

# Patogenesi della PCOS: dalle implicazioni metaboliche e neuroendocrine alla scelta del trattamento

Alessia Prati, Alba Manzo, Martina Caroli, Veronica Tomatis, Melania Arnesano,  
Federico Marchini, Christian Battipaglia, Tabatha Petrillo, Antonella Napolitano,  
Alessandro D. Genazzani

CENTRO DI GINECOLOGIA ENDOCRINOLOGICA, CLINICA OSTETRICA E GINECOLOGICA  
UNIVERSITÀ DI MODENA E REGGIO EMILIA

## ABSTRACT

{ITA} La sindrome dell'ovaio policistico (PCOS) è una condizione eterogenea che interessa il 5-20% delle donne in età riproduttiva. Le caratteristiche comuni di queste pazienti sono la ben nota presenza di un'inappropriata secrezione delle gonadotropine con un aumento della frequenza e dell'ampiezza dei pulse di LH, l'anovulazione e l'iperandrogenismo. Oltre ai ben noti sintomi clinici, la PCOS si caratterizza anche per una serie di problematiche metaboliche come l'obesità e l'iperinsulinemia. Il profilo endocrino di queste pazienti si caratterizza dunque per modificazioni profonde a livello centrale e periferico indotte dal peso, dall'iperandrogenismo e dall'insulino-resistenza.

Una review recente, ha ipotizzato un'origine primariamente neuroendocrina della PCOS: in particolare, dal momento che l'iperandrogenismo è presente nel 60% delle pazienti PCOS, sono stati valutati gli effetti di elevati livelli di androgeni sull'organismo. Ciò che emerge maggiormente è il ruolo che gli androgeni svolgono a livello centrale nello sviluppo e nella patogenesi delle caratteristiche tipiche della PCOS, anche se ovviamente rimane da determinare in che modo nell'uomo l'esposizione prenatale agli androgeni moduli e modifichi i circuiti che controllano l'ipotalamo. Sono scarsi invece i dati a nostra disposizione relativi a mutazioni genetiche direttamente collegati all'insorgenza di PCOS. Leziologia dell'iperandrogenismo ovarico disfunzionale resta certamente multifattoriale. Di fatto la PCOS sembra insorgere dall'interazione tra svariati fattori genetici ed ambientali: tra i fattori ereditari includiamo l'iperandrogenismo, l'insulino-resistenza e difetti di secrezione dell'insulina, mentre tra i fattori ambientali si annoverano l'esposizione in epoca prenatale ad un ambiente iperandrogenico, la ridotta crescita fetale (IUGR), l'obesità acquisita. Il management dell'infertilità nella paziente PCOS si avvale di numerose strategie terapeutiche tra cui la modificazione dello stile di vita, la chirurgia bariatrica, la Metformina, il Clomifene citrato, il Letrozolo, il drilling ovarico, gonadotropine ed IVF e numerosi prodotti integrativi tra cui inositoli e acido alfa-lipoico. In questa review analizzeremo le ultime novità in merito alla patogenesi della PCOS con la grande eterogeneità delle manifestazioni cliniche e delle implicazioni metaboliche.

{ENG} Polycystic ovary syndrome (PCOS) is an heterogeneous condition that involve between 5-20% of childbearing age women. Common characteristics of these patients are the presence of an inappropriate pulsatile secretion of LH, anovulation and hyperandrogenism. In addition to the clinical symptom, PCOS is characterized also for metabolic problems as obesity and hyperinsulinemia. Endocrine profile of these patients is marked for deep modifications at central and peripheral level induced by weight, hyperandrogenism and insulin-resistance.

A recent review focused on neuroendocrine origin of PCOS and on the role of hyperandrogenism since this is present in 60% of PCOS patients. The role of the androgens is central in the development and in the pathogenesis of the typical characteristics of PCOS, even if it remains to be determined in which way in human the prenatal exposure to androgens modulate and modify the circuits that control hypothalamus. Aetiology of the dysfunctional ovarian hyperandrogenism is multifactorial. It seems that PCOS could onset between the interaction of different genetic and environmental factors: among genetic factors we include hyperandrogenism, insulin-resistance, defects of insulin secretion, while between environmental factors we find the exposure during the prenatal life to hyperandrogenism, a reduced fetal growth (IUGR), an acquired obesity.

Management of the infertility in PCOS can be performed using various therapeutic strategies as the modification of lifestyle, bariatric surgery, Metformin, Clomiphene citrate, Letrozole, ovarian drilling, gonadotropins, IVF and many supplementary products as the inositol and alpha-lipoic acid.

The present review will try to disclose PCOS pathogenesis and its great heterogeneity of the clinic manifestations and of the metabolic implications.

## INTRODUZIONE

**L**a sindrome dell'ovaio policistico (PCOS) è una condizione eterogenea che interessa il 5-20% delle donne in età riproduttiva (1). È la più comune causa di anovulatorietà e quindi di infertilità, caratterizzata da iperandrogenismo con arresto dello sviluppo follicolare, frequentemente associati ad alterazioni metaboliche come l'insulino-resistenza o a sovrappeso/obesità.

Nonostante nel tempo siano stati proposti numerosi criteri diagnostici (Rotterdam, Androgen Excess and PCOS Society, National Institutes of Health), la diagnosi di PCOS, come da linee guida basate su evidenze internazionali pubblicate a luglio 2018 (2), si basa tutt'ora sui criteri di Rotterdam (2003), che richiedono siano presenti due delle tre principali caratteristiche della sindrome: anovulazione cronica quindi oligo/amenorrea, iperandrogenismo (clinico e/o bioumorale) ed aspetto ecografico policistico delle ovaie (3).

Nel corso degli anni è stato evidenziato uno spettro molto variabile di quadri clinici, variamente combinati nelle diverse pazienti, fino a parlare di quattro diversi fenotipi possibili.

### Criteri diagnostici nell'adulto (Rotterdam)

1. Fenotipo 1 (PCOS classica)
  - » a. Iperandrogenismo clinico e/o bioumorale
  - » b. Oligo-anovulazione
  - » c. Evidenza ecografica di ovaio policistico
2. Fenotipo 2 (Criteri NIH)
  - » a. Iperandrogenismo clinico e/o bioumorale
  - » b. Oligo-anovulazione
3. Fenotipo 3 (PCOS ovulatoria)
  - » a. Iperandrogenismo clinico e/o bioumorale
  - » b. Evidenza ecografica di ovaio policistico
4. Fenotipo 4 (PCOS senza iperandrogenismo)
  - » a. Oligo-anovulazione
  - » b. Evidenza ecografica di ovaio policistico

Le caratteristiche comuni di queste pazienti sono la ben nota presenza di un'inappropriata secrezione delle gonadotropine, spesso caratterizzata da elevati livelli di LH rispetto ai livelli di FSH inferiori del 30% ed un rapporto LH/FSH generalmente aumentato (>2,5), a causa dell'aumento della frequenza e dell'ampiezza dei pulse di LH, fenomeno alla base dell'iperandrogenismo ovarico. Oltre ai ben noti sintomi clinici, la PCOS si caratterizza anche per una serie di problematiche metaboliche come l'obesità, presente nel 25-50% delle donne affette, e l'iperinsulinemia, presente in oltre il 50% dei soggetti. Un'estesa letteratura ha dimostrato infatti come l'insulino-resistenza sia frequentemente associata alla PCOS, indipendentemente dal BMI delle pazienti. L'insulino-resistenza non è altro che un adattamento biologico, determinato da un'iperinsulinemia compensatoria allo scopo di mantenere i valori glicemici entro i range di normalità, presente nel 70-80% delle donne con PCOS ed obesità e nel 15-30% delle PCOS normopeso (4, 5, 6).

In caso di gravidanza, le donne affette da PCOS hanno un maggior rischio di incorrere in complicanze quali diabete gestazionale, disordini ipertensivi, pre-eclampsia, sindrome HELLP e parto pretermine (7).

## PROFILO ENDOCRINO DELLA PAZIENTE PCOS

### Peso e metabolismo

È ben noto quanto asse riproduttivo e peso corporeo siano strettamente correlati. A seconda della disposizione corporea del grasso, l'obesità viene classificata in obesità ginoide, in cui l'adipe si distribuisce nella parte inferiore del corpo, cioè glutei e cosce, e l'obesità androide, in cui il grasso si localizza centralmente a livello addominale, mesenterico e viscerale (8). La differenza sostanziale di questa diversa conformazione sta nel fatto che il tessuto adiposo accumulato a livello addominale risulta metabolicamente più attivo, è più sensibile alle catecolamine e meno all'insulina, pertanto tende a rilasciare alte quote di trigliceridi ed è un indice diretto di rischio cardiovascolare. Il rapporto circonferenza vita/fianchi (WHR, Waist Hip Ratio) è un ottimo mezzo per valutare il grado di obesità superiore rispetto a quella inferiore, quantificando la quantità di grasso intra-addominale. In un soggetto con BMI > 25 kg/m<sup>2</sup>, un rapporto maggiore di 0,80 è indice di obesità androide, mentre un rapporto minore di 0,75 è indice di obesità ginoide. La circonferenza vita, più che il solo BMI, è direttamente correlata con il rischio di sviluppare la Sindrome Metabolica (SM); la troviamo infatti inclusa tra i criteri diagnostici per SM stilati dall'Adult Treatment Panel III (ATIII), che considera come fattore di rischio una circonferenza vita uguale o maggiore di 102 cm nell'uomo e di 88 cm nella donna (8).

Come risultato di questo eccesso di peso, nella donna in particolare, si osserva frequentemente un'alterazione della capacità riproduttiva. Il tessuto adiposo non è inerte ma è un vero e proprio organo endocrino a se stante, con effetti a livello periferico e centrale, che a differenza degli altri sistemi endocrini è scarsamente controllato e modulato nella sua azione dall'area ipotalamica o da altri sistemi endocrini: le cellule adipose infatti sono in grado non solo di aromatizzare gli androgeni in estrogeni, ma anche di rilasciare segnali ormonali (adiponectina, leptina), che agendo direttamente sul SNC, regolano l'introito alimentare, il dispendio energetico e la riproduzione. Un'alimentazione eccessiva influenza in modo più o meno diretto l'equilibrio del nostro sistema metabolico ed endocrino, fino a condizionare l'ipotalamo, la centralina che regola e coordina tutto il sistema metabolico-ormonale, con conseguente alterazione del rilascio delle tropine ipotalamiche e quindi del ciclo mestruale, dall'oligomenorrea all'anovulazione, fino all'amenorrea. A livello centrale convergono infatti tutti i segnali relativi allo stato nutrizionale, come l'eccesso al pari del difetto di peso, che sono negativamente registrati dal nostro organismo. I segnali metabolici che arrivano a livello ipotalamico sono trasmessi proprio da leptina e adiponectina (due ormoni prodotti a livello degli adipociti) e GHrelina e da tanti altri neurotrasmettitori, che condizionano in modo preciso il rilascio del GnRH ipotalamico, sia nell'eccesso di peso come nel difetto. Quando la funzione ipotalamica è negativamente influenzata, ne conseguono dei disordini funzionali (PCOS, amenorrea ipotalamica, etc). Come è noto il nucleo paraottico-sopraventricolare, deputato alla secrezione di GnRH, è circondato dai centri che controllano il ritmo sonno-veglia, la termoregolazione, la fame/sazietà e la glicemia: modificazioni delle funzioni di questi centri, indotte dai segnali della periferia, determinano un'alterazione nella produ-

zione e nel rilascio pulsatile di GnRH che va a condizionare la funzione riproduttiva, innescando oligomenorrea, anovulazione e/o amenorrea.

### Iperandrogenismo

Pur essendo la PCOS una sindrome, bisogna sempre cercare di capire da dove l'iperandrogenismo sia indotto: alterazioni del metabolismo (diabete, malattie tiroidee), malfunzionamento a livello ovarico (cisti ovariche, follicoli atresici) o iperandrogenismo per diverse patologie endocrine dove sostanzialmente l'attrice principale è la ghiandola surrenale (adrenarca esagerata, sindrome di Cushing, iperplasia surrenalica). Tuttavia soltanto nel 3% delle PCOS l'iperandrogenismo è causato da una patologia surrenalica isolata (9).

Diagnosi differenziale di iperandrogenismo

- A. Anovulazione fisiologica dell'adolescente
- B. Iperandrogenismo ovarico funzionale
  - 1. Primario (tipico della PCOS)
  - 2. Secondario
    - a. Iperplasia surrenalica
    - b. Blocco della steroidogenesi ovarica
    - c. Insulino-resistenza
    - d. Acromegalia
    - e. Epilessia
  - 3. Disordini dello sviluppo sessuale
  - 4. Iperandrogenismo correlato alla gravidanza
- C. Iperandrogenismo surrenalico funzionale
  - 1. Primario (non comune nella PCOS)
  - 2. Iperplasia surrenalica congenital virilizzante
  - 3. Iperandrogenismo surrenalico funzionale responsivo ai glucocorticoidi
    - a. Iperprolattinemia
    - b. Cortisone RD deficiency (and apparent RD deficiency)
    - c. Deficit di DHEA-sulfotransferase
  - 4. Iperandrogenismo surrenalico funzionale non responsivo ai glucocorticoidi
    - a. Sindrome di Cushing
    - b. Resistenza ai glucocorticoidi
- D. Alterata produzione periferica di androgeni
  - 1. Obesità
  - 2. Iperandrogenismo idiopatico
  - 3. Shunt porto-epatico
- E. Tumori virilizzanti
- F. Iperandrogenismo iatrogeno

Gli androgeni e i suoi precursori normalmente vengono prodotti a livello ovarico e surrenalico in quantità circa uguale, rispettivamente sotto lo stimolo di LH e di ACTH. Gli androgeni però non hanno un meccanismo neuroendocrino di feedback negativo che ne regoli la produzione, infatti la produzione androgenica da parte dell'ovaio sembra essere regolata da meccanismi intra-ovarici, allo scopo di ottimizzare la sintesi di androgeni ed estrogeni, quindi la follicologenesi, in quanto è vero che gli androgeni sono il substrato per la produzione di estrogeni, ma se presenti in eccesso ostacolano l'ovulazione. La ipersecrezione androgenica ovarica tipica delle pazienti PCOS sembra essere causata da un lato da un meccanismo di desensibilizzazione delle cellule tecali all'LH, che tuttavia consente di

limitare la produzione androgenica eccessiva, dall'altro i livelli di androgeni prodotti vengono regolati da meccanismi paracrini, che agiscono essenzialmente mediante l'attività del citocromo p450c17, che limita la formazione di ormoni steroidei. Nella PCOS, comunque sia innescata, fondamentale viene alterata l'attività aromatasica dell'ovaio. È ben noto che la produzione di estradiolo a livello ovarico sia legata alla corretta aromatizzazione degli androgeni in estrogeni: ogni qualvolta qualche fattore di tipo metabolico, come ad esempio un quadro di iperinsulinemia compensatoria, secondaria ad insulino-resistenza periferica, vada ad alterare questo equilibrio, si inibiscono i meccanismi di down-regolazione sulla produzione androgenica o viene alterata l'attività aromatasica.

La mancata conversione degli androgeni verso l'estradiolo e l'iperandrogenismo che ne deriva induce una minore sintesi di SHBG epatiche, facilitando l'aumento di androgeni plasmatici liberi nel plasma e la conseguente insorgenza di alterazioni cliniche come l'irsutismo e l'acne (6). Inoltre l'eccesso di androgeni modula negativamente la funzione dell'insulina a livello epatico e a livello periferico: infatti è stato dimostrato che il testosterone interferisce negativamente nella trasmissione del segnale intracellulare dell'insulina, riducendo il numero e l'efficienza dei trasportatori del glucosio (GLUT-4), generando meccanismi di insulino-resistenza (10). Nella donna con PCOS si riscontra anche un eccesso di IGF-1 oltre che di insulina, con un incremento dei livelli di androgeni legato sia al deficit di aromatasi sia al calo di SHBG, con il conseguente aumento della quota androgenica libera e quindi metabolicamente attiva; tutto questo va a condizionare profondamente l'equilibrio dell'asse riproduttivo a livello ipotalamico ed ipofisario. Viene così ulteriormente sottolineata l'importanza dello stato nutrizionale per il buon funzionamento dell'asse riproduttivo.

### Resistenza insulinica

L'insulina, come già citato, condiziona la sintesi degli androgeni modulando direttamente il citocromo P450-17alfa e i suoi livelli correlano con la glicemia: per questo quando si studia la risposta allo stimolo con carico orale di glucosio di una paziente che ha insulino-resistenza non dobbiamo focalizzarci sulla glicemia, in quanto l'organismo fa di tutto per contenere i livelli ematici di glucosio, ma per farlo spende anche fino a 5-10 volte la quota di insulina normalmente necessaria. La prevenzione è quindi l'arma più potente che abbiamo a disposizione, attraverso un corretto stile di vita e gli insulino-sensibilizzanti come la Metformina sono soltanto di aiuto nella gestione di queste condizioni.

Insulino-resistenza ed iperinsulinemia sono gli elementi che determinano la differenza clinica e biochimica tra la paziente PCOS con sovrappeso/obesità e quella normopeso. In presenza di obesità ed insulino-resistenza, con una distribuzione di tipo androide del tessuto adiposo, pur avendo valori assoluti di androgeni solo modicamente aumentati, ma con valori di SHBG ridotti, i segni clinici di iperandrogenismo diventano molto evidenti. Nella PCOS senza insulino-resistenza è minore la quota di androgeni liberi e quindi risulta più contenuta anche la manifestazione clinica legata all'iperandrogenismo. In questo contesto il dato del Test da Carico Orale di Glucosio (OGTT) diventa essenziale. Anche in altre patologie ormonali, come nelle bambine con quadro di ipo-GH, riscontria-

mo una risposta dell'insulina allo stimolo con glucosio simile a quella che si osserva nelle obese: infatti, il deficit di GH innesca dei meccanismi di compenso modificando la secrezione sia del cortisolo che dell'insulina nel tentativo di sopperire a questa mancanza di GH fino ad alterare l'insulino-sensibilità. Tutto questo determina una risposta dell'insulina al glucosio che nella bambina normopeso ma con deficit di GH risulta paradossalmente simile a quella della obesa e/o della PCOS.

Un altro aspetto essenziale che si è evidenziato negli ultimi anni è il coinvolgimento del fegato in questo assetto endo-metabolico. Sappiamo già che la NAFLD (Non Alcoholic Fatty Liver Disease) è il risultato dell'insulino-resistenza, che comporta un accumulo di grasso a livello epatico; inoltre è stato recentemente dimostrato che il fegato produce due ormoni, l'HGF (Hepatocyte Growth Factor) e la betatrofina, che sono coinvolti in un sistema che va a modulare la risposta compensatoria delle cellule beta-pancreatiche all'insulino-resistenza. La betatrofina modula in modo diretto la proliferazione delle cellule beta in caso di insulino-resistenza per poter aumentare la quota di insulina dismessa ed ottenere così un miglior controllo della glicemia e dell'uptake del glucosio in circolo (11); l'HGF è un fattore di crescita che gioca un ruolo chiave nella connessione, tramite la via oppioidergica e neuroaminergica, dell'asse cervello-fegato-pancreas, modulando tramite questa via la risposta adattativa del pancreas all'insulino-resistenza (11). Studi su modelli animali hanno ipotizzato che i recettori per l'insulina siano presenti anche a livello centrale, in particolare localizzati sui neuroni kisspeptina-secerenti, che a loro volta stimolano i neuroni GnRH secernenti: in corso di iperinsulinemia si ha un'eccessiva azione sui neuroni kisspeptina-secerenti, inducendo un aumentato rilascio di GnRH.

Lo studio della neuroendocrinologia nell'obeso, quindi, dimostra come ci sia un link diretto tra SNC e metabolismo, ed in particolare come ci sia una regolazione centrale dei meccanismi di difesa e di compenso metabolici.

È noto come l'insulino-resistenza possa essere dovuta a diversi condizionamenti indotti già in epoca prenatale, come nei casi di diabete gestazionale, obesità, o alla nascita nel caso di bambini IUGR (Intra-Uterin Growth Restriction), dove l'iperinsulinemia è un meccanismo compensatorio di difesa che permette al neonato di basso peso di accumulare riserve e raggiungere così più velocemente un peso appropriato. L'insulino-resistenza può anche essere legata a difetti recettoriali o di trasduzione del segnale, a fattori ereditari (diabete familiare), ma nell'obesità dell'adulto il meccanismo con cui si instaura è facilmente comprensibile.

#### NUOVE PROSPETTIVE NELLA PATOGENESI DELLA PCOS

Una review recente, che ha raccolto i risultati di numerosi studi condotti su modelli animali, ha ipotizzato un'origine primariamente neuroendocrina della PCOS (12): in particolare, dal momento che l'iperandrogenismo è presente nel 60% delle pazienti PCOS, sono stati valutati gli effetti di elevati livelli di androgeni sull'organismo. In questi modelli animali è stato osservato che l'esposizione ad elevati livelli di androgeni nella vita prenatale o nei primi mesi di vita induce l'insorgenza di caratteristiche tipiche della PCOS: manifestazioni cliniche di iperandrogenismo, ipersecrezione dell'ormo-

ne LH, aspetto PCO-like delle ovaie, disfunzioni ovulatorie, ma anche aumento della quantità di massa grassa, ipertrofia delle cellule adipose, insulino-resistenza. A giustificare questi cambiamenti sta il fatto che il recettore degli androgeni (AR) gioca un ruolo probabilmente essenziale nella patogenesi della PCOS: AR si trova espresso a livello dell'asse ipotalamo-ipo-fisi-ovaio, ma anche sugli adipociti e a livello epatico. Tuttavia probabilmente è preponderante il ruolo svolto dagli androgeni a livello centrale, infatti nel modello animale privato di AR a livello del cervello e sottoposto a stati di iperandrogenismo è stata osservata una riduzione molto più marcata delle manifestazioni tipiche della PCOS rispetto al modello knock-out per AR a livello ovarico (12).

Il tratto più caratteristico della paziente PCOS è l'aumentata frequenza dei picchi di LH, legata all'aumentata stimolazione da parte dei neuroni GnRH secernenti: sempre su modelli animali è stato osservato che questi neuroni non esprimono recettori per androgeni, progesterone ed alfa-estrogeni, pertanto il feedback negativo e positivo a livello centrale è esercitato in modo indiretto, quindi non a livello di questi neuroni, ma recentemente sono stati individuati due gruppi neuronali, quelli kisspeptina/neurochinina B/dinorfina (KNDy), che agiscono con un meccanismo di modulazione che dipende dai livelli di estrogeni circolanti, ed i neuroni GABAergici del nucleo arcuato, che garantiscono un effetto stimolatorio sui neuroni

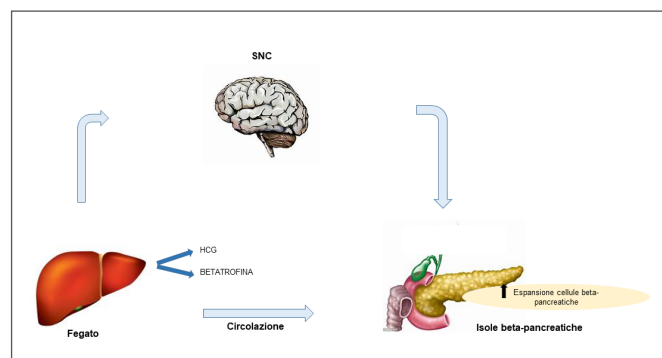


Fig.1 - Rappresentazione schematica degli effetti della betatrofina, dell'HGF e delle connessioni nervose sulle isole pancreatiche, dove queste inducono una risposta compensatoria all'insulino-resistenza (modificato da ref. 11).

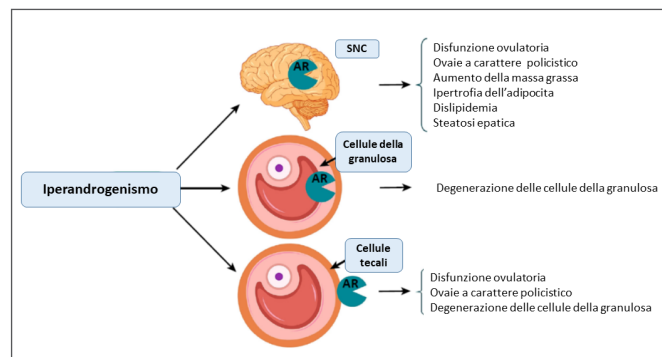


Fig.2 - Diversi siti di azione di AR nel generare i tratti caratteristici della PCOS. In particolare silenziando AR a livello del SNC e generando stati di iperandrogenismo nei ratti non venivano indotti i tratti riproduttivi e metabolici della PCOS, quindi la perdita della funzione di AR a livello centrale protegge dall'insorgenza di PCOS in misura maggiore rispetto alla perdita della funzione di AR nelle ovaie (modificato da ref. 12).

GnRH-secerenti (13). I neuroni Kisspeptina secerenti si dividono in due gruppi: quelli localizzati a livello del nucleo periventricolare antero-ventrale (AVPV) si attivano in presenza di bassi livelli di estrogeni circolanti, generando un feedback positivo sui neuroni GnRH secerenti, mentre quelli presenti a livello del nucleo arcuato si attivano con alti livelli di estrogeni, creando un feedback negativo sul pulse generator.

In particolare, di recente è stato attribuito un ruolo importante ai recettori degli androgeni nella regolazione del sistema KNDy (14): infatti è stato osservato che l'esposizione prenatale a stati di iperandrogenismo determina una ridotta innervazione da parte del sistema KNDy sui neuroni GnRH secerenti, inficiandone l'azione di feedback negativo. Pertanto è stato postulato che il sistema KNDy possa diventare un target terapeutico per modulare l'attività del pulse generator GnRH/LH, allo scopo di ridurre la frequenza dei pulse di LH, i livelli circolanti di LH e del testosterone. Al contrario l'iperandrogenismo in epoca prenatale genera un incremento del segnale GABAergico sui neuroni GnRH secerenti, aumentandone l'attività, in quanto aumenta l'innervazione stessa che si origina dai neuroni GABAergici del nucleo arcuato.

È stato proposto inoltre un modello legato alla disfunzione dell'adipocita come trigger della fisiopatologia della PCOS e certamente non si può escludere anche un ruolo da parte dei recettori degli androgeni a livello ovarico nello sviluppo dei tratti riproduttivi tipici della PCOS.

Ciò che emerge maggiormente però è il ruolo che gli androgeni svolgono a livello centrale nello sviluppo e nella patogenesi delle caratteristiche tipiche della PCOS, anche se ovviamente rimane da determinare in che modo nell'uomo l'esposizione prenatale agli androgeni moduli e modifichi i circuiti che controllano l'ipotalamo; ne consegue un ruolo potenziale anche di una molecola che blocchi i recettori degli androgeni, nel ricreare a livello centrale un equilibrio tra i vari sistemi neurotrasmettitoriali per la ripresa della corretta funzionalità dell'asse riproduttivo. Certamente l'esposizione a stati di iperandrogenismo nella vita prenatale è un cofattore epigenetico importante per lo sviluppo della PCOS.

#### GENETICA, METABOLISMO E PCOS

**P**articolarmente scarsi risultano i dati a nostra disposizione relativi a mutazioni genetiche direttamente collegati all'insorgenza di PCOS.

Uno studio del 2017 sempre condotto su modelli animali con una mutazione selettiva del gene PTEN (Phosphatase and TENsin homolog) nelle cellule della teca ovarica ha evidenziato la comparsa di numerose caratteristiche riproduttive tipiche della PCOS, tra cui alterazione della ciclicità mestruale, anovulatorietà, elevati livelli di androgeni circolanti, aspetto ovarico caratteristico PCO-like. Ricordiamo che in assenza della proteina PTEN, facente parte della cascata del meccanismo di trasduzione del segnale intracellulare dell'insulina, viene alterato il corretto meccanismo di diffusione facilitata del glucosio all'interno delle cellule mediato dai trasportatori (15).

Un altro enzima sicuramente importante nel metabolismo glucidico, responsabile della trasformazione del Myo-inositolo in D-chiro-inositolo, è l'epimerasi, di cui è possibile supporre una ridotta funzionalità o espressione nelle pazienti con iperinsulinemia e PCOS. Infatti è fondamentale l'azione delle due

principali isoforme di inositoli nel controllo della trasduzione del segnale intracellulare di numerosi ormoni peptidici tra cui l'insulina: considerando che l'inositolo partecipa e favorisce meccanismi di diffusione facilitata del glucosio all'interno della cellula, di glicosidazione del glucosio e di glicogenosintesi bisogna considerare la possibilità di un suo uso integrativo nel diabete e nella PCOS. La quantità di MYO presente a livello intracellulare è in equilibrio con le altre isoforme di inositoli e quando richiesto viene trasformato in DCI dalla epimerasi che agisce in modo tessuto-specifico e quindi garantisce la conversione necessaria nei vari distretti (16). Nei pazienti diabetici o con insulino-resistenza è stata riscontrata una quantità inferiore di DCI nelle urine e nei tessuti insulino-sensibili rispetto alla popolazione generale, a dimostrazione che possa esistere un'anomala funzione/espressione dell'epimerasi che garantisce la produzione di questo prodotto, contribuendo al peggioramento dell'insulino-resistenza e dell'iperinsulinemia compensatoria (17).

Sin dall'inizio venne ipotizzato che il primum movens della PCOS fosse un iperandrogenismo ovarico disfunzionale, causato appunto da una mancata regolazione nella secrezione androgenica. Nel tempo è stato evidenziato che questa caratteristica è presente nei due terzi delle pazienti PCOS, che mostrano una eccessiva risposta nella produzione in particolare di 17OH-P alla stimolazione gonadotropinica. Il terzo rimanente è una popolazione di PCOS atipiche ed eterogeneo, in cui l'iperandrogenismo ha un'origine anche surrenalica, associato o meno ad obesità. Approssimativamente la metà delle donne con PCOM (polycystic ovarian morphology) presentano un iperandrogenismo ovarico disfunzionale correlato ad un difetto della steroidogenesi (18): infatti le cellule della teca ovarica di donne con PCOS messe in coltura mostrano un'intrinseca disregolazione della steroidogenesi, compatibile con quanto si osserva in vivo, con un'elevata espressione degli enzimi tipici della steroidogenesi ed in particolare del citocromo p450c17, enzima responsabile del blocco alla produzione di androgeni in caso di sintesi eccessive, presente a livello gonadico e surrenalico. Recentemente è stata identificata una proteina, DENND1A.V2, promuovente la steroidogenesi nelle cellule produttrici androgeni, diversamente espressa nelle cellule neoplastiche ed in quelle normali, che posta in coltura con cellule tecali ha riprodotto il fenotipo della PCOS (18).

L'etiologia dell'iperandrogenismo ovarico disfunzionale resta certamente multifattoriale: come già detto sembra svilupparsi da una complessa interazione tra fattori congeniti predisponenti e fattori ambientali favorevoli, i più comuni dei quali sembrano essere l'insulino-resistenza e l'obesità, che hanno a loro volta una componente di ereditarietà: infatti l'obesità si associa all'aumentata produzione androgenica ovarica, primariamente a causa di condizioni sistemiche di iperinsulinemia, ma anche a causa di un'aumentata produzione di citochine infiammatorie. La sindrome metabolica correlata all'obesità e all'insulino-resistenza è presente in circa la metà delle donne affette da PCOS e l'iperinsulinemia compensatoria che si osserva caratteristicamente ha effetti tessuto-specifici, creando un aggravamento dell'iperandrogenismo.

Di fatto la PCOS sembra insorgere dall'interazione tra svariati fattori genetici ed ambientali: tra i fattori ereditari includiamo la PCOM, l'iperandrogenismo, l'insulino-resistenza e i difetti

ti di secrezione dell'insulina, mentre tra i fattori ambientali si annoverano l'esposizione in epoca prenatale ad un ambiente iperandrogenico, la ridotta crescita fetale (IUGR), l'obesità acquisita. La grande varietà di processi biologici coinvolti nel metabolismo glucidico e nella steroidogenesi, in associazione alla varietà dei quadri ambientali possibili, rende la patogenesi multifattoriale e la sindrome particolarmente eterogenea. Pertanto serviranno altri studi per comprendere le basi esatte della fisiopatologia della PCOS per correggere l'iperandrogenismo, l'anovulatorietà, l'iperinsulinemia (18).

Ciò che rende particolarmente difficile comprendere pienamente la patogenesi della PCOS è la grande eterogeneità delle manifestazioni cliniche e delle implicazioni metaboliche (19). Sin dal 1968 gli studi hanno suggerito un importante ruolo della genetica nell'eziologia della PCOS (20): infatti parenti di primo grado di pazienti affette dal PCOS hanno un rischio aumentato di essere esse stesse affette rispetto alla popolazione generale (21) ed è stata osservata una corrispondenza maggiore di patologia tra gemelle monozigoti rispetto alle eterozigoti (22), concludendo che la componente genetica contribuisca per oltre il 70% alla patogenesi. Nonostante ciò studi basati sui geni candidati alla patogenesi della PCOS non hanno portato a risultati concreti. Ad oggi sono stati identificati numerosi nuovi loci e geni candidati alla patogenesi della PCOS tramite il Genome Wide Association Studies (GWAS), che è un nuovo approccio allo studio del genoma per comprendere la base genetica di numerose patologie complesse, attraverso un'indagine delle variazioni geniche osservate negli individui affetti dalla stessa malattia. Tuttavia questi loci identificati tramite il GWAS hanno spiegato meno del 10% della componente genetica della PCOS, perché questo metodo consente di studiare soltanto le varianti più comuni, quindi alcuni loci più noti, e non le varianti meno frequenti e più rare, che tuttavia potrebbero avere un grosso impatto nel generare la sindrome e i vari fenotipi che la caratterizzano (23).

Certamente quindi questa malattia non può essere spiegata da un numero limitato di varianti (24): in questo contesto è iniziato un processo di sequenziamento massivo del genoma che può arrivare anche ad una analisi completa dello stesso per la ricerca di varianti genetiche rare che contribuiscono alla patogenesi della PCOS ed alla mappatura delle varianti genetiche che generano i differenti fenotipi della sindrome (24). Maggiori conoscenze genetiche, in associazione agli studi epigenetici sulla PCOS, potrebbero aiutarci a comprendere in modo più chiaro la patogenesi di questa sindrome, creando implicazioni pratiche come una diagnosi più semplice e precoce del fenotipo specifico della paziente, che permetterebbe di trattare e prevenire le possibili copatologie associate in maniera estremamente personalizzata.

#### IL MANAGEMENT DELL'INFERTILITÀ NELLA PAZIENTE PCOS

**P**oiché fino ad oggi l'eziologia della PCOS non è stata completamente definita, le opzioni terapeutiche non sono classificate in modo specifico e molti trattamenti restano tutt'ora off-label. Nel tempo numerosi sono stati gli approcci e i tentativi per indurre l'ovulazione nella paziente PCOS: analizziamo a seguire i principali e più comunemente utilizzati.

#### Modificazione del Lifestyle

L'obesità ha ovviamente un impatto negativo sulla fertilità delle donne con PCOS: riduce le possibilità di concepimento visto il numero ridotto o nullo di cicli ovulatori spontanei e aumenta la percentuale di aborti, del rischio di complicazioni durante la gravidanza e di outcome perinatale avverso. La modificazione dello stile di vita rappresenta quindi il primo e più basilare approccio terapeutico, che comprende la combinazione di una dieta ipocalorica, un incremento dell'attività fisica, se necessario un supporto psicologico, in quanto è stato evidenziato che determina un miglioramento significativo degli indici metabolici ed antropometrici (peso corporeo, WHR e rapporto massa grassa/massa magra) (25). Inoltre la riduzione dei livelli plasmatici di insulina e degli androgeni favorisce il ripristino della ciclicità mestruale e ovulatoria, migliorando la funzione e l'outcome riproduttivo delle donne con PCOS. La dieta ed il regolare esercizio fisico dovrebbero dunque essere raccomandati come prima linea di trattamento della paziente con PCOS con BMI > 25 kg/m<sup>2</sup>, in particolare quindi nel sovrappeso/obesità (26), ma sembra portare benefici anche nelle pazienti PCOS normopeso, indipendentemente dal peso della paziente e anche se non si verifica una perdita di peso concreta, in quanto migliora semplicemente i fattori di rischio metabolici associati alla PCOS (27).

La modificazione dello stile di vita parte dunque da una dieta ipocalorica (500–1000 calorie in meno al giorno) in associazione all'esercizio fisico (20–60 minuti di attività fisica al giorno da 3 a 5 volte a settimana) per 6 mesi. Per il medico che intercetta questa paziente è un obbligo ed un dovere consigliare di modificare lo stile di vita con un counseling adeguato e approfondito, facendo capire alla paziente che la finalità ultima è la salute generale della persona oltre che il ripristino della funzione riproduttiva. Se la compliance della paziente è scadente sarà indicato valutare l'opportunità di un supporto psicologico.

Nell'eventualità persista una condizione di iperinsulinemia o di difficoltà estrema nella perdita di peso nonostante le opportune modifiche dello stile di vita, è possibile l'introduzione della Metformina per almeno 6 mesi, che ha mostrato favorire il calo del BMI, con un'importante riduzione del grasso sottocutaneo e miglioramento della ciclicità mestruale, paragonato al solo corretto stile di vita associato al placebo (28). È sostanziale indagare la risposta insulinica al carico di glucosio, almeno ai tempi 0 e 90', per capire il rapporto tra glicemia e insulina e valutare come questa si modifichi sotto carico. La perdita di peso è l'elemento trainante, anche se modesta, ma sufficiente per ridurre il rischio metabolico. Nelle donne con PCOS il cambiamento dello stile di vita migliora la composizione corporea, riduce l'iperandrogenismo e l'insulino-resistenza (26). A sottolineare l'importanza dello stile di vita a prescindere da qualsiasi terapia, uno studio ormai consolidato ha valutato l'effetto del trattamento con Metformina (850 mg/die) o del solo cambiamento dello stile di vita (perdita di peso del 7% e attività fisica per 150 minuti a settimana) in un gruppo di soggetti con alterata tolleranza al glucosio (27): per ogni soggetto è stata valutata la presenza di sindrome metabolica prima e dopo il periodo di osservazione. I risultati di questo studio mostrano come sia il cambiamento dello stile di vita a consentire effetti assai più positivi oltre che sui livel-

li di glicemia anche e soprattutto sull'incidenza di sindrome metabolica, sia in termini di prevenzione dello sviluppo della patologia, sia di miglioramento delle condizioni metaboliche di base. Il trattamento con Metformina si è dimostrato efficace nella prevenzione o posticipazione dell'insorgenza del diabete, ma con un'efficacia minore rispetto all'assunzione di un diverso stile di vita.

Questo consente di evidenziare ancora una volta come qualsiasi trattamento farmacologico mirato ad ottenere un miglioramento dell'assetto metabolico non possa prescindere da un intervento che punti alla correzione dello stile di vita, dove un migliore stile alimentare è abbinato ad attività fisica quotidiana. Donne con sovrappeso e PCOS presentano, oltre ad una maggior incidenza di alterazioni del ciclo mestruale (oligo/amenorrea, anovulazione, polimenorrea), varie alterazioni metaboliche (iperinsulinemia, diabete, obesità addominale) e sono più esposte anche al rischio di sviluppare patologie cardiovascolari in giovane età, o comunque entro i 50 anni. L'insulino-resistenza e l'iperinsulinemia svolgono un'azione negativa anche a livello vascolare dove interagiscono con i fattori vasoattivi, come endotelina e ossido nitrico, generando processi di alterazione della vasodilatazione, predisponendo all'ipertensione. In pratica, alimentazione e assetto metabolico sono strettamente legati con il mondo neuroendocrino, compromettendo la funzione riproduttiva della donna giovane con PCOS e predisponendo a patologie che emergono nella donna adulta o in pre-menopausa come il diabete e le patologie cardiovascolari fino alle neoplasie estrogeno-indotte.

È evidente come l'arma migliore che abbiamo a disposizione sia la prevenzione, adottando un corretto stile di vita.

### **Chirurgia bariatrica**

Le attuali linee guida suggeriscono che la chirurgia bariatrica debba essere presa in considerazione soltanto nei casi di obesità di III grado, ovvero con BMI  $\geq 40$  kg/m<sup>2</sup>, o  $\geq 35$  kg/m<sup>2</sup> in associazione a comorbidità, o comunque in tutti in quei casi in cui non vi sia stato un calo ponderale dopo un programma di modificazione dello stile di vita attuato per 6 mesi (29). Questo tipo di chirurgia rappresenta un trattamento efficace per il calo ponderale, inoltre migliora gli outcomes di fertilità nelle pazienti obese con PCOS, ripristina la ciclicità mestruale e l'ovulazione, riduce l'iperandrogenismo e l'insulino-resistenza (29). Ovviamente le pazienti devono essere informate che esistono rischi correlati a questo tipo di chirurgia, sia legati all'intervento in sé, sia correlati all'insorgenza di numerose possibili complicazioni durante una gravidanza insorta successivamente a tale intervento, che va considerata ad alto rischio per parto pretermine, nascita di bambini SGA, maggior frequenza di MEF e morte neonatale, mentre si riduce il rischio di diabete gestazionale e bambini LGA (30). Pertanto la chirurgia bariatrica va considerata come l'ultima opzione terapeutica possibile per ottenere un calo ponderale, esponendo l'organismo ad un dimagrimento repentino associato all'insorgenza di possibili malassorbimenti. È evidente in conclusione che la chirurgia bariatrica rappresenta soltanto un'estrema ratio della gestione della paziente con PCOS e l'auspicio è che non diventi mai necessaria.

### **Metformina**

La Metformina, appartenete alla famiglia delle biguanidi, è un ipoglicemizzante orale, considerato trattamento di elezione nel diabete mellito di tipo 2. Agisce riducendo la produzione epatica di glucosio e l'uptake di glucosio a livello intestinale, mentre aumenta l'uptake del glucosio a livello periferico da parte del muscolo scheletrico e del fegato. Essendo quindi un agente insulino-sensibilizzante viene utilizzato nella PCOS per ridurre le concentrazioni sieriche di insulina e quindi migliorare l'assetto metabolico in queste pazienti, andando a favorire il ripristino di cicli ovulatori. Nella nostra pratica clinica la dose di partenza è 250 mg per due volte al giorno 15 minuti prima di pranzo e cena, aumentabile fino a 500-1000 mg dopo 15 giorni, con un incremento graduale del dosaggio per evitare gli effetti collaterali di tipo gastrointestinale molto comuni nei pazienti. Anche se la modificazione dello stile di vita rappresenta in assoluto la prima linea di trattamento nelle pazienti obese con PCOS ed infertilità, la Metformina può essere un valido coadiuvante nell'ottenimento del calo ponderale. Una recente meta-analisi (28) che include 12 studi con 608 partecipanti ha mostrato che la combinazione tra Metformina e modificazione dello stile di vita nelle pazienti con PCOS è più efficace per il calo ponderale rispetto alla sola dieta e attività fisica (28). Una recente review della Cochrane (31) che include 42 trials, che valutano gli effetti benefici della Metformina nelle donne con PCOS, ha evidenziato un incremento dei cicli ovulatori e della percentuale di gravidanza nel braccio trattato con Metformina rispetto al placebo.

Nonostante in questo tipo di pazienti la Metformina rispetto al placebo aumenti il tasso di cicli ovulatori (32), non è da considerarsi il farmaco per il trattamento dell'anovulatorietà cronica, in quanto esistono farmaci induttori dell'ovulazione specifici, come il Clomifene Citrato (CC) o il Letrozolo, che hanno mostrato risultati migliori in termini di percentuale di ovulazione, numero di gravidanze e nati vivi (33). È stata comunque valutata l'associazione tra Metformina e CC, che andrebbe considerata qualora la paziente non risponda al trattamento con il solo CC, anche se la review della Cochrane (31) fornisce solo scarse evidenze sull'efficacia dell'associazione di questi due prodotti. A conferma di questo dato sono state pubblicate anche due meta-analisi (34, 35) su pazienti con PCOS sottoposte a cicli di PMA, a cui veniva somministrata Metformina ed entrambe hanno dimostrato che questa non aumenta il tasso di gravidanze, ma riduce il rischio di sindrome da iperstimolazione ovarica (OHSS).

In conclusione la Metformina rappresenta un aiuto importante nella gestione della paziente obesa con PCOS, essendo un agente insulino-sensibilizzante che agisce migliorando il profilo metabolico e favorendo il calo ponderale; tuttavia esistono effetti solo relativi sull'incremento del tasso di gravidanze e di nati vivi. Rimane comunque una terapia a basso costo, con una buona tollerabilità, fatta eccezione per effetti collaterali gastrointestinali che restano tuttavia dose-dipendenti, ed un buon profilo di sicurezza. Non necessita di monitoraggi assidui e non induce gravidanze multiple. Bisogna considerare inoltre la sua prescrivibilità in associazione ad integratori, quali inositoli ed acido alfa-lipoico, in grado di migliorarne ulteriormente l'efficacia.

### Clomifene citrato

Il Clomifene citrato è un “selective estrogen receptor modulator” (SERM), che compete con gli estrogeni endogeni sui loro siti recettoriali. Si caratterizza pertanto per un effetto anti-estrogenico, che modifica le caratteristiche del muco cervicale e la recettività endometriale, eventi che potrebbero ostacolare l’impianto o il concepimento dopo aver indotto correttamente l’ovulazione. Viene considerato il trattamento di scelta nelle pazienti PCOS con anovulatorietà. La dose di partenza è di 50 mg al giorno per 5 giorni (dal giorno 3°-4° al 7°-8° del ciclo mestruale a seconda dei protocolli) e può essere aumentato fino ad un massimo di 150 mg al giorno. Tuttavia la resistenza al Clomifene è un evento molto frequente, che si verifica nel 15-40% delle donne con PCOS (36). La percentuale di ovulazione nelle donne con PCOS dopo somministrazione di CC è approssimativamente del 75-80%, mentre il conseguimento della gravidanza si osserva nel 22% dei casi (37). Questa discrepanza di circa il 40% tra percentuale di ovulazione e gravidanza è stato attribuito all’effetto ipoestrogenizzante del CC sull’endometrio e sul muco cervicale.

Il trattamento con CC generalmente viene suggerito per un periodo non superiore ai 6 mesi, in questo modo la percentuale di successo cumulativa per tutto il ciclo di trattamento arriva al 65% (37).

In un’ampia meta-analisi (38), comprensiva di 57 trials e 8082 donne, sono stati confrontati i protocolli di induzione dell’ovulazione più comunemente utilizzati: tutti i trattamenti farmacologici quali CC, Metformina, CC in associazione alla Metformina, Letrozolo, Tamoxifene, drilling ovarico, follicle stimulating hormone (FSH) si sono dimostrati più efficaci del placebo in termini di percentuale di ovulazione o gravidanza, pertanto nelle pazienti PCOS con anovulatorietà l’atteggiamento di attesa al momento non è raccomandato. Paragonato al Letrozolo, il Clomifene da solo ha mostrato percentuali di ovulazione, gravidanza e nati vivi inferiori, probabilmente a causa del suo effetto antiproliferativo endometriale. Anche una recente review sistematica (39), dove venivano analizzati gli effetti del CC e di altri agenti induttori dell’ovulazione sullo spessore endometriale in donne con cicli anovulatori, ha confermato questi stessi risultati. Ovviamente il CC ha mostrato inferiore efficacia in termini di outcomes riproduttivi rispetto alle gonadotropine esogene (40), farmaco di elezione da utilizzare come seconda linea di intervento qualora i trattamenti di partenza siano risultati inefficaci, in quanto il loro utilizzo risulta costoso, richiede monitoraggi assidui e può associarsi ad effetti collaterali come gravidanze multiple e sindrome da iperstimolazione ovarica (OHSS).

Il CC resta ad oggi il trattamento più utilizzato in tutto il mondo per l’induzione dell’ovulazione nelle pazienti PCOS (37, 41): si assume per os, è economico, efficace e sicuro, sostanzialmente privo di effetti collaterali, anche se in letteratura sono descritti casi di gravidanze multiple.

### Letrozolo

Il Letrozolo è un inibitore dell’aromatasi e viene comunemente utilizzato per l’induzione dell’ovulazione, generalmente in alternativa al trattamento con Clomifene, specialmente nelle donne in cui questo non sia risultato efficace. Va precisato anzitutto che il suo utilizzo come induttore dell’ovulazione rimane

off-label o addirittura proibito in alcuni paesi del mondo: il suo utilizzo è stato associato in alcuni studi ad effetti teratogeni sul feto (42) ed è gravato da effetti collaterali importanti legati all’ipoestrogenismo, tipici della sintomatologia premenopausale. Il meccanismo d’azione consiste nell’inibizione dell’enzima aromatasi, che converte gli androgeni in estrogeni a livello ovarico, dei tessuti periferici e del cervello. Il suo effetto non si esplica a livello recettoriale, ma agisce attraverso un meccanismo di feedback negativo a livello centrale, che determina generalmente la crescita di un singolo follicolo dominante. La dose di partenza è di 2.5 mg al giorno per 5 giorni, dal 3° al 7° giorno del ciclo mestruale, aumentabile fino ad un massimo di 7.5 mg per 5 giorni.

Nonostante gli importanti effetti collaterali del Letrozolo, numerosi trials clinici hanno dimostrato la superiorità dell’efficacia di questo prodotto rispetto al Clomifene, in termini di percentuale di ovulazione, di conseguimento della gravidanza e di nati vivi (43). In un ampio studio multicentrico condotto su 750 donne affette da PCOS con infertilità (44), a cui veniva somministrato Letrozolo o CC, è stata dimostrata la maggiore efficacia del Letrozolo in termini di induzione dell’ovulazione (61.7 vs 48.35%;  $p < 0.001$ ) e percentuale di nati vivi (27.5 vs 19.1%;  $p = 0.007$ ) rispetto alle donne che assumevano CC, fatta eccezione per un sottogruppo di donne con BMI  $< 30$  kg/m<sup>2</sup>, in cui entrambi i trattamenti mostravano la stessa efficacia in termini di percentuale di nati vivi. La maggior efficacia del Letrozolo potrebbe essere spiegata dal fatto che non ha effetti antiestrogenici diretti sul muco cervicale e sull’endometrio e dalla sua breve emivita (44).

In conclusione, si può considerare il Letrozolo come una potenziale opzione terapeutica per l’induzione dell’ovulazione, anche più efficace del Clomifene soprattutto nelle pazienti PCOS obese, ma sicuramente gravata da maggiori effetti collaterali.

### Drilling ovarico:

Il drilling ovarico laparoscopico può essere considerato una seconda linea di trattamento per le pazienti PCOS con infertilità resistenti al CC (37). Consiste sostanzialmente nel praticare piccole perforazioni con una profondità ed un diametro di circa 1-2 mm sulla superficie delle ovaie mediante elettrocauterizzazione monopolare o bipolare oppure mediante un laser con accesso chirurgico laparoscopico (45). Dopo questa procedura si osserva la parziale distruzione della corteccia ovarica ed un brusco calo dei livelli di androgeni da questa prodotti, una caduta dei livelli di LH ed un incremento di quelli dell’FSH, favorendo di conseguenza un corretto reclutamento follicolare fino all’ovulazione (46).

In una recente meta-analisi condotta su 484 partecipanti, che paragonava gli effetti del drilling ovarico unilaterale vs bilaterale, non si evidenziavano differenze in termini di percentuale di ovulazione, conseguimento della gravidanza, numero di nati vivi o aborti con le due tecniche, ma nemmeno differenze tra le concentrazioni sieriche di AMH dopo 6 mesi da trattamento chirurgico, che sembra pertanto non avere un impatto negativo sulla riserva ovarica.

Nell’ultima Cochrane riguardante questo argomento (47) non si evidenziavano differenze in termini di percentuale di nati vivi confrontando la tecnica chirurgica, l’utilizzo di gonado-



tropine esogene o di inibitori dell'aromatasi. Questa tecnica chirurgica risulta pertanto indicata qualora un paziente si dimostri resistente al CC o al Letrozolo e specialmente se necessita di una laparoscopia diagnostica anche per altre indicazioni, ad esempio la valutazione della pervietà tubarica; tuttavia come ogni procedura chirurgica può associarsi a numerose complicanze post-operatorie, tra cui la formazione di aderenze intra-addominali e la riduzione della riserva ovarica se la procedura non viene eseguita correttamente, di conseguenza prima di sottoporre la paziente a tale procedura è necessario valutare attentamente il rapporto rischi-benefici.

### Gonadotropine e IVF

Le gonadotropine (Follicle Stimulating Hormone (FSH) o Human Menopausal Gonadotropin (HMG)) rappresentano la seconda linea di trattamento per le pazienti con PCOS ed anovulatorietà, in cui terapie come il Clomifene o il Letrozolo non si siano dimostrate efficaci.

Le gonadotropine esogene agiscono incrementando i livelli di FSH e stimolando la crescita follicolare. La dose di partenza raccomandata nelle pazienti con PCOS per evitare fenomeni di iperstimolo sono di 37.5-75 IU/die (37), in particolare l'identificazione della dose ottimale si ottiene generalmente dopo alcuni cicli di stimolazione a seguito di diversi tentativi. Successivamente nel momento in cui i follicoli arrivano a 18 mm di diametro medio si utilizza una singola dose di hCG-r 250 µg o hCG-u 5000 IU come trigger all'ovulazione. Nel caso in cui i follicoli reclutati siano troppo numerosi (3 o più follicoli maggiori di 14 mm di diametro medio) l'hCG non viene somministrato per evitare il rischio di iperstimolazione ovarica o di gravidanze multiple. Il trattamento dovrebbe essere ripetuto fino ad un massimo di 6 cicli. Utilizzando protocolli low-dose step-up la percentuale di ovulazione di un singolo follicolo è del 70% circa, mentre quella di gravidanza del 20% per ciclo di trattamento (37).

Una recente review della Cochrane (48), che confronta l'efficacia delle varie preparazioni di gonadotropine nelle donne con PCOS resistenti al Clomifene, non ha evidenziato differenze in termini di percentuali di nati vivi o incidenza di OHSS (FSH urinario, FSH ricombinante o HMG), a dimostrazione che l'outcome è legato non tanto al preparato in sé quanto al dosaggio somministrato. La terapia combinata con Metformina si è dimostrata efficace nel migliorare gli effetti delle gonadotropine, aumentando la percentuale dei nati vivi rispetto all'utilizzo delle gonadotropine da sole (OR 2.46, 95% CI 1.36 to 4.46) (49).

Le gonadotropine esogene risultano chiaramente più efficaci nel favorire il conseguimento della gravidanza rispetto al trattamento con Clomifene, tuttavia sono farmaci particolarmente costosi e con possibili effetti collaterali (OHSS, gravidanze multiple), pertanto vanno somministrate sotto stretto monitoraggio ecografico.

La stimolazione ovarica associata a tecniche di IVF è considerata la terza linea di trattamento delle pazienti con PCOS ed anovulatorietà cronica, raccomandata in particolare se sono associate altre condizioni correlate ad infertilità come patologie tubariche, fattore maschile, età avanzata della donna, endometriosi severa (37).

Il transfer di un singolo embrione è fondamentale per ridurre il

rischio di gravidanze multiple, che rappresenta una delle complicanze più frequenti con l'utilizzo di gonadotropine.

Nonostante l'elevato numero di cicli sospesi nelle pazienti con PCOS, il tasso di gravidanze e nati vivi è paragonabile a quello delle donne non-PCOS (50). L'utilizzo di antagonisti del GnRH riduce inoltre il rischio di sindrome da iperstimolazione ovarica (OHSS), la cui incidenza è significativamente più alta nelle pazienti con PCOS (15% vs 3%) (51).

### Inositolo

Recentemente il primo approccio alla PCOS si è rivolto al trattamento dell'insulino-resistenza, in quanto il problema dell'anovulatorietà o delle irregolarità mestruali si correla ad una compromissione del metabolismo, che ha effetti profondi sulla salute presente ma soprattutto futura di queste pazienti. In questa prospettiva hanno preso largo uso in pochi anni gli inositoli, in particolare il Myo-inositolo (MI) ed il D-chiro-inositolo (DCI), le due isoforme clinicamente attive.

L'inositolo è un composto strutturalmente del tutto simile al glucosio, coinvolto in numerosi processi biologici tra cui quello di trasmissione del segnale post-recettoriale dell'insulina e di altri ormoni peptidici (52). Può essere assunto sia con la dieta che sintetizzato dall'organismo. Sia il Myo-inositolo che il D-chiro-inositolo hanno la stessa struttura chimica e differiscono tra di loro solo per la posizione del gruppo idrossilico: in vivo, DCI viene sintetizzato a partire dal MI da un'epimerasi, di cui è possibile supporre una ridotta funzionalità o espressione nelle pazienti con iperinsulinemia e PCOS, infatti la supplementazione con MI o DCI o la combinazione di questi prodotti migliora significativamente il profilo metabolico nelle pazienti con PCOS, specialmente in quelle con familiarità per DM di tipo II e che assumono DCI (52, 53). Di conseguenza desumiamo che in alcuni soggetti l'inositolo, in particolare in alcune sue isoforme, possa essere carente, ad esempio nei soggetti con familiarità per diabete, nei casi di dieta povera di verdura o acidi grassi vegetali in cui esso è contenuto o di restrizioni alimentari estreme in cui si ha poco zucchero a disposizione per la trasformazione dello stesso in inositolo. Infatti il Myo-inositolo può essere sintetizzato a partire dal glucosio-6-fosfato, che viene isomerizzato e poi defosforilato (54), ma la maggior quota proviene dalla dieta.

A livello intracellulare il Myo-inositolo viene trasformato in fosfatidil-myo-inositolo, precursore dell'inositolo 3-fosfato, che agisce come secondo messaggero nella cascata intracellulare innescata da vari ormoni peptidici (55, 56, 57): infatti gli inositoli sono secondi messaggeri non solo della via del segnale intracellulare dell'insulina, di cui sono in grado di ridurre i livelli plasmatici, ma anche di altri ormoni proteici tra cui TSH ed FSH (52, 58), di conseguenza la loro somministrazione migliora anche il profilo ormonale in termini di capacità riproduttiva, grazie ad una migliore trasduzione del segnale dell'FSH. Dunque l'inositolo è in grado di migliorare la funzione riproduttiva, non soltanto per sua capacità di ridurre i livelli circolanti di insulina, grazie al miglioramento della trasduzione del suo stesso segnale a livello intracellulare, in particolare a livello epatico e del muscolo scheletrico (ormone che, come visto in precedenza, ha un effetto inibitorio sul sistema riproduttivo sia a livello centrale, che a livello ovarico), ma soprattutto in quanto l'inositolo è un secondo messaggero anche nella trasdu-

zione del segnale intracellulare dell'FSH, il principale ormone che regola il reclutamento follicolare.

I due inositoli intervengono in modi diversi nella trasmissione del segnale intracellulare dell'insulina. Due sono le principali vie di trasduzione del segnale intracellulare, che scattano nel momento in cui l'insulina lega il suo recettore: una è la via del fosfatidil-inositolo 3-fosfato, che attraverso vari passaggi attiva una protein-chinasi PKB/Akt, la quale a sua volta consente la traslocazione delle vescicole GLUT-4 sulla membrana cellulare, che consentono il trasporto del glucosio all'interno della cellula attraverso un meccanismo di diffusione facilitata e si trovano essenzialmente nel muscolo scheletrico e cardiaco e nel tessuto adiposo (59); l'altra via è mediata dalla proteina G, che scatena una serie di passaggi che portano alla liberazione di una molecola di DCI, che favorisce lo stoccaggio del glucosio in glicogeno nel citoplasma e la glicossidazione nel mitocondrio. A livello intracellulare è dunque fondamentale l'azione delle due principali isoforme di inositoli nel controllo della trasduzione del segnale intracellulare di numerosi ormoni peptidici: perciò è importante una dieta che ne garantisca un intake adeguato e che vi sia un buon meccanismo di conversione da MYO a DCI attraverso l'enzima epimerasi (59).

Considerando che l'inositolo partecipa e favorisce meccanismi di diffusione facilitata del glucosio all'interno della cellula, di glicossidazione del glucosio e di glicogenosintesi bisogna considerare la possibilità di un suo uso integrativo nel diabete e nella PCOS.

La quantità di MYO presente a livello intracellulare è in equilibrio con le altre isoforme di inositoli e quando richiesto viene trasformato in DCI da un'epimerasi che agisce in modo tessuto-specifico e quindi ne garantisce la conversione necessaria nei diversi distretti (16). Nei pazienti diabetici o con insulino-resistenza è stata riscontrata una quantità inferiore di DCI nelle urine e nei tessuti insulino-sensibili rispetto alla popolazione generale, a dimostrazione che possa esistere un'anomala funzione/espressione dell'epimerasi, contribuendo al peggioramento dell'insulino-resistenza e dell'iperinsulinemia compensatoria (17). Nel 1999 Nestler ha dimostrato che somministrando 1200 mg/die di DCI alle pazienti PCOS obese per 8 settimane migliorava l'insulino-sensibilità e si riducevano i livelli circolanti di androgeni; successivamente è stato dimostrato che il DCI aumentava la probabilità di avere cicli ovulatori e si è rivelato efficace anche nelle PCOS normopeso (60). Altri autori in seguito hanno dimostrato che per lo svi-

luppo e la maturazione ovcitaria a livello ovarico aveva un ruolo predominante il MYO, correlando positivamente con la qualità ovcitaria e la concentrazione di estradiolo nel liquido follicolare (61); nei cicli di PMA il MYO migliora infatti la qualità degli ovociti e degli embrioni più che il DCI (62), pertanto certamente il pattern metabolico ed endocrino ovarico non richiede alte concentrazioni di DCI (63). L'isoforma di cui tuttavia necessitano la maggior parte degli organi come fegato, muscolo scheletrico e reni è il DCI, ove svolge un ruolo di correzione dell'insulino-resistenza, fondamentale per il buon funzionamento del sistema riproduttivo.

Nel 2012 Unfer (62) ha sintetizzato gli outcomes di 21 studi ed ha osservato che la somministrazione di MYO nelle pazienti PCOS migliorava i parametri metabolici ed ormonali, riduceva il BMI, favoriva la ciclicità mestruale e la fertilità (62). Tuttavia nel 2012 è stato dimostrato che il MYO, quando somministrato a pazienti PCOS obese con valori di insulinemia a digiuno regolari (< 12 microU/ml), non induceva miglioramenti sul profilo metabolico in termini di risposta dell'insulina al carico orale di glucosio, a dimostrazione del fatto che l'obesità non è sufficiente a giustificare da sola l'iperinsulinemia, che si genera in parte probabilmente anche per un deficit di sintesi/rilascio del DCI-IPG (64) ed ecco perché il MYO, dal punto di vista metabolico, potrebbe non essere efficace in tutte le pazienti. Il fatto che l'attività/espressione dell'enzima epimerasi sia alterata nei pazienti diabetici e alterata/ridotta nelle pazienti PCOS con familiarità per diabete mellito di tipo 2 (65) suggerisce che in questi soggetti possa essere più efficace il DCI: è stato dimostrato che la sua somministrazione al dosaggio di 500 mg/die migliora l'insulino-sensibilità in tutte le pazienti con insulino-resistenza (66, 67).

Pertanto sia il MYO che il DCI sembrano essere potenzialmente efficaci, ma occorre discriminare nella scelta del loro utilizzo la familiarità della paziente per diabete mellito di tipo 2, in quanto in questi soggetti la conversione del MYO in DCI potrebbe non essere ottimale (66, 67). Dal momento che dal punto di vista metabolico è più rilevante l'effetto del DCI, mentre a livello ovarico quello del MYO, è opportuna in certi casi la supplementazione di una combinazione dei due. Una recente Consensus Conference raccomanda l'utilizzo di una combinazione delle due isoforme in una proporzione di 40 (MYO) a 1 (DCI), corrispondente alle loro concentrazioni plasmatiche fisiologiche, garantendo benefici a livello sistemico e ovarico (68), sulla prevenzione della sindrome metabolica e del rischio di diabete gestazionale.

Una recente metanalisi, che include 10 RCTs comprendenti 601 donne partecipanti (69) ha dimostrato che la supplementazione con inositolo migliora il tasso ovulatorio e la frequenza della ciclicità mestruale rispetto al placebo. Tuttavia una recente review smentisce questi dati in termini di outcomes riproduttivi (70): l'inositolo, somministrato a pazienti PCOS che si sottopongono a cicli di ICSI, non migliora la qualità ovcitaria e la percentuale di gravidanze, mentre il DCI ha un ruolo controverso.

In generale possiamo concludere che esistono numerose evidenze che dimostrano l'efficacia di questi prodotti integrativi, capaci di modulare la funzione riproduttiva e metabolica nelle pazienti PCOS: fondamentale per la scelta della terapia corretta è l'indagine sull'anamnesi familiare per indagare la pre-

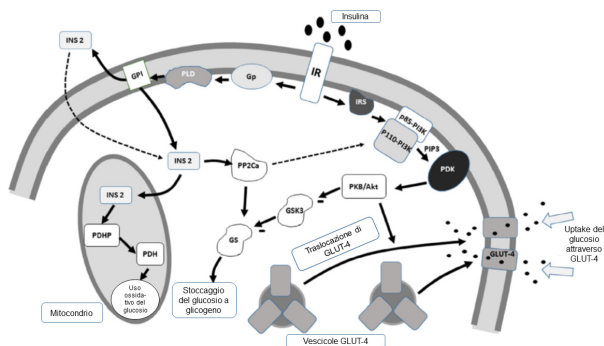


Fig.3 - Principali vie di trasduzione del segnale intracellulare dell'insulina (modificato da ref. 52).

disposizione al diabete. È opportuno valutare questa opzione terapeutica soprattutto considerando che è scevra da effetti collaterali, associandola alla modificazione dello stile di vita, ricordando che gli inositoli sono prescrivibili anche in associazione a Metformina o a terapie per l'induzione dell'ovulazione.

### Acido alfa-lipoico

Recentemente un altro prodotto che sta prendendo largo impiego nella gestione dell'insulino-resistenza nelle pazienti PCOS è l'acido alfa-lipoico (ALA). Sull'animale è stato dimostrato che modula e aumenta l'utilizzo del glucosio attivando AMPK (adenosine monophosphate-activated protein Kinase) nel muscolo scheletrico e favorendo l'attivazione delle GLUT-4 (71, 72). Recentemente è stato inoltre proposto come terapia adiuvante in numerose patologie endocrinologiche tra cui il diabete (73, 74).

In un nostro studio abbiamo dimostrato che la somministrazione di ALA al dosaggio di 400 mg/die è in grado di migliorare la sensibilità insulinica nelle pazienti PCOS obese, indipendentemente dalla presenza o meno di familiarità al diabete (75), infatti ALA ha determinato una riduzione significativa dei livelli di insulina prodotti in risposta al carico orale di glucosio in entrambi i gruppi di pazienti, con o senza familiarità. Studi recenti hanno dimostrato che nel diabete di tipo II viene espresso scarsamente l'enzima acido lipoico sintetasi (LASY), che è responsabile della sintesi dell'acido lipoico a livello mitocondriale nei mammiferi (76, 77). L'acido lipoico endogeno modula l'utilizzo del glucosio, attivando l'enzima AMPK nel muscolo scheletrico (52), che a sua volta attiva la GLUT-4, il principale trasportatore di glucosio mediante meccanismi di diffusione facilitata dall'esterno all'interno della cellula (72), riducendo la quantità di insulina necessaria a livello periferico per mantenere valori corretti di glicemia. Pertanto abbiamo dimostrato che la somministrazione anche esogena di ALA, probabilmente attraverso il meccanismo sopra descritto, ha una funzione di correzione dell'insulino-resistenza nelle pazienti PCOS. I nostri dati hanno evidenziato che l'insulino-sensibilità migliora dopo trattamento con ALA in particolare nelle pazienti con familiarità al diabete: probabilmente perché in queste pazienti esiste un difetto di sintesi endogena di questo

prodotto a causa del deficit dell'enzima preposto alla sua produzione, come precedentemente anticipato (76, 77), ma anche nelle pazienti senza familiarità. Invece soltanto nelle pazienti con familiarità per DM tipo II è stata osservata una significativa riduzione dei livelli plasmatici di trigliceridi e transaminasi, che sono in genere più elevate anche se entro i limiti di norma, a supporto dell'ipotesi che ALA abbia una sua specifica efficacia a livello epatico, in particolare di protezione riducendo il rischio di steatosi spesso associata a NAFLD (non-alcoholic fat liver disease). Occorre precisare che con l'utilizzo di ALA non abbiamo osservato differenze riguardo ai parametri ormonali, quindi nessun cambiamento in termini di livelli plasmatici di gonadotropine o androgeni, di conseguenza nessun miglioramento sul profilo ormonale riproduttivo.

Tuttavia resta un prodotto di grande rilevanza per la correzione dell'assetto metabolico globale della paziente con PCOS, capace di migliorare l'insulino-sensibilità e proteggere la funzionalità epatica, quindi di prevenire l'insorgenza di NAFLD e diabete. È pertanto una strategia utile l'abbinamento di ALA con MYO, come recentemente riportato in un nostro studio, che ha dimostrato l'alta efficienza sia metabolica che endocrino/riproduttiva dell'associazione (78). Infatti considerando che innumerevoli studi hanno ormai dimostrato l'efficacia degli inositoli nella correzione dell'assetto metabolico, dei valori ormonali e quindi della fertilità, è opportuno valutare l'opzione terapeutica dell'associazione tra questi e l'acido alfa-lipoico, valutando l'anamnesi familiare della paziente, in particolare la familiarità per DM tipo II, considerando l'opportunità di associare a questi prodotti nutraceutici anche la Metformina.

### CONCLUSIONE

**L**e opzioni a nostra disposizione per indurre l'ovulazione nelle pazienti PCOS sono dunque molto numerose: nella scelta del trattamento da consigliare bisogna tener presente effetti collaterali, costi e compliance della paziente in questione, quindi la scelta deve essere personalizzata di volta in volta, in base al trascorso della paziente e ai tentativi già effettuati in precedenza, ma anche valutando attentamente anamnesi familiare, BMI e fenotipo di PCOS.

### {BIBLIOGRAFIA}

1. Norman RJ, Dewailly D, Legro RS. Polycystic ovary syndrome. *Lancet*. 2007; 370(9588): p. 685-97.
2. Teede, H.J. (2018) Recommendations from the international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome. *Hum. Reprod.* Published online July 19, 2018. <http://dx.doi.org/10.1093/humrep/dey256>
3. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil. Steril.* 2004; 81(1): p. 19-25.
4. Ciampelli, M., Fulghesu, A.M., Cucinelli, F., Pavone, V., Ronsisvalle, E., Guido M., Caruso A., Lanzone A., 1999. Impact of insulin and body mass index on metabolic and endocrine variables in polycystic ovary syndrome. *Metabolism* 48, 167-172.
5. Fauser, B.C., Tarlatzis, B.C., Rebar, R.W., Legro, R.S., Balen, A.H., Lobo R., Carmina E., Chang J., Yildiz B.O., Laven J.S., Boivin J., Petraglia F., Wijeyeratne C.N., Norman R.J., Dunaif A., Franks S., Wild R.A., Dumesic D., Barnhart K., 2012. Consensus on women's health aspects of polycystic ovary syndrome (PCOS): the Amsterdam ESHRE/ASRM-Sponsored 3rd PCOS Consensus Workshop Group. *Fertil. Steril.* 97, 28-38.
6. Genazzani, A.D., Ricchieri, F., Lanzoni, C., 2010. Use of metformin in the treatment of polycystic ovary syndrome. *Womens Health (Lond)* 6, 577-593.
7. Joham, A.E. et al. (2016) Polycystic ovary syndrome, obesity, and pregnancy. *Semin. Reprod. Med.* 34, 93-101.

8. Genazzani AD, Vito G, Lanzoni C, Strucchi C, Mehmeti H, Ricchieri F, Mbusnum MN. La Sindrome metabolica Menopausale. *Giorn. It. Ost. Gin.* 2005;11/12:487-93.
9. The Pathogenesis of Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): The Hypothesis of PCOS as Functional Ovarian Hyperandrogenism Revisited. Robert L. Rosenfield and David A. Ehrmann. *Endocrine Reviews*, October 2016, 37(5):467-520.
10. Ciaraldi, T.P., el Roeiy, A., Madar, Z., Reichart D., Olefsky J.M., Yen S.S., 2002. Cellular mechanisms of insulin resistance in polycystic ovarian syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 75, 577-583.
11. Araújo TG, Oliveira AG, Saad MJ. Insulin-resistance-associated compensatory mechanisms of pancreatic Beta cells: a current opinion. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2013;4:146.
12. Walters KA, Gilchrist RB, Ledger WL, Teede HJ, Handelsman DJ, Campbell RE. New perspectives on the Pathogenesis of PCOS: Neuroendocrine Origins. *Trend in Endocrinology and metabolism*, in press.
13. Navarro, V.M. (2012) New insights into the control of pulsatile GnRH release: the role of Kiss1/neurokinin B neurons. *Front. Endocrinol. (Lausanne)* 3, 48.
14. Walters, K.A. et al. (2018). The role of central androgen receptor actions in regulating the hypothalamic-pituitary-ovarian axis. *Neuroendocrinology* 106, 389-400.
15. Lan ZJ, Krause MS, Redding SD, Li X, Wu GZ, Zhou HX, Bohler HC, Ko C, Cooney AJ, Zhou J, Lei ZM. Selective deletion of Pten in theca-interstitial cells leads to androgen excess and ovarian dysfunction in mice. *Mol Cell Endocrinol.* 2017 Mar 15;444:26-37. doi: 10.1016/j.mce.2017.01.043. Epub 2017 Jan 28.
16. Larner, J., 2002. D-Chiro-Inositol: its functional role in insulin action and its deficit in insulin resistance. *Int. J. Exp. Diabetes Res.* 3, 47-60.
17. Baillargeon, J.P., Nestler, J.E., 2006. Commentary: polycystic ovary syndrome: a syndrome of ovarian hypersensitivity to insulin? *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 91, 22-24.
18. The Pathogenesis of Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): The Hypothesis of PCOS as Functional Ovarian Hyperandrogenism Revisited. Robert L. Rosenfield and David A. Ehrmann. *Endocrine Reviews*, October 2016, 37(5):467-520.
19. An update of genetic basis of PCOS pathogenesis . Raiane P. Crespo<sup>1</sup>, Tania A. S. S. Bacheга<sup>1</sup>, Berenice B. Mendonça<sup>1</sup>, Larissa G. Gomes<sup>1</sup>. *Arch Endocrinol Metab.* 2018;62/3.
20. Cooper HE, Spellacy WN, Prem KA, Cohen WD. Hereditary factors in the Stein-Leventhal syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* 1968;100(3):371-87.
21. Kahsar-Miller MD, Nixon C, Boots LR, Go RC, Azziz R. Prevalence of polycystic ovary syndrome (PCOS) in first-degree relatives of patients with PCOS. *Fertil Steril.* 2001;75(1):53-8.
22. Vink JM, Sadrzadeh S, Lambalk CB, Boomsma DI. Heritability of polycystic ovary syndrome in a Dutch twin-family study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(6):2100-4.
23. Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, Goldstein DB, Hindorff LA, Hunter DJ, et al. Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature.* 2009;461(7265):747-53.
24. de Bruin C, Dauber A. Insights from exome sequencing for endocrine disorders. *Nat Rev Endocrinol.* 2015;11(8):455-64.
25. Moran LJ, Hutchison SK, Norman RJ, Teede HJ. Lifestyle changes in women with polycystic ovary syndrome. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2011; 7: CD007506.
26. Balen AH, Morley LC, Misso M, Franks S, Legro RS, Wijeyaratne CN, et al. The management of anovulatory infertility in women with polycystic ovary syndrome: an analysis of the evidence to support the development of global WHO guidance. *Hum. Repr. Update.* 2016; 22: p. 687-708.
27. Poehlman ET, Dvorak RV, DeNino WF, Brochu M, Ades PA. Effects of resistance training and endurance training on insulin sensitivity in nonobese, young women: a controlled randomized trial. *The Journal of Clinical Endocrinol. and Metab.* 2000; 85: p. 2463-8.
28. Naderpoor N, Shorakae S, de Courten B, Misso ML, Moran LJ, Teede HJ. Metformin and lifestyle modification in polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. *Hum. Reprod. Update.* 2015; 21: p. 560-574.
29. Malik SM, Traub ML. Defining the role of bariatric surgery in polycystic ovarian syndrome patients. *World J. Diabetes.* 2012; 3: p. 71-9.
30. Johansson K, Cnattingius S, Näslund I, Roos N, Trolle-Lagerros Y, Granath F, et al. Outcomes of pregnancy after bariatric surgery. *N. Engl. J. Med.* 2015; 372: p. 814-24.
31. Morley LC, Tang T, Yasmin E, Norman RJ, Balen AH. Insulin-sensitising drugs (metformin, rosiglitazone, pioglitazone, D-chiro-inositol) for women with polycystic ovary syndrome, oligo amenorrhoea and subfertility. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2017; 11: CD003053.
32. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Role of metformin for ovulation induction in infertile patients with polycystic ovary syndrome (PCOS): a guideline. *Fertil. Steril.* 2017; 108(3).
33. Siebert TI, Viola MI, Steyn DW, Kruger TF. Is metformin indicated as primary ovulation induction agent in women with PCOS? A systematic review and metaanalysis. *Gynecol. Obstet. Invest.* 2012; 73: p. 304-13.
34. Palomba S, Falbo A, La Sala GB. Effects of metformin in women with polycystic ovary syndrome treated with gonadotrophins for in vitro fertilisation and intracytoplasmic sperm injection cycles: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BJOG.* 2013; 120(3): p. 267-76.

35. Huang X, Wang P, Tal R, Lv F, Li Y, Zhang X. A systematic review and metaanalysis of metformin among patients with polycystic ovary syndrome undergoing assisted reproductive technology procedures. *Int. J. Gynaecol. Obstet.* 2015; 131: p. 111-6.
36. Abu Hashim H, Foda O, Ghayaty E. Combined metformin clomiphene in clomiphene-resistant polycystic ovary syndrome: a systematic review and metaanalysis of randomized controlled trials. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 2015; 94: p. 921-30.
37. Thessaloniki ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Consensus on infertility treatment related to polycystic ovary syndrome. *Hum. Reprod.* 2008; 23: p. 462-77.
38. Wang R, Kim BV, van Wely M, Johnson NP, Costello MF, Zhang H, et al. Treatment strategies for women with WHO group II anovulation: systematic review and networkmeta-analysis. *BMJ.* 2017; 356: p. j138.
39. Gadalla MA, Huang S, Wang R, Norman RJ, Abdullah SA, El Saman AM, et al. Effect of clomiphene citrate on endometrial thickness, ovulation, pregnancy and live birth in anovulatory women: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound. Obstet. Gynecol.* 2018; 51(1): p. 64-76.
40. Brown J, Farquhar C. Clomiphene and other antioestrogens for ovulation induction in polycystic ovarian syndrome. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2016; 12: CD002249.
41. Fields E, Chard J, James D, Treasure T. Guideline Development Group. Fertility (update): summary of NICE guidance. *BMJ.* 2013; 346: p. 650.
42. Tulandi T, Martin J, Al-Fadhli R, Kabli N, Forman R, Hitkari J, Librach C, Greenblatt E, Casper RF. Congenital malformations among 911 newborns conceived after infertility treatment with letrozole or clomiphene citrate *Fertil Steril.* 2006 Jun;85(6):1761-5. Epub 2006 May 2.
43. Hu S, Yu Q, Wang Y, Wang M, Xia W, Zhu C. Letrozole versus clomiphene citrate in polycystic ovary syndrome: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2018; 297(5): p. 1081-8.
44. Legro RS, Brzyski RG, Diamond MP, Coutifaris C, Schlaff WD, Casson P, et al. NICHD Reproductive Medicine Network. Letrozole versus clomiphene for infertility in the polycystic ovary syndrome. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(2): p. 119-29.
45. Hueb CK, Dias-Junior JA, Abrão MS, Filho EK. Drilling: medical indications and surgical technique. *Rev. Assoc. Med. Bras.* 2015; 61: p. 530-5.
46. Seow KM, Juan CC, Hwang JL, Ho LT. Laparoscopic surgery in polycystic ovary syndrome: reproductive and metabolic effects. *Semin. Reprod. Med.* 2008; 26(1): p. 101-10.
47. Farquhar C, Brown J, Marjoribanks J. Laparoscopic drilling by diathermy or laser for ovulation induction in anovulatory polycystic ovary syndrome. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2012; 6: CD001122.
48. Weiss NS, Nahuis M, Bayram N, Mol BW, Van der Veen F, van Wely M. Gonadotropins for ovulation induction in women with polycystic ovarian syndrome. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2015; 9: CD010290.
49. Bordewijk EM, Nahuis M, Costello MF, Van der Veen F, Tso LO, Mol BW, et al. Metformin during ovulation induction with gonadotrophins followed by timed intercourse or intrauterine insemination for subfertility associated with polycystic ovary syndrome. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2017; 24(1): CD009090.
50. Li HW, Lee VC, Lau EY, Yeung WS, Ho PC, Ng EH. Cumulative live-birth rate in women with polycystic ovary syndrome or isolated polycystic ovaries undergoing in-vitro fertilisation treatment. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2014; 31: p. 205-11.
51. Soave I, Marci R. Ovarian stimulation in patients in risk of OHSS. *Minerva Ginecol.* 2014; 66(2): p. 165-78.
52. Genazzani AD (2016). Inositol as putative integrative treatment for PCOS. *Reprod BioMed Online* 33:770-780.
53. Baillargeon JP, Diamanti-Kandarakis E, Ostlund RE Jr, Apridonidze T, Iuorno MJ et al (2006) Altered d-chiro-inositol urinary clearance in women with polycystic ovary syndrome. *Diabetes Care* 29:300-305.
54. Loewus, M.W., Wright, R.W., Jr., Bondioli, K.R., Bedgar, D.L., Karl, A., 1983. Activity of myo-inositol-1-phosphate synthase in the epididymal spermatozoa of rams. *J. Reprod. Fertil.* 69, 215-220.
55. Buttner, J., 1978. Johann Joseph von Scherer (1814-69). The early history of clinical chemistry. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 16, 478-483.
56. Thomas, R.M., Nechamen, C.A., Mazurkiewicz, J.E., Ulloa-Aguirre, A., Dias, J.A., 2011. The adapter protein APPL1 links FSH receptor to inositol 1,4,5-trisphosphate production and is implicated in intracellular Ca<sub>2+</sub> mobilization. *Endocrinology* 152, 1691-1701.
57. Unfer, V., Proietti, S., Gullo, G., Porcare, G., Carlomagno, G., Bizzarri, M., 2014. Polycystic ovary syndrome: features, diagnostic criteria and treatments. *Endocrinol. Metab. Syndr.* 3, 2. <http://dx.doi.org/10.4172/2161-1017.1000136>.
58. Thomas RM, Nechamen CA, Mazurkiewicz JE, Ulloa-Aguirre A, Dias JA (2011) The adapter protein APPL1 links FSH receptor to inositol 1,4,5-trisphosphate production and is implicated in intracellular Ca(2+) mobilization. *Endocrinology* 152:1691-1701.
59. Croze, M.L., Soulage, C.O., 2013. Potential role and therapeutic interests of myo-inositol in metabolic diseases. *Biochimie* 95, 1811-1827.
60. Iuorno, M.J., Jakubowicz, D.J., Baillargeon, J.P., Dillon, P., Gunn, R.D., Allan, G., Nestler, J.E., 2002. Effects of d-chiroinositol in lean women with the polycystic ovary syndrome. *Endocr. Pract.* 8, 417-423.
61. Chiu, T.T., Rogers, M.S., Law, E.L., Briton-Jones, C.M., Cheung, L.P., Haines, C.J., 2002. Follicular fluid and serum concentrations of myo-inositol in patients undergoing IVF: relationship with oocyte quality. *Hum. Reprod.* 17, 1591-1596.

62. Unfer, V., Carlomagno, G., Dante, G., Facchinetti, F., 2012. Effects of myo-inositol in women with PCOS: a systematic review of randomized controlled trials. *Gynecol. Endocrinol.* 28, 509–515.
63. Rosalbino, I., Raffone, E., 2012. Does ovary need D-chiroinositol? *J. Ovarian Res.* 5, 14.
64. Cheang, K.I., Baillargeon, J.P., Essah, P.A., Ostlund, R.E., Jr., Apridonize, T., Islam, L., Nestler, J.E., 2008. Insulin-stimulated release of D-chiro-inositol-containing inositolphosphoglycan mediator correlates with insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome. *Metab. Clin. Exp.* 57, 1390–1397.
65. Larner, J., Brautigam, D.L., Thorner, M.O., 2010. D-chiro-inositol glycans in insulin signaling and insulin resistance. *Mol. Med.* 16, 543–552.
66. Genazzani, A.D., Santagni, S., Rattighieri, E., Chierchia, E., Despini, G., Marini, G., Prati, A., Simoncini, T., 2014b. Modulatory role of D-chiro-inositol (DCI) on LH and insulin secretion in obese PCOS patients. *Gynecol. Endocrinol.* 30, 438–443.
67. La Marca, A., Grisendi, V., Dondi, G., Sighinolfi, G., Cianci, A., 2015. The menstrual cycle regularization following D-chiro-inositol treatment in PCOS women: a retrospective study. *Gynecol. Endocrinol.* 31, 52–56.
68. Facchinetti F, Bizzarri M, Benvenga S, D'Anna R, Lanzone A, Soulage C, et al. Results from the international consensus conference to on myo-inositol and dchiroinositol in obstetrics and gynecology: the link between metabolic syndrome and PCOS. *European Journal of Obstet., Gynecol., Reprod. Biol.* 2015; 195: p. 72e6.
69. Pundir J, Psaroudakis D, Savnur P, Bhide P, Sabatini L, Teede H, et al. Inositol treatment of anovulation in women with polycystic ovary syndrome: a meta-analysis of randomised trials. *BJOG.* 2018; 125(3): p. 299-308.
70. Mendoza N, Pérez L, Simoncini T, Genazzani A. Inositol supplementation in women with polycystic ovary syndrome undergoing intracytoplasmic sperm injection: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Reprod. Biomed. Online.* 2017; 35(5): p. 529-35.
71. Lee WJ, Song KH, Koh EH, Won JC, Kim HS et al (2005) Alpha-lipoic acid increases insulin sensitivity by activating AMPK in skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 332:885–891.
72. Shen QW, Zhu MJ, Tong J, Ren J, Du M (2007) Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase is involved in AMP-activated protein kinase activation by alpha-lipoic acid in C2C12 myotubes. *Am J Physiol Cell Physiol* 293:C1395–C1403.
73. Gomes MB, Negrato CA (2014) Alpha-lipoic acid as a pleiotropic compound with potential therapeutic use in diabetes and other chronic diseases. *Diabetol Metab Syndr* 6(1):80. doi:10.1186/1758-5996-6-80.
74. Scaramuzza A, Giani E, Radaelli F, Ungheri S, Macedoni M, Giudici V, Bosetti A, Ferrari M, Zuccotti GV (2015) Alpha-Lipoic acid and antioxidant diet help to improve endothelial dysfunction in adolescents with type 1 diabetes: a pilot study. *J Diabetes Res.* <https://doi.org/10.1155/2015/474561> (Article ID 474561).
75. A. D. Genazzani · K. Shefer · D. Della Casa · A. Prati · A. Napolitano · A. Manzo · G. Despini · T. Simoncini. Modulatory effects of alpha-lipoic acid (ALA) administration on insulin sensitivity in obese PCOS patients. *J Endocrinol Invest* DOI 10.1007/s40618-017-0782-z.
76. Morikawa T, Yasuno R, Wada H (2001) Do mammalian cells synthesize lipoic acid? Identification of a mouse cDNA encoding a lipoic acid synthase located in mitochondria. *FEBS Lett* 498:16–21.
77. Padmalayam I, Hasham S, Saxena U, Pillarisetti S (2009) Lipoic acid synthase (LASYS): a novel role in inflammation, mitochondrial function, and insulin resistance. *Diabetes* 58:600–608.
78. Genazzani AD, Prati A, Santagni S, Ricchieri F, Chierchia E, Rattighieri E, Campedelli A, Simoncini T, Artini PG. Differential insulin response to myo-inositol administration in obese polycystic ovary syndrome patients. *Gynecol Endocrinol.* 2012 Dec;28(12):969-73.