



UPPSALA
UNIVERSITET

En litteraturstudie över de fysiologiska
faktorererna som är viktiga i utvecklandet av
polycystiskt ovariesyndrom (PCOS)

Elin Jonsson

Independent Project in Biology
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, höstterminen 2015
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

En litteraturstudie över de fysiologiska faktorerna som är viktiga i utvecklandet av polycystiskt ovariesyndrom (PCOS)

Elin Jonsson

Självständigt arbete i biologi 2015

Sammandrag

Den endokrina sjukdomen polycystiskt ovariesyndrom (PCOS) är ett heterogent syndrom som omfattar ett flertal olika fysiologiska fenotyper. Nutida forskare räknar med att 5-7 % av alla fertila unga kvinnor drabbas av PCOS. Diagnosen innebär att man som kvinna får cystor på äggstockarna i samband med förhöjda nivåer av hormonerna, androgener (testosteron). Syftet med denna litteraturstudie har varit att undersöka vilka fysiologiska faktorer som är viktiga i utvecklandet av PCOS. Vad ligger bakom de ökade androgennivåerna? Samt vidare hur ser kopplingarna mellan androgennivåer och adipös vävnad, fettvävnad, ut hos patienter med PCOS? Forskningen pekar just nu mot flera möjliga bakgrundsorsaker. PCOS kan initieras som en följd av en genetisk predisposition av ökad androgenutsöndring från ovarierna men också som en följd av metaboliska förändringar som påverkar insulinnivåerna vilket också därmed indirekt påverkar den androgena produktionen. De observerade fysiologiska följd effekterna hos PCOS-patienter är ökade nivåer av både androgener (testosteron), luteiniserande hormon (LH) och möjligen en utvecklad insulinresistens hos hypotalamus. Den ökade androgenbildningen i tekacellerna hos PCOS-patienterna tros bero på ökade nivåer av steroidzymer. Ärftliga bakomliggande komponenter i sjukdomen har bekräftats bl.a. genom tvillingstudier och möjliga inblandade gener såsom *FSHR*, *LHCGR*, *INSR*, *DENNDIA* har identifierats. Man har dessutom funnit att *LHCGR*-genen är statistiskt signifikant hypometylerad, dvs. att en metylgrupp på 5-metylcytosinnukleotiden saknas, hos vissa undersökta PCOS-patienter i förhållande till kontrollgruppen. Kopplingarna mellan PCOS och ökad bildning av adipös vävnad (fettvävnad) är starka. Ny forskning pekar även ut adipokinen chemerin som en möjlig regulator av follikel steroidhormonsyntes. Sjukdomens heterogenitet gör det svårt att sortera ut och fastställa vad som är orsak och verkan i sjukdomsutvecklingen. För detta krävs vidare forskning.

Inledning

Den forskning som bedrivs idag på sjukdomar har till stor del sitt fokus på mäns ohälsa. De kvinnorelaterade sjukdomarna hamnar därmed i skymundan. Mot denna bakgrund vill jag i detta arbete belysa en av de dolda kvinnosjukdomarna, närmare bestämt polycystiskt ovariesyndrom (PCOS).

Den endokrina sjukdomen PCOS är ett heterogent syndrom vilket betyder att den omfattar ett flertal olika fysiologiska karaktärsdrag. När en kvinna får diagnosen PCOS innebär det att hon har fått cystor på äggstockarna i samband med hormonrubbingar i form av ökad mängd testosteron med ännu obestämd bakgrundorsak. Detta är en av de vanligast förekommande endokrina störningarna hos kvinnor och om man har PCOS brukar man märka av följande symtom; viktuppgång, långt mellan menstruationerna eller utebliven mens, ökad kroppsbehåring, akne och infertilitetsproblematik. Diagnosen PCOS ställs först när minst två av följande symtom förekommer utan att det finns någon annan sjukdom som kan förklara symtomen:

- Många små cystor på äggstockarna som syns på ultraljud, dvs. polycystisk förekomst i ovarierna (PCO).
- Långt mellan menstruationerna eller utebliven menstruation, dvs. oligomenorré.
- Ökad kroppsbehåring av manlig typ, till exempel skäggväxt och hår på bröstet, eller akne och/eller ett blodprov som visar ökad mängd aktivt testosteron, dvs. hyperandrogenism (van Houten & Visser 2014).

Polycystiskt ovariesyndrom är ett syndrom där PCO kopplats samman med förhöjda nivåer av manliga könshormoner (androgener, som exempelvis testosteron), vilket kan förekomma om äggstockarna producerar högre halter av androgener än normalt.

Sjukdomen debuterar redan innan eller under puberteten och en högre noggrannhet i undersökningen av flickor som uppvisar riskfaktorer behöver därmed tillämpas (Bronstein *et al.* 2011). Eftersom kvinnan inte behöver ha alla symtomen för att få diagnosen PCOS kan man alltså exempelvis ha ökad kroppsbehåring men regelbunden menstruation. Man kan också uppvisa en mensrubbing utan några tecken på ökad mängd testosteron. Ungefär hälften av alla kvinnor med PCOS är överviktiga när de får diagnosen.

Idag räknar forskare med att 5-7 % av alla unga fertila kvinnor drabbas av PCOS (McAllister *et al.* 2015). De relativt vanligt förekommande hälsoproblemen som många gånger följer med sjukdomen PCOS talar ytterligare för vikten av att belysa dess problematik och forska vidare på dess uppkomst som ett led i att förbättra kvinnors hälsa och hitta tillräckligt effektiva behandlingsmetoder.

Med utgångspunkt i den ännu okända bakgrundsorsaken till PCOS är syftet med denna litteraturstudie att sammanfatta och belysa några faktorer som just nu anses vara viktiga för utvecklandet av sjukdomen PCOS. Vad finns det för förklaringar till de ökade nivåerna av androgener och luteiniserande hormon (LH) och hur ser kopplingarna till ökad adipös vävnad ut hos PCOS-patienter?

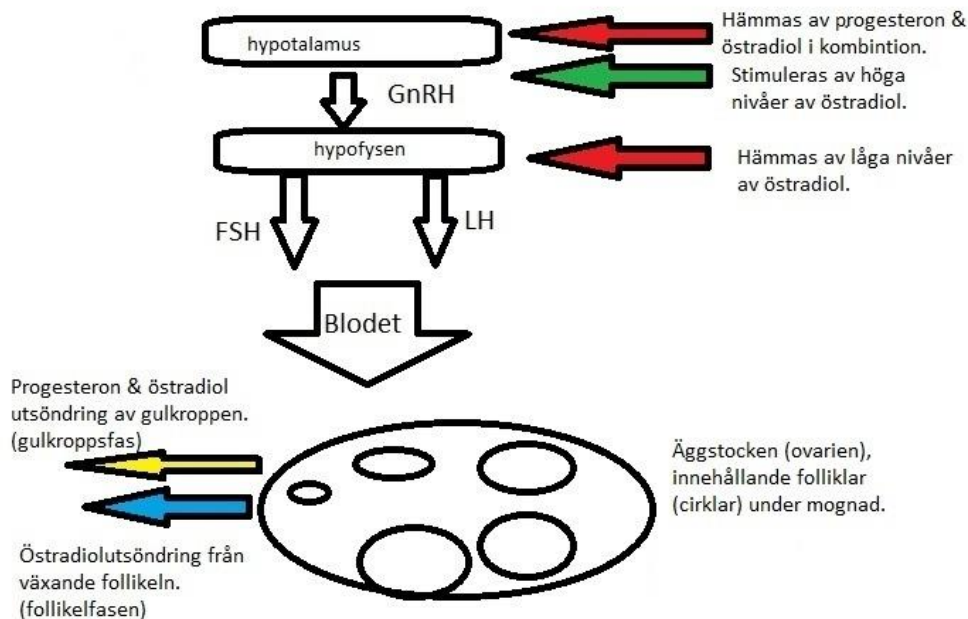
De fysiologiska faktorerna involverade i utvecklandet av PCOS

Som en följd av sjukdomens heterogenitet är den exakta bakomliggande orsaken till utvecklandet av PCOS fortfarande inte helt fastställd. Forskningsresultaten pekar just nu mot flera möjliga bakgrundsorsaker. Sjukdomen kan initieras som en följd av en genetisk predisposition som leder till ökad androgenutsöndring från ovarierna men också som en följd av metaboliska förändringar som påverkar insulinnivåerna och därmed indirekt den androgena produktionen (Jayasena & Franks 2014). De fysiologiska följd effekterna såsom ökade nivåer av androgener (testosteron), luteiniserande hormon (LH) och en utvecklad insulinresistens hos hypotalamus kommer vidare att behandlas i denna uppsats. Initieringen av PCOS kan leda till en ond cirkel av hälsoproblem, såsom risk för hjärt- och kärlsjukdomar, typ 2 diabetes, övervikt (van Houten & Visser 2014). Sjukdomen är dessutom den vanligaste orsaken till infertilitet genom att den orsakar utebliven ägglossning (Ben-Shlomo & Younis 2014). Alla dessa hälsoproblem är relativt vanligt förekommande hos kvinnor i fertil ålder.

Ägglossningscykeln hos kvinnor och dess hormonella reglering via HHG-axeln *Hormonella regleringen*

Den så kallade hjärna-hypofys-gonad (HHG)-axeln innefattar hypotalamus, främre hypofysen och gonaderna (könskörtlarna dvs. äggstockarna hos kvinnor) (Figur 1). HHG-axeln styr

reproduktionen hos både kvinnor och män. Detta sker genom att hormonerna som produceras av dessa körtlar aktiverar receptorer som finns i specifika celler i gonaderna eller andra vävnader. Hypotalamus utsöndrar gonadotropinfrisättande hormoner (GnRH), som vidare stimulerar främre hypofysens celler att frisätta små mängder av gonadotropinerna follikelstimulerande hormon (FSH som stimulerar follikeltillväxt) och luteiniserande hormon (LH) ut i blodet. LH stimulerar progesteronsyntes och styr gulkroppsfunktionen. Genom en snabb ökning av koncentrationsnivån i mitten av menstruationscykeln utlöser LH även själva ägglossningen. Gonadotropinerna reglerar bildandet av gameter direkt genom att binda till receptorer i vävnader i gonaderna och indirekt via sin reglering av könshormonsproduktion.



Figur 1. Schematisk bild över hypotalamus, hypofys och gonad (äggstocken) axelns (HHG-axeln) reglering av ägglossningscykeln. De röda pilarna illustrerar hur progesteron och östradiol hämmar utsöndring av hormoner hos både hypotalamus och hypofysen. Den gröna pilen illustrerar hur höga nivåer av östradiol stimulerar hypotalamus utsöndring av GnRH (gonadotropinfrisättande hormon) som leder till frisättande av FSH (follikelstimulerande hormon) och LH (luteiniserande hormon). FSH och LH frisätts i blodet för att sedan kunna verka på follikelns mognad i äggstocken.

Hos kvinnor är de huvudsakliga könshormonerna progesteron och östrogener och då främst i form av östradiol. Under follikelfasen när follikeln växer och oocyterna mognar utsöndras östradiol från dess celler, vilket sker med en långsam gradvis ökning av östradiolnivån. När östradiolet fortfarande har en låg nivå i blodet utövar det en hämmande effekt på utsöndringen av FSH och LH från hypofysen och nivåerna av dessa hålls därmed fortsatt låga. I takt med att follikeln växer ökar östradiolutsöndringen kraftigt och hypotalamus svarar med att utsöndra ännu mer GnRH vilket ökar påslaget främst av LH, men också av FSH. Effekten är större för LH eftersom den höga koncentrationen av östradiol ökar GnRH känsligheten hos de LH-frisättande cellerna i hypofysen. I detta stadie svarar dessutom folliklarna starkare på LH än FSH för att fler av deras celler har receptorer för just LH. Denna samordnade kommunikation av follikelmognaden är ett exempel på positiv feedback som här kulminerar i ägglossning.

Från follikelmognad till ägglossning

Ett vätskefyllt hålrum skapas hos den mognade follikeln i takt med att den växer och ökar i storlek. Vidare bildas en bula nära ytan av äggstocken och som en respons till den höga LH-koncentrationen spricker väggen i äggstocken och oocyten (ägget) släpps ut. Det går

vanligtvis håll på follikeln och den faller ihop när ägget skjuts ut från blåsan. Ägget fångas upp av äggledaren och börjar sin vandring mot livmodern. Denna process följs sedan av en negativ feedback loop där LH stimulerar resterna av follikeln att bilda gulkropp som sedan utsöndrar progesteron och östradiol, som vidare hämmar hypotalamus och hypofysen från att utsöndra FSH och LH. Ibland händer det att ägglossningen uteblir eller att follikeln inte faller ihop efter ägglossningen. En cysta kan då bildas genom att follikeln drar till sig vätska från den omgivande vävnaden och ökar i storlek.

Follikelns tekaceller och granulosaaceller

För östrogenbildning och follikelmognad i ovariet (äggstocken) krävs två olika celltyper i folliklarna, så kallade tekaceller och granulosaaceller. På granulosaacellerna finns receptorer för både FSH och LH och de senare ökar snabbt i antal när ovulationen (ägglossningen) närmar sig. Receptorer för LH finns också i höga koncentrationer på cellerna i gulkroppen. Då FSH binder till sin receptor stimuleras granulosaacellerna till östrogenproduktion, medan LH stimulerar ovariets tekaceller till att producera det androgena substrat som behövs för att bilda östrogen. Tekacellerna och granulosaacellerna spelar en central roll för follikelns utveckling och därmed även för fertiliteten hos kvinnor (McAllister *et al.* 2015). Granulosaacellerna bildar också inhibin vilket är ett proteinkomplex som undertrycker syntes och frisättning av FSH från hypofysens framlob. Inhibin kan även bildas i hypofysen, placentan och gulkroppen.

De senaste fem årens forskning lyfter fram tre huvudsakliga problemområden för personer med PCOS. Flera studier visar på en observerad hyperandrogenism (dvs. överskott av androgener), förhöjda nivåer av luteiniserande hormon (LH) samt en utvecklad resistens mot leptin och insulin hos hypotalamus kopplat till adipös vävnad (Wang P *et al.* 2014, van Houten & Visser 2014, McAllister *et al.* 2015). Härefter kommer dessa områden nu att behandlas var och en för sig i relation till forskningens möjliga förklaringsmodeller.

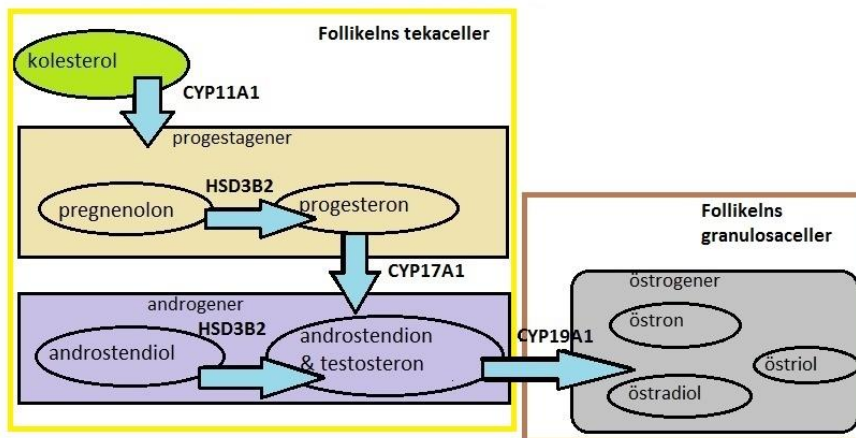
Hyperandrogenism- överskott av androgener

Steroidhormonsyntesen och dess inblandade enzymer

Den androgena produktionen i äggstockarna är lokaliserad till tekacellerna och involverar flera cytokrom P450 (CYP) enzymer, dvs. CYP11A1, CYP17A1, CYP19A1, samt 3 beta- and steroid delta-isomeras 2 (HSD3B2) och transportproteinet steroidogenic acute regulatory protein (STAR). Kolesterol är en naturlig steroid precursor som via CYP11A1 omvandlas till progesteron och pregnenolon (Figur 2). Detta innebär att ju mer av CYP11A1-enzymet som uttrycks desto mer progesteron och pregnenolon bildas vilka sedan kan omvandlas till testosteron och androstendion via CYP17A1 (Figur 2) (Liu *et al.* 2015). Med avseende på uttrycket av de androgenbildande enzymerna har forskning påvisat skillnader mellan normala tekaceller och tekaceller hos patienter med PCOS. Uttrycket av mRNA för CYP11A1, CYP17A1, HSD3B2, 20alfa-hydroxysteroid-reduktas (AKR1C1) visade sig vara över normal nivå medan uttrycket av STAR (STARD1) var normalt (Nelson *et al.* 1999, Nelson *et al.* 2001).

De producerade androgenerna behöver sedan aromatiseras av enzymet CYP19A1 för att bli östrogen och vidare östradiol. Detta sker i granulosaacellerna (Figur 2). De båda follikelcellernas roll i steroidhormonsyntesen har undersökts av Liu *et al.* (2015) där de genom mätningar av androgenkoncentrationer undersökte hur cytokiner, steroider samt tillväxtfaktorer samverkar mellan granulosaacellerna och tekacellerna. Resultatet visar att granulosaacellerna bistår tekacellerna genom att stimulera dem till ett ökat uttryck av STAR, CYP11A1, CYP17A1 och HSD3B2 vilket leder till att mer androstendion och testosteron

kan bildas. Då både granulosa-celler och teka-celler odlas tillsammans bildas mer androgener än när granulosa-celler saknas.



Figur 2. Schematisk bild över steroidhormonsyntesen. De blå pilarna illustrerar enzymatisk aktivitet. Den androgena bildningen sker i follikelns teka-celler (den gula rektangeln), androgenerna kan sedan aromatiserats till östrogen och vidare till östradiol i follikelns granulosa-celler (den bruna rektangeln).

Sammanfattningsvis kan de ökade nivåerna av androgener hos personer med PCOS möjligen förklaras genom de observerade skillnaderna i mängden steroidzymer, dvs. ökad mängd enzymer gör att mer androgener kan genereras och en obalans av steroidhormonsyntesen uppstår. Eftersom flera steroidhormon (exempelvis östradiol) har viktiga reglerande funktioner hos HHG-axeln (Figur 1) som styr den normala ägglossningscykeln kan denna obalans möjligen förklara symptom såsom utebliven ägglossning hos PCOS-patienter.

Gener som är associerade med utvecklandet av PCOS

Genom genetiska tvilling- och familjestudier har också PCOS ärftliga komponenter bekräftats och flera gener som man misstänker är viktiga för utvecklandet av PCOS har identifierats med genome-wide association studier (GWAS). GWAS är en metod där man jämför två olika gruppers genuppsättning efter det att man först delat in dem i grupper efter observerade specifika fysiska egenskaper. I just detta fall, studerade man en grupp med PCOS och en kontrollgrupp utan sjukdomen. Efter indelningen i grupper undersökte man om det fanns några genlokus med vanliga genetiska polymorfismer inom grupperna som kunde kopplas till just den ökade androgenbildningen hos personer PCOS. Härefter följer en granskning av de funktionella rollerna hos de starkaste PCOS-kopplade generna som hittills hittats, follikelstimulerande hormonreceptorn (FSHR), luteiniserande hormon/koriongonadotropin receptorn (LHCGR), insulinreceptorn (INSR) och DENN domän innehållande protein 1A DENND1A (McAllister *et al.* 2015).

Follikelstimulerande hormonreceptorn

Även om FSHR identifierats som en genlokuskandidat har dess exakta roll i utvecklandet av PCOS ännu inte fastställts. När man undersökt flera varianter av FSHR verkar SNP rs6166 varianten varit den som visat sig vara starkast kopplad till utvecklandet av PCOS. Bevisen som talar för FSHR som en kandidatgen för PCOS har sina grunder i den uppstannade follikelutvecklingen vid avsaknad av en funktionell FSHR. Den exakta rollen som FSHR har i

patofysiologin för PCOS är dock ännu inte fastställd och behöver vidare undersökas (McAllister *et al.* 2015).

Luteiniserande hormon/koriongonadotropin receptorn

Denna gen kodar för den G-protein kopplade receptor som är involverad i follikelmognaden genom att aktiveras av LH och koriongonadotropin (CG). Denna receptor är huvudsakligen uttryckt i testiklarna och äggstockarna. När mutationer uppstår som inaktiverar LHCGR hos kvinnor kan oligomenorré (oregelbunden menstruation), ökade LH nivåer samt förstörade äggstockar observeras, symtom som direkt kan kopplas till PCOS. Vidare är denna receptor nödvändig för att ägglossningen skall kunna ske. Hög mängd av receptorn behövs när toppen i LH koncentration uppstår under mitten av ägglossningscykeln när ägget skall ge sig ut ur äggstocken.

Insulin receptorn

Insulinreceptorn har en funktion i att bevara glukoshomeostasen i alla kroppens celler. I sjukdomsutvecklingen hos en av fenotyperna av PCOS, hyperandrogenism insulinresistens acanthosis nigricans (HAIR-AN), verkar INSR ha en betydande roll. Insulinsignalerings vikt i PCOS har påvisats genom att mutationer i INSR-genen är starkt sammankopplade till just HAIR-AN syndromet (McAllister *et al.* 2015).

DENN/MADD domän innehållande protein 1A

Är den gen som kodar för proteinet DENND1A. DENND1A omvandlar inaktiva GDP-bundna protein till dess aktiva GTP-bundna form så att endocytos processen (dvs. intagandet av proteiner och lipider i cellen) blir möjlig. Hos vissa personer som har PCOS uppvisar tekacellerna ett ökat uttryck av en gen som kodar för en alternativ form av DENND1A proteinet, DENND1A.V2 (McAllister *et al.* 2015). När normala celler utsattes för ökat uttryck av DENND1A.V2 visade det sig att även genuttrycket för steroidenzymet CYP17A1 ökade vilket i sin tur ledde till en ökad biosyntes av androgener, medan den normala fenotypen erhöles i PCOS-tekaceller genom att tysta ner uttrycket av DENND1A.V2. Med denna forskning visades hur en ökning av DENND1A.V2 är tillräckligt för att framkalla en PCOS fenotyp hos mänskliga tekaceller. Så även om tidigare forskning med GWAS bidrog med identifieringen av DENND1A som ett möjligt lokus för PCOS tillfördes här information om dess roll i utvecklandet av PCOS som vidare menas kunna bidra med kunskap för att hitta effektiva behandlingsmetoder och bättre diagnostiserings tester (McAllister *et al.* 2014).

Vidare föreslår McAllister och kollegor (2014) att de ovan nämnda generna utgör ett hierarkiskt signalerande nätverk som av nedströms signalvägskaskader sammanstrålar för att reglera tekacellernas androgen bildande. Med fokus på de genetiska komponenterna bakom androgener överskott hos kvinnor med PCOS menar man att hyperandrogensimen har sitt ursprung i tekacellernas överproduktion även om andra vävnader såsom zona reticularis i binjuren också bidrar med viss produktion av androgener. Prekursorerna till testosteronet bildas i zona reticularis i binjurebarkens innersta lager hos människan. Kopplingen mellan de båda androgenutsöndrande organen har påvisats med studier där p-piller och insulin-sentiserande medel visat sig minska binjurens och ovariets produktion av androgener (McAllister *et al.* 2015).

Tidigare forskning indikerar att den ökade androgenbildningen i äggstocksvävnad hos kvinnor med PCOS beror på att folliklarna växer för snabbt som en följd av en ökad GnRH puls frekvens, dvs. ökad frisättning av GnRH från hypotalamus (Figur 1). Detta i sin tur leder till

ökad LH utsöndring som i kombination med hög förekomst av LH-receptorer ökar på follikeltillväxten i ett för tidigt stadie (Blank *et al.* 2006). Med ökade follikeltillväxt ökar antalet granulosaaceller och tekaceller som vidare kan producera mer androgener.

Förhöjda nivåer av luteiniserande hormon (LH) kopplat till förändringar i epigenetisk reglering av LHCGR genen hos vissa PCOS-patienter

Den ökade androgenbildning hos PCOS patienter kan också vara en följd av höjda insulinnivåer då insulin i synergi med LH stimulerar steroidbildningen hos granulosaacellerna i äggstocken (Franks *et al.* 1999). Med det sagt kommer denna del ha fokus på förhöjda LH nivåer för att sedan gå över i ett avsnitt som handlar om utvecklad resistens mot leptin och insulin hos hypotalamus kopplat till adipös (fett) vävnad.

Trefaldig ökning av LH nivåer

Som tidigare nämnts är ett av de observerade symtomen hos patienter med PCOS ökade LH-nivåer; hos 60 % av alla patienter med PCOS har en trefaldig ökning av LH-nivåerna iakttagits (van Houten & Visser 2014). Follikelbildandet är beroende av hur LHCGR och dess ligand LH interagerar för att fungera normalt. De förhöjda LH-nivåerna som åtföljer diagnosen PCOS har ytterligare bekräftats i andra studier där också genetiska/epigenetiska förklaringar till LH-nivåernas höjning har undersökts. Dock kunde ingen ny förvärvad mutation hos patienter med PCOS observeras (Wang P *et al.* 2014).

Är hypometylering av LHCGR en förklaring till känsligheten för utvecklandet av PCOS?

Epigenetiska förändringar är förändringar som påverkar fenotypen utan att genotypen ändras. Dessa kan vara nedärvda eller förvärvade. Det handlar om att gensekvenser uppvisar ett hypo (under)- eller hyper(över)metyleringsmönster, vilket vanligtvis leder till förhöjt respektive sänkt genuttryck. Hos människan är upp till 80 % av allt DNA metylerat, och metyleringen är huvudsakligen lokaliserad till CpG-siterna i DNA. Om DNA som vanligtvis är metylerat är ometylerat använder man termen hypometylering, vilket vidare innebär att en metylgrupp på 5-metylcytosinnukleotiden saknas. Termen används också för att beskriva det fenomen som uppstår när en minskning i proportionen av metylerade kontra ometylerade cytosiner observeras (Bird 2002).

I en studie av Wang *et al.* (2015) undersöktes metyleringsgraden vid sex CpG-siter i promotorregionen av *LHCGR*. Studierna gjordes på perifera blodceller. En lägre metyleringsgrad observerades över alla sex CpG-siter med statistiskt signifikant lägre nivå vid speciellt två (CpG-174 och CpG-111), hos personer med PCOS i jämförelse med kontrollerna.

De förhöjda transkriptionsnivåerna av *LHCGR* i granulosaaceller hos kvinnor med PCOS följer mönstret av den hypometylering av *LHCGR* som observerats hos kvinnor med PCOS. Eftersom perifera blodceller och granulosaaceller kommer från olika ursprungsvävnader men ändå i denna studie uppvisade liknande hypometyleringsmönster hos patienter med PCOS tyder det på att hypometyleringen sker tidigt, eventuellt före PCOS debuterar. Detta kan betyda att den hypertranskription av *LHCGR* som ses i follikelfasen hos granulosaaceller och tekaceller hos kvinnor med PCOS kan bero på hypometylering av specifika CpG-siter i *LHCGR*-genens promotor (Wang P *et al.* 2014).

Annan epigenetisk forskning

Även andra epigenetiska förändringar tros vara involverade i mekanismen bakom den äggstocksdisfunktion som observerats hos kvinnor med PCOS och hyperandrogenism. Vid

undersökandet av 179 infertila kvinnor varav 32 med sjukdomen PCOS påvisades att ökade nivåer av testosteron leder till epigenetiska förändringar av även andra gener i granulosa celler, såsom peroxisome proliferator-activated receptor gamma 1 (PPARG1), nuclear corepressor 1 (NCOR1) och histone deacetylase 3 (HDAC3). Samband hittades mellan de androgeninducerade epigenetiska förändringarna som uppstod, där PPARG1 var hypermetylerad och NCOR1 samt HDAC3 blev hypometylerade som en följd av förhöjda nivåer av androgener, med samtidig uppvisad infertilitet hos både kvinnor och möss (Qu *et al.* 2012).

Den nyaste forskningen pekar också på traf2- och Nck-interagerande kinasers (TNIK) roll hos utvecklandet av PCOS. Även om den epigenetiska mekanismen bakom regleringen av TNIK fortfarande är relativt okänd har Li *et al.* (2015) visat att mRNA-uttrycket av TNIK är signifikant ökat hos PCOS ovarievävnad jämförelse med kontrollerna. Metyleringsgraden hos cg10180092 (en CpG-siten i TNIK-genen), som visat sig vara hypermetylerad i PCOS ovarievävnad, är kritisk för regleringen av transkriptionen av TNIK (Li *et al.* 2015).

Hypotalamus resistens kopplat till adipös vävnad

PCOS är ofta kopplat till anovulation (ingen ägglossning) och infertilitet, men även till metaboliska komplikationer. Metaboliska förändringar, såsom typ 2 diabetes, övervikt och ökad abdominal fettdistribution är alla kopplade till funktioner hos hypotalamus, vilken är den del av hjärnan som reglerar ämnesomsättningen och blodtrycket, men även andra funktioner. Med det som bakgrund kommer förklaringsmodeller kring utvecklad resistens av leptin och insulin hos hypotalamus i koppling till HHG-axeln att behandlas härnäst.

Kan HHG-axeln omprogrammeras?

Många djurstudier visar att HHG-axeln kan omprogrammeras. När Roland & Moenter (2011) exponerade möss för dihydrotestosteron (DHT) i neonatalfasen, vilket resulterade i en omprogrammering av HHG-axeln, kunde de också visa hur omprogrammeringen kunde motverkas genom metforminbehandling. Metformin har en aktiverande funktion av AMP-aktiverande protein kinas som vidare reducerar den ökade GnRH aktiviteten (Roland & Moenter 2010). Även om de metaboliska förändringarna uppstår främst vid behandling med androgener verkar inte tiden för exponeringen spela någon större roll. Dock fås den fenotyp av möss som mest liknar kvinnor med PCOS vad gäller fetma, glukosintolerans och alternerade adipokiner, när mössen exponeras med DHT prepubertalt (Van Houten & Visser, 2013).

Fettvävnadsutveckling som en följd av androgen exponering

Efter androgenexponering hittades multipla följd effekter hos adipocyterna (fettcellerna) från friska kvinnor i åldrarna 32-42 år. Adipocyterna uppvisade skadad insulinmedierad glukosupptagsfunktion (Corbould 2007). Samma observationer har också gjorts hos flera djurmodeller där ökad mängd adipocyter och skadad glukostolerans observerats som följd av en androgenexponering före och/eller direkt efter födseln. När fettvävnad ansamlas i abdominala depåer kallas det androidkropps fett distribution, vilket är vanligt förekommande hos kvinnor med PCOS av den typ som har hyperandrogenism (van Houten & Visser 2014).

Nya studier visar på skillnader i genuttryck och proteininnehåll hos buk fett för kvinnor med PCOS i jämförelse med kvinnor utan hyperandrogenism. Det kvarstår dock att fastställa om de höjda insulin nivåerna i blodet beror på hyperandrogenismen eller vice versa. Den vanligt förekommande buk fetman hos kvinnor med PCOS kan utvecklas till insulin resistens som

följaktligen kan leda till hyperandrogenism hos både ovarierna och binjuren. Insulin är känt att agera i samverkan med LH för att stimulera syntes av androgener hos tekaceller *in vitro*. Hyperandrogenism kan också leda till en ökad disposition för abdominal fetma vilket gör det svårt att avgöra vad som är följsymtom och vad som är bakgrundsorsak (Escobar-Morreale & Millán 2007).

Med det sagt bör den adipösa vävnadens viktiga endokrina funktion belysas, dvs. hur den utsöndrar en rad olika ämnen som stör den normala regleringen av andra hormoner vilket vidare kan leda till en rad andra negativa metaboliska konsekvenser, exempelvis utvecklad insulinresistens. Den vanligt förekommande bukfetman hos PCOS-patienter kan även bidra till bl.a. högt blodtryck, högt blodsocker, en utvecklad insulinresistens och proinflammatoriska tillstånd. Förutom att svara på centrala nervsystemet och signaler från andra vanliga hormonsystem utsöndrar adipös vävnad olika faktorer som exempelvis leptin, resistin, andra cytokiner samt adiponectin. Metabolismen av glukokortikoider och könshormoner sker också i adipös vävnad. (Kershaw & Flier 2004). Adiponectin har visats inhibera insulin-inducerad steroidhormonsyntes och reglerar HHG-axeln genom att inhibera LH och GnRH frisättning (van Houten & Visser 2014).

Adiponectin är en familj av adipokiner som fungerar som cellsignalerande proteiner och utsöndras från adipös vävnad. Olika familjer av adipokiner är exempelvis leptin, interleukin samt chemerin. I vit fettvävnad, lever och lungor hos människor har ett högt uttryck av chemerin mRNA observerats medan dess receptor (CMKLR1) återfinns starkast uttryckt hos immuncellerna i adipös vävnad (Bozaoglu *et al.* 2007).

Chemerin är inblandat i adipocytens differentiering genom parakrin och autokrin signalering. Det har också en stimulerande roll i nedbrytningen av fett (lipolysen). Hos odifferentierade adipocyter är chemerintuttrycket lågt men det ökar efter hand och under differentieringen. Avsaknad av chemerin eller chemerinreceptorer (CMKLR1) stör adipocytdifferentieringen och leder till minskat uttryck av den insulinreglerande glukotransportören GLUT4 och proteinet adiponectin som reglerar glukosnivåerna och nedbrytningen av fettsyror. Ett minskat uttryck av chemerin och CMKLR1 gör också att mängden interleukin- och insulinreceptorer ökar (Goralski *et al.* 2007, Bozaoglu *et al.* 2007). För att vissa proteinkinaser skall kunna agera i fettnedbrytningen behöver de vara fosforylerade. Chemerin stimulerar fosforyleringen av de inblandade proteinkinaser (Goralski *et al.* 2007).

Chemerin har i nyare djurstudier kopplats till diagnosen PCOS som en möjlig regulator av follikelns steroidhormonsyntes. Hos både DHT-inducerade möss (dvs. möss med en inopererad dihydrotestosteronfylld kapsel) och kontrollerna kunde genuttrycket av chemerin och dess receptor observeras. De DHT-inducerade mössen är en modell som återskapar den metaboliska och reproduktiva fenotypen av människor med PCOS. Dock observerades en signifikant ökad mängd av mRNA för chemerin och dess receptor i äggstockarna hos DHT-mössen jämfört med kontrollerna. Tilläggningsvis undersöktes den steroidgena förmågan hos granulosaaceller i DHT-mössen och där fann man att genuttrycket av flera av de viktigaste steroidenzymerna, såsom CYP11A1, CYP19A1, STAR, HSD17B2 och HSD3B2, var markant lägre än hos kontrollerna, även om deras granulosaaceller var mer mottagliga för FSH. Man kunde visa att chemerin minskar den basala östradiolutsöndringen i granulosaaceller från DHT-möss och vidare fastställdes att chemerin hämmar FSH-framkallad progesteron- och östradiolutsöndring i steroidhormonsyntesen hos granulosaacellerna i odlade preantrala folliklar (dvs. folliklar som ännu inte utvecklat det vätskefyllda hålrummet). Chemerin kan

därmed ses som en negativ reglerare av FSH-inducerad steroidhormonsyntes i folliklarna och därmed bidra till sjukdomsförloppet av PCOS (Wang Q *et al.* 2012).

Diskussion

Syftet med denna litteraturstudie var att undersöka vilka fysiologiska faktorer som är viktiga i utvecklandet av PCOS. Forskningsfältet omfattar just nu många olika förklaringsmodeller, vilket skulle kunna ses som en följd av att PCOS är ett heterogent syndrom. Det vill säga det är en diagnos som ställs utifrån uppfyllandet av några av flera typiska symtom. Detta betyder vidare att diagnosen innefattar flera karaktärsdrag och har många olika specifika fysiska egenskaper. Med det som bakgrund är det svårt att hitta en konkret utmärkande biologisk förklaringsmodell som förklarar alla de uppkomna symptom som uppstår då kvinnor drabbas av PCOS. Den forskning som bedrivs idag pekar mot att PCOS påverkar flera organ vilket leder till en rad olika fysiologiska följd effekter. Detta faktum försvårar situationen och gör det mer invecklat att bestämma vad som är orsak och verkan inom sjukdomsförloppet.

Om vi först blickar mot den ökade androgenbildningen och ställer det i relation till den observerade ökningen av steroidzymer hos vissa PCOS patienter, så skulle den kunna vara en följd av en ökad bildning av folliklar och follikelvävnad. Follikelvävnaden består av bl.a. granulosa celler och teka celler. Den ökade mängden granulosa celler bidrar till ökad mängd steroidzymer och ju mer enzymer desto mer androstendion och testosteron kan bildas av teka cellerna.

Som tidigare nämnts har metoden GWAS använts flitigt inom den nyaste PCOS forskningen. Flera PCOS-länkade genkandidater har kommit i fokus då de visat sig ha andra genvarianter hos patienter med PCOS jämfört med personer utan PCOS. Bland dessa hittar vi FSHR vars exakta funktion i just PCOS ännu inte fastställts men studier visar ändå på hur avsaknaden av FSHR leder till att follikelutvecklingen stannar upp vilket ändå gör att den är aktuell för denna diskussion. Vidare har en annorlunda genvariant av FSHR identifierats (SNPrs6166) som kopplats till PCOS vilket talar för att mer forskning inom just denna gen är nödvändig.

Genen för INSR har också kopplats till en av fenotyperna av PCOS (HAIR-AN) men precis som ovan nämnts innebär inte det att den kan förklara alla de möjliga fenotyperna av PCOS. En annan stark genkandidat är DENND1A som visat sig vara högre uttryckt i just teka celler hos PCOS patienter än hos personer som inte har PCOS. Studier visar även att en variant av DENND1A som heter DENND1A.V2 kopplas till en ökad förekomst av CYP17A1 vilket ökar den androgena bildningen, ett av de kända symptomen för PCOS, då CYP17A1 är det enzym som omvandlar progesteron till testosteron (Figur 2).

Steroidhormonerna bildas och regleras i balans till varandra i ett känsligt, anpassligt biologiskt system som förutom nivåerna av steroidhormoner och enzymer också involverar insulinnivåerna i blodet. Om man går in och påverkar det biologiska systemet på en nivå kan det därmed få följd effekter på andra delar i systemet. Om man till exempelvis går upp i vikt och får fler adipocyter (fettceller) som sedan kan utsöndra flera cytokiner och hormoner (ex. leptin) kommer det att bidra till att öka mängden androgener som bildas och därmed leda till en obalans i det hormonella regleringssystemet.

Hos kvinnan kan detta få följd effekter, såsom en ökad follikelbildning och möjligen oförmåga till fullföljd ägglossning, symptom som direkt kan kopplas till PCOS. Så även om det som

tidigare nämnts behövs androgener för bildning av östrogen och östradiol för att ägglossningscykeln ska fullföljas är balansen och regleringen av androgenerna och steroidenzymerna central.

Genom de GWAS studier som tidigare nämnts har det även hos genen för *LHCGR* påvisats skillnader från det normala hos patienter med PCOS, vilket också kopplats samman med oligomenorré, förstörade äggstockar och anovulation. När skillnaderna i *LHCGR* kopplas till de trefaldigt ökade LH-nivåerna som observerats hos personer med PCOS verkar forskningen just nu peka mot att det beror av att olika delar av genomet är hypometylerat hos personer med PCOS. Flera studier visar förhöjda transkriptionsnivåer av just *LHCGR* i granulosa-celler hos kvinnor med PCOS vilket skulle kunna vara en följd av den hypometylering av *LHCGR* som observerats hos kvinnor med PCOS.

Med bakgrund i det ovan nämnda pekar forskningsfältet just nu i riktningen mot en sammansatt förklaringsmodell för PCOS som ett helt syndrom där en ökad mängd androgener bidrar till utvecklandet av ökad bildning av fettvävnad runt organen i abdomen. Det ökade antalet fettceller leder vidare till ökade nivåer av autokriner, parakriner och endokriner mediatorer som påverkar metabolismen, som exempelvis leptin, men minskade nivåer av adiponectin, vilket indirekt bidrar till insulinresistens och vidare leder till ökade mängder insulin i blodet. Insulinet kan sedan påverka äggstockarna till att öka androgenbildningen ytterligare. Det blir en slags ond cirkel som binder samman PCOS med det abdominala överskottet av adipocyter, där flera faktorer stör den normala regleringen av HHG-axeln.

Obesitas (fetma) är ett av de största folkhälsoproblemen idag. Med kännedom om sambandet mellan fettvävnads endokriner utsöndring i relation till sjukdomsutvecklingen av PCOS skulle det kunna antas att fler kvinnor än de som söker vård är drabbade av PCOS. Vidare har observationer gjorts av ett ökat chemerin mRNA uttryck hos PCOS-vävnader jämfört med normala vävnader. Därmed vore det högst relevant att vidare fastställa hur chemerin kan bidra till sjukdomsförloppet av PCOS genom dess negativa reglering av FSH-inducerad steroidhormonsyntes i folliklarna.

Mycket av all forskning som bedrivs inom fältet för PCOS idag innefattar djurförsök, främst på möss. Det blir därmed viktigt att inkludera i de slutsatser som dras att mössen har ett lite annorlunda ägglossningsmönster än kvinnor vilket kan påverka resultatens direkta applicerbarhet på kvinnor med PCOS (van Houten & Visser 2014). Samtidigt bidrar djurförsöken till ökad förståelse och mycket ny kunskap inom endokrinologin.

Polycystiskt ovariesyndrom anses vara den vanligast förekommande hormonrubningen hos kvinnor idag och beräknas drabba 5-7% av alla unga fertila kvinnor. Sjukdomens relativt vanligt förekommande följsjukdomar och dess negativa biologiska effekter hos många kvinnor som drabbas talar ytterligare för vikten av att mer forskning rörande dess bakgrundsorsaker görs. Framförallt behöver den nyaste forskningen sammanfattas för att identifiera de kunskapsluckor som finns. För att därigenom hitta former för effektiva och tillräckligt bra behandlingsmetoder.

Denna uppsats har väckt många vidare funderingar kring PCOS som ännu inte besvarats. PCOS är en bred endokrin diagnos som innefattar många av kroppens biologiska system och organ, vilket gör frågan kring en specifik orsak svår att besvara. Detta speglar möjligen också den oordnade bild som just nu finns på forskningsfältet. Problemet handlar också om att

PCOS som diagnos stäcker sig över flera vetenskapliga discipliner vilket gör det svårt att skapa sig en samlad bild över orsakerna till hela diagnosen. Man kan också reflektera över hur diagnosen ställs, om den möjligen bör delas upp i ännu fler diagnoser för att lättare kunna identifiera vad som beror av vad. Genom en större uppdelning skulle man eventuellt få en bättre förståelse om vad som just orsakas av vad.

Tack

Tack till min handledare Maria Jönsson för bra tips och stöd i skrivprocessen.

Referenser

- Ben-Shlomo I, Younis JS. 2014. Basic research in PCOS: are we reaching new frontiers? *Reprod Biomed Online* 28: 669–683.
- Bird A. 2002. DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev* 16: 6–21.
- Blank SK, McCartney CR, Marshall JC. 2006. The origins and sequelae of abnormal neuroendocrine function in polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update* 12: 351–361.
- Bozaoglu K, Bolton K, McMillan J, Zimmet P, Jowett J, Collier G, Walder K, Segal D. 2007. Chemerin Is a Novel Adipokine Associated with Obesity and Metabolic Syndrome. *Endocrinology* 148: 4687–4694.
- Bronstein J, Tawdekar S, Liu Y, Pawelczak M, David R, Shah B. 2011. Age of Onset of Polycystic Ovarian Syndrome in Girls May Be Earlier Than Previously Thought. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 24: 15–20.
- Corbould A. 2007. Chronic testosterone treatment induces selective insulin resistance in subcutaneous adipocytes of women. *J Endocrinol* 192: 585–594.
- Escobar-Morreale HF, Millán JLS. 2007. Abdominal adiposity and the polycystic ovary syndrome. *Trends Endocrinol Metab* 18: 266–272.
- Franks S, Gilling-Smith C, Watson H, Willis D. 1999. INSULIN ACTION IN THE NORMAL AND POLYCYSTIC OVARY. *Endocrinol Metab Clin North Am* 28: 361–378.
- Goralski KB, McCarthy TC, Hanniman EA, Zabel BA, Butcher EC, Parlee SD, Muruganandan S, Sinal CJ. 2007. Chemerin, a Novel Adipokine That Regulates Adipogenesis and Adipocyte Metabolism. *J Biol Chem* 282: 28175–28188.
- Jayasena CN, Franks S. 2014. The management of patients with polycystic ovary syndrome. *Nat Rev Endocrinol* 10: 624–636.
- Kershaw EE, Flier JS. 2004. Adipose Tissue as an Endocrine Organ. *J Clin Endocrinol Metab* 89: 2548–2556.
- Li D, Jiao J, Zhou Y-M, Wang X-X. 2015. Epigenetic regulation of traf2- and Nck-interacting kinase (TNIK) in polycystic ovary syndrome. *Am J Transl Res* 7: 1152.
- Liu X, Qiao P, Jiang A, Jiang J, Han H, Wang L, Ren C. 2015. Paracrine Regulation of Steroidogenesis in Theca Cells by Granulosa Cells Derived from Mouse Preantral Follicles. *BioMed Res Int* 2015: 1–8.

- McAllister JM, Legro RS, Modi BP, Strauss III JF. 2015. Functional genomics of PCOS: from GWAS to molecular mechanisms. *Trends Endocrinol Metab* 26: 118–124.
- McAllister JM, Modi B, Miller BA, Biegler J, Bruggeman R, Legro RS, Strauss JF. 2014. Overexpression of a DENND1A isoform produces a polycystic ovary syndrome theca phenotype. *Proc Natl Acad Sci* 111: E1519–E1527.
- Nelson VL, Legro RS, Strauss JF, McAllister JM. 1999. Augmented Androgen Production Is a Stable Steroidogenic Phenotype of Propagated Theca Cells from Polycystic Ovaries. *Mol Endocrinol* 13: 946–957.
- Nelson VL, Qin K, Rosenfield RL, Wood JR, Penning TM, Legro RS, Strauss JF, McAllister JM. 2001. The Biochemical Basis for Increased Testosterone Production in Theca Cells Propagated from Patients with Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 5925–5933.
- Qu F, Wang F-F, Yin R, Ding G-L, El-prince M, Gao Q, Shi B-W, Pan H-H, Huang Y-T, Jin M, Leung PCK, Sheng J-Z, Huang H-F. 2012. A molecular mechanism underlying ovarian dysfunction of polycystic ovary syndrome: hyperandrogenism induces epigenetic alterations in the granulosa cells. *J Mol Med* 90: 911–923.
- Roland AV, Moenter SM. 2010. Prenatal Androgenization of Female Mice Programs an Increase in Firing Activity of Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH) Neurons That Is Reversed by Metformin Treatment in Adulthood. *Endocrinology* 152: 618–628.
- van Houten ELAF, Visser JA. 2014. Mouse models to study polycystic ovary syndrome: A possible link between metabolism and ovarian function? *Reprod Biol* 14: 32–43.
- Wang P, Zhao H, Li T, Zhang W, Wu K, Li M, Bian Y, Liu H, Ning Y, Li G, Chen Z-J. 2014. Hypomethylation of the LH/Choriogonadotropin Receptor Promoter Region Is a Potential Mechanism Underlying Susceptibility to Polycystic Ovary Syndrome. *Endocrinology* 155: 1445–1452.
- Wang Q, Kim JY, Xue K, Liu J, Leader A, Tsang BK. 2012. Chemerin, a Novel Regulator of Follicular Steroidogenesis and Its Potential Involvement in Polycystic Ovarian Syndrome. *Endocrinology* 153: 5600–5611.

En litteraturstudie över de fysiologiska faktorerna som är viktiga i utvecklandet av polycystiskt ovariesyndrom (PCOS): etisk bilaga

Elin Jonsson

Självständigt arbete i biologi 2015

Är det okej att tillämpa djurförsök för att hitta orsakerna till polycystiskt ovariesyndrom (PCOS)?

Djurförsök är något som skrämmer många människor vid första anblicken, inklusive mig själv. Jag skulle utifrån dygdeetik enkelt kunna motsätta mig det nyttomoraliska argumentet, ändamålen helgar medlen och säga nej till djurförsök. Jag resonerar utifrån ett biocentristiskt perspektiv där naturen inte endast har ett instrumentellt värde, dvs. värde i bara den utsträckningen vi människor har nytta av den.

Men samtidigt kan frågan vändas då jag även anser det otroligt viktigt att arbeta vidare med att förbättra kvinnors hälsa. Inom fältet för PCOS görs mycket av forskningsförsöken på främst möss. Dessa induceras med androgener för att efterlikna de symptom som kvinnor med sjukdomen PCOS uppvisar. Möjligen som en konsekvens av svårigheten att få kvinnor att agera försökspersoner med de risker som det innebär och vidare anses det förmodligen inte tillräckligt säkert att experimentera med hormonnivåerna hos kvinnorna och äventyra deras hälsa. Forskningen utelämnas därmed till att bedrivas på de patienter med PCOS som själva söker vård med tillägget av djurförsöken och alternativa metoder, såsom cellkulturer.

För den medicinska forskning som bedrivs idag på djur finns regelverk och praxis som skall följas och även om möss har ett lite annorlunda ägglossningsmönster än kvinnor har de ändå hittills bidragit och kan vidare ge mycket ny nödvändig kunskap inom området. Frågan övergår därmed till att handla om huruvida forskaren tar sitt ansvar i att behandla djuren rätt och hela tiden gör en avvägning där endast den forskning som är nödvändig utförs så att djuren kommer till så liten skada som möjligt. Om genomförbart bör användandet av alternativa metoder inom området tillämpas istället.

Mitt arbete

I mitt eget uppsatsarbete har jag valt att använda mig av källor från Pubmeds databas, original artiklar samt sammanfattnings artiklar (Reviews). Mitt ämne handlar om endokrinologi så jag har valt artiklar från tidskrifter med fokus på endokrinologi som jag därmed bedömt som pålitliga. Min frågeställning har varit att lyfta fram de viktigaste faktorerna i utvecklandet av PCOS, en relativt bred frågeställning, jag har därmed valt ut ny forskning och börjat med att läsa flera Reviews på området först för att skapa mig en bild av hur området såg ut och därmed kunna göra en reell avvägning av de artiklar som är relevant att ta med. Jag har alltefter instruktionerna refererat i löpande text i enlighet med Uppsala universitets referens system och har varit tydlig med vad som är mina egna slutsatser avskilt från den redovisningen av forskningsfältets åsikter, slutsatser, resultat och argument som behandlats.