Epigenética del síndrome de ovario poliquístico

FRANCISCA CONCHA C.^{1,a}, TERESA SIR P.², SERGIO E. RECABARREN^{3,b}, FRANCISCO PÉREZ B.^{1,c}

Epigenetics of polycystic ovary syndrome

Polycystic ovarian syndrome (PCOS) is an endocrine and metabolic dysfunction, highly prevalent in women in their reproductive years. Hyperandrogenism, oligo-ovulation, polycystic ovarian morphology are the main features of this syndrome. PCOS is a genetic disorder with a multifactorial etiology and has a strong link with environmental components. It is frequently associated with obesity and insulin resistance. Recently, epigenetic mechanisms have been involved in the pathogenesis of PCOS. Several studies showed that methylation in DNA and miRNAs is altered in women with PCOS in blood, serum, adipose tissue, granulose cells and theca. This evidence indicates that women with PCOS have a different epigenetic regulation, which might be triggered by an adverse intrauterine environment or by postnatal environmental elements such as diet and or obesity.

(Rev Med Chile 2017; 145: 907-915)

Key words: Epigenomics; Genes, Regulator; Polycystic Ovary Syndrome.

'Laboratorio de Nutrigenómica. Departamento de Nutrición. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. Santiago, Chile.

²Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo, Facultad de Medicina Occidente, Universidad de Chile. Santiago, Chile.

³Laboratorio de Fisiología y Endocrinología Animal, Facultad de Medicina Veterinaria, Departamento de Ciencias Animales, Universidad de Concepción. Chillán, Chile. ⁸Antropólogo.

^bBiólogo, Doctor en Ciencias. ^cBioquímico, Doctor en Ciencias Biológicas.

Trabajo parcialmente financiado por los proyectos de investigación Fondecyt 1151531 (Dra. Teresa Sir Petermann) y Fondecyt 1130240 (Dr. Francisco Pérez Bravo) y Fondecyt 1140433 (Dr. Sergio E. Recabarren).

Los autores no declaran conflicos de interés.

Recibido el 14 de marzo de 2016, aceptado el 15 noviembre de 2016.

Correspondencia a: Dr. Francisco Pérez Bravo Av. Independencia 1027, Santiago. fperez@med.uchile.cl

I síndrome de ovario poliquístico (SOP), es una disfunción endocrino-metabólica con una prevalencia de 6-10% en mujeres de edad reproductiva^{1,2}. Se caracteriza por hiperandrogenismo, oligo-anovulación y morfología de ovario poliquística. Representa la causa más frecuente de infertilidad anovulatoria e hiperandrogenismo en mujeres. Además, la mayoría de las pacientes con SOP desarrollan resistencia insulínica periférica (RI) y poseen un mayor riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo 2 (DM2)³.

Su etiología es multifactorial, y es tema de investigación relevante ya que el SOP se considera un desorden genético complejo, en donde numerosos genes contribuyen parcialmente al fenotipo sin que alguno de ellos constituya uno de riesgo mayor. El fenotipo es también influenciado por factores ambientales^{4,5}, siendo finalmente la suma de ambos factores, la que gatilla el síndrome⁶⁻⁸. A esto debemos sumar la acción del ambiente, siendo finalmente la suma de ambos factores, los gatilla-

dores del síndrome^{7,8}. Se ha sugerido que existen factores genéticos implicados en el desarrollo del síndrome, debido a que se ha observado un fuerte componente de agregación familiar, siendo afectados entre 20-40% de los parientes de primer grado de las mujeres con SOP⁹⁻¹². En los últimos años se ha propuesto que la programación fetal podría estar implicada en la patogenia del SOP. En este contexto la exposición prenatal a andrógenos (EPA) podría ser uno de los principales candidatos como factor reprogramador¹³⁻²⁰. Independiente de la fuente del exceso de andrógenos prenatal, estas observaciones sugieren que el SOP podría ser programado *in utero* por la influencia del aumento de andrógenos e insulina, posiblemente mediante la alteración de la expresión génica durante la vida pre y post-natal.

Esta revisión tiene por objetivo analizar la información disponible hasta el día de hoy relacionada a dos mecanismos de regulación epigenética como son las metilaciones del ADN y el papel de

los miARNs en el SOP. Ambos mecanismos han generado importante información en los últimos años principalmente porque abren nuevas posibilidades para interpretar los distintos fenotipos que se presentan en el SOP y que no pueden ser explicados a través de los marcadores genéticos de predisposición disponibles hasta la fecha. Se analizan y agrupan los principales hallazgos que se han descrito en la literatura reciente respecto los perfiles de expresión de estos marcadores en el SOP. La detección de este tipo de marcas epigenéticas (metilaciones de ADN) y la determinación del perfil de expresión de miARNs (en suero, plasma u orina) podrían ser de gran utilidad como nuevos biomarcadores diferenciales en el SOP, pudiendo tener por lo tanto implicancias clínicas en la aplicación de tratamientos.

Metilación del DNA en el SOP

La metilación del DNA es un fenómeno epigenético que modifica la expresión génica sin alterar la secuencia de DNA, los cuales son heredables en la mitosis y meiosis, permitiendo la adaptación al medio ambiente y cambios de estilo de vida. Es un fenómeno fisiológico importante en la regulación de la expresión de los genes en mamíferos, principalmente durante la embriogénesis, y es de vital importancia para mantener el silenciamiento genético con el fin de regular la expresión de los genes, y asegurar el desarrollo normal del ser humano²¹.

En mamíferos la metilación del DNA ocurre por una modificación covalente del quinto carbono (C⁵) de la citosina a la cual se le agrega un grupo metilo (CH₃), obteniendo finalmente 5-metilcitosina²¹.

Los estudios epigenéticos relacionados con SOP son bastante recientes. Un estudio reveló que no existen diferencias significativas en la metilación global de DNA entre mujeres con SOP y controles²². Sin embargo, el tamaño muestral considerado fue pequeño y podrían existir cambios específicos que no fueron detectados por la técnica o estos cambios llevaron a una compensación en el nivel de metilación global. Por lo tanto, no pueden descartarse variaciones en el patrón de metilación a nivel de gen y tejido específico.

Estudios recientes de barrido de genoma completo, han mostrado que existirían algunas

diferencias en la metilación de diversos genes entre mujeres con SOP y controles. Un análisis de sangre periférica, mostró que existirían al menos 40 genes metilados diferencialmente entre pacientes con SOP y controles²³. El mismo estudio reveló que existirían 79 genes diferencialmente metilados entre las pacientes con SOP que sufren RI y las que no. Estos genes se encuentran involucrados en la respuesta inflamatoria. El mismo estudio mostró que el gen CEBPB se encontraba diferencialmente metilado entre pacientes SOP con y sin RI, lo cual podría sugerir que este gen jugaría un rol importante en el desarrollo de RI en mujeres con SOP²⁴.

Otro estudio de barrido de genoma completo a nivel tejido específico, indicó que existe al menos 3% de sitios diferencialmente metilados y 650 transcritos diferentes entre mujeres con SOP y controles, en tejido ovárico²⁵. De estos sitios diferencialmente metilados, 59,8% se encuentra hipermetilado y 40,2% hipometilado en mujeres con SOP. Estos genes se encuentran implicados en procesos celulares basales como: regulación de la transcripción, muerte celular, apoptosis, proliferación celular y respuesta al estrés. El análisis mostró además que los genes diferencialmente metilados se encuentran asociados a variadas vías celulares: diabetes tipo 1, miocarditis viral, regulación del citoesqueleto de actina, formación del eje dorso-ventral, adhesión focal, enfermedad autoinmune de tiroides, moléculas de adhesión celular, presentación y procesamiento de antígenos²⁵. Estos datos sugieren la existencia de un patrón de metilación y de expresión de genes diferentes entre mujeres con SOP y controles, lo cual probablemente esta involucrado en el desarrollo y progresión del SOP.

Estudios de metilación a nivel gen específico han encontrado diferencias en el patrón de metilación tanto en modelos animales para el SOP como en mujeres con SOP en comparación a los controles. Tejido adiposo visceral analizado en monas Rhesus androgenizadas prenatalmente mostró que en éstas existe un patrón de metilación del DNA alterado tanto en infantes como adultas, en comparación a controles²6. Se identificaron genes involucrados en la vía de señalización de TNF-β significativamente metilados en adultos e infantes. Las diferencias descritas se deben a que las modificaciones en el epigenoma observadas en infantes probablemente se deban a causas *in utero*, mientras que en las adultas influyen dife-

rentes modificaciones postnatales tales como la edad, factores medioambientales, metabólicos y reproductivos.

Un estudio reciente en mujeres infértiles con SOP mostró altos niveles de testosterona en el suero y en fluidos foliculares que se asociaron a alteraciones significativas en el patrón de metilación de diferentes genes²⁷. El hiperandrógenismo induce alteraciones epigenéticas en los genes *PPARG1*, *NCOR1* y *HDAC3* de las células de la granulosa. Estos datos sugieren que probablemente estos genes están involucrados en la disfunción ovárica en SOP. Otro estudio estableció que los dinucleótidos CpG del gen *LMNA* se encuentran hipermetilados en el suero de mujeres con SOP, y este cambio se relacionó con resistencia a la insulina en pacientes SOP²⁸.

En células de la granulosa de mujeres con SOP se observó una hipermetilación del promotor de *CYP19A1* en comparación con controles²⁹. El aumento de la metilación en las pacientes se correlacionaría con una mayor expresión del RNAm de *CYP19A1*, y de la proteína codificada por este²⁹. Los resultados indican que el aumento de la metilación del promotor de *CYP19A1* se relacionaría con una menor actividad de la aromatasa en la biosíntesis de estrógenos.

Un análisis de metilación del promotor del gen de folistatina (FST) en pacientes con SOPs, mostró que presentaban un mayor porcentaje de metilación en dos islas CpG en muestra de sangre periférica, sin embargo, al realizar el análisis en tejido endometrial no encontraron diferencias significativas en el patrón de metilación entre los grupos^{30,31}. De acuerdo a los antecedentes presentados (Tabla 1) se puede concluir que una reprogramación fetal producto de factores adver-

sos durante el desarrollo uterino puede afectar el funcionamiento endocrino/metabólico de los hijos/as nacidos de madres con SOP, independientemente del sexo y herencia genética.

microRNAs en SOP

Los microRNA (miRNA) son moléculas de RNA no-codificante de una hebra, compuestos por 20-24 nucleótidos que regulan la expresión génica negativamente a través de diferentes mecanismos tanto a nivel traduccional como post-traduccional. Los miRNAs son importantes reguladores de la expresión de los mRNAs y tienen múltiples blancos, jugando un papel fundamental en la regulación de muchos procesos biológicos. La expresión anormal de los miRNAs se ha descrito en cáncer, desordenes metabólicos, diabetes, entre otros^{32,33}.

Los estudios realizados en mujeres con SOP, han encontrado diferencias a nivel sérico y tejido específico (Tabla 2). Los miRNAs que están expresados en suero no necesariamente son los mismos en tejido específico, ya que, presentan una modulación diferente. Los miRNAs producidos a nivel-tejido específico no son todos liberados a la sangre.

Hasta la fecha dos estudios se han realizado en suero/plasma de mujeres con SOP y controles. El primero indicó que existirían 8 miRNA sobre-regulados (miR-222, miR-16, miR-19a, miR-106b, miR-30c, miR-146a, miR-24 and miR-186) y uno disminuido (miR-320). Tres de estos presentaron una expresión significativamente más alta en mujeres con SOP en comparación a las controles (miR-222, miR-146a y miR-30c)³⁴. En mujeres

Gen	Metilación	Célula o tejido en que fue detectado Cambio asociado		
PPARG1	↑	CG	Hiperandrogenismo	
NCOR1	•	CG Hiperandrogenismo		
LMNA	↑	Suero Resistencia a la insulina		
CYP19A1	↑	CG Menos actividad de la aromatasa		
FST	^	Endometrio		
EPHX1	Ψ	Suero		

Tabla 1. Resumen de genes con alteraciones en el patrón de metilación en mujeres con SOP

CG: Células de la granulosa.

miRNA	Expresión	Célula o tejido en que fue detectado	Posible función asociada
miR-222	$ullet \Psi$	Suero/CG	Asociado a INS en suero; En CG aumenta la expresión de p27/kip1
miR-146a	^	Suero	Asociación negativa con testosterona
miR-21	^	Plasma	Aumento expresión en mujeres SOP obesas, se relaciona positivamente con la testosterona y negativamente con obesidad
miR-27b	↑	Plasma	
miR-103	↑	Plasma	
miR-9	↑	FF	Disminuye la expresión de IRS2, SYT1 e IL8. Relacionados con metabolismo de carbohidratos y función beta-pancreática, co- municación celular y síntesis de esteroides
miR-18b	^	FF	
miR-32	^	FF	
miR-34c	↑	FF	
miR-135a	↑	FF	
miR-93	↑	CG/TA	En CG <i>in vitro</i> aumenta expresión del mRNA y proteina CDKN1A; En TA disminuye la expresión del gen MCM7
miR-483-5p	↑	CG	Implicado en vía Notch, sus posibles blancos son Notch3 y MAPK3
miR-92a	•	СТ	Tiene como blanco IRS2 y GATA6; Se relaciona con la vía de señalización de la insulina y andrógenos
miR-92b	•	CT/TA	Blanco IRS2; sobreregulación se relaciona con apoptosis; atresia

Tabla 2. Resumen de los miRNAs con expresión diferencial en mujeres con SOP con posible función asociada

CG: Células de la granulosa; FF: Fluidos foliculares; TA: Tejido adiposo; CT: células de la teca.

con SOP el miR-222 se asoció significativamente con los niveles de insulina, y el miR146a se correlacionó con la testosterona plasmática. En sujetos con diabetes tipo 2 la expresión del miR-222, también se encuentró aumentada, posiblemente este miRNA se asocie con la sensibilidad a la insulina³⁵. El miR-146a se ha asociado con la inhibición de la liberación de la progesterona, andrógenos y estrógenos²⁴. Por lo que es probable que ambos miRNAs estén involucrados con la patogénesis del SOP.

El segundo estudio realizado en sangre periférica estableció que la expresión de miRNA-21, miRNA-27b y miRNA-103, se encuentra aumentada en mujeres SOP obesas, mientras que en hombres y mujeres controles obesos están disminuidos³6. El 22%, 11% y 13% de la variación en la expresión del miR-21, miR-27b y miR-103 se explica por un efecto negativo de la obesidad y positivo de las

concentraciones libres de testosterona sérica. El 13% de la variación en la expresión del miR-155 se debe a un efecto positivo de la testosterona libre sérica. Estos miRNAs influencian la expresión de 73 genes que están involucrados en el metabolismo de lípidos, carbohidratos, secreción y acción hormonal, procesos inflamatorio y desarrollo del sistema endocrino³⁷⁻⁴⁰.

y desorden de la maduración del folículo

La obesidad produce una importante influencia en la expresión sérica de miRNA-21, miRNA-27b, miRNA-103, y miRNA-155, sin embargo, estos efectos son diferentes en las mujeres con SOP³⁶. Estos miRNAs presentan el mismo patrón de cambio en mujeres y hombres obesos (disminuyen su expresión), pero en las mujeres con SOP y obesidad su expresión se ve aumentada³⁶. Esto podría deberse a que la obesidad ejerce una inhibición de la expresión de estos miRNAS, mientras que los niveles de testosterona libre

sérica potencian su expresión, y las mujeres con SOP obesas presentan niveles significativamente más altos de testosterona plasmática libre³¹. Este último fenómeno podría ser un efecto protector contra la inflamación en obesidad androide. Sin embargo, la sobre-regulación de estos miRNAs no es suficiente para compensar las disfunciones en el desarrollo de adiposidad abdominal y de los adipocitos.

Un estudio pionero de miRNA en fluidos foliculares en SOP encontró que miR-132 y miR-320 están disminuidos en éstas pacientes en comparación a las controles. Sin embargo, un estudio posterior no observó este fenómeno, lo cual podría deberse a que los grupos estudiados pertenecían a diferentes etnias^{41,42}. Éste último observó una expresión aumentada de 29 miRNA en mujeres con SOP, de estos, 5 miRNA (hsa-miR-9, 18b, 32, 34c y 135a) presentaron una sobreexpresión significativa en comparación a las controles. Al mismo tiempo se observó una disminución en la expresión de tres genes: IRS2, SYT1 y IL8. Es probable que todos los miRNA diferencialmente expresados, posean un potencial inhibidor sobre estos genes, lo cual es relevante, ya que, estos genes están asociados al fenotipo SOP42.

En las células de la granulosa del ovario, también se han encontrado diferencias en el perfil de miRNAs. La expresión de los miR-93 y miR-107 se encuentra elevada en mujeres con SOP. *In vitro* la sobreexpresión del miR-93 promueve la proliferación celular y disminuye la expresión del mRNA y proteína CDKN1A⁴³. Altas concentraciones de insulina aumentan la expresión del miR-93, y disminuyen la expresión de CDKN1A, por lo que estos resultados sugieren que el miR-93 y su target CDKN1A regulan la proliferación de las células de la granulosa en mujeres con SOP, y la insulina aumenta la expresión del miR-93 y promueve la proliferación celular⁴³.

Un estudio identificó 59 miRNA expresados diferencialmente entre mujeres con SOP y controles en células de la granulosa, 21 sobre-regulados y 38 disminuidos⁴⁴. Los que presentaron mayores diferencias fueron: miR-10a-5p, miR-1307-3p, miR-423-5p, miR-1273g-3p, miR-199a-3p, miR-185-5p, miR-200a-3p, miR-92b-3p, miR-222-3p, y miR-223- 3p. Los posibles genes blancos de estos miRNAs se encuentran involucrados en una amplia gama de procesos biológicos, asociados a función ovárica: como crecimiento de los folículos

antrales, adhesión celular homofilica, y regulación negativa de la secreción de citoquinas. Múltiples genes blancos están implicados en la vía de señalización Notch, como el miR-483-5p, que participa en la regulación de la vía Notch y MAPK, con sus blancos Notch3 y MAPK3. El miR-483-5p tiene una expresión significativamente más alta en las células de la granulosa de mujeres con SOP, sin embargo, la expresión de la proteína y el mRNA de Notch3 y MAPK3 está significativamente disminuida en las pacientes con SOP⁴⁴. De esta forma el miR483-5p suprime la expresión de sus blancos Notch3 y MAPK3 en las células de la granulosa.

El miR 222 presenta una expresión disminuida en las células de la granulosa de pacientes con SOP⁴⁴, mientras que en suero se ha observado un aumento de la expresión³⁴. Esta diferencia podría deberse a que se ha descrito que los miR-221/miR-222 regulan la proliferación de las células de la granulosa a través de su blanco p27/kip1⁴⁵, y son reprimidos por andrógenos. Es probable que el alto nivel de andrógenos circulantes en las mujeres con SOP produzca una inhibición en la expresión del miR-222 en la células de la granulosa, y aumente la expresión de p27/kip1, generando así una disminución en la proliferación de las células de la granulosa, alterando el desarrollo y maduración de los folículos en estas mujeres⁴⁴.

Se ha descrito la disminución de la expresión del miR-92b en folículos atréticos de porcinos⁴⁶, sugiriendo que este miRNA podría estar involucrado en la inhibición de la apoptosis en este tejido. En mujeres con SOP se ha observado una disminución de la expresión del miR-92b en las células de la granulosa y la teca^{44,47}, por lo que este miRNA podría estar involucrado en la sobre-regulación de la apoptosis, atresia y desorden de la maduración folicular.

En células de la teca se han descrito 27 miRNA diferencialmente expresados entre mujeres con SOP y RI (SOP-RI), con SOP y sin RI (SOP-NRI) y controles⁴⁷. Los miRNA que presentaron una mayor disminución en la expresión fueron: miR-200a, miR-141, miR-200c, miR-502-3p, miR-32, miR-92a, miR-92b, miR-19b, miR-1, y let-7g. Siendo los posibles genes blanco de estos miRNAs CYP17, GATA6, y IRS-2. Los miRNAs que presentaron la menor expresión entre estos, fueron: miR-141, miR-200a, miR-92a, miR-92b, and miR-19b. El miR92a y miR92b presentan como posible blanco a IRS-2, que es un regulador

clave en la vía de señalización de la insulina⁴⁷. La disminución en la expresión de estos miRNAs es consistente con la hiperinsulinemia observada en estas pacientes, ya que este fenómeno produce una señal para aumentar la insulina en el tejido. El miR-92a también tiene como blanco a GATA6, lo cual podría indicar que existe una comunicación entre la vía de señalización de la insulina y andrógenos⁴⁷.

Un estudio realizado en tejido adiposo observó la sobreexpresión de miR-93 en mujeres con SOP-NRI, SOP-RI y en pacientes con RI⁴⁸. Al mismo tiempo se observó una disminución en la expresión del gen MCM7 (gen hospedero del miRNA) en la mujeres con SOP-RI, SOP-NRI y con RI en comparación a las controles. La expresión del gen MCM7 se correlacionó negativamente con la expresión del miR-93⁴⁸.

Estos antecedentes sugieren que el perfil de miRNAs de mujeres con SOP es diferente al de las controles, y que es probable que el ambiente generado en el organismo de la paciente con SOP produzca estas alteraciones, ya que, la mayor parte de los miRNAs descritos regulan genes relacionados con insulina, inflamación y andrógenos.

Implicancias clínicas de la epigenética en el SOP

El avance en el conocimiento de la genética del SOP, ha dejado en evidencia estos marcadores pero no permiten explicar completamente las presentaciones clínicas de este síndrome. A su vez, el conocimiento actual de los cambios epigenéticos ha llevado al desarrollo del concepto de programación fetal como un conjunto de modificaciones durante la vida fetal que permiten al feto adaptarse a la vida posnatal. En este sentido, la relación del SOP con la epigenética, ha demostrado que el exceso de andrógenos en las madres se asocia a diversas características posnatales del fenotipo del SOP, como hipersecreción de hormona luteinizante, obesidad, intolerancia a la glucosa, secreción anormal de insulina, aumento de las concentraciones de hormona antimulleriana, etc. Estas modificaciones, gatilladas en el ambiente fetal, pueden perpetuarse durante el curso de la vida (Figura 1). El enfoque epigenético, podría por lo tanto ser una herramienta útil para la clasificación de fenotipos que la genética no puede discriminar, fenotipos que podrían requerir de

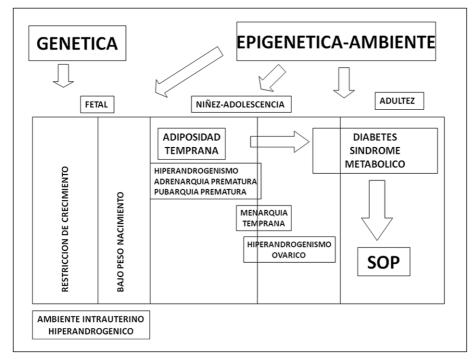


Figura 1. Regulación epigenética durante el desarrollo del SOP y comorbilidades.

un enfoque clínico diferente a través de la dieta, ejercicio y fármacos.

Conclusión

El SOP está determinado por alteraciones genéticas y epigenéticas. El SOP se asocia a diversos marcadores genéticos que tienen un bajo poder predictivo (polimorfismos). En este escenario, las modificaciones epigenéticas generadas por el ambiente (intrauterino o externo), son igualmente heredables con la ventaja de que pueden ser reversibles. Esto abre un campo de estudio y de manejo clínico muy interesante desde la perspectiva de la modulación de los factores ambientales que se relacionan a cada fenotipo observado en el SOP.

Referencias

- Sir Petermann T, Preisler R, Magendzon A. Síndrome de ovario poliquístico. Diagnóstico y manejo. Rev Med Clin Condes 2013; 24 (5): 818-26.
- 2. Goodarzi M, Dumesic D, Chazenbalk G, Azziz R. Polycystic ovary syndrome: ethiology, pathogenesis y diagnosis. Nat Rev Endocrinol 2011; 7 (4): 219-31.
- Holte J. Disturbances in insulin secretion and sensitivity in women with the polycystic ovary syndrome. Baillieres Clin Endocrinol Metab 1996; 10 (2): 221-47.
- Azziz R, Woods KS, Reyna R, Key TJ, Knochenhauer ES, Yildiz BO. The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population. J Clin Endocrinol Metab 2004; 89 (6): 2745-9.
- Barker DJ, Eriksson JG, Forsén T, Osmond C. Fetal origins of adult disease: strength of effects and biological basis. Int J Epidemiol 2002; 31 (6): 1235-9.
- Azziz R. Polycystic Ovary Sydrome es a Family Affair. J Clin Endocrinol Metab 2008; 93 (5): 1579-81.
- Ordovas JM. Cardiovascular disease genetics: a long and winding road. Curr Opin Lipidol 2003; 14 (1): 47-54.
- 8. Cooper RS. Gene-environment interactions and the etiology of common complex disease. Ann Intern Med 2003; 139 (5): 437-40.
- Xita N, Georgiou I, Tsatsoulis A. The genetic basis of polycystic ovary syndrome. Eur J Endocrinol 2002; 147 (6): 717-25.
- 10. Ferriman D, Purdie AW. The inheritance of polycystic ovarian disease and a possible relationship to premature balding. Clin. Endocrinol (Oxf.) 1979; 11 (3): 291-300.

- 11. Wilroy RS, Givens JR, Wiser WL, Coleman SA, Andersen RN, Summitt RL. Hyperthecosis: an inheritable form of polycystic ovarian disease. Birth Defects Orig Artic Ser 1975; 11 (4): 81-5.
- 12. Recabarren S, Smith R, Ríos R, Maliqueo M, Echiburú B, Codner E, et al. Metabolic profile in sons of women with polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metab 2008; 93 (5): 1820-6.
- 13. Abbott DH, Dumesic DA, Eisner JR, Colman RJ, Kemnitz JW. Insights into the development of polycystic ovary syndrome (PCOS) from studies of prenatally androgenized female rhesus monkeys. Trends Endocrinol Metab 1998; 9 (2): 62-7.
- 14. Eisner JR, Dumesic DA, Kemnitz JM, Abbott DA. Timing of prenatal androgen excess determines differential impairment in insulin secretion and action in adult female rhesus monkeys. J Clin Endocrinol Metab 2000; 85 (3): 1206-10.
- 15. Eisner JR, Barnett BA, Dumesic DA, Abbott DH. Ovarian hyperandrogenism in adult female rhesus monkeys exposed to prenatal androgen excess. Fertil Steril 2002; 77 (1): 167-72.
- Recabarren SE, Sir-Petermann T, Lobos A, Codner E, Rojas-García PP, Reyes V. Response to the gonado- tropin releasing hormone agonist leuprolide in immature female sheep androgenized in utero. Biol Res 2005; 38 (2-3): 235-44.
- Abbott DH, Barnett DK, Bruns CM, Dumesic DA. Androgen excess fetal programming of female reproduction: a developmental aetiology for polycystic ovary syndrome? Hum Reprod Update 2005; 11 (4): 357-74.
- Recabarren SE, Padmanabhan V, Codner E, Lobos A, Durán C, Vidal M, Foster DL, et al. Postnatal developmental consequences of altered insulin sensitivity in female sheep treated prenatally with testosterone. Am J Physiol Endocrinol Metab 2005; 289 (5): 801-6.
- Padmanabhan V, Veiga-López A, Abbott DH, Recabarren SE, Herkimer C. Developmental programming: impact of prenatal testosterone excess and postnatal weight gain on insulin sensitivity index and transfer of traits to offspring of overweight females. Endocrinology 2010; 151 (2): 595-605.
- 20. Dumesic DA, Goodarzi MO, Chazenbalk GD, Abbott DH. Intrauterine environment and polycystic ovary syndrome. Semin Reprod Med 2014; 32 (3): 159-65.
- 21. Marrero MT. Metilación y expresión de genes en el cáncer diferenciado de tiroides. Revista Cubana de Endocrinología 2010; 21 (3): 340-50.
- 22. Xu N, Azziz R, Goodarzi MO. Epigenetics in polycystic ovary síndrome: a pilot study of global DNA methylation. Fertil Steril 2010; 94 (2): 781-3.

- 23. Shen HR, Qiu LH, Zhang ZQ, Qin YY, Cao C, Di W. Genome-wide methylated DNA immunoprecipitation analysis of patients with polycystic ovary síndrome. PLoS One 2013; 8 (5): e64801.
- Abbott DH, Dumesic DA, Eisner JR, Colman RJ, Kemnitz JW. Insights into the development of PCOS from studies of prenatally androgenized female rhesus monkeys. Trends Endocrinol Metab 1998; 9 (2): 62-7.
- 25. Wang XX, Wei JZ, Jiao J, Jiang SY, Yu DH, Li D. Genome-wide DNA methylation and gene expression patterns provide insight into polycystic ovary síndrome development. Oncotarget 2014; 30 (5): 6603-10.
- 26. Xu N, Kwon S, Abbott DH, Geller DH, Dumesic DA, Azziz R, et al. Epigenetic mechanism underlying the development of polycystic ovary síndrome (PCOS)-likephenotypes in prenatally androgenized Rhesus monkeys. PLoS One 2011; 6 (11): 27286.
- 27. Ou F, Wang FF, Yin R, Ding GL, El-Prince M, Gao Q, et al. A molecular mechanism underlying ovarian dysfunction of polycystic ovary síndrome: hyperandrogenism induces epigenetic alterations in the granulosa cells. J Mol Med (Berl) 2012; 20 (8): 911-23.
- 28. Ting W, Yanyan Q, Jian H, Keqin H, Duan M. The relationship between insulin resistance and CpG insland methylation of LMNA gene in polycyctic ovary syndrome. Cell Biochem Biophys 2013; 67 (3): 1041-7.
- Yu YY, Sun CX, Liu YK, Li Y, Wang L, Zhang W. Promoter methylation of CYP19A1 gene in chinese polycystic ovary syncrome patients. Gynecol Obstet Invest 2013; 76 (4): 209-13.
- 30. Sang Q, Zhang S, Zou S, Wang H, Feng R, Li Q, et al. Quantitative analysis of follistatic (FST) promoter methylationin peripheral blood of patients with polycytic ovary syndrome. Reprod Biomed Online 2013; 26 (2): 157-63.
- 31. Sang Q, Li X, Wang H, Wang H, Zhang S, Feng R, et al. Quantitative methylation level of the EPHX1 promoter in peripheral blood DNA is associated with polycytic ovary syndrome. PLoS One 2014; 9 (2): e88013.
- 32. Fernández-Valverde SL, Taft RJ, Mattick JS. MicroRNAs in β -cell biology, insulin resistance, diabetes and its complications. Diabetes 2011; 60 (7): 1825-31.
- 33. Hulsmans M, De Keyzer D, Holvoet P. MicroRNAs regulating oxidative stress and inflammation in relation to obesity and atherosclerosis. FASEB J 2011; 25 (8): 2515-27.
- Long W, Zhao C, Ji C, Ding H, Cui Y, Guo X, et al. Characterization of serum microRNAs profile of PCOS and identification of novel non-invasive biomarkers. Cell Physiol Biochem 2014; 33 (5): 1304-15.
- 35. Ortega FJ, Mercader JM, Moreno-Navarrete JM, Rovira

- O, Guerra E, Esteve E, et al. Profiling of circulating micrornas reveals common micrornas linked to type 2 diabetes that change with insulin sensitization. Diabetes Care 2014; 37 (5): 1375-83.
- 36. Murri M, Insenser M, Fernández-Durán E, San-Millán JL, Escobar-Morreale HF. Effects of polycystic ovary syndrome (PCOS), sex hormones, and obesity on circulating miRNA-21, miRNA-27b, miRNA-103, and miRNA-155 expression. J Clin Endocrinol Metab 2013; 28 (11): E1835-44.
- Hulsmans M, De Keyzer D, Holvoet P. MicroRNAs regulating oxidative stress and inflammation in relation to obesity and atherosclerosis. FASEB J 2011; 25 (8): 2515-27.
- 38. Schroen B, Heymans S. Small but smart–microRNAs in the centre of inflammatory processes during cardio-vascular diseases, the metabolic syndrome, and ageing. Cardiovasc Res 2012; 93 (4): 605-13.
- Ribas J, Ni X, Haffner M, Wentzel EA, Salmasi AH, Chowdhury WH, et al. miR-21: an androgen receptor-regulated microRNA that promotes hormone-dependent and hormone-independent prostate cancer growth. Cancer Res 2009; 69 (10): 7165-9.
- 40. Chen WJ, Yin K, Zhao GJ, Fu YC, Tang CK. The magic and mystery of microRNA-27 in atherosclerosis. Atherosclerosis 2012; 222 (2): 314-23.
- 41. Sang Q, Yao Z, Wang H, Feng R, Wang H, Zhao X, et al. Identification of microRNAs in human folicular fluid: characterization of microRNAs that govern steroidogenesis in vitro and are associated with polycystic ovary syndrome in vivo. J Clin Endocrinol Metab 2013; 98 (7): 3068-79.
- 42. Roth LW, McCallie B, Alvero R, Schoolcraft WB, Minjarez D, Katz-Jaffe MG. Altered microRNA and gene expression in the follicular fluid of women with polycystic ovary syndrome. J Assist Reprod Genet 2014; 31 (3): 355-62.
- 43. Jiang L, Huang J, Li L, Chen Y, Chen X, Zhao X, Yang D. MicroRNA-93 promotes ovarian granulosa cells proliferation through targeting CDKN1A in polycystic ovarian syndrome. J Clin Endocrinol Metab 2015; 100 (5): e729-38.
- 44. Xu B, Zhang YW, Tong XH, Liu YS. Characterization of microRNA profile in human cumulus granulosa cells: Identification of microRNAs that regulate Notch signaling and are associated with PCOS. Mol Cell Endocrinol 2015; 15 (3) 404: 26-36.
- 45. Sun T, Wang Q, Balk, S, Brown M, Lee GS, Kantoff, P. The role of microRNA- 221 and microRNA-222 in androgen-independent prostate cancer cell lines. Cancer Res 2009; 69 (8): 3356-63.

- 46. Lin F, Li R, Pan ZX, Zhou B, de Yu B, Wang XG, et al. miR-26b promotes granulosa cell apoptosis by targeting ATM during follicular atresia in porcine ovary. PLoS ONE 2012; 7 (6): e38640.
- 47. Lin L, Du T, Huang J, Huang LL, Yang DZ. Identification of differentially expressed microRNAs in the ovary of polycystic ovary syndrome with hyperandrogenism
- and insulin resistance. Chin Med J (Engl) 2015; 128 (2): 169-74
- 48. Wu HL, Heneidi S, Chuang TY, Diamond MP, Layman LC, Azziz R, et al. The expression of the miR-25/93/106b family of micro-RNAs in the adipose tissue of women with polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metab 2014; 99 (12): E2754-61.