

PCOS e Diabete Mellito Tipo II

E. Chierchia, S. Santagni, E. Rattighieri, C. Lanzoni, F. Ricchieri, A.D. Genazzani

Clinica Ostetrica Ginecologica, Università di Modena e Reggio Emilia

La sindrome dell'ovaio Policistico:

La sindrome dell'ovaio policistico (PCOS) è una delle cause più comuni di irregolarità mestruale, disfunzione ovarica e infertilità [1, 2, 3]. I primi a descrivere questa sindrome furono Stein e Leventhal nel 1934 [4] e misero in relazione il tipico aspetto morfologico dell'ovaio (grosse dimensioni, traslucide e di aspetto marmoreggiante) con la storia clinica delle pazienti caratterizzata da irsutismo, amenorrea ed obesità.

La sindrome si presenta con i caratteri dell'iperandrogenismo, dell'anovulazione cronica, del tipico aspetto ecografico delle ovaie policistiche. A questo si aggiungono i problemi dermatologici quali acne, seborrea e irsutismo sebbene questi ultimi siano presenti con un'incidenza estremamente variabile [1, 2].

Data la difficoltà nel trovare criteri condivisi per la diagnosi e la definizione della sindrome (difficoltà derivata dalla eterogeneità dei sintomi, dalla variabilità di questi nelle fasce d'età e dalla sovrapposizione di criteri di laboratorio e strumentali con altre situazioni fisiologiche) nel 2003 la "Rotterdam PCOS workshop" ha stabilito i criteri che oggi vengono utilizzati per la diagnosi e la definizione [2]; sulla base di quanto stabilito, sempre previa esclusione di tutte le altre patologie che possono dare stessa sintomatologia clinica, si diagnostica la sindrome in presenza di :

- Oligomenorrea e/o anovulazione,
- Segni clinici e/o biochimici di iperandrogenismo,
- Ecostruttura policistica dell'ovaio.

Sintomi: un fattore di rischio per il diabete

Tra tutti i possibili sintomi della sindrome si evidenzia che un 25–50% delle pazienti presenta un sovrappeso e/o una vera e propria obesità; è però altrettanto importante ricordare

che il restante 50% delle pazienti è magro o normopeso. Questa situazione conferma il fatto che l'eccesso ponderale in queste pazienti non rappresenta un prerequisito per la sindrome quanto piuttosto un fattore aggravante a causa delle caratteristiche ormonali e metaboliche che concorre a determinare.

È importante sottolineare che per quanto riguarda l'aspetto ormonale il tessuto adiposo concorre ad aggravare il quadro della PCOS in quanto è una fonte extra-ghiandolare di androgeni che vengono prodotti senza il controllo del sistema endocrino. Normalmente in questo tessuto avviene l'aromatizzazione periferica degli androgeni ad estrogeni con formazione di estrone. Ogni forma di sovrappeso o di obesità fa eccedere questa aromatizzazione contribuendo al mantenimento del quadro di iperestrogenismo relativo della sindrome: favorisce la diminuzione dei livelli di SHBG con il conseguente aumento della quota libera di estrogeni ed androgeni nel plasma.

Un altro aspetto da considerare è che dall'analisi della distribuzione del grasso corporeo nelle pazienti PCOS, in particolare nelle pazienti obese, è possibile notare come sia presente con maggiore frequenza una disposizione di tipo androide o centrale. Lo studio del WHR (waist/hip ratio), calcolato sul rapporto delle circonferenze vita/fianchi, evidenzia infatti più frequentemente valori >0,80 (valore considerato soglia per questo tipo di disposizione del grasso corporeo). Questo aspetto caratterizza un tessuto che dal punto di vista metabolico è più attivo, sensibile alle catecolamine e scarsamente all'insulina, questo comporta una iperinsulinemia di base che si relaziona con una ridotta tolleranza al glucosio, cioè una maggiore insulinoresistenza, e una possibile insorgenza, nel lungo periodo, di diabete mellito di tipo II. A conferma di questa evidenza è stato anche notato che pazienti con PCOS ma con una distribuzione di tipo ginoide del grasso

corporeo presentano con una frequenza minore alterazioni del metabolismo dell'insulina [5]. Tutte queste osservazioni hanno portato a descrivere una forte corrispondenza statistica tra la distribuzione del grasso e la presenza di alterazioni del metabolismo dell'insulina. In un 50% delle pazienti PCOS, in particolare in un 70-80% delle pazienti obese [6], si può osservare uno stato di iperinsulinemia che nella sindrome potrebbe essere determinata da almeno 3 fattori:

- Aumentata secrezione pancreatica,
- Aumentata resistenza periferica,
- Diminuita clearance epatica.

In queste pazienti la parte maggiore sembra essere rivestita dall'aumentata resistenza periferica. Le pazienti PCOS di frequente presentano, anche se con grado variabile, una insulinoresistenza come aveva osservato per la prima volta Burghen [7].

Conoscenza comune è che l'obesità è una delle principali cause di sviluppo di questa diminuzione della sensibilità all'azione dell'ormone; le cellule infarcite di grassi infatti aumentano la loro massa e determinano così una modificazione della densità dei recettori per l'ormone sulla superficie, questo determina una maggiore richiesta di ormone per ottenere l'attivazione degli stessi [8, 9]. La causa alla base dell'insulinoresistenza non è del tutto nota ma si ritiene che possa anche essere determinata da un difetto molecolare nel recettore [10].

L'insulinoresistenza risulta essere presente sia nelle pazienti magre che obese con PCOS, anche se è più spiccata nelle pazienti obese. Se è vero che l'insulinoresistenza è correlata al peso corporeo, potrebbe ipotizzarsi un differente ruolo di essa nelle pazienti obese e in quelle magre. Nelle obese la spiccata produzione insulinica sarebbe frutto della notevole insulinoresistenza; nelle magre sarebbe invece principalmente dovuta ad una aumentata secrezione pancreatica e ad una ridotta clearance epatica o ad un difetto recettoriale/post recettoriale di trasduzione del segnale insulinico [11].

Fisiopatologia: "Insulin School"

Rimangono ancora oggi sconosciute le cause che portano all'insorgenza della sindrome. Negli anni si sono succedute varie ipotesi volte a tentare di risolvere il dubbio che ancora avvolge il meccanismo che sta alla base della patologia. Tra tutte le ipotesi proposte assume rilevante importanza quella che vede nello stato di iperinsulinemia la possibile causa della sindrome (insulin school).

Numerose evidenze di una positiva correlazione tra i livelli di insulina e i livelli di androgeni nel sangue periferico delle pazienti PCOS si sono andate accumulando a partire dalla metà degli anni '80. Questo ha portato a ritenere possibile una correlazione fisiopatologica tra iperinsulinemia e iperandrogenismo.

Studi ormai datati depongono a favore dell'ipotesi secondo cui era lo stato di iperandrogenismo a determinare il quadro di iperinsulinemia; tuttavia studi più recenti hanno evidenziato come l'insulina abbia anche un ruolo "steroidogenetico" capace di agire, in sinergia con LH ed FSH, a favorire la sintesi di androgeni e di estrogeni a livello delle cellule della teca e della granulosa [12, 13]. A favore della tesi proposta da queste osservazioni stanno anche gli studi che evidenziano come la soppressione dei livelli di androgeni non vada a modificare la secrezione di insulina, al contrario, la modificazione, effettuata attraverso azione farmacologica, della secrezione di insulina permette un cambiamento della concentrazione di androgeni nel plasma periferico [14, 15]. Questo ha permesso di ipotizzare che livelli cronicamente elevati di insulina possano determinare uno stato di iperstimolazione nelle cellule della teca tale da condurre, con il sinergismo dell'LH, all'instaurarsi dell'iperandrogenismo.

Altra azione dell'insulina viene svolta a livello centrale dove sembrerebbe essere responsabile dell'aumento di sensibilità delle cellule secernenti gonadotropine dell'ipofisi in risposta allo stimolo del GnRH [12, 16, 17]. A livello del metabolismo periferico inoltre l'insulina determina una riduzione nella clearance degli androgeni e nell'attività dell'enzima aromatasi, mentre aumenta l'attività della 5 α -reduttasi [18]. Sembrerebbe anche che l'insulina vada ad agire in senso stimolante sulla produzione di androgeni a livello della ghiandola surrenale [19, 20].

A ulteriore conferma si sono eseguiti studi che, attraverso la riduzione dei livelli di insulina mediante dieta o terapia farmacologica con ipoglicemizzanti orali, hanno permesso non solo il calo delle concentrazioni di androgeni nel sangue periferico ma anche il miglioramento dell'intero quadro clinico [14, 21].

La valutazione dello stato di iperinsulinemia non è sempre effettuabile attraverso la valutazione della semplice insulina di base. Più accurati risultano essere i test di stimolo in cui si valutano i valori di insulina, peptide c e glicemia in risposta allo stimolo glucidico somministrato (per via orale OGTT o per via endovenosa IVGTT). La risposta insulinica viene considerata indice di problema metabolico quando, già nei primi 2-3 tempi dell'analisi, evidenzia una risposta uguale o superiore ai 50 ng/ml.

Nelle pazienti PCOS, indipendentemente dal peso corporeo, il riscontro di una risposta aumentata già nei primi tempi (0-60 minuti dalla somministrazione dello stimolo glucidico) del test è frequente. Alcuni autori affermano che il riscontro di un rapporto glucosio/insulina inferiore a 3 sia già fortemente indicativo per un'insulinoresistenza [11, 21].

Il Diabete mellito di tipo II: una possibile patologia a lungo termine nelle PCOS?

Obesità, iperinsulinemia, insulinoresistenza insieme con dislipidemie e disfunzioni endoteliali protrombotiche sono componenti della cosiddetta "sindrome metabolica" e rivestono una particolare importanza per la salute a lungo termine delle pazienti affette da PCOS. Queste pazienti infatti, a causa della presenza di sintomi che rivestono ruolo di fattori di rischio come l'obesità, presentano un maggiore rischio di insorgenza di alcune patologie come diabete mellito tipo II, ipertensione, malattie cardiovascolari ma anche malattie endometriali e malattie oncologiche come il tumore della mammella e dell'ovaio.

Per quanto riguarda il diabete è stato osservato da parecchi gruppi di studio che il rischio di sviluppo della patologia nelle pazienti PCOS è aumentato da 3 a 7 volte rispetto alla popolazione generale [22, 23, 24]. I dati evidenziano che la presenza di intolleranza glucidica è maggiormente frequente rispetto alla popolazione generale di riferimento: 31-35% ha IGT ed un 7.5-10% ha già un diabete di tipo II [23,

24]. Sebbene obesità ed età aumentino il rischio si è evidenziato come tali problemi siano presenti anche nelle pazienti magre con PCOS (10% e 1.5%) [24].

Altro elemento da sottolineare è che la comparsa dell'intolleranza glucidica nelle pazienti PCOS rispetto alla popolazione generale di riferimento avviene in età più giovanile, anticipando la comparsa di circa 20 anni [23, 24].

Il rischio di uno sviluppo di diabete di tipo II in queste pazienti sembra quindi essere aumentato e questo dato riveste ancora maggiore importanza se si prende in considerazione un recente studio epidemiologico che sembra avere osservato una maggiore mortalità per complicanze del diabete nelle pazienti PCOS [25].

Attività fisica e calo ponderale: possibile strategia terapeutica?

Visto che le pazienti PCOS presentano un maggiore rischio di sviluppo di diabete tipo II, soprattutto determinato dalla presenza di sovrappeso/obesità e iperinsulinemia, deve essere da considerare il calo ponderale quale approccio terapeutico iniziale, soprattutto nelle pazienti con maggiore peso.

La perdita di peso infatti è risultata essere invariabilmente legata ad un miglioramento del quadro clinico: è stato evidenziato come questa variazione possa determinare un incremento della sensibilità all'insulina, favorendo così una diminuzione dei suoi livelli plasmatici [25]. È stato inoltre messo in evidenza come un modesto calo del 5-10% del peso corporeo permetta un ripristino della normale ciclicità mestruale in una alta percentuale delle pazienti con PCOS.

Studi recenti hanno valutato quali effetti inducesse il cambiamento di stile di vita legato alla presenza di una dieta ipocalorica e/o dell'esercizio fisico nella popolazione di pazienti PCOS sovrappeso e obese. Questi studi hanno considerato gli effetti della sola dieta o del solo esercizio fisico ma, soprattutto, la contemporanea presenza di entrambe le possibili metodiche terapeutiche.

Thomson RL. et al. [26] ha messo a confronto i dati rilevati dall'analisi di pazienti PCOS obese o sovrappeso trattate con: sola dieta; dieta ed esercizio fisico aerobico; dieta ed esercizio fisico di tipo aerobico e di resistenza. Lo studio ha messo in evidenza come la sola dieta abbia

la capacità di ridurre, oltre al peso corporeo, il rischio cardiovascolare, di migliorare lo stato ormonale ed anche la funzione riproduttiva; l'associazione di un'attività fisica regolare non porta un beneficio maggiore in questi parametri ma induce un miglioramento nella composizione corporea con una riduzione del 45% circa della massa grassa.

Questi risultati hanno inoltre messo in evidenza che il gruppo di pazienti in trattamento con attività fisica associata alla dieta ha presentato un miglioramento anche per quello che riguarda i livelli di insulina circolanti; questo effetto, come hanno messo in evidenza da precedenti studi [27, 28], è determinato dal fatto che l'esercizio di resistenza ha la capacità di determinare un miglioramento nella sensibilità all'insulina grazie all'aumento della massa muscolare e del numero di proteine trasportanti glucosio mentre l'esercizio aerobico migliora la disponibilità del glucosio con una maggiore presenza di capillari nel muscolo scheletrico, un miglior flusso sanguigno e un miglioramento nell'attività della esochinasi e della glicogeno sintetasi.

Questo conferma che in queste pazienti una terapia che comprenda anche la presenza di una regolare attività fisica non servirebbe solo a permettere una più facile perdita di peso ma determinerebbe anche una modificazione della composizione corporea, che caratteristicamente evidenzia una deposizione del grasso di tipo androide nelle pazienti PCOS sovrappeso o obese e che sappiamo essere alla base della maggiore presenza di insulinoresistenza, e dei valori di insulina circolanti.

È ormai evidente come esista un ruolo protettivo dell'attività fisica aerobica nei pazienti affetti da diabete mellito di tipo II [29]. Un'attività fisica di moderata intensità, come può essere il camminare a passo svelto per 30 minuti al giorno, riduce del 60% l'insorgenza della patologia e, inoltre, come questo beneficio venga ad essere mantenuto anche in seguito alla sospensione dell'intervento terapeutico poiché, la maggior parte dei soggetti, assume questo atteggiamento a nuovo stile di vita.

In genere si hanno riduzioni significative della glicemia, dell'emoglobina glicata, della pressione arteriosa e dei valori di colesterolo LDL in soggetti affetti da diabete di tipo II che iniziano ad intraprendere un'attività fisica giornaliera moderata che nello studio era rappresentata da una passeggiata di 4-5 km/die.

Partendo da questi dati e sulla base di quelle che sono le correlazioni tra PCOS e sviluppo di diabete mellito di tipo II si capisce come anche in queste pazienti potrebbe essere importante questo tipo di approccio terapeutico che avrebbe come obiettivo finale non solo quello di ridurre il rischio di insorgenza di diabete di tipo II ma anche di migliorare la ciclicità mestruale, l'ovulazione e i livelli plasmatici di insulina. In effetti le pazienti PCOS obese e/o sovrappeso spesso presentano stili di vita totalmente sedentari; in genere il medico, soprattutto nella fase iniziale, trova una certa difficoltà nel fare accettare alla paziente la scelta di uno stile di vita alternativo. In questi casi, così come suggerito anche da studi sull'attività fisica nei soggetti diabetici [30, 31, 32], è certamente efficace il parlare chiaramente con le pazienti riguardo ai rischi che il peso comporta e ai vantaggi terapeutici che invece questo nuovo atteggiamento di vita determinerebbe. Non sempre però la semplice spiegazione del medico riguardo i possibili miglioramenti permette di ottenere il cambiamento sperato ed è quindi importante, almeno nel primo periodo, programmare dei controlli che risultino ravvicinati nel tempo e che vadano a valutare parametri che permettano anche alla paziente di ottenere diretta osservazione dei miglioramenti.

A tal fine ogni medico (e quindi anche il ginecologo) può utilizzare un semplice metodo per la valutazione dello stato di forma fisica, che viene utilizzato per la valutazione dei pazienti obese, e che permette anche al paziente di valutare i miglioramenti ottenuti con l'esercizio. Si potrebbe utilizzare il Rockport fitness walking test che serve per ottenere una stima della VO₂max [33]. La VO₂max è un indice che rappresenta la massima quantità di ossigeno che un atleta consuma nell'unità di tempo (min) per kg di peso corporeo ed identifica la potenza aerobica massima raggiunta. Questo indice è determinato dal patrimonio genetico ma può essere migliorato attraverso l'allenamento aerobico.

Nei soggetti obesi sedentari ha un valore tra i 10-25 ml/kg/min mentre in soggetti normopeso è di circa 40 e in atleti, quali i maratoneti, raggiunge valori anche di 90.

Il test prevede che il soggetto cammini il più velocemente possibile per 1,6 Km e che, alla fine del percorso, si misuri la Frequenza Cardiaca (FC) e annoti il tempo impiegato (in minuti e secondi come frazione di 60); sulla base

di questi valori il medico può stimare la VO₂max tenendo però presente che la stima ammette un errore di misurazione di ± 5 ml/kg/min.

Il calcolo si effettua utilizzando la formula qui di seguito riportata, sottraendo e aggiungendo costanti che a loro volta vengono moltiplicate per vari fattori:

$$132,853 \text{ ml/kg/min} - 0,1692 \times \text{peso in kg} - 0,3877 \times \text{età in anni} + 6,3150 \times \text{Maschi} = 1 \text{ Femmine} = 0 - 3,2649 \times \text{tempo in min} - 0,1565 \times \text{FC}$$

da questo calcolo otteniamo il VO₂max che può diventare il parametro di base per la valutazione del miglioramento raggiunto dai pazienti con l'esercizio fisico.

È anche utile evidenziare altri parametri che segnalino le modifiche avvenute per quanto riguarda peso e composizione corporea; sarà quindi importante tenere sempre monitorati peso e indice WHR (Waist Hip Ratio). Risulta altresì importante eseguire esami del sangue

per la valutazione dello stato metabolico della pazienti attraverso semplici valutazioni di insulinenemia basale e glicemia magari fatta a digiuno e dopo 30-60 minuti dal pranzo.

L'importanza di tenere monitorati tutti questi parametri risulta di facile comprensione dal punto di vista clinico ma riveste anche importanza dal punto di vista psicologico per la pazienti in quanto, sebbene motivate nella loro scelta di cambiamento, possono incontrare delle serie difficoltà nell'attinenza alla terapia dietetica e all'esercizio fisico; il poter valutare in maniera diretta i cambiamenti, rendendo la paziente partecipe delle valutazioni, aiuta le pazienti a sopportare meglio le prime difficoltà. Inoltre in queste pazienti PCOS in sovrappeso, soprattutto se giovani, non deve essere sottovalutato l'aspetto estetico, analizzato da un punto di vista psicologico, che può rivestire un ruolo di ulteriore spinta motivazionale; evidenziare i miglioramenti fisici ottenuti può risultare di giovamento per una maggiore aderenza alla "terapia" da parte delle pazienti.

Bibliografia

1. Zawadeski JK, Dunaif A. Diagnostic criteria for PCOS: towards a more rational approach. In: Dunaif A, Givens JR, Haseltine FP, Merriam GR (eds.). PCOS. Boston :Blackwell Scientific, 1992. 84-377.
2. Fauser B. Revised consensus on diagnostic criteria and long-term risk related to polycystic ovary syndrome (PCOS). Rotterdam ESHRE/ASMR. 2003.
3. Taylor AE. Polycystic ovary syndrome. Endocrinol Metab North Am 1998. 27:877-902.
4. Stein IF, Leventhal ML. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. Am J Obstet Gynecol 1935: 29:181-191.
5. Wild RA, Painter PC, Coulson PB, Carruth KB, Ranney GB. Lipoprotein lipid concentrations and cardiovascular risk in women with polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metab 1985. 61:946-951.
6. Lanzone A, Fulghesu AM, Apa R, Andreani CL, Fortini A, Caruso A, Mancuso S. Insulin secretion in polycystic ovarian disease: effect of ovarian suppression by GnRH agonist. Human Reprod 1990. 5:143-9.
7. Burghen GA, Givens JR, Kitabchi AE. Correlation of hyperandrogenism with hyperinsulinism in polycystic ovarian disease. J Clin Endocrinol Metab 1980. 50:113-116.
8. Mantzoros CS, Flier JS. Insulin resistance: the clinical spectrum. Adv Endocrinol Metab 1995. 6:193-232.
9. Mardsden PJ, Murdoch A, Taylor R. Severe impairment of insulin action in adipocytes from amenorrhoeic subjects with polycystic ovary syndrome. Metabolism 1994. 43:1536-1542.
10. Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. Endocr Rev 1997. 18: 774-800.
11. Genazzani AD, Lanzoni C, Ricchieri F, Jasonni VM. Myo-Inositol administration positively affects hyperinsulinemia and hormonal parameters in overweight patients with polycystic ovarian syndrome. Gynecol Endocrinol 2008. 24(3): 139-44.
12. Poretsky L, Cataldo NA, Rosenwaks Z, Giudice LC. The insulin-related ovarian regulatory system in health and disease. Endocr Rev 1999. 20:535-582.
13. 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. J Clin Endocrinol Metab 1996. 81:302-309.
14. Nestler JE, Barlascini CO, Matt DW, Steingold KA, Plymate SR, Clore JN, Blackard WG. Suppression of serum insulin by diaxoside reduces serum testosterone levels in obese women with polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metab 1989. 68:1027-1032.

15. Fulghesu AM, Lanzone A, Andreani CL, Pierro E, Caruso A, Mancuso S. Effectiveness of somatostatine analogue (octreotide) in lowering LH and insulin-stimulated secretion in hyperinsulinemic patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 1995. 64:703-708.
16. Baskin DG, Figlewicz DP, Woods SC, Porte Jr D, Doprza DM. Insulin in the brain. *Ann Rev Physiol* 1987. 49:335-347.
17. Unger JW, Livingston JN, Moss AM. Insulin receptors in the central nervous system: localization, signalling mechanism and functional aspects. *Prog Neurobiol* 1991. 36:343-362.
18. Gilling-Smith C, Willis D, Beard R et Al. Hypersecretion of androstenedione by isolated thecal cell from polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab* 1994. 79:1158.
19. L'Allemand D, Penhoat A, Lebrethon M-C, Ardevol R, Beehr V, Delkers W, Saez JM. Insulin-like growth factors enhance steroidogenic enzyme and corticotrophin receptor messenger ribonucleic acid levels cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1996. 81:3892.
20. Moghetti P, Castello R, Negri C, Tosi F, Spiazzi GG, Brun E, Balducci R, Toscano V, Muggeo M. Insulin infusion amplifies 17 α -hydroxycorticosteroid intermediates response to ACTH in hyperandrogenic women: apparent relative impairment of 17,20-lyase activity. *J Clin Endocrinol Metab* 1996. 81:881.
21. Genazzani AD, Lanzoni C, Ricchieri F, Baraldi E, Casarosa E, Jasonni VM. Metformin administration is more effective when non-obese patients with polycystic ovary syndrome show both hyperandrogenism and hyperinsulinemia. *Gynecol Endocrinol* 2007. 23 (3): 146-152.
22. Legro RS, Finegood D, Dunaif A. Fasting glucose to insulin ratio is a useful measure of insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1998. 83:2694-2698.
23. Dahlgren E, Johansson S, Lindstedt G et Al. Women with polycystic ovary syndrome wedge resected in 1956 to 1965: a long-term follow-up focusing on natural history and ad circulating hormone. *Fertil Steril* 1992. 57:505-513.
24. Ehrmann DA, Barnes RB, Rosenfield RL, Cavaghan MK, Imperial J. Prevalence of impaired glucose tolerance and diabetes in women with polycystic ovary syndrome. *Diabetes Care* 1999. 22:141-146.
25. Legro RS, Kunselman AR, Dodson WC, 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 women. *J Clin Endocrinol Metab* 1999. 84: 165-169.
26. Pierpoint T, McKeigue PM, Isacs AJ, Wild SH, Jacobs HS. Mortality of women with polycystic ovary syndrome at long-term follow-up. *J Clin Epidemiol* 1998. 51:581-586.
27. Anderson P, Seljeflo I, Abdelnoor M, Arnesen H, Dale PO, Lovik A. Increased insulin sensitivity and fibrinolytic capacity after dietary intervention in obese women with polycystic ovary syndrome. *Metabolism* 1995. 44:611-616.

28. Tomson RL, Buckley JD, Noakes M, Clifton PM, Brinkworth N, Brinkworth GD. The effect of a hypocaloric diet with and without exercise training on body composition, cardiometabolic risk profile and reproductive function in overweight and obese women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2008. 93:3373-3380.
29. Cuff DJ, Meneilly GS, Martin A, Ignaszewski A, Tildesley HD, Frohlich JJ. Effective exercise modality to reduce insulin resistance in women with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2003. 26:2977-2982.
30. Cauza E, Hanusch-Enserer U, Strasser B, Ludvik B, Metz-Schimmerl S, Pacini G, Wagner O, Georg P, Prager R, Kostenr K, Dunky A, Haber P. The relative benefits of endurance and strength training on the metabolic factors and muscle function of people with type 2 diabetes mellitus. *Arch Phys Med Rehabil* 2005. 86:1527-1533.
31. Di Loreto C, Fanelli C, Lucidi P, Murdolo G, De Cicco A, Parlanti N et Al. Make your diabetic patient walk : long term impact of different amounts of physical activity on type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2005. 28:1295-302.
32. Di Loreto C, Fanelli C, Lucidi P, Murdolo G, De Cicco A, Parlanti N et Al. Validation of counselling strategy to promote the adoption and the maintenance of physical activity by type 2 diabetic subjects. *Diabetes Care* 2003. 26:404-8.
33. Santeusano F, Di Loreto C, Lucidi P, Murdolo G, De Cicco A, Parlanti N et Al. Diabetes and exercise. *J Endocrinol Invest* 2003. 26: 937-40.