leptinu inhibuje steroidogenezi působením přes leptinové receptory na ovariích. To vede k hormonální nerovnováze a nedostatku LH i FSH. Výsledkem je mnoho anovulačních cyklů a dřívější nástup menarche¹⁴⁰, což může souviset i s větší prevalencí k depresím a narušením psychomotorického vývoje¹⁴¹.

Ženy s PCOS a androgenní obezitou vykazují vyšší prevalenci k HA, zánětu a dysfunkci metabolismu¹⁴². Viscerální obezita trápí ženy s PCOS mnohem častěji v porovnání s ženami se zdravým OC¹⁴³. Jednou z příčin ukládání tuku v abdominální oblasti je vysoká hladina testosteronu, který inhibuje lipolýzu a podporuje lipogenezi. Stejně tak přispívá k obezitě i kortizol tvořený nadledvinkami¹³⁹. U obézních žen se lze často setkat se sníženou senzitivitou k INS, v případě diagnózy PCOS v kombinaci s androgenní obezitou byla však nižší senzitivita buněk k INS a zvýšené hladiny INS ještě výraznější¹⁴⁴. Pod působením INS tuková tkáň sekretuje adipocytokiny a volné mastné kyseliny do krevního oběhu což přispívá k IR i obezitě³⁷.

Leptin je důležitý pro regulaci příjmu potravy, metabolismu a reprodukce. Jeho hladiny jsou u žen s PCOS často zvýšené¹⁴⁵. Naopak koncentrace adiponektinu, který zlepšuje inzulínovou senzitivitu buněk a má protizánětlivý účinek, je u žen s PCOS snižena¹⁴⁶. Pouze u žen s PCOS byla dokonce objevena pozitivní korelace zvýšeného poměru leptin/adiponektin s LH/FSH¹⁴⁶. Leptin je sekretován v závislosti na fázi OC i koncentraci GnRH a estrogenů¹⁴⁷. Před menarche je spuštěna pravidelná sekrece kisspeptinu, která je ovlivněna právě leptinem. Při obezitě dochází k vyšší expresi leptinového receptoru na povrchu neuronů produkujících kisspeptin a GnRH, na což má zřejmě vliv hladina leptinu v séru¹⁴⁰. Hyperleptinemie je tedy příčinou zvýšené aktivity neuronů produkující kisspeptin i GnRH, což vede k nadměrné produkci LH. Na ovariální steroidogenezi má naopak leptin inhibiční efekt¹⁴⁷. Obézní ženy trápí vyšší senzitivita TB k LH, což vede k hyperstimulaci TB a HA⁴. V kombinaci s HINS je tedy možné, že inhibiční efekt leptinu na steroidogenezi nehraje až tak velkou roli v syntéze steroidů oproti stimulaci INS a LH. Adiponektin zvyšuje inzulínovou senzitivitu a podporuje oxidaci mastných kyselin i adipogenezi. Naopak na glukoneogenezi v játrech má inhibiční efekt¹⁴⁸. Zvýšená exprese aromatázy v tukové tkáni má za následek velkou produkci estrogenů. Estrogeny působí stimulačně na tvorbu LH a inhibičně na produkci FSH, což vede k hyperplazii GB a TB a nadprodukcí androgenů. Estradiol má negativní efekt na adipogenezi a lipogenezi v adipocytech. Inhibuje také aktivitu lipoproteinlipázy, která zajišťuje uvolnění volných mastných kyselin štěpením TAG¹⁴⁹.

Mezi další spojení obezity a PCOS patří dyslipidemie, která se často vyskytuje společně s IR a HA. V séru žen byla naměřena nízká hladina HDL, a naopak vysoká koncentrace LDL a TAG. LDL je zdrojem cholesterolu pro steroidogenezi⁶⁰ a jeho zvýšená hladina vede ke dřívějšímu vyčerpání ovariální rezervy³¹. Expanze tukové tkáně při obezitě vede ke zvýšení infiltrace makrofágů, jenž produkují prozánětlivé cytokiny a způsobují celkový zánět v těle¹⁴⁸. Faktor nádorové nekrózy α (TNF α) a interleukin-6 (IL-6) narušují signalizaci INS supresí IRS a tím přispívají k IR¹⁴⁸. INS běžně stimuluje adipogenezi a lipogenezi⁴, při IR je však působení INS narušeno a dochází k lipolýze. Zvýšená koncentrace volných mastných kyselin v plazmě vede k inhibici signalizace INS přes redukci množství IRS-1 stejně jako je tomu u TNF α a IL-6. To je mimo jiné příčinou omezené exprese GLUT4 a narušení příjmu GLU do buněk i energetického metabolismu^{150,151}. IL-6 působí stimulačně na tvorbu leptinu a omezuje expresi lipoprotein lipázy důležité při zpracování LDL cholesterolu. Společně s vysokými hladinami TNF α pak přispívá k rozvoji DM2, kardiovaskulárních chorob a nealkoholickému ztučnění jater¹⁵².

6 ZÁVĚR

Narušení signalizace hypotalamo-hypofyzárně-gonadální osy u žen s PCOS je příčinou i důsledkem hormonální nerovnováhy. Abnormální sekrece GnRH způsobená špatnou zpětnou vazbou steroidních pohlavních hormonů a v případě obezity i nadměrnou stimulací kisspeptinem díky vysokým koncentracím leptinu, má za následek zvýšení poměru LH/FSH v porovnání s fyziologickými hodnotami. Receptory pro LH, FSH i inzulin (INS) se nachází na povrchu granulózových buněk (GB) i tekálních buněk (TB). Neobvyklá stimulace TB a GB vede k nadprodukcii pohlavních steroidních hormonů.

Inzulinová rezistence (IR) vzniká v důsledku narušení signální dráhy INS a je zdrojem mnoha zdravotních problémů. IR se týká hlavně inzulinově-senzitivních periferních tkání jako jsou játra, kosterní svaly a tuková tkáň. Kompenzací IR je hyperinzulinémie (HINS). INS působí jako koefektor LH a FSH. Nadměrné množství INS abnormálně stimuluje enzymy steroidogeneze v TB a GB k aktivitě a zvyšuje jejich expresi, což vede k neobvyklé produkci androgenů a estrogenů, jejichž hladiny jsou u žen s PCOS často zvýšené. Nadměrná koncentrace estrogenů podporuje rozvoj IR a HINS. Androgeny při vyšších hladinách přes své receptory hyperstimulují neurony produkující gonadoliberin k aktivitě a potlačují selekci dominantního folikulu. Výsledkem je akumulace antrálních folikulů a polycystická ovaria (PCO) i anovulační cykly vedoucí k infertilitě. Při anovulačních cyklech navíc nedochází ke vzniku žlutého tělíska, a tedy produkci inhibinu A a progesteronu, který má protizánětlivé účinky. Důležité je také poznamenat, že vznik PCO a hyperandrogenismu (HA) má možná své kořeny již v prenatálním období, což potvrzuje genetické predispozice pro rozvoj PCOS. Antrální folikuly jsou navíc zdrojem sekrece AMH, který je u žen s PCOS také zpravidla zvýšený, což vede k narušení maturace folikulů i hormonální nerovnováze působením na hypotalamus.

INS vazbou na svůj receptor spouští několik drah vedoucí k syntéze proteinů a glykogenu, expresi GLUT i diferenciaci a proliferaci buněk či apoptóze. Pro zvýšení aktivity a exprese enzymů steroidogeneze je důležitá PI3K/Akt dráha. Akt fosforylací inaktivuje transkripční faktory FoxO a tím umožní expresi enzymů steroidogeneze. Ke stejnému cíli lze dojít i stimulací buněk LH či FSH. Pro gonadotropiny je typická signální dráha cAMP/PKA, která vede k aktivaci transkripčního faktoru CREB a následné iniciaci exprese enzymů steroidogeneze. cAMP mimo jiné stimuluje i expresi a aktivitu IRS a PI3K, což z nich dělá místo, kde se signální dráhy stimulované INS a LH či FSH propojují.

Ženy s PCOS často trápí androgenní obezita, nadměrné množství prozánětlivých cytokinů (TNF α , IL-6) a leptinu a naopak snížené množství adiponektinu. Akumulace viscerálního tuku je spojována s mnoha zdravotními následky zahrnující DM2, kardiovaskulární choroby i nealkoholické ztučnění jater. Obezita také pozitivně koreluje s IR a HINS a navzájem zhoršují dopady na pacienta. V neposlední řadě nadváha výrazně přispívá k hormonální nerovnováze. Leptin nepřímo zvedá poměr LH/FSH působením na neurony produkující kisspeptin. Prozánětlivé cytokiny produkované makrofágy infiltrovanými v tukové tkáni zase narušují signalizaci INS a zhoršují IR.

PCOS je širokospektrální onemocnění. Dále by tedy bylo možné zabývat se souvislostmi PCOS s diabetem mellitus II. typu, kardiovaskulárními chorobami, nealkoholickým ztučněním jater či metabolickým syndromem. Zajímavé by mohlo být i studium o vlivu životního stylu, zahrnující zdravou pestrou stravu, pravidelný pohyb, spánek i práci se stresem, na vedlejší příznaky PCOS i zdravotní stav ženy.

7 SEZNAM LITERATURY A ZDROJŮ

1. Charifson, M. A. & Trumble, B. C. Evolutionary origins of polycystic ovary syndrome: An environmental mismatch disorder. *Evol Med Public Health* **2019**, 50–63 (2019).
2. Trávník, P. *Klinická fyziologie lidské reprodukce*. (Grada Publishing, Praha, 2022).
3. Devoto, L. *et al.* The human corpus luteum: life cycle and function in natural cycles. *Fertility and Sterility* **92**, 1067–1079 (2009).
4. Pita, J. *et al.* Circulating kisspeptin levels exhibit sexual dimorphism in adults, are increased in obese prepubertal girls and do not suffer modifications in girls with idiopathic central precocious puberty. *Peptides* **32**, 1781–1786 (2011).
5. Tsutsumi, R. & Webster, N. J. G. GnRH pulsatility, the pituitary response and reproductive dysfunction. *Endocr J* **56**, 729–737 (2009).
6. Venturoli, S. *et al.* Episodic Pulsatile Secretion of Fsh, Lh, Prolactin, Oestradiol, Oestrone, and Lh Circadian Variations in Polycystic Ovary Syndrome. *Clinical Endocrinology* **28**, 93–107 (1988).
7. Holesh, J. E., Bass, A. N. & Lord, M. Physiology, Ovulation. in *StatPearls* (StatPearls Publishing, Treasure Island (FL), 2024).
8. Sacchi, S. *et al.* The anti-Müllerian hormone (AMH) acts as a gatekeeper of ovarian steroidogenesis inhibiting the granulosa cell response to both FSH and LH. *J Assist Reprod Genet* **33**, 95–100 (2016).
9. Wayne, C. M., Fan, H.-Y., Cheng, X. & Richards, J. S. Follicle-Stimulating Hormone Induces Multiple Signaling Cascades: Evidence that Activation of Rous Sarcoma Oncogene, RAS, and the Epidermal Growth Factor Receptor Are Critical for Granulosa Cell Differentiation. *Molecular Endocrinology* **21**, 1940–1957 (2007).
10. Sreerangaraja Urs, D. B. *et al.* Mitochondrial Function in Modulating Human Granulosa Cell Steroidogenesis and Female Fertility. *International Journal of Molecular Sciences* **21**, 3592 (2020).
11. Murphy, B. D. Models of Luteinization1. *Biology of Reproduction* **63**, 2–11 (2000).
12. Care, A. S. *et al.* Macrophages regulate corpus luteum development during embryo implantation in mice. *J Clin Invest* **123**, 3472–3487 (2013).
13. Conkright, M. D. *et al.* TORCs. *Molecular Cell* **12**, 413–423 (2003).
14. Talavera, F., Chen, Z. & Menon, K. M. J. IRS-I expression on the luteinized rat ovary: IGF-I and cyclic AMP effects on IRS-I tyrosine phosphorylation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* **1310**, 10–18 (1996).

15. Gonzalez-Robayna, I. J., Falender, A. E., Ochsner, S., Firestone, G. L. & Richards, J. S. Follicle-Stimulating Hormone (FSH) Stimulates Phosphorylation and Activation of Protein Kinase B (PKB/Akt) and Serum and Glucocorticoid-Induced Kinase (Sgk): Evidence for A Kinase-Independent Signaling by FSH in Granulosa Cells. *Molecular Endocrinology* **14**, 1283–1300 (2000).
16. Chahal, N. *et al.* Direct impact of gonadotropins on glucose uptake and storage in preovulatory granulosa cells: Implications in the pathogenesis of polycystic ovary syndrome. *Metabolism* **115**, 154458 (2021).
17. Tran, H., Brunet, A., Griffith, E. C. & Greenberg, M. E. The Many Forks in FOXO's Road. *Science's STKE* **2003**, re5–re5 (2003).
18. Dupont, J. & Scaramuzzi, R. J. Insulin signalling and glucose transport in the ovary and ovarian function during the ovarian cycle. *Biochem J* **473**, 1483–1501 (2016).
19. Liu, Z. *et al.* FSH and FOXO1 Regulate Genes in the Sterol/Steroid and Lipid Biosynthetic Pathways in Granulosa Cells. *Mol Endocrinol* **23**, 649–661 (2009).
20. Plewes, M. R. *et al.* Trafficking of Cholesterol from Lipid Droplets to Mitochondria in Bovine Luteal Cells: Acute Control of Progesterone Synthesis¹. 409599 (2018) doi:10.1101/409599.
21. Chen, Y.-J. *et al.* Interplay of PI3K and cAMP/PKA signaling, and rapamycin-hypersensitivity in TGFβ1 enhancement of FSH-stimulated steroidogenesis in rat ovarian granulosa cells. *Journal of Endocrinology* **192**, 405–419 (2007).
22. Rosenfield, R. L., Barnes, R. B., Cara, J. F. & Lucky, A. W. Dysregulation of cytochrome P450c17α as the cause of polycystic ovarian syndrome*. *Fertility and Sterility* **53**, 785–791 (1990).
23. Rojas, J. *et al.* Polycystic Ovary Syndrome, Insulin Resistance, and Obesity: Navigating the Pathophysiologic Labyrinth. *International Journal of Reproductive Medicine* **2014**, e719050 (2014).
24. Miller, W. L. Molecular Biology of Steroid Hormone Synthesis*. *Endocrine Reviews* **9**, 295–318 (1988).
25. Mohammed, H. *et al.* Progesterone receptor modulates estrogen receptor-α action in breast cancer. *Nature* **523**, 313–317 (2015).
26. Azizian, H., Khaksari, M., Asadikaram, G., Esmailidehaj, M. & Shahrokhi, N. Progesterone eliminates 17β-estradiol-Mediated cardioprotection against diabetic cardiovascular dysfunction in ovariectomized rats. *Biomedical Journal* **44**, 461–470 (2021).

27. Sathi, P., Kalyan, S., Hitchcock, C. L., Pudek, M. & Prior, J. C. Progesterone therapy increases free thyroxine levels—data from a randomized placebo-controlled 12-week hot flush trial. *Clinical Endocrinology* **79**, 282–287 (2013).
28. Gordon, J. L. *et al.* Ovarian Hormone Fluctuation, Neurosteroids and HPA Axis Dysregulation in Perimenopausal Depression: A Novel Heuristic Model. *Am J Psychiatry* **172**, 227–236 (2015).
29. Mong, J. A. *et al.* Sleep, Rhythms, and the Endocrine Brain: Influence of Sex and Gonadal Hormones. *J Neurosci* **31**, 16107–16116 (2011).
30. Shekhar, B., Mittal, S., Majumdar, G., Tiwari, N. & Majumdar, A. Low serum progesterone on day of transfer adversely impacts ongoing pregnancy rates in hormonally prepared single blastocyst frozen embryo transfer cycles. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* **289**, 55–59 (2023).
31. Yang, X. *et al.* Cholesterol metabolism is decreased in patients with diminished ovarian reserve. *Reproductive BioMedicine Online* **44**, 185–192 (2022).
32. Stubbins, R. E., Holcomb, V. B., Hong, J. & Núñez, N. P. Estrogen modulates abdominal adiposity and protects female mice from obesity and impaired glucose tolerance. *Eur J Nutr* **51**, 861–870 (2012).
33. Naaz, A. *et al.* Effect of Ovariectomy on Adipose Tissue of Mice in the Absence of Estrogen Receptor Alpha (ER α): a Potential Role for Estrogen Receptor Beta (ER β). *Horm Metab Res* **34**, 758–763 (2002).
34. Shin, J.-H. *et al.* The ratio of estrogen receptor α to estrogen receptor β in adipose tissue is associated with leptin production and obesity. *Steroids* **72**, 592–599 (2007).
35. Ding, E. L. *et al.* Plasma sex steroid hormones and risk of developing type 2 diabetes in women: a prospective study. *Diabetologia* **50**, 2076–2084 (2007).
36. Le May, C. *et al.* Estrogens protect pancreatic β -cells from apoptosis and prevent insulin-deficient diabetes mellitus in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **103**, 9232–9237 (2006).
37. Louet, J.-F., LeMay, C. & Mauvais-Jarvis, F. Antidiabetic actions of estrogen: Insight from human and genetic mouse models. *Curr Atheroscler Rep* **6**, 180–185 (2004).
38. Alonso-Magdalena, P. *et al.* Pancreatic Insulin Content Regulation by the Estrogen Receptor ER α . *PLOS ONE* **3**, e2069 (2008).
39. Chattopadhyay, S. *et al.* Estradiol overcomes adiponectin-resistance in diabetic mice by regulating skeletal muscle adiponectin receptor 1 expression. *Molecular and Cellular Endocrinology* **540**, 111525 (2022).

40. Cousin, P. *et al.* Influence of glycosylation on the clearance of recombinant human sex hormone-binding globulin from rabbit blood. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* **70**, 115–121 (1999).
41. Billig, H., Furuta, I. & Hsueh, A. J. Estrogens inhibit and androgens enhance ovarian granulosa cell apoptosis. *Endocrinology* **133**, 2204–2212 (1993).
42. Franks, S., Stark, J. & Hardy, K. Follicle dynamics and anovulation in polycystic ovary syndrome. *Human Reproduction Update* **14**, 367–378 (2008).
43. Longcope, C. 1 Adrenal and gonadal androgen secretion in normal females. *Clinics in Endocrinology and Metabolism* **15**, 213–228 (1986).
44. Tawfeek, M. A., Alfadhli, E. M., Alayoubi, A. M., El-Beshbishy, H. A. & Habib, F. A. Sex hormone binding globulin as a valuable biochemical marker in predicting gestational diabetes mellitus. *BMC Women's Health* **17**, 18 (2017).
45. Möller, M. C., Bartfai, A. B. & Rådestad, A. F. Effects of testosterone and estrogen replacement on memory function. *Menopause* **17**, 983–989 (2010).
46. Genazzani, A. D. *et al.* Modulatory role of D-chiro-inositol (DCI) on LH and insulin secretion in obese PCOS patients. *Gynecological Endocrinology* **30**, 438–443 (2014).
47. Rice, S., Ojha, K., Whitehead, S. & Mason, H. Stage-Specific Expression of Androgen Receptor, Follicle-Stimulating Hormone Receptor, and Anti-Müllerian Hormone Type II Receptor in Single, Isolated, Human Preantral Follicles: Relevance to Polycystic Ovaries. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **92**, 1034–1040 (2007).
48. Walters, K. A. *et al.* The Role of Central Androgen Receptor Actions in Regulating the Hypothalamic-Pituitary-Ovarian Axis. *Neuroendocrinology* **106**, 389–400 (2018).
49. Nelson, V. L. *et al.* The Biochemical Basis for Increased Testosterone Production in Theca Cells Propagated from Patients with Polycystic Ovary Syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **86**, 5925–5933 (2001).
50. Diamanti-Kandarakis, E., Argyrakopoulou, G., Economou, F., Kandaraki, E. & Koutsilieris, M. Defects in insulin signaling pathways in ovarian steroidogenesis and other tissues in polycystic ovary syndrome (PCOS). *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* **109**, 242–246 (2008).
51. Durlinger, A. L. L. *et al.* Anti-Müllerian Hormone Inhibits Initiation of Primordial Follicle Growth in the Mouse Ovary. *Endocrinology* **143**, 1076–1084 (2002).
52. Silva, M. S. B. & Giacobini, P. New insights into anti-Müllerian hormone role in the hypothalamic–pituitary–gonadal axis and neuroendocrine development. *Cell. Mol. Life Sci.* **78**, 1–16 (2021).

53. Cimino, I. *et al.* Novel role for anti-Müllerian hormone in the regulation of GnRH neuron excitability and hormone secretion. *Nat Commun* **7**, 10055 (2016).
54. Ropelato, M. G. *et al.* Acute Effects of Testosterone Infusion on the Serum Luteinizing Hormone Profile in Eumenorrheic and Polycystic Ovary Syndrome Adolescents. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **94**, 3602–3610 (2009).
55. Katulski, K., Podfigurna, A., Czyzyk, A., Meczekalski, B. & Genazzani, A. D. Kisspeptin and LH pulsatile temporal coupling in PCOS patients. *Endocrine* **61**, 149–157 (2018).
56. Panidis, D. *et al.* Plasma metastin levels are negatively correlated with insulin resistance and free androgens in women with polycystic ovary syndrome. *Fertility and Sterility* **85**, 1778–1783 (2006).
57. WILDT, L. *et al.* Frequency and Amplitude of Gonadotropin-Releasing Hormone Stimulation and Gonadotropin Secretion in the Rhesus Monkey*. *Endocrinology* **109**, 376–385 (1981).
58. Burt Solorzano, C. M., McCartney, C. R., Blank, S. K., Knudsen, K. L. & Marshall, J. C. Hyperandrogenemia in adolescent girls: origins of abnormal GnRH secretion. *BJOG* **117**, 143–149 (2010).
59. Goodarzi, M. O., Dumesic, D. A., Chazenbalk, G. & Azziz, R. Polycystic ovary syndrome: etiology, pathogenesis and diagnosis. *Nat Rev Endocrinol* **7**, 219–231 (2011).
60. Wild, R. A., Rizzo, M., Clifton, S. & Carmina, E. Lipid levels in polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. *Fertility and Sterility* **95**, 1073-1079.e11 (2011).
61. Vink, J. M., Sadrzadeh, S., Lambalk, C. B. & Boomsma, D. I. Heritability of Polycystic Ovary Syndrome in a Dutch Twin-Family Study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **91**, 2100–2104 (2006).
62. Diamanti-Kandarakis, E., Kandarakis, H. & Legro, R. S. The role of genes and environment in the etiology of PCOS. *Endocr* **30**, 19–26 (2006).
63. Trent, M. & Gordon, C. M. Diagnosis and Management of Polycystic Ovary Syndrome in Adolescents. *Pediatrics* **145**, S210–S218 (2020).
64. 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). *Human Reproduction* **19**, 41–47 (2004).

65. Azziz, R. *et al.* Positions statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an Androgen Excess Society guideline. *J Clin Endocrinol Metab* **91**, 4237–4245 (2006).
66. Carmina, E. & Lobo, R. A. Comparing Lean and Obese PCOS in Different PCOS Phenotypes: Evidence That the Body Weight Is More Important than the Rotterdam Phenotype in Influencing the Metabolic Status. *Diagnostics (Basel)* **12**, 2313 (2022).
67. Misra, S., Gada, J., Dhole, C., Varthakavi, P. & Bhagwat, N. Comparative Study of Insulin Sensitivity and Resistance and Their Correlation with Androgens in Lean and Obese Women with Polycystic Ovary Syndrome. *Reprod. Sci.* **31**, 754–763 (2024).
68. Deswal, R., Yadav, A. & Dang, A. S. Sex hormone binding globulin - an important biomarker for predicting PCOS risk: A systematic review and meta-analysis. *Systems Biology in Reproductive Medicine* **64**, 12–24 (2018).
69. Scientific Image and Illustration Software | BioRender. <https://www.biorender.com/>.
70. Harada, M. Pathophysiology of polycystic ovary syndrome revisited: Current understanding and perspectives regarding future research. *Reproductive Medicine and Biology* **21**, (2022).
71. Bhide, P. & Homburg, R. Anti-Müllerian hormone and polycystic ovary syndrome. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology* **37**, 38–45 (2016).
72. Hughesdon, P. E. Morphology and Morphogenesis of the Stein-Leventhal Ovary and of So-called “Hyperthecosis”. *Obstetrical & Gynecological Survey* **37**, 59 (1982).
73. Laven, J. S. E. *et al.* Anti-Müllerian Hormone Serum Concentrations in Normoovulatory and Anovulatory Women of Reproductive Age. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **89**, 318–323 (2004).
74. Horie, K. *et al.* Immunohistochemical localization of androgen receptor in the human ovary throughout the menstrual cycle in relation to oestrogen and progesterone receptor expression. *Human Reproduction* **7**, 184–190 (1992).
75. Pellatt, L. *et al.* Anti-Müllerian hormone reduces follicle sensitivity to follicle-stimulating hormone in human granulosa cells. *Fertility and Sterility* **96**, 1246-1251.e1 (2011).
76. Pierre, A. *et al.* Loss of LH-induced down-regulation of anti-Müllerian hormone receptor expression may contribute to anovulation in women with polycystic ovary syndrome. *Human Reproduction* **28**, 762–769 (2013).
77. Pastor, C. L., Griffin-Korf, M. L., Aloji, J. A., Evans, W. S. & Marshall, J. C. Polycystic ovary syndrome: evidence for reduced sensitivity of the gonadotropin-releasing hormone

- pulse generator to inhibition by estradiol and progesterone. *J Clin Endocrinol Metab* **83**, 582–590 (1998).
78. Eagleson, C. A. *et al.* Polycystic Ovarian Syndrome: Evidence that Flutamide Restores Sensitivity of the Gonadotropin-Releasing Hormone Pulse Generator to Inhibition by Estradiol and Progesterone¹. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **85**, 4047–4052 (2000).
 79. Frishman, G. N., Luciano, A. A. & Peluso, J. J. Effect of the ratio of follicle-stimulating hormone to luteinizing hormone on rat granulosa cell proliferation and oestradiol-17 β secretion. *Human Reproduction* **7**, 1073–1078 (1992).
 80. Oktay, K., Briggs, D. & Gosden, R. G. Ontogeny of Follicle-Stimulating Hormone Receptor Gene Expression in Isolated Human Ovarian Follicles¹. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **82**, 3748–3751 (1997).
 81. Hillier, S. G. Gonadotropic control of ovarian follicular growth and development. *Molecular and Cellular Endocrinology* **179**, 39–46 (2001).
 82. Chávez-Ross, A., Franks, S., Mason, H. D., Hardy, K. & Stark, J. Modelling the control of ovulation and polycystic ovary syndrome. *J Math Biol* **36**, 95–118 (1997).
 83. Matthews, C. H. *et al.* Primary amenorrhoea and infertility due to a mutation in the β -subunit of follicle-stimulating hormone. *Nat Genet* **5**, 83–86 (1993).
 84. Louhio, H., Hovatta, O., Sjöberg, J. & Tuuri, T. The effects of insulin, and insulin-like growth factors I and II on human ovarian follicles in long-term culture. *Molecular Human Reproduction* **6**, 694–698 (2000).
 85. Vendola, K., Zhou, J., Wang, J. & A. Bondy, C. Androgens promote insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor-I receptor gene expression in the primate ovary. *Human Reproduction* **14**, 2328–2332 (1999).
 86. Erickson, G. F., Magoffin, D. A., Garzo, V. G., Cheung, A. P. & Chang, R. J. Granulosa Cells of Polycystic Ovaries: Are They Normal or Abnormal? *Obstetrical & Gynecological Survey* **48**, 142 (1993).
 87. Mason, H. D. *et al.* Estradiol production by granulosa cells of normal and polycystic ovaries: relationship to menstrual cycle history and concentrations of gonadotropins and sex steroids in follicular fluid. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **79**, 1355–1360 (1994).
 88. Vrbíková, J., Fanta, M. & Koryntová, D. *Syndrom polycystických ovarií: [přůvodce ošetřujícího lékaře]*. (Maxdorf, Praha, 2014).

89. Ofori, E. K. *et al.* Thigh and abdominal adipose tissue depot associations with testosterone levels in postmenopausal females. *Clin Endocrinol (Oxf)* **90**, 433–439 (2019).
90. Cheng, X. B. *et al.* Characterizing the neuroendocrine and ovarian defects of androgen receptor-knockout female mice. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* **305**, E717–E726 (2013).
91. Apparao, K. B. C., Lovely, L. P., Gui, Y., Lininger, R. A. & Lessey, B. A. Elevated Endometrial Androgen Receptor Expression in Women with Polycystic Ovarian Syndrome. *Biology of Reproduction* **66**, 297–304 (2002).
92. Qiao, J. & Feng, H. L. Extra- and intra-ovarian factors in polycystic ovary syndrome: impact on oocyte maturation and embryo developmental competence. *Human Reproduction Update* **17**, 17–33 (2011).
93. Pigny, P. *et al.* Elevated Serum Level of Anti-Mullerian Hormone in Patients with Polycystic Ovary Syndrome: Relationship to the Ovarian Follicle Excess and to the Follicular Arrest. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **88**, 5957–5962 (2003).
94. Liao, B., Qiao, J. & Pang, Y. Central Regulation of PCOS: Abnormal Neuronal-Reproductive-Metabolic Circuits in PCOS Pathophysiology. *Front. Endocrinol.* **12**, (2021).
95. Dieudonné, M. N., Pecquery, R., Boumediene, A., Leneuve, M. C. & Giudicelli, Y. Androgen receptors in human preadipocytes and adipocytes: regional specificities and regulation by sex steroids. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* **274**, C1645–C1652 (1998).
96. Rosner, W., Hryb, D. J., Kahn, S. M., Nakhla, A. M. & Romas, N. A. Interactions of sex hormone-binding globulin with target cells. *Molecular and Cellular Endocrinology* **316**, 79–85 (2010).
97. Gascón, F. *et al.* Sex hormone-binding globulin as a marker for hyperinsulinemia and/or insulin resistance in obese children. *Eur J Endocrinol* **143**, 85–89 (2000).
98. Pugeat, M. *et al.* Sex hormone-binding globulin gene expression in the liver: Drugs and the metabolic syndrome. *Molecular and Cellular Endocrinology* **316**, 53–59 (2010).
99. Winters, S. J. *et al.* Sex Hormone-Binding Globulin Gene Expression and Insulin Resistance. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **99**, E2780–E2788 (2014).

100. Vassilatou, E. *et al.* Increased androgen bioavailability is associated with non-alcoholic fatty liver disease in women with polycystic ovary syndrome. *Human Reproduction* **25**, 212–220 (2010).
101. Jayagopal, V., Kilpatrick, E. S., Jennings, P. E., Hepburn, D. A. & Atkin, S. L. The Biological Variation of Testosterone and Sex Hormone-Binding Globulin (SHBG) in Polycystic Ovarian Syndrome: Implications for SHBG as a Surrogate Marker of Insulin Resistance. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **88**, 1528–1533 (2003).
102. Haffner, S. M., Katz, M. S., Stern, M. P. & Dunn, J. F. Association of decreased sex hormone binding globulin and cardiovascular risk factors. *Arteriosclerosis* **9**, 136–143 (1989).
103. Legro, R. S., Kinselmann, A. R., Dodson, W. C. & Dunaif, A. Prevalence and Predictors of Risk for Type 2 Diabetes Mellitus and Impaired Glucose Tolerance in Polycystic Ovary Syndrome: A Prospective, Controlled Study in 254 Affected Women¹. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **84**, 165–169 (1999).
104. Guzick, D. S., Wing, R., Smith, D., Berga, S. L. & Winters, S. J. Endocrine consequences of weight loss in obese, hyperandrogenic, anovulatory women *†. *Fertility and Sterility* **61**, 598–604 (1994).
105. Tim, B., Kouznetsova, V. L., Kesari, S. & Tsigelny, I. F. Targeting of insulin receptor endocytosis as a treatment to insulin resistance. *Journal of Diabetes and its Complications* **37**, 108615 (2023).
106. Jozkowiak, M. *et al.* Endocrine Disrupting Chemicals in Polycystic Ovary Syndrome: The Relevant Role of the Theca and Granulosa Cells in the Pathogenesis of the Ovarian Dysfunction. *Cells* **12**, 174 (2023).
107. Priya, K., Setty, M., Babu, U. V. & Pai, K. S. R. Implications of environmental toxicants on ovarian follicles: how it can adversely affect the female fertility? *Environ Sci Pollut Res* **28**, 67925–67939 (2021).
108. BURGHEN, G. A., GIVENS, J. R. & KITABCHI, A. E. Correlation of Hyperandrogenism with Hyperinsulinism in Polycystic Ovarian Disease*. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **50**, 113–116 (1980).
109. Azziz, R. *et al.* Polycystic ovary syndrome. *Nat Rev Dis Primers* **2**, 1–18 (2016).
110. Esser, N., Utzschneider, K. M. & Kahn, S. E. Early beta cell dysfunction vs insulin hypersecretion as the primary event in the pathogenesis of dysglycaemia. *Diabetologia* **63**, 2007–2021 (2020).

111. Diamanti-Kandarakis, E., Argyrakopoulou, G., Economou, F., Kandaraki, E. & Koutsilieris, M. Defects in insulin signaling pathways in ovarian steroidogenesis and other tissues in polycystic ovary syndrome (PCOS). *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* **109**, 242–246 (2008).
112. Lee, S.-H., Park, S.-Y. & Choi, C. S. Insulin Resistance: From Mechanisms to Therapeutic Strategies. *Diabetes Metab J* **46**, 15–37 (2022).
113. Cade, J. E. & Hanison, J. The pancreas. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine* **18**, 527–531 (2017).
114. Pilz, S. *et al.* Free Fatty Acids Are Independently Associated with All-Cause and Cardiovascular Mortality in Subjects with Coronary Artery Disease. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **91**, 2542–2547 (2006).
115. Wajchenberg, B. L. Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue: Their Relation to the Metabolic Syndrome. *Endocrine Reviews* **21**, 697–738 (2000).
116. De Meyts, P. The insulin receptor: a prototype for dimeric, allosteric membrane receptors? *Trends in Biochemical Sciences* **33**, 376–384 (2008).
117. Fritsche, L., Weigert, C., Haring, H.-U. & Lehmann, R. How Insulin Receptor Substrate Proteins Regulate the Metabolic Capacity of the Liver - Implications for Health and Disease. *Current Medicinal Chemistry* **15**, 1316–1329 (2008).
118. Rorsman, P. & Braun, M. Regulation of Insulin Secretion in Human Pancreatic Islets. *Annual Review of Physiology* **75**, 155–179 (2013).
119. De Meyts, P. *et al.* Insulin and IGF-I Receptor Structure and Binding Mechanism. in (eds. Saltiel, A. R. & Pessin, J. E.) (2007). doi:10.1007/978-0-387-72204-7_1.
120. Hill, J. W. *et al.* Direct Insulin and Leptin Action on Pro-opiomelanocortin Neurons Is Required for Normal Glucose Homeostasis and Fertility. *Cell Metabolism* **11**, 286–297 (2010).
121. Soldani, R., Cagnacci, A. & Yen, S. S. Insulin, insulin-like growth factor I (IGF-I) and IGF-II enhance basal and gonadotrophin-releasing hormone-stimulated luteinizing hormone release from rat anterior pituitary cells in vitro. *Acta Endocrinologica* **131**, 641–645 (1994).
122. Kim, H. H., DiVall, S. A., Deneau, R. M. & Wolfe, A. Insulin regulation of GnRH gene expression through MAP kinase signaling pathways. *Molecular and Cellular Endocrinology* **242**, 42–49 (2005).
123. McGarry, J. D. Banting Lecture 2001: Dysregulation of Fatty Acid Metabolism in the Etiology of Type 2 Diabetes. *Diabetes* **51**, 7–18 (2002).

124. Parilla, J. H., Willard, J. R., Barrow, B. M. & Zraika, S. A Mouse Model of Beta-Cell Dysfunction as Seen in Human Type 2 Diabetes. *Journal of Diabetes Research* **2018**, e6106051 (2018).
125. Nestler, J. E. *et al.* Insulin Stimulates Testosterone Biosynthesis by Human Thecal Cells from Women with Polycystic Ovary Syndrome by Activating Its Own Receptor and Using Inositolglycan Mediators as the Signal Transduction System¹. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **83**, 2001–2005 (1998).
126. Willis, D. & Franks, S. Insulin action in human granulosa cells from normal and polycystic ovaries is mediated by the insulin receptor and not the type-I insulin-like growth factor receptor. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **80**, 3788–3790 (1995).
127. Adamiak, S. J., Mackie, K., Watt, R. G., Webb, R. & Sinclair, K. D. Impact of Nutrition on Oocyte Quality: Cumulative Effects of Body Composition and Diet Leading to Hyperinsulinemia in Cattle¹. *Biology of Reproduction* **73**, 918–926 (2005).
128. Blank, S. K. *et al.* Modulation of Gonadotropin-Releasing Hormone Pulse Generator Sensitivity to Progesterone Inhibition in Hyperandrogenic Adolescent Girls—Implications for Regulation of Pubertal Maturation. *J Clin Endocrinol Metab* **94**, 2360–2366 (2009).
129. Franks, S., Mason, H. & Willis, D. Follicular dynamics in the polycystic ovary syndrome. *Molecular and Cellular Endocrinology* **163**, 49–52 (2000).
130. Dimitriadis, G., Mitrou, P., Lambadiari, V., Maratou, E. & Raptis, S. A. Insulin effects in muscle and adipose tissue. *Diabetes Research and Clinical Practice* **93**, S52–S59 (2011).
131. Ueno, M. *et al.* Regulation of insulin signalling by hyperinsulinaemia: role of IRS-1/2 serine phosphorylation and the mTOR/p70 S6K pathway. *Diabetologia* **48**, 506–518 (2005).
132. Wu, X. K. *et al.* Selective ovary resistance to insulin signaling in women with polycystic ovary syndrome. *Fertility and Sterility* **80**, 954–965 (2003).
133. Goto, M. *et al.* PTEN and Akt expression during growth of human ovarian follicles. *J Assist Reprod Genet* **24**, 541–546 (2007).
134. Willis, D., Mason, H., 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. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **81**, 302–309 (1996).

135. el-Roeiy, A. *et al.* Expression of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-II and the IGF-I, IGF-II, and insulin receptor genes and localization of the gene products in the human ovary. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **77**, 1411–1418 (1993).
136. Wu, X.-K. *et al.* Expression of insulin-receptor substrate-1 and -2 in ovaries from women with insulin resistance and from controls. *Fertility and Sterility* **74**, 564–572 (2000).
137. Anjali, G. *et al.* FSH stimulates IRS-2 expression in human granulosa cells through cAMP/SP1, an inoperative FSH action in PCOS patients. *Cellular Signalling* **27**, 2452–2466 (2015).
138. Radivojevic, U. D. *et al.* Differences in Anthropometric and Ultrasonographic Parameters between Adolescent Girls with Regular and Irregular Menstrual Cycles: A Case-Study of 835 Cases. *Journal of Pediatric and Adolescent Gynecology* **27**, 227–231 (2014).
139. Glueck, C. J. & Goldenberg, N. Characteristics of obesity in polycystic ovary syndrome: Etiology, treatment, and genetics. *Metabolism* **92**, 108–120 (2019).
140. Blüher, S. & Mantzoros, C. S. Leptin in reproduction. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity* **14**, 458 (2007).
141. Matkovic, V. *et al.* Leptin Is Inversely Related to Age at Menarche in Human Females*. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **82**, 3239–3245 (1997).
142. Pasquali, R. *et al.* Body fat distribution has weight-independent effects on clinical, hormonal, and metabolic features of women with polycystic ovary syndrome. *Metabolism* **43**, 706–713 (1994).
143. Durmus, U., Duran, C. & Ecirli, S. Visceral adiposity index levels in overweight and/or obese, and non-obese patients with polycystic ovary syndrome and its relationship with metabolic and inflammatory parameters. *J Endocrinol Invest* **40**, 487–497 (2017).
144. Dunaif, A. *et al.* Evidence for Distinctive and Intrinsic Defects in Insulin Action in Polycystic Ovary Syndrome. *Diabetes* **41**, 1257–1266 (1992).
145. Leroy, P. *et al.* Expression of *ob* Gene in Adipose Cells. *Journal of Biological Chemistry* **271**, 2365–2368 (1996).
146. Pratama, G. *et al.* Body Composition Parameters, Adiponectin, Leptin and Adiponectin/Leptin Ratio are Correlated with LH/FSH Ratio in Women with PCOS but not in Women without PCOS. *Indonesian Journal of Obstetrics and Gynecology* **12**, 36–45 (2024).

147. Akhter, N. *et al.* Anterior Pituitary Leptin Expression Changes in Different Reproductive States: In Vitro Stimulation by Gonadotropin-releasing Hormone. *J Histochem Cytochem.* **55**, 151–166 (2007).
148. Galic, S., Oakhill, J. S. & Steinberg, G. R. Adipose tissue as an endocrine organ. *Molecular and Cellular Endocrinology* **316**, 129–139 (2010).
149. Pan, T. *et al.* Inhibitory effects of naringenin on estrogen deficiency-induced obesity via regulation of mitochondrial dynamics and AMPK activation associated with white adipose tissue browning. *Life Sciences* **340**, 122453 (2024).
150. Yu, C. *et al.* Mechanism by Which Fatty Acids Inhibit Insulin Activation of Insulin Receptor Substrate-1 (IRS-1)-associated Phosphatidylinositol 3-Kinase Activity in Muscle *. *Journal of Biological Chemistry* **277**, 50230–50236 (2002).
151. Stephens, J. M., Lee, J. & Pilch, P. F. Tumor Necrosis Factor- α -induced Insulin Resistance in 3T3-L1 Adipocytes Is Accompanied by a Loss of Insulin Receptor Substrate-1 and GLUT4 Expression without a Loss of Insulin Receptor-mediated Signal Transduction *. *Journal of Biological Chemistry* **272**, 971–976 (1997).
152. Lin, W. *et al.* Functional role of skeletal muscle-derived interleukin-6 and its effects on lipid metabolism. *Frontiers in Physiology* **14**, (2023).