



UNIVERSITÀ DEL PIEMONTE ORIENTALE

SCUOLA DI MEDICINA

DIPARTIMENTO DI MEDICINA TRASLAZIONALE

Corso di Laurea Magistrale a ciclo unico in Medicina e Chirurgia

Tesi di Laurea

**NEUROSTEROIDI E COMPONENTE PSICOLOGICA IN DONNE
CON LA SINDROME DELL'OVAIO POLICISTICO: UNO STUDIO
CASO-CONTROLLO**

Relatore:

Chiar.mo Prof. Paolo MARZULLO

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'P. Marzullo', is written over the printed name of the professor.

Candidato:

Valentina LEDDA

Matricola 20028036

Anno Accademico 2023/2024

INDICE

CAPITOLO 1: INTRODUZIONE	3
1.1 Definizione e cenni epidemiologici	3
1.2. Cenni storici	4
1.3. Eziologia	5
1.3.1. Fattori di rischio endogeni e correlati allo sviluppo intrauterino	5
1.3.2. Fattori di rischio ambientali	6
1.3.3. Ipotesi genetiche ed epigenetiche	7
1.4. Fisiopatologia	8
1.5. Manifestazioni cliniche	14
1.5.1. Alterazioni riproduttive	14
1.5.2. Alterazioni a carico di cute e annessi cutanei	17
1.5.3. Alterazioni metaboliche	22
1.5.4. Altre manifestazioni cliniche	23
1.6. Diagnosi e Classificazione Fenotipica della PCOS	24
1.6.1. Classificazione fenotipica della PCOS	26
1.7. Trattamento	28
1.7.1. Cambiamenti nello stile di vita	28
1.7.2. Terapia farmacologica	29
1.7.3. Trattamento delle manifestazioni iperandrogeniche	31
1.8. Manifestazione psicologiche correlate alla PCOS	32
1.8.1. Relazione fra PCOS e disturbi depressivi	33
1.8.2. Relazione fra PCOS e il Disturbo d'Ansia Generalizzato	34
1.8.3. Le problematiche alimentari nella donna con PCOS	34
1.8.4. Problemi di immagine corporea e della sessualità	36
1.8.5. Qualità della vita nelle donne con PCOS	37
1.8.6. Insoddisfazione rispetto all'esperienza diagnostica nelle donne con PCOS	37
1.8.7. Metodiche di screening psicometrici	38
1.8.8. Ipotesi patogenetiche dei disordini psico-comportamentali	40
1.9. Ruolo potenziale dei neurosteroidi	40
1.9.1. Vie di sintesi dei neurosteroidi	42
1.9.2. Principali funzioni e potenziale ruolo dei neurosteroidi nella patogenesi delle patologie psichiatriche	43
1.9.2.1. Progesterone (PROG)	44
1.9.2.2. Deidroepiandrosterone (DHEA)	44
1.9.2.3. Testosterone	44
1.9.2.4. Diidroprogesterone (DHP)	45
1.9.2.5. 3 α -Diolo (o 3 α -Androstenediolo)	45
1.9.2.6. 17 β -Estradiolo	45
1.9.2.7. Pregnenolone	46

1.9.2.8. Diidrotestosterone (DHT)	46
1.9.2.9. Allopregnanolone (ALLO)	47
1.9.2.10. Isopregnanolone (ISOALLO)	48
1.9.3. Evidenze sperimentali del coinvolgimento dei neurosteroidi nelle patologie psichiatriche	48
CAPITOLO 2: OBIETTIVI	50
CAPITOLO 3: MATERIALI E METODI	51
3.1. Criteri di inclusione	51
3.2. Caratterizzazione della coorte	52
3.3. Analisi biochimica	52
3.4. Dosaggio dei neurosteroidi	53
3.5. Somministrazione e calcolo dello Scoring dei questionari CBA-H e DEBQ	54
3.5.1. Questionario CBA-H	54
3.5.2. Questionario DEBQ	57
3.6. Analisi statistica	59
CAPITOLO 4: RISULTATI	60
4.1. Valutazione descrittiva della popolazione in studio	60
4.2. Analisi spettrofotometrica dei livelli di neurosteroidi	63
4.3. Scoring CBA-H	64
4.4. Scoring DEBQi	67
4.5. Valutazione descrittiva delle correlazioni osservate	69
CAPITOLO 5: DISCUSSIONE	75
CAPITOLO 6: CONCLUSIONI	81
BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA	82

CAPITOLO 1: INTRODUZIONE

1.1 Definizione e cenni epidemiologici

La Sindrome dell'Ovaio Policistico (PCOS) rappresenta il disordine endocrino-metabolico più diffuso nelle donne in età riproduttiva a livello globale, con una prevalenza che varia dal 4 al 21% a seconda dei criteri diagnostici utilizzati e della popolazione studiata (Standeven & Olson, 2021).

In particolare, la prevalenza della PCOS nelle donne in età riproduttiva è simile negli Stati Uniti, in Europa, in Asia e in Australia e variando tra il 5% e il 9% se si utilizzano i criteri diagnostici originali sanciti nel 1990 dei National Institutes of Health (NIH) degli Stati Uniti. Utilizzando i criteri di Rotterdam del 2003, più ampi e ora approvati dai NIH e accettati a livello internazionale, la prevalenza della PCOS oscilla dal 5,5% al 19,9% (Azziz, 2016).

Si tratta di un disturbo eterogeneo ad eziologia multifattoriale rappresentante la più comune forma di anovulazione cronica associata ad iperandrogenismo. La PCOS tipicamente viene diagnosticata per la presenza di alcune caratteristiche cliniche previste dai *Criteri di Rotterdam*: evidenza ultrasonografica di ovaio con morfologia policistica (PCOM), cicli mestruali irregolari (oligo-anovulazione) ed iperandrogenismo clinico e/o biochimico, con le sue molteplici manifestazioni cliniche tra cui irsutismo e acne in diversi gradi di gravità (Standeven & Olson, 2021). La diagnosi richiede, inoltre, la contemporanea esclusione di altre cause specifiche di iperandrogenismo e anovulazione cronica come, ad esempio, tumori ovarici o surrenalici secernenti androgeni, insufficienza ovarica prematura, disfunzioni tiroidee, iperprolattinemia.

La PCOS, inoltre, si accompagna spesso ad alterazioni del metabolismo glucidico come la ridotta tolleranza al glucosio, l'insulino-resistenza, l'obesità e può condurre allo sviluppo di complicanze come il diabete, l'ipertensione, l'infertilità. E' inoltre stata dimostrata la correlazione con lo sviluppo di neoplasie dell'endometrio, della mammella e dell'ovaio (Daniilidis & Dinas, 2009).

1.2. Cenni storici

Stein e Leventhal sono considerati i primi clinici ad aver caratterizzato e descritto la PCOS, anche se fu Vallisneri, medico e naturalista italiano, a descrivere nel 1721 «giovani contadine sposate, moderatamente obese e infertili, con ovaie più grandi del normale, irregolari, lucide e biancastre». Tuttavia, la prima descrizione esaustiva della PCOS fu presentata dai ginecologi americani Irving F. Stein (raffigurato in Figura 1) e Michael L. Leventhal alla Central Association of Obstetricians and Gynecologists nel 1935, attraverso l'osservazione di giovani donne con anovulazione, infertilità e ovaie ingrossate e nodulari, intuendo che quest'ultima caratteristica fosse il risultato di anomalie della stimolazione ormonale (T. Kovacs & Norman, 2007). E' solo nei primi anni '90, durante una conferenza sponsorizzata dai National Institutes of Health (NIH), che vennero proposti i primi criteri diagnostici formali, successivamente utilizzati. Questi criteri, conosciuti come "i criteri NIH", sono stati pubblicati come atti della conferenza e hanno ricevuto un'ampia condivisione nelle comunità di ricerca e cliniche del tempo. Successive modifiche nella definizione di tali criteri sono state apportate durante la Conferenza di Rotterdam del 2003 (The Rotterdam ESHRE/ASRM - Sponsored PCOS Consensus Workshop Group), in seguito alla quale vennero pubblicati i "Criteri di Rotterdam", utilizzati ancora oggi (Szydlarska, 2017). Oggi, la PCOS continua a essere oggetto di attento studio e ricerca clinica per migliorare le opzioni terapeutiche e la qualità della vita delle pazienti affette.



Figura 1: Il Dr. Irving F. Stein come appariva nella foto della sua laurea in medicina del 1912 (A), con la prima moglie circa nel 1920 (B), intorno al 1940 (C), intorno al 1955 (D), e nel 1975, con George D. Wilbanks, MD, alla celebrazione del 40° anniversario del rapporto di Stein e Leventhal (E) (Azziz, 2016).

1.3. Eziologia

La PCOS presenta un'eziologia complessa e multifattoriale che coinvolge una combinazione di fattori genetici, ormonali e ambientali.

1.3.1. Fattori di rischio endogeni e correlati allo sviluppo intrauterino

Tra i fattori di rischio dimostrati avere un effetto determinante sulla patogenesi della PCOS rientrano il sovrappeso e in particolar modo l'obesità, la resistenza all'insulina, concentrazioni più basse di globulina legante gli ormoni sessuali (SHBG) nel siero e alti livelli di ormone anti-Mulleriano (AMH), probabilmente responsabili della anovulazione che si verifica nella PCOS per via del suo effetto inibitorio sull'azione dell'ormone follicolo-stimolante (Zhu & Goodarzi, 2021).

Secondo l'ipotesi dell'*Origine dello Sviluppo della Salute e della Malattia* proposta da Barker, un potenziale fattore patogenetico della PCOS potrebbe essere ricercato nelle condizioni ambientali che caratterizzano lo sviluppo intrauterino di soggetti con PCOS, responsabili di perturbazioni strutturali e fisiologiche permanenti che possono predisporre alla comparsa di malattie in età adulta. Per quanto riguarda la PCOS nello specifico, queste condizioni sono rappresentate dall'eccessiva esposizione perinatale agli androgeni o ad AMH. Da notare, quindi, che le neonate femmine di donne con PCOS sono esposte a un maggior rischio di sviluppare la PCOS a loro volta, poiché il milieu intrauterino durante la gravidanza è probabilmente iperandrogenico nelle donne con questa sindrome (Sanchez-Garrido & Tena-Sempere, 2020). Le donne incinte con PCOS presentano, inoltre, livelli circolanti di AMH aumentati rispetto alle donne che non soffrono di PCOS, pertanto anche un'eccessiva esposizione a questo ormone durante la gestazione potrebbe portare alla programmazione fetale della prole femminile causando un fenotipo riproduttivo simile alla PCOS in età adulta. Di conseguenza, bambine nate da madri con PCOS potrebbero essere a maggior rischio di sviluppare questo disturbo non solo a causa dell'esposizione anormale agli androgeni durante la gestazione, ma anche a causa dell'eccesso di AMH intrauterino. Questa ipotesi spiegherebbe, almeno in parte, gli aspetti di familiarità che caratterizzano la PCOS: è

stata infatti documentata una familiarità del 50%, anche se non sono ancora noti gli esatti meccanismi di trasmissione fetale (Tata, 2018).

Anche il basso peso alla nascita come conseguenza del ritardo di crescita intrauterino è stato proposto come un fattore contributivo allo sviluppo della PCOS. Questi risultati suggeriscono che le alterazioni nell'ambiente nutrizionale intrauterino possano anche essere considerate un fattore predisponente per lo sviluppo della PCOS (Sanchez-Garrido & Tena-Sempere, 2020).

1.3.2. Fattori di rischio ambientali

La resistenza insulinica e l'iperinsulinemia associata sono considerate fattori patologici chiave nello sviluppo della PCOS. Dal momento che l'obesità rappresenta la causa più comune della resistenza insulinica, tutti i fattori ambientali che portano a sovrappeso o ad obesità possono alterare l'azione insulinica ed essere coinvolti nell'eziologia di questo disturbo. Dieta e stile di vita sono i principali fattori che possono causare o aggravare le anomalie metaboliche e riproduttive della PCOS: uno stile di vita sedentario e abitudini alimentari inadeguate, come una dieta ricca in carboidrati e grassi, possono contribuire al peggioramento delle condizioni cliniche dei soggetti affetti (Sanchez-Garrido & Tena-Sempere, 2020). A sostegno del ruolo di questi elementi ambientali nella patogenesi della PCOS, è stato documentato che un miglioramento della sensibilità insulinica attraverso modifiche dello stile di vita e della dieta è sufficiente per migliorare alcuni indici coinvolti nelle perturbazioni riproduttive nelle donne obese con PCOS, come l'anovulazione e le irregolarità del ciclo mestruale (Huber-Buchholz, 1999).

Oltre ai fattori obesogeni, anche alcuni composti noti come interferenti endocrini potrebbero svolgere un ruolo nella patogenesi della PCOS: l'esposizione a questi composti, che possono essere trovati in bottiglie di plastica, detersivi, giocattoli, cosmetici, pesticidi o lattine metalliche, può causare effetti avversi sulla salute. Il bisfenolo A (BPA) è l'interferente endocrino più caratteristico, di cui gli effetti sulla salute sono stati ampiamente esplorati. Questo composto è una sostanza chimica sintetica con attività estrogenica. Studi preclinici condotti su ratti, agnelli e scimmie

femmine hanno mostrato che l'esposizione prenatale al BPA può alterare l'asse ipotalamo-ipofisi-ovaio e portare a un fenotipo simile alla PCOS caratterizzato da anovulazione, ovaie policistiche e infertilità. Negli esseri umani, l'esposizione al BPA durante lo sviluppo è stata associata a un aumento del rischio di sviluppare obesità, diabete di tipo 2 e disturbi riproduttivi. Una recente metanalisi ha riportato una correlazione positiva tra i livelli sierici di BPA e la PCOS, suggerendo che il BPA possa essere coinvolto nello sviluppo della resistenza insulinica e dell'iperandrogenismo associati alla PCOS (Sanchez-Garrido & Tena-Sempere, 2020).

1.3.3. Ipotesi genetiche ed epigenetiche

La componente genetica è responsabile di circa il 10% dei casi di PCOS (Vatier & Christin-Maitre, 2024). Recenti studi di associazione a livello genomica (GWAS) hanno identificato una serie di loci fortemente associati allo sviluppo della PCOS. I geni situati in questi loci di suscettibilità sono coinvolti nell'asse gonadotropico, nella produzione ovarica di androgeni, nel metabolismo del glucosio, nel traffico vescicolare e nel riciclo dei recettori, nonché nella regolazione del ciclo cellulare (Crespo, 2018). Tra le varianti genetiche di proteine ed enzimi coinvolti nei pathways metabolici associati alla PCOS, si citano:

- CYP11A1, CYP11A, CYP17A1, CYP19 e HSD17B6 (coinvolti nella biosintesi degli androgeni);
- AR, SHBG, SRD5A1 e SDR6A2 (coinvolti nel trasporto e nella attività degli androgeni);
- INSR, IRS1, IRS2, PPARG, CAPN10 (coinvolti nella segnalazione di insulina);
- ADIPOQ e FTO (coinvolti nel metabolismo lipidico);
- FSHR, LHCGR e AMHR2 (coinvolti nella follicologenesi);
- IL1A, IL1B, IL6, IL18, PAI1, FBN3, TNF e MEP1A (coinvolti nell'infiammazione).

(Azziz, 2016) (Day, 2018).

Una recente metanalisi condotta da Vatier et al esplora il ruolo dei cambiamenti epigenetici come possibile contribuente alla patogenesi della PCOS. I cambiamenti epigenetici modulano gli stati di espressione genica senza modificare la sequenza del

DNA: essi includono la metilazione del DNA, le modificazioni delle proteine istoniche (acetilazione, fosforilazione, metilazione, etc.) e cambiamenti nel contenuto di RNA non codificanti (ncRNA).

La riprogrammazione epigenetica inappropriata è stata identificata come un potenziale meccanismo che collega la precoce sovraesposizione agli androgeni e/o ad AMH (come spiegato nella sezione “Fattori di rischio endogeni e correlati allo sviluppo”) e lo sviluppo della PCOS in età adulta. Le modifiche epigenetiche indotte dall’esposizione agli androgeni e/o ad AMH durante il periodo di vita intrauterina interferiscono con i normali pattern di espressione genica e possono aumentare il rischio di sviluppare la PCOS nelle fasi successive dello sviluppo influenzando la regolazione dell’espressione di geni coinvolti nella funzionalità ovarica, tra cui il recettore dell'ormone luteinizzante (LHr), il recettore attivato dal proliferatore dei perossisomi-gamma (PPAR-g), il corepressore nucleare 1 (NCOR1) e l'istone deacetilasi 3 (HDAC3) (Qu & Wang, 2012). Sono coinvolti anche altri geni responsabili della regolazione delle vie infiammatorie e del metabolismo lipidico e glucidico (Vatier & Christin-Maitre, 2024).

Sebbene i cambiamenti epigenetici rappresentino una promessa come biomarcatori diagnostici, la sfida attuale sta nel distinguere se questi cambiamenti siano cause o conseguenze della PCOS. L'indirizzamento delle modifiche epigenetiche potenzialmente apre vie per la medicina di precisione nella PCOS, comprese le terapie di intervento sullo stile di vita e farmacologiche.

1.4. Fisiopatologia

Il sistema riproduttivo femminile è regolato dall’asse ipotalamo-ipofisi-ovaio (riassunto schematicamente in Figura 2). La precisa regolazione ormonale a tutti i livelli dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi è essenziale per la normale funzione riproduttiva e per la fertilità.

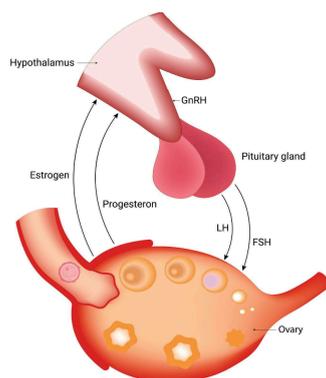


Figura 2: Rappresentazione schematica dell'asse ipotalamo-ipofisi-ovaio (HPO) (Ziarrusta, 2023)

La secrezione pulsatile dell'ormone ipotalamico di rilascio delle Gonadotropine (GnRH) stimola la sintesi e il rilascio dell'ormone follicolo-stimolante (FSH) e dell'ormone luteinizzante (LH) da parte dell'ipofisi. GnRH agisce legandosi al suo recettore accoppiato a proteine G ad alta affinità (GnRHr) presente sulla superficie cellulare delle cellule ipofisarie gonadotrope, avviando segnalazioni a valle che inducono la produzione delle gonadotropine FSH e LH (Stamatiades & Kaiser, 2018). GnRH viene rilasciato in modo pulsatile e le variazioni nella frequenza e nell'ampiezza degli impulsi di GnRH hanno effetti differenziali sulla sintesi e sul rilascio di FSH e LH (Wildt, 1981). In particolare, FSH è preferenzialmente stimolato a basse frequenze di impulsi di GnRH, mentre LH è preferenzialmente stimolato a alte frequenze di impulsi di GnRH.

Le gonadotropine FSH e LH a loro volta, entrano nella circolazione periferica, agendo sulle ovaie e coprendo un ruolo fondamentale nella regolazione ormonale del ciclo mestruale. FSH agisce come stimolatore dell'enzima aromatasi all'interno delle cellule granulose ovariche che convertono gli androgeni in estradiolo, mentre LH svolge un ruolo stimolatorio nella conversione del colesterolo in androgeni tramite il sistema P450c-17 da parte delle cellule ovariche della teca. In condizioni normali, gli ovociti immaturi maturano sotto l'influenza di FSH, mentre l'ovulazione avviene principalmente sotto stimolazione di LH. Se uno qualsiasi di questi ormoni risulta cronologicamente elevato o soppresso, può verificarsi un malfunzionamento dell'intero ciclo (Hoyt & Schmidt, 2004).

Molti disturbi riproduttivi sono associati alla disfunzione delle vie di segnalazione di GnRH, FSH e/o LH (Seminara et al., 1998). In particolare, nella PCOS può verificarsi un'anomalia neuroendocrina caratterizzata dall'aumento della frequenza degli impulsi di GnRH, che a sua volta comporta l'aumento della sintesi di LH rispetto alla produzione di FSH. Questa anomalia porta quindi all'inversione del rapporto LH/FSH circolante con valori assoluti di LH aumentati. L'aumento del rapporto LH/FSH comporta l'ipersecrezione di androgeni da parte delle cellule della teca nei follicoli ovarici, compromettendo lo sviluppo follicolare dipendente da FSH. L'eccessiva produzione di Progesterone da parte delle cellule della teca comporta inoltre un effetto di riduzione dell'inibizione della frequenza degli impulsi di GnRH, promuovendo ulteriormente lo sviluppo del fenotipo PCOS iperandrogenico (Azziz, 2016).

Nella PCOS, inoltre, la selezione di un follicolo dominante (cioè il follicolo che procede all'ovulazione in ogni ciclo) non avviene regolarmente, il che è una conseguenza della secrezione insufficiente di FSH e della resistenza dei recettori per FSH presenti sulle cellule ovariche (Azziz, 2016).

I meccanismi di resistenza follicolare all'FSH potrebbero essere causati anche da altri regolatori intra-ovarici dell'azione dell'FSH, oltre che da variazioni genetiche che si riscontrano in alcuni soggetti PCOS codificanti per la molecola di FSH stessa e per il suo recettore, che potrebbero essere parzialmente responsabili di alcune delle differenze nella sensibilità all'FSH tra pazienti con PCOS e controlli sani (Valkenburg, 2009).

Uno dei regolatori intra-ovarici dell'azione di FSH è rappresentato dall'ormone Anti-Mulleriano (AMH). AMH è una glicoproteina dimerica, membro della famiglia dei fattori di crescita e differenziazione del fattore di crescita trasformante β (Broekmans, 2008). AMH svolge un ruolo chiave nella regolazione della dinamica follicolare e può influenzare direttamente e indirettamente il processo di ovulazione.

AMH viene sintetizzato dalle cellule della granulosa dei follicoli primari in maturazione e la sua secrezione è massimale nei follicoli preantrali e antrali di piccole dimensioni (fino a 6 mm di diametro). La produzione di AMH diminuisce nei follicoli antrali più grandi (> 8 mm), e diventa infine indistinguibile una volta che è stato avviato lo sviluppo follicolare dipendente da FSH (Broekmans, 2008).

Lo sviluppo follicolare (rappresentato in Figura 3) comprende, infatti, il reclutamento iniziale dei follicoli primordiali e il reclutamento ciclico, FSH-dipendente, di una coorte di piccoli follicoli antrali dai quali successivamente viene selezionato il follicolo dominante destinato all'ovulazione (McGee, 2000). Nelle donne con PCOS sembra che il numero di follicoli reclutati in fase iniziale sia aumentato, accompagnandosi però all'arresto precoce della maturazione degli stessi follicoli nello stadio del reclutamento ciclico. I livelli sierici di AMH sono aumentati da 2 a 3 volte nelle pazienti con PCOS (Pigny, 2003), il che risulta coerente con l'aumentato reclutamento di piccoli follicoli preantrali e antrali produttori di AMH (Weenen, 2004). Questo modello di espressione indica che AMH riveste un ruolo importante nella regolazione del numero di follicoli che crescono dalla riserva primordiale.

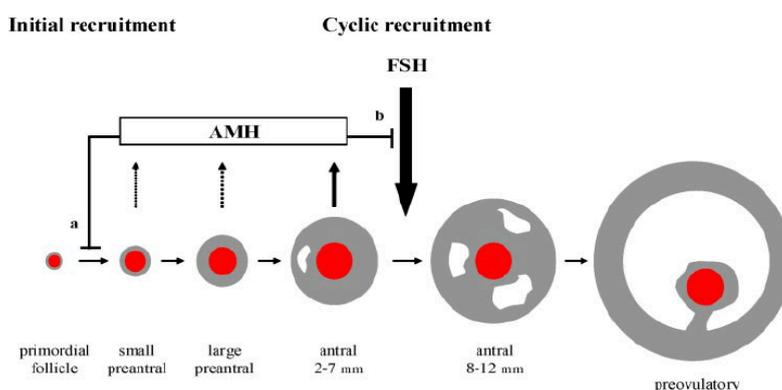


Figura 3: Ruolo di AMH nello sviluppo del follicolo ovarico (Broekmans, 2008)

Livelli elevati di AMH possono, inoltre, rendere i follicoli meno sensibili all'FSH, influenzando quindi il processo di selezione del follicolo dominante: studi condotti sui topi hanno dimostrato che i follicoli antrali di grandi dimensioni sono più sensibili all'FSH in assenza di AMH, e che la crescita follicolare in vitro dipendente dall'FSH è inibita dalla presenza di AMH (Durlinger, 2001). E' stata dimostrata inoltre una correlazione inversa tra i livelli di AMH nel fluido follicolare e i livelli di estradiolo prodotti dai follicoli antrali, il che indica la presenza di una stretta regolazione interdipendente tra la produzione di AMH e l'attività di FSH nella regolazione dell'aromatasi ovarica (Andersen, 2006).

Ulteriori fattori intra-ovarici in grado di modulare il reclutamento e la crescita follicolare sono i membri della famiglia del fattore di crescita trasformante β (di cui fa parte anche AMH) come inibine, attivine, proteine morfogenetiche ossee e fattori di differenziazione della crescita prodotti dalle cellule della granulosa. Ad esempio, il GDF9 derivato dall'ovocita è cruciale per la follicologenesi fisiologica e appare disregolato nelle donne con PCOS. Anche se inibine, attivine, follistatina e IGF1 hanno un ruolo cruciale nella follicologenesi, il loro possibile ruolo nella fisiopatologia della disfunzione ovarica nelle donne con PCOS resta da dimostrare (Azziz, 2016).

Un ruolo fondamentale nella fisiopatologia della PCOS viene esercitato dall'insulino resistenza e dalla relativa iperinsulinemia, che costituisce un aspetto caratteristico della PCOS, interessando fino al 40% della popolazione affetta da tale condizione (Hoyt & Schmidt, 2004).

La resistenza all'insulina associata alla PCOS è selettiva, influenzando le vie di segnalazione metaboliche, ma non quelle mitogeniche, il che potrebbe spiegare il paradosso della persistenza dell'azione di insulina sui processi riproduttivi a fronte dello status di resistenza sistemica all'insulina stessa (Azziz, 2016). In particolare, mentre alcune cellule somatiche sviluppano resistenza all'insulina, le cellule della teca ovarica continuano a produrre androgeni sotto la stimolazione insulinica. Insulina agisce infatti come regolatore della funzione ovarica agendo direttamente e indirettamente sulla steroidogenesi e sullo stato androgenico: agendo direttamente sulle cellule della teca ovarica, Insulina attiva il sistema del citocromo P450, enzima chiave della sintesi di androgeni, partecipando quindi ai meccanismi causali dell'iperandrogenismo caratteristico della PCOS (Rugarli, 2015).

Livelli elevati di Insulina inoltre portano alla riduzione della produzione di globulina legante gli ormoni sessuali (SHBG, Sex Hormone Binding Globulin), una proteina di produzione epatica che riveste un ruolo cruciale nella regolazione degli ormoni sessuali. La sua funzione principale è di legare gli ormoni sessuali circolanti rendendoli biologicamente inattivi e quindi influenzando la loro disponibilità nei tessuti bersaglio. Inoltre, SHBG agisce stabilizzando i livelli degli ormoni sessuali nel sangue impedendo fluttuazioni eccessive che potrebbero verificarsi a seguito di stress o altre influenze

ambientali. La riduzione dei livelli di SHBG nella PCOS crea un relativo eccesso della quota libera di androgeni in circolo e contribuisce indirettamente ad aumentare la biodisponibilità di IGF-1 (SHBG, infatti non lega solo gli ormoni sessuali, ma può anche legare l'IGF-1; quando i livelli di SHBG diminuiscono, quindi, la biodisponibilità di IGF-1 aumenta).

IGF-1 assume un ruolo importante nella stimolazione della sintesi ovarica di androgeni interferendo con la crescita e lo sviluppo dei follicoli ovarici, contribuendo alla resistenza insulinica e all'iperinsulinemia e stimolando direttamente la produzione di androgeni o interagendo con altri ormoni coinvolti nella regolazione della produzione di androgeni, come l'insulina e l'FSH (Hoyt & Schmidt, 2004).

Infine, uno studio recente ha riportato che il gene DENN D1A risulta sovraespresso nelle cellule della teca ovariche ottenute da pazienti con PCOS, supportando ulteriormente l'idea che, almeno in alcuni pazienti, l'eccesso di androgeni ovarici sia una caratteristica geneticamente determinata della PCOS. Inoltre, l'espressione del gene che codifica l'enzima limitante la velocità nella biosintesi degli androgeni (CYP17A1) è aumentata nelle cellule della teca ottenute da donne con PCOS, il che potrebbe contribuire a una maggiore conversione di precursori di progestinici in androgeni (McAllister & Legro, 2015).

Anche se le ovaie sono la principale fonte di iperandrogenismo nella PCOS, tra il 20% e il 30% dei pazienti mostra anche un eccesso di androgeni surrenalici, suggerendo un iperfunzionamento adrenocorticale. La disfunzione adrenocorticale nella PCOS potrebbe essere secondaria a un'esagerazione generalizzata della responsività, ma non della sensibilità, all'ormone adrenocorticotropo, ma potrebbe anche essere influenzata dalla genetica (Yildiz & Azziz, 2007).

1.5. Manifestazioni cliniche

Le evidenze cliniche della PCOS compaiono tipicamente in età puberale e peggiorano con il tempo. Possono essere descritte tre grosse categorie di manifestazioni, caratterizzate da grande variabilità interindividuale:

- Alterazioni riproduttive: irregolarità mestruali come oligomenorrea o amenorrea, alterazioni della morfologia dell'ovaio e dell'endometrio (PCOM, iperplasia endometriale), infertilità;
- Segni di iperandrogenismo biochimico e clinico a carico di cute e annessi cutanei: acne, irsutismo e alopecia androgenetica;
- Alterazioni metaboliche: insulino-resistenza, alterazioni del metabolismo glucidico, alterazioni del profilo lipidico e possibile eccesso ponderale.

1.5.1. Alterazioni riproduttive

Le irregolarità del ciclo mestruale sono caratteristiche della PCOS in quanto rappresentano la manifestazione clinica dei cicli anovulatori: consistono in sanguinamenti frequenti con intervalli inferiori ai 18 giorni oppure, più comunemente, a mestruazioni poco frequenti con intervalli superiori ai 35 giorni (oligo-amenorrea).

Come riportato in Figura 4, una metanalisi condotta da Azziz e Carmina dimostra che circa il 75% delle pazienti con PCOS presenta evidenti disfunzioni mestruali clinicamente rilevanti, mentre circa il 20% presenta uno stato di apparente eumenorrea (cioè, in questo contesto, di oligo-anovulazione subclinica) (Azziz & Carmina, 2014).

Study	Ref.	Total no. PCOS	No. of PCOS patients with oligomenorrhea	PCOS patients with oligomenorrhea (%) ^a	No. of PCOS patients with eumenorrhea	PCOS patients with eumenorrhea (%)
Ferriman and Purdie, 1983	24	280	237	84.6	43	15.4
Conway <i>et al.</i> , 1989	40	556	395	71.0	139	25.0
Kiddy <i>et al.</i> , 1990	48	263	203	77.2	60	22.8
Ardaens <i>et al.</i> , 1991	62	144	105	72.9	39	27.1
Rajkhowa <i>et al.</i> , 1995	49	153	129	84.3		
Balen <i>et al.</i> , 1995	41	1741	1043	59.9	517	29.7
Falsetti and Eleftheriou, 1996	25	240	207	86.3	24	10.0
Khoury <i>et al.</i> , 1996	26	112	112	100.0	0	0.0
Talbot <i>et al.</i> , 1998	29	244	229	93.9	15	6.1
Carmina, 1998	28	332	290	87.3	42	12.7
Alborzi <i>et al.</i> , 2001	30	371	371	100.0	0	0.0
Williamson <i>et al.</i> , 2001	31	162	144	88.9		
Haddad <i>et al.</i> , 2002	33	146	120	82.2	26	17.8
Amer <i>et al.</i> , 2002	32	161	149	92.5	12	7.5
Glueck <i>et al.</i> , 2003	34	138	138	100.0	0	0.0
Orio <i>et al.</i> , 2003	35	100	100	100.0	0	0.0
Chang <i>et al.</i> , 2005	36	316	265	83.9	51	16.1
Hahn <i>et al.</i> , 2005	37	200	200	100.0	0	0.0
Total		5659	4437	78.4	968	18.1

^a Difference in percentage between patients with oligomenorrhea and eumenorrhea (and anovulation) is composed of patients with polymenorrhea or menometrorrhagia.

Figura 4: Prevalenza delle alterazioni del ciclo mestruale nella PCOS (Azziz & Carmina, 2014)

Sono inoltre spesso presenti alterazioni morfologiche dell'ovaio, presentante morfologia micropolicistica (PCOM) osservabili tramite indagine Ultrasonografica eseguita con tecnica ecografica trasvaginale (Figura 5).

La morfologia PCOM viene definita per la presenza di un numero uguale o superiore a 12 di follicoli del diametro di 2-9mm con disposizione sottocorticale "a corona di rosario" o per il riscontro di iperecogenicità stromale e/o l'evidenza di un volume ovarico incrementato fino a valori superiori a 10mL, anche in assenza di cisti ovariche (Legro, 2013). Sebbene tali caratteristiche morfologiche diano effettivamente il nome alla sindrome, occorre sottolineare che tale caratteristica non viene ecograficamente riscontrata in tutti i soggetti con PCOS e che la presenza di tale caratteristica non risulta necessaria per fare diagnosi di PCOS (Azziz, 2016).



Figura 5: Evidenza ultrasonografica di ovaio con morfologia policistica (PCOM) eseguita con tecnica transvaginale (Dewailly, 2023)

Tra i limiti legati all'utilizzo dell'indagine ultrasonografica rientrano la variabilità importanti dipendenti dall'abilità intra-operatore che, nonostante decenni di progressi nella tecnologia dell'ecografia, persistono (Teede, 2023).

Inoltre, durante la pubertà (e la menopausa), non è raro riscontrare cambiamenti fisiologici nel conteggio dei follicoli antrali, infatti fino al 70% delle adolescenti presenta PCOM secondo i criteri originali e tale identificazione può portare a sovradiagnosi (Teede, 2023). Inoltre, il termine "cistico" è fuorviante, in quanto si riferisce a follicoli in arresto e non a vere e proprie cisti. Questa questione clinica è stata riconosciuta come prioritaria, a sottolineare l'importanza di una tecnica riproducibile e di una segnalazione standard per stimare con precisione il numero di follicoli per ovaio

e definire la presenza di PCOM, al fine di garantire una diagnosi accurata della PCOS (Teede, 2023).

I dati attuali (riportati in Figura 6) suggeriscono che la presenza di ovaio con morfologia policistica (PCOM) sia rilevata soltanto nel 75% delle donne con una diagnosi clinica di PCOS (Azziz & Carmina, 2014).

Study	Ref.	Total no. PCOS	No. PCOS with PCO	PCOS with PCO (%)
Rajkhowa <i>et al.</i> , 1995	49	153	141	92.2
Falsetti and Eleftheriou, 1996	25	240	180	75.0
Khoury <i>et al.</i> , 1996	26	112	77	68.8
van Santbrink <i>et al.</i> , 1997	63	198	148	74.7 ^b
Laven <i>et al.</i> , 2001	64	190	154	81.1
Alborzi <i>et al.</i> , 2001	30	371	211	56.9
Williamson <i>et al.</i> , 2001	31	162	161	99.4
Amer <i>et al.</i> , 2002	32	161	93	57.8
Jonard <i>et al.</i> , 2003	65	214	160	74.8
Orio <i>et al.</i> , 2003	35	100	33	33.0
Hahn <i>et al.</i> , 2005	37	200	166	83.0
Legro <i>et al.</i> , 2006	42	626	573	91.5
Total		2727	2097	76.9

^a Excluding multicystic or multifollicular ovaries.

^b PCOS defined as oligomenorrhea with increased androgens and/or high LH.

Figura 6: Prevalenza di PCOM indagata mediante indagine ultrasonografica in donne con PCOS (Azziz & Carmina, 2014).

Oltre alle problematiche legate alle alterazioni del ciclo mestruale e alla morfologia PCOM dell'ovaio, le donne con PCOS hanno un rischio aumentato di iperplasia endometriale e infertilità legate all'anovulazione (Hoeger, 2020). Dopo aver escluso altre cause significative di infertilità, l'approccio farmacologico di prima linea all'induzione dell'ovulazione consiste nell'utilizzo di Citrato di Clomifene, mentre le terapie di seconda linea consistono nella terapia con gonadotropine e nella perforazione ovarica laparoscopica. Nella donna con PCOS bisognerebbe evitare il ricorso a tecniche di fecondazione in vitro (IVF) per il rischio sostanziale di sindrome da iperstimolazione ovarica; se necessario, può essere proposta la maturazione in vitro degli ovociti (IVM), evitando così l'iperstimolazione ovarica (Hart, 2008).

La popolazione femminile con PCOS presenta inoltre un rischio aumentato di aborto spontaneo rispetto alle donne senza PCOS e, in gravidanza, risulta aumentato il rischio di sviluppare diabete gestazionale, ipertensione indotta dalla gravidanza e preeclampsia.

Inoltre, il neonato ha un rischio significativamente più alto di ammissione a un'unità di terapia intensiva neonatale e una mortalità perinatale più elevata (Hart, 2008).

1.5.2. Alterazioni a carico di cute e annessi cutanei

L'iperandrogenismo è una caratteristica diagnostica chiave della PCOS che caratterizza tra il 60% e il 100% delle pazienti affette da questa condizione (Teede, 2023), talvolta manifestandosi clinicamente con irsutismo, alopecia androgenetica ed acne (Figura 7). Questi segni hanno un notevole impatto sulla qualità della vita delle donne con PCOS e il vantaggio derivante dal trattamento, che può includere interventi farmacologici e/o meccanici, può essere significativo.

Il marcatore clinico più affidabile dell'eccesso di androgeni è l'irsutismo, perché l'acne isolata (in assenza di iperandrogenismo biochimico) non è associata a disfunzioni mestruali e non ha conseguenze riproduttive nelle donne della popolazione generale (Escobar-Morreale, 2018). Inoltre, l'alopecia è piuttosto rara nelle donne con cause funzionali di eccesso di androgeni, come la PCOS, e ha una gamma di eziologie non correlate ai disturbi dell'eccesso di androgeni che devono essere opportunamente valutate (Escobar-Morreale, 2018).



Figura 7: Manifestazioni cliniche a carico di cute e annessi cutanei nella PCOS (Baroud, 2021)

Tra le donne di origine bianca, nera, del sud dell'Asia (pakistana, bengalese, gujarati o indiana dravidica), maori o delle isole del Pacifico, con PCOS definita dai criteri NIH, circa il 60% è stato riscontrato essere irsutico (Azziz & Carmina, 2014). I risultati relativi alla metanalisi condotta da Azziz et al. sono riportati in Figura 8.

Study	Ref.	Total no. PCOS	No. with elevated total T	Elevated total T (%)	No. with elevated free T	Elevated free T (%)	No. with elevated DHEAS	Elevated DHEAS (%)	No. with hirsutism ^c
Ferriman and Purdie, 1983	24	280							230
Conway <i>et al.</i> , 1989	40	556	110	22.3 ^a					320
Kiddy <i>et al.</i> , 1990	48	263							129
Rajkhowa <i>et al.</i> , 1995	49	153							123
Balen <i>et al.</i> , 1995	41	1741	503	28.9					1153
Norman <i>et al.</i> , 1995	50	122							103
Falsetti and Eleftheriou, 1996	25	240							92
Khoury <i>et al.</i> , 1996	26	112							20
Talbott <i>et al.</i> , 1998	29	244							105
Alborzi <i>et al.</i> , 2001	30	371							300
Williamson <i>et al.</i> , 2001	31	162							147
Amer <i>et al.</i> , 2002	32	161							53
Orio <i>et al.</i> , 2003	35	100	33	33.0			27	27.0	100
Chang <i>et al.</i> , 2005	36	316	122	38.6	216	68.4	71	22.5	224
Hahn <i>et al.</i> , 2005	37	200	162	81.0			76	38.0	129
Legro <i>et al.</i> , 2006	42	626	373	60.8 ^b					505
Total		5647	1303	36.8	216	68.4	174	28.2	3228

Subjects included are mostly of white and black race.

^a Based on the 494 patients who underwent androgen measurements.

^b Based on the 613 subjects who underwent androgen measurements.

^c Hirsutism defined variously as mFG scores of 5–9.

Figura 8: prevalenza di iperandrogenismo e di irsutismo nella PCOS (Azziz & Carmina, 2014)

L'irsutismo si manifesta con la crescita di peli sessuali (peli terminali che si sviluppano sotto l'influenza degli ormoni sessuali e che hanno una struttura più spessa e più pigmentata rispetto ai peli vellus, che sono più sottili e più chiari) in zone che tipicamente interessano solo il sesso maschile: labbro superiore, mento, schiena, pollici e dita dei piedi, intorno ai capezzoli e lungo la linea alba dell'addome inferiore.

Per la valutazione del livello di irsutismo si fa riferimento al mFG (Ferriman-Gallwey Score modificato), che valuta la crescita dei peli in nove aree del corpo. Alla crescita dei peli in ciascuna area viene assegnato un punteggio da 0 (nessun pelo terminale) a 4 (crescita dei peli secondo il modello maschile) per un punteggio massimo di 36. Il metodo di valutazione per l'assegnazione del punteggio è rappresentato in Figura 9. Il metodo originale (che includeva invece undici aree corporee) aveva un cut-off di 5 per definire l'irsutismo, che è stato aumentato a 8 nel punteggio mFG (Spritzer, 2022), con alcune differenze fra diverse etnie.

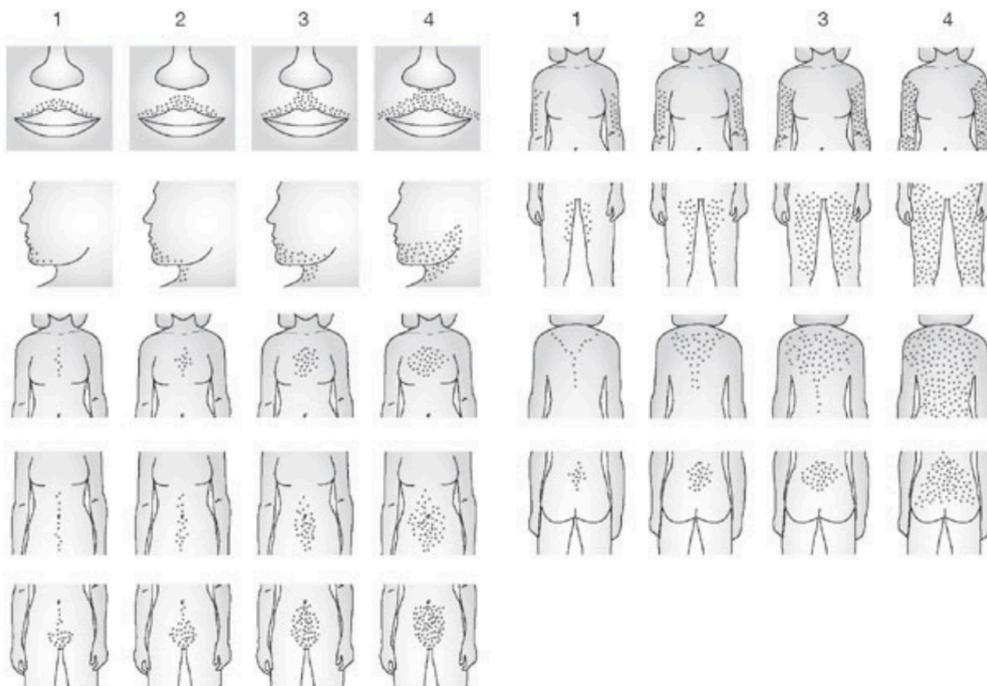


Figura 9: Valutazione del Ferriman-Gallwey Score (Spritzer, 2022)

In particolare, secondo quanto riportato dalle Linee Guida ESHRE 2023 un punteggio al mFG Score superiore a 8 punti viene utilizzato come cut-off per la diagnosi di irsutismo nella popolazione caucasica, distinguendo irsutismo di grado lieve per punteggi compresi tra 8 e 15 e irsutismo moderato-severo per punteggi superiori a 15. Per le popolazioni dell'Asia orientale e Nativo-Americana, punteggi al mFG Score superiori a 3 punti sono indicativi di irsutismo, mentre per le popolazioni Mediterranea, Medio-orientale e dell'Asia meridionale, la diagnosi di irsutismo viene posta per punteggi superiori a 9-10 (Escobar-Morreale, 2018).

Nelle aree depilate, l'autovalutazione può essere clinicamente utile soprattutto per il follow-up, poiché correla solo modestamente con il punteggio dato da un osservatore addestrato (Spritzer, 2022).

La diagnosi differenziale tra irsutismo e ipertricosi è fondamentale per la corretta gestione dei pazienti: mentre l'irsutismo è caratterizzato dalla presenza eccessiva di peli terminali di tipo maschile nelle donne in aree del corpo dove normalmente non crescono ed è spesso associato all'iperandrogenismo, l'ipertricosi si riferisce alla crescita

eccessiva di peli con caratteristiche di vello (noti anche come peli lanuginosi, molto sottili, corti e chiari e normalmente presenti su quasi tutte le parti del corpo, non influenzati dagli ormoni sessuali) in aree del corpo dove sono normalmente presenti, come le braccia, le gambe e la regione pubica. La valutazione della distribuzione, della quantità e del tipo di peli e la storia clinica del paziente sono fondamentali per distinguere tra irsutismo e ipertricosi. L'esame obiettivo, inclusi il punteggio di Ferriman-Gallwey per l'irsutismo e l'analisi dei livelli ormonali, può essere utile per identificare l'origine dell'eccesso di peli.

L'acne, invece, colpisce il 15-25% dei pazienti con PCOS (Azziz & Carmina, 2014). Per quanto riguarda la valutazione della gravità dell'acne si fa riferimento alla scala Acne Global Assessment Scale (AGA), riportata dalle Linee Guida Europee per la classificazione dell'acne, che riconosce quattro gradi di gravità dell'acne sulla base del tipo di lesioni presenti e della loro distribuzione:

- Acne di grado di tipo “lieve” o “acne comedonica”: le lesioni caratteristiche sono i comedoni (lesioni non infiammatorie), interessa prevalentemente il volto;
- Acne di tipo “moderato” o “acne papulo-pustolosa lieve-moderata”: sono presenti papule e pustole, viene interessato principalmente il volto, ma le lesioni possono estendersi anche al tronco;
- Acne di tipo “moderatamente severo” o “acne severa papulo-pustolosa” o “moderata acne nodulare”: sono presenti numerose papule e pustole, di solito in associazione alla presenza di comedoni e di lesioni infiammatorie; vengono coinvolti il volto, la schiena e il tronco (in particolar modo il petto);
- Acne di tipo “severo” o “acne conglobata” o “severa anche nodulare”: presenza di lesioni infiammatorie cistiche nodulari o pustolose, tipicamente dolorose, accompagnate dalla presenza di numerose lesioni minori (comedoni, papule, pustole) (Nast, 2012).

Nella PCOS, l'aumentata produzione di androgeni svolge un ruolo principe nell'indurre le alterazioni del sebo che partecipano alla patogenesi dell'acne dell'adulto (livello di evidenza B) (Carmina & Dreno, 2022). L'acne come manifestazione clinica di iperandrogenismo assume due forme prevalenti: la prima forma è caratterizzata dalla

presenza di lesioni infiammatorie superficiali (papule, pustole) su tutto il viso con pochi noduli, mentre la seconda forma, meno comune, è localizzata principalmente nella regione mandibolare e sul mento, e si caratterizza da molti comedoni chiusi e cisti con poche lesioni infiammatorie (Carmina & Dreno, 2022).

L'ultima manifestazione dermatologica di iperandrogenismo clinico che è nota avere strette correlazioni con la PCOS è l'alopecia androgenetica: questa condizione, spesso chiamata anche calvizie femminile, è caratterizzata dal diradamento uniforme su tutta la superficie del cuoio capelluto. La prevalenza dell'alopecia androgenetica nella PCOS non è chiara; in uno studio su 257 pazienti con PCOS sottoposti a trattamento per sintomi di iperandrogenismo, solo il 5% lamentava perdita di capelli (Azziz & Sanchez, 2004).

La valutazione dell'iperandrogenismo dal punto di vista biochimico è un aspetto critico della diagnosi di PCOS, poiché molti test disponibili in commercio mancano della sensibilità e specificità necessarie per misurare con precisione le concentrazioni di androgeni (Escobar-Morreale, 2018). Le concentrazioni sieriche di testosterone libero calcolato utilizzando la formula di Vermeulen et al risultano essere il parametro più sensibile per la valutazione dell'iperandrogenismo (Teede, 2023), a patto che vengano impiegati metodi affidabili. Secondo le linee guida più recenti, misurazioni standardizzate del testosterone che siano accurate, affidabili e confrontabili nel tempo sono essenziali per la diagnosi e il follow-up della PCOS (Teede, 2023). Idealmente, la cromatografia liquida/spettrometria di massa dovrebbe essere utilizzata, ma alcuni saggi di radioimmunoanalisi e di immunochemiluminescenza potrebbero essere affidabili (Escobar-Morreale, 2018). Tuttavia, questi metodi sono complessi, possono richiedere l'uso della radioattività e sono costosi e/o richiedono molto tempo, limitandone l'utilizzo diffuso.

I risultati della meta-analisi condotta da Azziz et al a cui fanno riferimento le linee guida ESHRE 2023 hanno evidenziato che il testosterone libero calcolato e l'indice degli androgeni liberi calcolato (FAI) presentano la migliore sensibilità e specificità nel diagnosticare l'iperandrogenismo biochimico rispetto a tutti gli altri test (Azziz, 2023).

1.5.3. Alterazioni metaboliche

Una metanalisi condotta da Moran et al indica che l'incidenza della sindrome metabolica, del diabete gestazionale, della ridotta tolleranza al glucosio (IGT) e del diabete mellito di tipo 2 (T2DM) è aumentata nelle donne con PCOS rispetto ai controlli appaiati per età e BMI. In particolare, non meno del 2% delle donne con PCOS progredisce dalla normoglicemia iniziale al T2DM ogni anno e il 16% progredisce dall'IGT al T2DM (Moran, 2010).

In particolare, molte donne con PCOS mostrano insulino-resistenza e relativa iperinsulinemia, indipendentemente dall'indice di massa corporea (BMI) (Azziz, 2016): l'insulino-resistenza (IR) è la perturbazione metabolica più comune nelle donne con PCOS, interessando circa il 65-70% delle pazienti. La resistenza insulinica si manifesta come una ridotta capacità dell'insulina a svolgere le sue funzioni metaboliche, richiedendo quindi quantità maggiori di insulina per ottenere gli effetti desiderati. Questo porta a un aumento della produzione e del rilascio di insulina dalle cellule beta del pancreas, risultando in iperinsulinemia compensatoria (Sanchez-Garrido & Tena-Sempere, 2020). L'iperinsulinemia contribuisce all'anovulazione dipendente dagli androgeni attraverso vari meccanismi (come descritto nella sezione "1.4.: Fisiopatologia").

Una meta-analisi condotta da Naderpoor et al e riportata nelle Linee Guida ESHRE 2023 per la gestione della PCOS dimostra che le donne con PCOS presentino un maggior rischio di sviluppare Intolleranza al Glucosio e Diabete Mellito di Tipo 2 indipendentemente dal BMI, dall'età e dall'etnia, rispetto alla popolazione generale (Teede & Thien Tay, 2023).

Inoltre, recenti evidenze dimostrano che fino al 40% delle gravidanze nelle donne con PCOS sia complicato da Diabete Mellito Gestazionale (DMG), suggerendo che la PCOS rappresenta un fattore di rischio per il DMG. Tuttavia, la maggior parte degli studi sul rischio di DMG nelle pazienti con PCOS sono retrospettivi, per cui non esistono prove conclusive che la PCOS sia di per sé un fattore di rischio per il GDM o se vi siano altri fattori associati (Choudhury, 2022).

La relazione tra PCOS e obesità risulta complessa e attualmente mancano forti evidenze di un'associazione. Sebbene la PCOS si verifichi sia in donne obese che in donne con BMI nei range di normalità, una recente revisione sistematica e meta-analisi ha concluso che l'obesità è più diffusa nelle donne con PCOS rispetto a quelle senza PCOS (Lim, 2012). L'obesità nelle donne con PCOS sembra correlare alla presenza di altri segni tipici della sindrome: in particolare, la prevalenza dell'irsutismo sembrerebbe essere maggiore nelle donne obese con PCOS rispetto alle donne con PCOS normopeso (rispettivamente tra il 70% e 73% nelle donne con PCOS obese, rispetto al 56% - 58% nelle donne con PCOS normopeso). Allo stesso modo, le irregolarità mestruali si manifestano più frequentemente nelle donne con PCOS obese (78% - 88%) rispetto alla prevalenza nelle donne con PCOS non obese (68% - 72%) (Hoyt & Schmidt, 2004).

1.5.4. Altre manifestazioni cliniche

Altre manifestazioni cliniche correlabili alla PCOS comprendono astenia, disturbi del sonno (in particolare la Sindrome delle Apnee Ostruttive del Sonno, OSAS), alterazioni del tono dell'umore e del pattern alimentare che verranno più estesamente dettagliate nella sezione "Manifestazioni psicologiche correlate alla PCOS".

L'acanthosis nigricans (AN) è un significativo segno dermatologico spesso associato ad alterazioni metaboliche. La prevalenza dell'acanthosis nigricans nella PCOS è del 56% (Shivaprakash, 2013). Trattasi di una dermatosi caratterizzata da ipercheratosi e da iperpigmentazione della pelle; la sua presenza in aree come il collo posteriore, le ascelle e le pieghe mammarie può sollevare sospetti di PCOS, specialmente quando accompagnata da sintomi come l'irsutismo e da evidenza di insulino-resistenza (Hoyt & Schmidt, 2004).

1.6. Diagnosi e Classificazione Fenotipica della PCOS

Come riportato precedentemente, la PCOS viene diagnosticata secondo quanto stabilito dai criteri di Rotterdam 2003, in accordo con le linee guida ESHRE/ASRM 2023. In particolare, ciò richiede la presenza di almeno due dei seguenti: i) iperandrogenismo

clinico e/o biochimico, ii) disfunzione ovulatoria e iii) ovaie policistiche all'ecografia o livelli elevati di ormone Anti-Mülleriano (AMH), dopo l'esclusione di altre cause di tali caratteristiche. Dove sono presenti cicli mestruali irregolari e iperandrogenismo, non sono necessari ecografia o elevati livelli AMH per la diagnosi (Teede, 2023).

La maggiore controversia nei criteri diagnostici della PCOS riguarda la transizione puberale: infatti, i cicli irregolari e la disfunzione ovulatoria sono una componente fisiologica delle transizioni puberali in quanto la completa maturazione fisiologica dell'asse ipotalamo-ipofisi-ovaio avviene gradualmente nel corso degli anni e gli schemi di ovulazione e cicli delle adolescenti non corrispondono a quelli delle donne in età riproduttiva. Di conseguenza, è difficile stabilire con certezza quando i cicli irregolari riflettano una immaturità riproduttiva e quando possano indicare la presenza di PCOS, rendendo la diagnosi precisa un'impresa complessa e suscitando preoccupazioni per una possibile sovradiagnosi (Teede, 2023).

Secondo quanto riportato dalle linee guida ESHRE 2023 in riferimento alle irregolarità mestruali durante il periodo puberale, la presenza di cicli mestruali irregolari viene definita come:

- Normale se nel primo anno dopo il menarca, come parte della transizione puberale;
- Patologica se da > 1 a < 3 anni dopo il menarca se si manifesta con la comparsa di sanguinamenti ad intervalli < 21 o > 45 giorni;
- Patologica da > 3 anni dopo il menarca fino alla perimenopausa se si manifesta con la comparsa di sanguinamenti ad intervalli < 21 o > 35 giorni o < 8 cicli all'anno;
- Patologica da > 1 anno dopo il menarca se si manifesta con la comparsa di sanguinamenti ad intervalli > 90 giorni per qualsiasi ciclo;
- Patologica se si manifesta come amenorrea primaria entro i 15 anni o > 3 anni dopo il telarca.

(Teede, 2023).

Nelle adolescenti con cicli mestruali irregolari, il valore e il momento ottimale per la valutazione e la diagnosi della PCOS dovrebbero essere discussi con la paziente e i suoi genitori o tutori, considerando le sfide diagnostiche in questa fase della vita e i fattori psicosociali e culturali. In particolare, per le adolescenti che presentino caratteristiche della PCOS, ma non soddisfino i criteri diagnostici, potrebbe essere considerato un "rischio aumentato" di sviluppare la PCOS e si consiglia una rivalutazione al raggiungimento della piena maturità riproduttiva, ovvero 8 anni dopo il menarca. Questo include coloro che presentano caratteristiche della PCOS prima di iniziare a prendere la pillola contraccettiva combinata (COC), coloro con caratteristiche persistenti e coloro che hanno guadagnato peso in modo significativo durante l'adolescenza (Teede, 2023).

Inoltre, vista la complessità nell'utilizzo dell'ecografia per la diagnosi della PCOS, è stato proposto l'utilizzo dell'AMH come alternativa alla valutazione di evidenza ecografica di PCOM nelle pazienti adulte. L'AMH è un polipeptide appartenente alla famiglia del fattore di crescita trasformante beta (TGF-B) e viene secreto esclusivamente dalle cellule della granulosa dei follicoli ovarici preantrali e antrali di piccole dimensioni. Inoltre, essendo i livelli di AMH direttamente correlati al numero di follicoli reclutati in fase iniziale, il dosaggio di AMH sierico nelle donne con iperandrogenismo e/o oligo-anovulazione potrebbe indicare la presenza di PCOS quando l'ecografia affidabile non è disponibile. Come marcatore indicativo del numero di follicoli antrali piccoli, l'AMH potrebbe essere utilizzato anche per il monitoraggio della risposta terapeutica e come predittore della normalizzazione dei pattern mestruali con la riduzione del peso (Broekmans, 2008). Tuttavia, la letteratura attuale presenta una notevole variabilità e il valore diagnostico di AMH è ancora oggetto di discussione e incertezza. In particolare, secondo quanto riportato dalle Linee Guida ESHRE 2023, l'utilizzo di AMH come criterio di riferimento nell'adolescente non è raccomandato in quanto risulta attendibile a partire da circa otto anni dopo il menarca (Teede, 2023).

Occorre sottolineare, infine, che per la diagnosi di PCOS è cruciale escludere cause rare ma potenzialmente gravi di iperandrogenismo come tumori secernenti androgeni delle ghiandole surrenali e ovariche. Altre patologie endocrinologiche (come la sindrome di

Cushing, l'iperprolattinemia, l'iperplasia surrenalica congenita, etc.) possono essere escluse mediante giudizio clinico o mediante campionamento appropriato. (Escobar-Morreale, 2018).

1.6.1. Classificazione fenotipica della PCOS

L'applicazione dei criteri di Rotterdam permette di classificare la PCOS in quattro possibili fenotipi di PCOS (Figura 10):

- Fenotipo A (PCOS classica): presenta evidenza di iperandrogenismo, oligo-anovulazione e PCOM;
- Fenotipo B (anovulazione iperandrogenica): presenta evidenza di iperandrogenismo e oligo-anovulazione;
- Fenotipo C (PCOS ovulatoria): presenta evidenza di iperandrogenismo e PCOM;
- Fenotipo D (PCOS non-iperandrogenica): presenta evidenza di oligo-anovulazione e PCOM (Lizneva, 2016).

Parameter	Phenotype A	Phenotype B	Phenotype C	Phenotype D
PCOS features	HA/OD/PCOM	HA/OD	HA/PCOM	OD/PCOM
HA	+	+	+	-
OD	+	+	-	+
PCOM	+	-	+	+
NIH 1990 criteria	X	X		
Rotterdam 2003 criteria	X	X	X	X
AE-PCOS 2006 criteria	X	X	X	

Note: AE-PCOS = Androgen Excess & PCOS Society; HA = hyperandrogenism; NIH = National Institutes of Health; OD = ovulatory dysfunction; PCOM = polycystic ovarian morphology. Modified from reference (24).
Lizneva. Criteria, prevalence, and phenotypes of PCOS. Fertil Steril 2016.

Figura 10: classificazione della PCOS in fenotipi (Lizneva, 2016)

Il fenotipo A è risultato essere il più comune, con una prevalenza del 58,6%–71%. Gli altri tre fenotipi sono significativamente meno frequenti: fenotipo C (18,3%), fenotipo B (16,1%) e fenotipo D (5,4-20%) (Głuszak, 2012).

In particolare, i fenotipi A e B sembrerebbero essere correlati ad alterazioni del ciclo mestruale più pronunciate, a livelli più elevati di insulina e ad una maggiore predisposizione allo sviluppo di Sindrome Metabolica (SM) ed insulino-resistenza (IR). I fenotipi A e B, inoltre, si associano ad un BMI più elevato con tendenza all'obesità, oltre che a sviluppo di malattia da fegato grasso non alcolica (NAFLD).

Il fenotipo C si presenta con livelli di androgeni e insulina più bassi rispetto ai fenotipi A-B. Allo stesso modo, la prevalenza di Sindrome Metabolica nelle pazienti con fenotipo C appare essere minore rispetto al fenotipo A-B.

Infine, il fenotipo D presenta tendenzialmente alterazioni metaboliche e squilibri ormonali di grado più lieve rispetto ai fenotipi A, B e C (Lizneva, 2016).

Considerando l'importante ruolo che rivestono le alterazioni metaboliche nella PCOS, è stata ipotizzata una classificazione alternativa che tiene conto di fattori come l'insulino-resistenza e il signaling di insulina per la sintesi degli androgeni. In uno studio condotto da Moghetti et al, sono stati valutati diversi fenotipi della PCOS in relazione all'insulino resistenza; gli autori hanno scoperto che la sensibilità all'insulina appare ridotta nei fenotipi A e C della PCOS, mentre non risulta essere modificata nel fenotipo D che presenta un profilo metabolico paragonabile a quello delle donne non-PCOS; si potrebbe dunque ipotizzare che il fenotipo D della PCOS abbia un'eziologia differente rispetto ai fenotipi A e C (Unfer, 2023).

In particolare, l'eziopatogenesi del fenotipo D della PCOS potrebbe essere correlata ad aumentati valori di IGF1 in circolo, in senso assoluto o da riportarsi a una ridotta produzione di IGF1 Binding Protein che comporterebbe un aumento della biodisponibilità di IGF1 a a livello dei tessuti target. Secondo quanto dimostrato da uno studio condotto da Dai et al. la stimolazione dei follicoli su modelli di topo con IGF-1 provocherebbe l'arresto della crescita follicolare quando sono state utilizzate quantità eccessive di IGF-1 (Dai, 2022). I risultati dello studio condotto da Dai et al descrivono una nuova via che potrebbe portare all'arresto prematuro della crescita follicolare e di conseguenza alla formazione di cisti nell'ovaio: infatti, poiché il segnale dell'IGF-1 e l'equilibrio degli androgeni non sono correlati, l'up-regulation di IGF-1 potrebbe essere coinvolta nell'eziopatogenesi del fenotipo D della PCOS, spiegando quindi l'assenza di iperandrogenismo ed il diverso profilo metabolico, suggerendo che lo sviluppo di cisti ovariche nella PCOS non-iperandrogenica segua un meccanismo diverso rispetto a quello nella PCOS iperandrogenica (Unfer, 2023).

Su queste premesse, potrebbe essere proposta una classificazione innovativa, definita da criteri e parametri diversi che tengano in considerazione le alterazioni metaboliche caratteristiche della PCOS.

1.7. Trattamento

Il trattamento della PCOS si è storicamente concentrato sulla conservazione della funzione riproduttiva e sulla gestione dei sintomi come aumento di peso, resistenza insulinica, irsutismo e acne (Standeven & Olson, 2021). In particolare, il trattamento si concentra sulla diminuzione o sul miglioramento dei sintomi piuttosto che sulla guarigione.

1.7.1. Cambiamenti nello stile di vita

L'intervento sullo stile di vita rappresenta la prima linea di trattamento per la disfunzione metabolica associata alla PCOS, migliorando anche la fertilità. I programmi di intervento sullo stile di vita migliorano l'ovulazione nel 40-50% delle donne con PCOS, di cui il 30-40% riesce a ottenere una gravidanza spontanea (Carmina, 2012). Anche una modesta diminuzione del peso corporeo (del 5% o più) favorisce il miglioramento del profilo metabolico e la ripresa di cicli ovulatori regolari (Azziz, 2016). A tal proposito, sono stati sperimentati diversi regimi dietetici ipocalorici con varie composizioni di nutrienti, senza evidenziare differenze significative nei risultati. In alcuni casi, le diete ad alto contenuto proteico potrebbero essere meglio tollerate e favorire una maggiore sensazione di sazietà (Moran, 2013). Tuttavia, i risultati a lungo termine di qualsiasi regime dietetico sono limitati dalla scarsa aderenza nel tempo.

L'esercizio fisico è un altro pilastro importante per la gestione della PCOS, contribuendo alla riduzione del peso corporeo e migliorando la sensibilità insulinica, oltre che portando a una riduzione del rischio cardiovascolare. Si consiglia di praticare almeno 30 minuti di esercizio al giorno per almeno 5 giorni alla settimana per ottenere risultati ottimali (Harrison, 2011).

1.7.2. Terapia farmacologica

Quando le modifiche dello stile di vita non riescono a gestire la disfunzione metabolica nelle donne con PCOS, possono essere considerate diverse opzioni farmacologiche. Questi trattamenti possono anche offrire benefici indiretti sull'iperandrogenismo e sulla disfunzione ovulatoria associati alla malattia (Azziz, 2016).

La terapia estro-progestinica basata sull'utilizzo di contraccettivi orali combinati (COC) e di contraccettivi combinati transdermici rappresenta una strategia efficace per ridurre l'eccesso di androgeni ovarici nelle donne con PCOS e viene raccomandata come trattamento di prima linea per le anomalie mestruali, l'irsutismo e l'acne, soprattutto nelle pazienti che non cercano attivamente la gravidanza (Azziz, 2016). I COC agiscono attraverso diversi meccanismi: inibiscono il rilascio di gonadotropine, riducendo così la secrezione ovarica di androgeni; stimolano la produzione epatica di SHBG, riducendo la frazione libera di androgeni circolanti; inibiscono direttamente la biosintesi degli androgeni tramite il legame con i recettori degli androgeni (Mathur, 2008).

I COC offrono anche altri vantaggi oltre alla soppressione degli androgeni ovarici, inclusa una riduzione significativa del rischio di iperplasia endometriale e cancro endometriale (Dumesic, 2013), rendendoli un'opzione terapeutica completa per le donne con PCOS. I COC più comunemente prescritti contengono etinilestradiolo e progestinici, anche se non vi sono evidenze che una formulazione sia superiore ad un'altra per il trattamento della PCOS (Legro, 2013). Tuttavia, è importante considerare attentamente i potenziali rischi associati all'uso di COC, tra cui un aumento del rischio di eventi cardiovascolari, tromboembolismo venoso e comorbidità metaboliche, soprattutto in pazienti che già presentano un rischio aumentato.

Per le pazienti che non tollerano o che non sono candidate all'uso di COC, esistono altre opzioni terapeutiche. Ad esempio, è possibile utilizzare un trattamento continuo con progestinici o somministrare un analogo a lunga durata dell'ormone di rilascio delle gonadotropine (GnRH). Tuttavia, queste alternative sono meno comunemente utilizzate rispetto ai COC (Azziz & Ochoa, 1995).

Inoltre, la chirurgia ovarica può essere considerata in alcune situazioni. La resezione a cuneo ovarica, che comporta la rimozione chirurgica di parte dell'ovaio, può ridurre la steroidogenesi ovarica e migliorare la regolarità dei cicli ovulatori nelle pazienti con PCOS. Tuttavia, questa procedura è solitamente riservata ai casi in cui altre opzioni terapeutiche non sono efficaci o non sono appropriate (Donesky, 1995).

La metformina, un farmaco della classe delle biguanidi utilizzato per il trattamento del diabete di tipo 2, è una delle opzioni farmacologiche più comunemente prescritte per la PCOS. La metformina agisce sopprimendo la produzione di glucosio nel fegato e migliorando la sensibilità all'insulina nei tessuti periferici. Sebbene sia efficace nel migliorare la composizione corporea e i livelli di insulina nelle donne con PCOS, non sembra avere un impatto significativo sull'indice di massa corporea (IMC) o sui livelli di glucosio e lipidi a digiuno (Tang, 2009). Alcuni studi suggeriscono che l'associazione della metformina con modifiche dello stile di vita possa portare a una maggiore riduzione del BMI nelle donne con PCOS obese rispetto alle sole modifiche dello stile di vita (Naderpoor, 2016).

In alternativa o in aggiunta all'utilizzo di Metformina, le linee guida ESHRE 2023 citano l'utilizzo di Inositolo nel trattamento della PCOS. L'inositolo svolge un ruolo cruciale come messaggero secondario nella trasduzione del segnale insulinico. Esistono nove stereoisomeri di inositolo, tra cui il mio-inositolo (MI), è il più comune nel corpo umano. Il MI favorisce l'assorbimento del glucosio ed è coinvolto nel pathway di stimolazione di FSH per la proliferazione e la maturazione delle cellule granulose. Sotto l'influenza dell'insulina, il MI viene convertito in D-chiro-inositolo (DCI), che promuove la sintesi del glicogeno e facilita l'assorbimento del glucosio. Si ipotizza che l'iperinsulinemia nella PCOS aumenti l'attività dell'epimerasi ovarica, favorendo la sintesi di DCI a scapito del MI. Infatti, se nelle donne senza PCOS il rapporto di conversione di MI in DCI nel fluido follicolare è di 100:1, nelle donne con PCOS questo rapporto diminuisce a 0,2:1. Inoltre, si ritiene l'assunzione di MI possa migliorare non solo l'aspetto ovulatorio, ma anche la sintesi di aromatasi nelle cellule granulose, riducendo così la produzione di androgeni (Teede, 2023).

Un'altra classe di farmaci a volte utilizzabili per la PCOS sono i tiazolidinedioni, insulino-sensibilizzanti che agiscono come agonisti del recettore degli attivatori della proliferazione perossisomiale gamma. Questi farmaci sono efficaci nel migliorare la sensibilità all'insulina e la resistenza insulinica nella PCOS, ma possono avere effetti limitati sulla perdita di peso e sui livelli di trigliceridi (Azziz, 2016). Infine, l'acarbosio, un inibitore dell'alfa-glucosidasi, è stato valutato per il trattamento della PCOS, dimostrando un certo beneficio nella gestione dei sintomi metabolici. Tuttavia, è importante considerare gli effetti collaterali e discutere le opzioni terapeutiche con un medico per individuare il trattamento più appropriato per ogni singolo caso (Zhang, 2014).

1.7.3. Trattamento delle manifestazioni iperandrogeniche

Le manifestazioni dermocosmetiche di iperandrogenismo nelle donne affette da PCOS spesso richiedono un approccio multifattoriale che comprende l'uso di tecniche cosmetiche e trattamenti farmacologici, sia topici che sistemici, a seconda della gravità e delle conseguenze psicologiche.

Per gestire l'irsutismo, possono essere adottati diversi metodi cosmetici fisici come lo sbiancamento, la pinzatura, la rasatura, la ceretta, il trattamento chimico, la fotoepilazione e l'elettrolisi (Martin, 2008). L'acne, invece, può essere trattata con dermocosmetici, dermoabrasione, terapia laser o con luce polarizzata e interventi di chirurgia estetica in caso di cicatrici gravi (Carmina & Dreno, 2022). Per quanto riguarda l'alopecia androgenetica, si possono adottare acconciature, sostituzioni di capelli, trapianti di capelli o nuove tecniche come l'utilizzo di fattori di crescita da plasma ricco di piastrine o terapie basate sulle cellule staminali (Azziz, 2016).

Inoltre, in alcuni casi, possono essere utilizzati farmaci topici come Eflornitina per l'irsutismo facciale, retinoidi e antibiotici per l'acne e Minoxidil per l'alopecia. Tuttavia, spesso è necessario ricorrere a farmaci orali a distribuzione sistemica per ottenere risultati soddisfacenti. Le pillole anticoncezionali contenenti progestinici, insieme agli antiandrogeni come il ciproterone acetato, lo spironolattone o la flutamide, sono i

farmaci di elezione per l'irsutismo e possono anche aiutare nei casi gravi di alopecia e acne (Azziz, 2016).

È importante notare che l'efficacia di molti di questi trattamenti per acne e alopecia nelle donne con PCOS non è ancora stata pienamente valutata attraverso dati basati sull'evidenza. Tuttavia, la gestione delle manifestazioni dermocosmetiche può contribuire a migliorare la qualità della vita delle pazienti con PCOS e ridurre le conseguenze psicologiche associate (Cinar, 2012).

1.8. Manifestazione psicologiche correlate alla PCOS

Le caratteristiche psicologiche sono un componente comune e importante della PCOS di cui tutti i professionisti della salute dovrebbero essere consapevoli (Teede, 2023).

Secondo quanto riportato dalle Linee Guida ESHRE 2023, le donne con PCOS spesso soffrono di disturbi psichiatrici come il Disturbo d'Ansia Generalizzato e il Disturbo Depressivo Maggiore, che possono avere un impatto significativo sulla qualità di vita delle pazienti (Teede, 2023). Le donne con PCOS inoltre presentano problemi di insoddisfazione relativamente alla propria immagine corporea, ed è nota una correlazione importante con i Disturbi del Comportamento Alimentare (DCA) e con l'Alimentazione Disordinata (Teede, 2023). Tuttavia, queste condizioni sono sottovalutate e il supporto emotivo è spesso insufficiente, il che porta a una diffusa insoddisfazione rispetto all'esperienza diagnostica nelle donne con PCOS. Anche se esistono strumenti di screening disponibili, il riconoscimento e l'adozione di tali strumenti nella pratica clinica rimane, ad oggi, limitato (Teede, 2023).

1.8.1. Relazione fra PCOS e disturbi depressivi

I disturbi depressivi includono il Disturbo Depressivo Maggiore (MDD), il Disturbo Distimico e la Depressione non Altrimenti Specificata (DNOS), in base a quanto descritto nel Manuale Diagnostico e Statistico dei Disturbi Mentali Va edizione (DSM-V).

Secondo il DSM-V, il Disturbo Depressivo Maggiore (MDD) è caratterizzato da episodi depressivi che durano almeno due settimane e causano un notevole disagio o deterioramento nelle aree sociali, lavorative o interpersonali della persona che ne soffre. I sintomi possono includere umore depresso per la maggior parte del giorno, anedonia, cambiamenti di peso o appetito, disturbi del sonno, agitazione o rallentamento psicomotorio, affaticamento, sentimenti di inutilità o colpa, e difficoltà di concentrazione o indecisione. Il Disturbo Distimico è invece una forma di depressione cronica caratterizzata da sintomi persistenti che durano almeno due anni negli adulti o un anno nei bambini e adolescenti. Sebbene meno gravi del MDD, i sintomi possono avere un impatto significativo sul funzionamento sociale e personale. Infine, la Depressione Non Altrimenti Specificata (DNOS) è una categoria utilizzata per i disturbi dell'umore che non soddisfano i criteri specifici per MDD o Disturbo Distimico. La diagnosi di DNOS viene applicata quando i sintomi depressivi sono presenti ma non sono sufficientemente gravi, persistenti o completi per una diagnosi specifica di MDD o Disturbo Distimico (American Psychiatric Association, 2022).

Nella donna con PCOS, la prevalenza e la gravità dei sintomi depressivi sono aumentate rispetto alla popolazione femminile senza PCOS. Una meta-analisi condotta da Dokras et al ha dimostrato che la prevalenza del disturbo depressivo è circa doppia nelle pazienti PCOS rispetto alle donne non-PCOS (36% vs. 14%) (Dokras, 2011).

Una seconda e più recente metanalisi condotta da Dybczak et al conferma l'esistenza di un aumentato rischio di sintomi depressivi nella popolazione di donne con PCOS, sottolineando l'importanza di esami di screening e un adeguato follow-up in questa popolazione. I dati ottenuti confermano la necessità di implementare linee guida nella pratica di routine, secondo le quali le donne con PCOS dovrebbero sottoporsi a screening della salute mentale e a follow-up a lungo termine (Dybczak, 2023).

Un dato allarmante proviene da un piccolo studio che ha dimostrato che le donne con PCOS sembrerebbero manifestare ideazione suicidaria circa 7 volte più frequentemente di quanto non facciano le donne non affette dalla Sindrome dell'ovaio policistico (Mansson, 2007).

1.8.2. Relazione fra PCOS e il Disturbo d'Ansia Generalizzato

Secondo una metanalisi condotta da Dokras et al, la prevalenza del Disturbo d'Ansia Generalizzato (GAD) è superiore delle donne con PCOS (Dokras, 2012).

Secondo il DSM-V, il Disturbo d'ansia generalizzato (GAD) è caratterizzato da preoccupazioni eccessive o persistenti su una serie di eventi o attività, presenti per almeno sei mesi. Le preoccupazioni sono difficili da controllare e sono associate a sintomi come tensione muscolare, irritabilità, difficoltà di concentrazione, disturbi del sonno e affaticamento (American Psychiatric Association, 2022).

I risultati della metanalisi condotta da Dokras et al riportano che le pazienti con PCOS che soffrono di Disturbo d'ansia Generalizzato sono circa il quadruplo delle donne senza PCOS che soffrono di tale disturbo (42% vs. 9%) (Dokras, 2012). Una metanalisi condotta nel 2019 da Damone et al. conferma che nelle donne con PCOS il Disturbo Ansioso Generalizzato abbia una prevalenza maggiore rispetto alle donne senza PCOS (50% vs 39,2%). In particolare, questa metanalisi evidenzia che l'indice di massa corporea, l'infertilità e i fattori socio-demografici aumentano portano le donne con PCOS ad essere ancora più inclini a disturbi depressivi, ansiosi e ad avere un livello più alto di stress percepito (Damone, 2018).

1.8.3. Le problematiche alimentari nella donna con PCOS

I “Disturbi del Comportamento Alimentare” (DCA) sono condizioni caratterizzate da gravi alterazioni nell'atteggiamento nei confronti del cibo, del peso corporeo e dell'immagine corporea, che possono influenzare significativamente la salute fisica, mentale ed emotiva di una persona. Il DSM-V classifica i principali DCA in Anoressia Nervosa (caratterizzata da preoccupazione estrema per il peso e la forma fisica, paura intensa di ingrassare e restrizione alimentare grave, risultante in un peso corporeo molto basso rispetto alle aspettative), Bulimia Nervosa (che si manifesta con episodi ricorrenti di abbuffate seguiti da comportamenti compensatori come vomito autoindotto o uso di lassativi, digiuno o esercizio fisico eccessivo), Disturbo dell'Alimentazione Incontrollata (che comporta episodi di abbuffate simili a quelli della bulimia, ma senza comportamenti compensatori e può causare sentimenti di vergogna e difficoltà nel controllo del comportamento alimentare) e Disturbo dell'Alimentazione Selettiva o

Rifiuto Alimentare (caratterizzato da una selettività alimentare persistente, spesso osservata nei bambini, che porta a una dieta estremamente limitata e può causare carenze nutrizionali e problemi di crescita) (American Psychiatric Association, 2022).

Una metanalisi condotta nel 2020 da Thannickal et al. dimostra come nelle donne con PCOS sia maggiore anche la prevalenza di DCA.

In particolare, la revisione metanalitica di 36 studi (per un totale di 349.529 pazienti) ha dimostrato che rispetto alle donne senza PCOS, le donne con PCOS sarebbero più inclini a soffrire di bulimia nervosa (OR 1.37; % CI, 1.17 a 1.60), binge eating (OR 2.95; 95% CI, 1.61 a 5.42), o qualsiasi disturbo dell'alimentazione (OR 1.96; 95% CI 1.18 a 3.24); ma non di anoressia nervosa (OR 0.92; 95%CI, 0.78 a 1.10) (Thannickal & Brutocao, 2020).

I disturbi alimentari possono avere un impatto negativo significativo sul trattamento della PCOS. Pertanto, emerge la necessità di prestare attenzione allo screening dei disturbi alimentari e di considerare la rilevanza del trattamento psicologico per i disturbi alimentari nelle donne con PCOS (Bernadett, 2016).

Nel DSM-V, il termine di “Alimentazione Disordinata” (Disordered Eating) fa riferimento a comportamenti alimentari che possono essere irregolari, poco salutari o fuori controllo, ma che non soddisfano i criteri completi per un disturbo alimentare. Le persone con alimentazione disordinata potrebbero impegnarsi in comportamenti come diete estreme come restrizioni caloriche eccessive, digiuni prolungati, comportamenti di Purging (ad esempio vomito autoindotto o uso eccessivo di lassativi), Binge eating (episodi ricorrenti di abbuffate accompagnati dalla percezione di perdita di controllo sul proprio comportamento alimentare e da sentimenti di vergogna, colpa e disagio emotivo), Grignottage (consumo frequente e indiscriminato di piccoli quantitativi di cibo, spesso snack non salutari, tra i pasti principali), Craving (forte desiderio o compulsione incontrollabile di consumare specifici cibi, spesso considerati "proibiti") o restrizioni alimentari eccessive senza necessariamente soddisfare tutti i criteri per un disturbo alimentare diagnosticabile (American Psychiatric Association, 2022).

L'alimentazione disordinata può ancora avere un impatto negativo sulla salute fisica e mentale e può richiedere un intervento per prevenire il peggioramento dei sintomi (Teede, 2023).

Una metanalisi condotta nel 2019 da Krug dimostra che la prevalenza di un comportamento alimentare caratterizzato da Alimentazione Disordinata, in particolare da Binge Eating, è stata osservata essere significativamente più elevata nelle donne con PCOS rispetto alla popolazione generale. Secondo questo studio il Binge Eating può essere presente in una percentuale significativa di donne con PCOS, con stime che vanno dal 6,8% al 58% (rispetto al 3-5% della popolazione generale femminile in età riproduttiva). Tuttavia, la prevalenza effettiva può variare a seconda della popolazione studiata, dei criteri diagnostici utilizzati e di altri fattori (Krug, 2019).

1.8.4. Problemi di immagine corporea e della sessualità

La prevalenza e la gravità del disagio legato all'immagine corporea nelle donne con PCOS rappresentano un'area critica di preoccupazione. L'immagine corporea comprende un'integrazione complessa di fattori, tra cui influenze fisiche, psicologiche e socioculturali. Si riferisce a come una donna percepisce, pensa e si sente riguardo al proprio corpo, includendo aspetti come l'aspetto, il peso e l'irsutismo. Valutare l'immagine corporea comporta la valutazione dei livelli di insoddisfazione corporea, dei comportamenti alimentari disordinati, delle percezioni della dimensione corporea e delle preoccupazioni correlate al peso (Teede, 2023).

Secondo una metanalisi condotta nel 2023 da Davitadze et al, le donne con PCOS manifestano una maggiore insoddisfazione riguardo alla propria immagine corporea rispetto alle donne senza PCOS, indipendentemente dallo strumento di valutazione utilizzato. Un'immagine corporea negativa nella PCOS può aumentare la depressione e ridurre la qualità della vita, pertanto la valutazione dell'immagine corporea dovrebbe essere parte integrante della gestione della PCOS in quanto offre l'opportunità di affrontare sia gli aspetti psicologici che quelli fisici di questa condizione (Davitadze, 2023).

Le disfunzioni psicosessuali che interessano la popolazione femminile con PCOS consistono in problematiche della sessualità legate a disagi psicologici sottostanti, come depressione, bassa autostima e problemi di immagine corporea. Questi fattori di rischio per le disfunzioni sessuali sono aumentati nella PCOS e possono influire significativamente sulla qualità di vita delle pazienti. Una meta-analisi condotta da Hester et al., riportata nelle Linee Guida ESHRE 2023 per la gestione della PCOS, indica che non ci siano differenze riguardo al desiderio sessuale delle donne con PCOS rispetto alla popolazione femminile senza PCOS. Tuttavia, le donne con PCOS sembrano praticare meno attività sessuale, presentano problemi di lubrificazione e riferiscono una minore soddisfazione nella propria vita sessuale (Teede, 2023).

1.8.5. Qualità della vita nelle donne con PCOS

La qualità della vita è un parametro sanitario che, soprattutto nelle malattie croniche, e si riflette negli effetti fisici, sociali ed emotivi riportati dai pazienti e dagli effetti dei trattamenti associati. La valutazione avviene tramite auto-rapporto e può essere eseguita con diversi strumenti. Tuttavia, gli strumenti generici ed ampiamente utilizzati come il Questionario Short Form-36 (SF-36) non sono ideali per la PCOS, poiché non considerano aspetti rilevanti come l'infertilità e l'irsutismo. Sono stati sviluppati strumenti specifici per la PCOS, come il questionario sulla Qualità della vita nella PCOS (PCOSQ), che include dimensioni pertinenti come emozioni, presenza di peli corporei e infertilità (Teede, 2023).

1.8.6. Insoddisfazione rispetto all'esperienza diagnostica nelle donne con PCOS

Nel più vasto e unico studio internazionale, condotto da Gibson et al, sulle esperienze diagnostiche della PCOS, si è riscontrato che la diagnosi ritardata è comune e correlata a una scarsa soddisfazione riguardo l'esperienza diagnostica nelle pazienti tra le donne con PCOS in tutto il mondo. Le attuali risorse educative non soddisfano le esigenze informative dei consumatori, e la mancanza di consapevolezza, accessibilità e idoneità delle risorse potrebbe contribuire a questo problema. Le preoccupazioni delle donne riguardo alla PCOS cambiano durante le diverse fasi della vita, evidenziando l'importanza di prendere in considerazione le singole preoccupazioni delle pazienti nella gestione della PCOS. Nel loro insieme, i risultati riportati nello studio di Gibson sono

preoccupanti sia per le donne interessate che per gli operatori sanitari (Gibson-Helm, 2016).

1.8.7. Metodiche di screening psicometrici

Secondo quanto riportato dalle Linee Guida ESHRE 2023, *“Le caratteristiche psicologiche sono comuni e un componente importante della sindrome dell'ovaio policistico di cui tutti i professionisti sanitari dovrebbero essere consapevoli”* (Teede, 2023).

È essenziale promuovere una maggiore consapevolezza riguardo alle caratteristiche psicologiche, compresi i disturbi alimentari e gli effetti sull'immagine corporea e sulla qualità della vita legati alla PCOS. L'insoddisfazione nei confronti della diagnosi e del trattamento della PCOS è diffusa, pertanto è fondamentale un significativo miglioramento nell'educazione e nella consapevolezza, sia per le donne che per gli operatori sanitari, mediante l'accesso a risorse di alta qualità e basate su evidenze. Inoltre, è cruciale promuovere la condivisione delle decisioni e l'empowerment individuale, e sviluppare, finanziare e valutare modelli di assistenza integrati che coinvolgano attivamente le persone coinvolte (Teede & Thien Tay, 2023).

Nel processo di cura delle donne con PCOS risulta quindi essenziale integrare lo screening dei disturbi psicologici. Questo può avvenire attraverso l'impiego di questionari standardizzati e validati durante le visite di monitoraggio regolari. Inoltre, è importante creare uno spazio aperto e accogliente durante le interazioni con il personale sanitario, incoraggiando la discussione aperta sui loro stati emotivi e psicologici. La formazione del personale sanitario su come riconoscere i sintomi psicologici associati alla PCOS e sulle strategie di gestione è altrettanto fondamentale. Collaborare con professionisti della salute mentale può fornire un supporto adeguato e trattamenti specifici per coloro che ne hanno bisogno. Infine, educare le donne sulla PCOS sull'importanza del benessere psicologico e sulle risorse disponibili per affrontare tali disturbi può migliorare l'accesso alle cure e la consapevolezza delle opzioni di trattamento (Krug, 2019).

Esiste una moltitudine di questionari validati per la valutazione del profilo psicologico, che possono essere utilizzati nelle pazienti con PCOS. Tra questi test rientrano i questionari Beck Depression Inventory (BDI) e Beck Anxiety Inventory (BAI), oltre che il Patient Health Questionnaire-9 (PHQ-9) e il Generalized Anxiety Disorder 7-item Scale (GAD-7) per la valutazione di ansia e depressione. Il Short Form-36 (SF-36) e il più specifico PCOSQL Test (PCOS Quality of Life Test) vengono utilizzati per la valutazione della qualità di vita, mentre il Multidimensional Body-Self Relations Questionnaire (MBSRQ) può essere proposto per la valutazione dell'immagine corporea. L'Eating Disorder Examination Questionnaire (EDE-Q), il Dutch Eating Behaviour Questionnaire (DEBQ) e l'Eating Attitudes Test (EAT-26) vengono infine utilizzati per la valutazione dei disturbi del comportamento alimentare. Esistono inoltre diverse scale per la valutazione della soddisfazione del percorso diagnostico, come ad esempio il Patient Satisfaction Questionnaire (PSQ).

Alcuni questionari che vengono utilizzati in contesti clinici (come in psicoterapia, psichiatria, servizi di salute mentale o in ambito ospedaliero), sono pensati per indagare contemporaneamente più aspetti del profilo psicologico del soggetto. Il questionario Cognitive Behavioural Assessment Forma Hospital (CBA-H) è sovente usato per valutare sintomi o segni di disturbi dell'umore, dell'ansia o altri disturbi emotivi, al fine di valutare il loro stato emotivo e affettivo complessivo, nell'ambito di ambienti nosocomiali e ambulatoriali. Inoltre, può essere utilizzato come strumento di screening per individuare eventuali problemi emotivi o psicologici in individui che cercano assistenza sanitaria per sintomi emotivi. Il CBA-H può anche essere somministrato a persone che partecipano a ricerche psicologiche o studi clinici che indagano sull'affettività e sui sentimenti, al fine di raccogliere dati su vari aspetti dell'affettività e valutare l'efficacia di interventi psicologici o psichiatrici. In sintesi, il CBA-H viene somministrato a individui che possono beneficiare da una valutazione del loro stato emotivo e affettivo, sia in contesti clinici che di ricerca (De Pasquale, 2017).

1.8.8. Ipotesi patogenetiche dei disturbi psico-comportamentali

In passato, l'alta prevalenza della depressione nelle donne con PCOS veniva attribuita alle difficoltà ad avere figli, alla tendenza all'obesità e ai segni di iperandrogenismo clinico (come irsutismo, acne, perdita di capelli, mestruazioni irregolari e ridotta

fertilità) responsabili di problemi di autostima ed altre problematiche psicologiche come ansia, depressione e disturbi del comportamento alimentare.

Uno studio condotto nel 2015 da Hu et al si è proposto di indagare se un eccesso di androgeni materni contribuisca allo sviluppo di disturbi d'ansia nei discendenti, in particolare in soggetti con familiarità per PCOS. Per esplorare questo aspetto, i ricercatori hanno indotto il fenotipo PCOS in ratti esponendoli ad androgeni prenatali. I discendenti di ratti esposti ad androgeni prenatali hanno manifestato un comportamento simile all'ansia nel test detto “del labirinto a doppio braccio elevato”, dimostrando che un eccesso di androgeni materni potrebbe contribuire a un maggiore rischio di sviluppare disturbi d'ansia nelle donne con PCOS (Hu, 2015).

Ad oggi non è stata dimostrata una chiara correlazione tra l'eccesso degli androgeni presente nella PCOS e i suddetti disturbi: una meta-analisi condotta nel 2021 da Standeven et al. sottolinea come nella letteratura presente fino a quel momento non risultino evidenti correlazioni tra i livelli aumentati di Testosterone, DHEAS, Androstenedione, Progesterone e 17-OHP e disturbi psichiatrici (Standeven & Olson, 2021).

1.9. Ruolo potenziale dei neurosteroidi

I neurosteroidi (o steroidi neuroattivi) sono un gruppo di molecole derivate dal colesterolo e capaci di importanti effetti sul Sistema Nervoso Centrale; vengono sintetizzati e metabolizzati in diverse aree del sistema nervoso centrale e periferico e derivano dai tradizionali ormoni steroidei progesterone, deossi-corticosterone e testosterone sintetizzati dalle gonadi o dalla ghiandola surrenale. Vengono classificati in tre gruppi principali, a seconda della loro struttura biochimica (Figura 11):

1. Pregnano-neurosteroidi (allopregnanolone, Allotetrahydrodeoxycorticosterone)
2. Solfato-neurosteroidi (Deidroepiandrosterone solfato e pregnenolone solfato)
3. Androstano-neurosteroidi (Androstanedione e Androstanolo)

Classification	Neurosteroids	Nomenclature
Pregnane	Allopregnanolone (ALLO)	5 α -pregnane-3 α -ol-20-one
	Allotetrahydrodeoxycorticosterone (THDOC)	5 α -pregnane-3 α ,21-diol-20-one
Androstane	Androstanediol	5 α -androstan-3 α ,17 β -diol
	Androstanol	3 α ,5 α -androstenol
Sulfated	Dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS)	Androst-5-en-3 β -ol-17-one 3 β -sulfate
	Pregnenolone sulfate (PREGS)	5-Pregnen-3 β -ol-20-one sulfate

Figura 11: Classificazione dei Neurosteroidi (Standeven & Olson, 2021)

Gli steroidi neuroattivi esercitano un ampio spettro di azioni fisiologiche regolando funzioni importanti come la riproduzione, il comportamento alimentare, lo sviluppo del cervello, la neurogenesi, la neuroprotezione, la cognizione e la memoria (Melcangi, 2007). Questo particolare tipo di ormoni è in grado di attraversare la barriera emato-encefalica e di modificare il tono serotoninergico, glutammatergico e gabaergico a livello centrale con effetto più o meno inibitorio a livello dei recettori per l'acido γ -aminobutirrico di tipo A (GABA-A). Gli effetti di modulazione a livello di tali recettori sembrano essere responsabili dei sintomi legati all'umore, essendo il GABA il principale neurotrasmettitore inibitorio nel sistema nervoso centrale (per approfondimento riguardo all'azione dei neurosteroidi sul recettore del GABA-A si rimanda al capitolo "5. Discussione").

In particolare, è noto che i farmaci psicotropi possono modulare i livelli dei neurosteroidi, e le concentrazioni plasmatiche di neurosteroidi sembrano essere alterate nei pazienti con sindromi neurodegenerative, depressive e ansiose (Standeven & Olson, 2021).

1.9.1. Vie di sintesi dei neurosteroidi

La neurosteroidogenesi avviene sia nei neuroni che nelle cellule gliali e inizia con il trasferimento del colesterolo nei mitocondri, un passaggio limitante che coinvolge la proteina StAR (proteina regolatoria acuta degli steroidi) e la proteina traslocatrice (TSPO). Questo passaggio è seguito dalla conversione del colesterolo in pregnenolone

ad opera dell'enzima mitocondriale P450_{scc} (enzima di scissione della catena laterale). Il pregnenolone, a questo punto, esce dai mitocondri e viene metabolizzato in progesterone o 17OH-pregnenolone, quest'ultimo dando origine al DHEA. Il DHEA e il progesterone possono essere entrambi metabolizzati in androstenedione. L'androstenedione viene successivamente convertito in testosterone, che a sua volta è convertito in 17β-estradiolo tramite aromatizzazione (Yilmaza, 2019). Il progesterone invece viene attivamente convertito dall'enzima 5α-reduttasi (5α-R) in diidrossiprogesterone (DHP) e successivamente, grazie all'azione degli enzimi 3α-idrossisteroide ossidoriduttasi o 3β-idrossisteroide ossidoriduttasi, in allopregnanolone (ALLO) e isoallopregnanolone (cioè, l'isomero 3β dell'ALLO) (Diviccaro, 2022). Le conversioni metaboliche operate dalla 5α-reduttasi hanno un impatto profondo sul meccanismo d'azione del progesterone; infatti, sebbene il diidrossiprogesterone (DHP), simile al suo precursore, sia ancora in grado di interagire con il recettore intracellulare del progesterone, l'allopregnanolone e l'isoallopregnanolone interagiscono con il recettore GABA-A (Diviccaro, 2022). I processi di sintesi sono schematizzati in Figura 12.

A livello cellulare, gli astrociti producono pregnenolone, progesterone, DHEA, androstenedione, testosterone, estradiolo ed estrone, mentre gli oligodendrociti sintetizzano pregnenolone, progesterone e androstenedione; le cellule della microglia possono metabolizzare androgeni ed estrogeni e convertire il DHEA in 17 beta-diol, ma mancano degli enzimi per la sintesi di progesterone e DHEA. Infine, i neuroni possono produrre pregnenolone, DHEA, androstenedione ed estrogeni (Yilmaza, 2019).

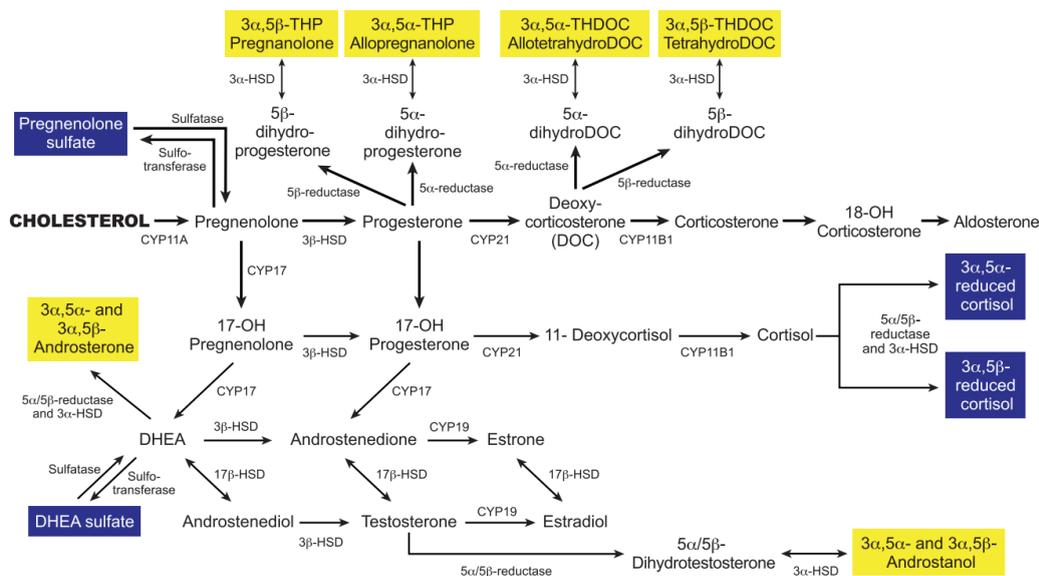


Figura 12: Sintesi dei principali neurosteroidi (McEvoy, 2019)

Occorre sottolineare che le due isoforme della 5 α -reduttasi (tipo 1 e tipo 2), responsabili del metabolismo dei neurosteroidi attivi pregnanolone, allopregnanolone e isoallopregnanolone, vengono espresse in aree differenti del sistema nervoso centrale e periferico. L'isoforma di tipo 1 è espressa nei neuroni glutammatergici corticali, dell'ippocampo e del bulbo olfattivo, e in alcuni neuroni di uscita dell'amigdala e del talamo, con alti livelli nel mesencefalo, nel corpo calloso, nella commissura anteriore, nel chiasma ottico, nel ponte e nel midollo spinale. L'isoforma di tipo 2 è ampiamente espressa dal proencefalo fino al tronco cerebrale e al cervelletto, ma è anche altamente espressa nel midollo spinale, in particolare negli oligodendrociti (Diviccaro, 2022).

1.9.2. Principali funzioni e potenziale ruolo dei neurosteroidi nella patogenesi delle patologie psichiatriche

I neurosteroidi agiscono direttamente sul sistema nervoso centrale, svolgendo una varietà di importanti funzioni neurobiologiche. Questi particolari steroidi sono noti per agire come modulatori allosterici positivi dei recettori GABA-A, contribuendo così alla regolazione dell'eccitabilità neuronale e al controllo dell'ansia, della depressione e dei disturbi dell'umore in genere.

1.9.2.1. Progesterone (PROG)

Il progesterone non solo funge da regolatore fisiologico della riproduzione, ma esercita anche importanti effetti sul sistema nervoso centrale. Infatti, ha un effetto protettivo sul tessuto cerebrale danneggiato e regola lo sviluppo dei neuroni e delle cellule gliali, nonché il processo di mielinizzazione. Inoltre, progesterone agisce indirettamente, attraverso i suoi metaboliti attivi come il 5 α -diidroprogesterone e l'allopregnanolone, come modulatore allosterico positivo del recettore GABA-A ed ha effetti protettivi significativi nella patogenesi di disturbi neurodegenerativi e psichiatrici. Tuttavia, se gli effetti del progesterone sul SNC possano essere dovuti a esso stesso o esclusivamente ai suoi metaboliti è ancora poco considerato (Diviccaro, 2022).

1.9.2.2. Deidroepiandrosterone (DHEA)

Il DHEA è prodotto nelle ghiandole surrenali, nelle gonadi e nel cervello. Riveste un ruolo importante in quanto androgeno (responsabile, per esempio, degli effetti androgenici dell'adrenarca insieme ai suoi metaboliti testosterone e diidrotestosterone), come estrogeno debole e come neurosteroidi. Infatti, il DHEA è in grado di agire direttamente come modulatore allosterico positivo o negativo a livello di diversi recettori di neurotrasmettitori, tra cui il recettore NMDA (con azione stimolante), e il recettore GABA-A (con azione inibente). Inoltre, il DHEA ha anche un'azione neurotrofica legandosi come agonista ai recettori delle neurotrofine TrkA e p75NTR (Chen, 2005). L'associazione con i disturbi dell'umore nelle donne con PCOS è oggetto di incertezza. Alcuni studi indicano livelli più elevati di DHEA nei casi depressivi, mentre altri non riscontrano differenze significative (Standeven & Olson, 2021).

1.9.2.3. Testosterone

Testosterone è uno steroide della classe degli androstani che viene biosintetizzato in diverse fasi a partire dal colesterolo. Oltre ai noti effetti come regolatore dello sviluppo sessuale e fisiologico, il testosterone ricopre numerosi ruoli tra cui quello di neurosteroidi: tramite il suo metabolita attivo 3 α -androstanoediolo, è un potente modulatore allosterico positivo del recettore GABA-A. Inoltre, il testosterone agisce come antagonista dei recettori delle neurotrofine TrkA e p75NTR con alta affinità (Kohtz, 2011). Gli studi disponibili nella letteratura mostrano risultati contrastanti

sull'associazione tra testosterone e i disturbi dell'umore nella PCOS. Studi indicano livelli inferiori di testosterone nelle donne con PCOS e depressione, mentre altri suggeriscono una correlazione positiva o non trovano alcuna associazione. (Standeven & Olson, 2021).

1.9.2.4. Diidroprogesterone (DHP)

5 α -Diidroprogesterone è un progestinico endogeno e neurosteroidale che viene sintetizzato a partire dal progesterone. È anche un prodotto intermedio nella sintesi di allopregnanolone e isopregnanolone a partire dal progesterone. Agisce come agonista del recettore del progesterone (si ritiene che il 5 α -DHP abbia circa il 33% della potenza progestogena relativa rispetto al progesterone) e come modulatore allosterico positivo del recettore GABA-A, sebbene con un'affinità per questo recettore considerata relativamente bassa rispetto ai metaboliti del progesterone allopregnanolone e pregnanolone (Mellon, 2007). Livelli più elevati di diidroprogesterone sono stati osservati nelle donne con PCOS depressive, ma le prove sono limitate (Standeven & Olson, 2021).

1.9.2.5. 3 α -Diolo (o 3 α -Androstenediolo)

3 α -Androstenediolo, noto anche come 5 α -androstane, 17 β -diolo e talvolta abbreviato nella letteratura come 3 α -diolo, è un ormone steroideo endogeno e neurosteroidale, nonché un metabolita degli androgeni come il diidrotestosterone (DHT). Agisce come neurosteroidale e come debole estrogeno (avendo affinità significativamente inferiore, sebbene ancora significativa, per i recettori degli estrogeni rispetto al suo isomero 3 β -androstenediolo). Come neurosteroidale, agisce come potente modulatore allosterico positivo del recettore GABA-A, ed è stato trovato ad avere effetti gratificanti, ansiolitici, pro-sessuali e anticonvulsivanti (Reddy, 2010).

1.9.2.6. 17 β -Estradiolo

Estradiolo è un ormone steroideo estrogeno e il principale ormone sessuale femminile. Oltre a rivestire importantissime funzioni dal punto di vista dello sviluppo sessuale e fisiologico e come regolatore del ciclo mestruale, svolge numerosissime funzioni tra cui quella di neurosteroidale: è in grado infatti di agire come modulatore allosterico del

recettore del GABA-A e dell'ossitocina. Si ritiene infatti che gli estrogeni giochino un ruolo significativo nella salute mentale delle donne, con collegamenti suggeriti tra il livello dell'ormone, l'umore e il benessere. Cali improvvisi o fluttuazioni nei livelli di estrogeni, o lunghi periodi di livelli costantemente bassi di estrogeni, possono essere correlati a significativi abbassamenti dell'umore. È stato dimostrato che il recupero clinico dalla depressione postpartum, dalla perimenopausa e dalla postmenopausa sia efficace dopo che i livelli di estrogeni sono stati stabilizzati e/o ripristinati (Douma, 2005).

1.9.2.7. Pregnenolone

Pregnenolone è uno steroide endogeno e precursore/intermedio metabolico nella biosintesi della maggior parte degli ormoni steroidei, inclusi i progestinici, gli androgeni, gli estrogeni, i glucocorticoidi e i mineralcorticoidi. Inoltre, il pregnenolone è biologicamente attivo di per sé, agendo come neurosteroido. Il pregnenolone è un endocannabinoide allosterico, in quanto agisce come modulatore allosterico negativo del recettore CB1 (previene l'attivazione del CB1, con lo stesso meccanismo del etraidrocannabinolo, il principale costituente attivo della cannabis). Infine, sebbene il pregnenolone stesso non possieda queste attività, il suo metabolita pregnenolone solfato è un modulatore allosterico negativo del recettore GABA-A e un modulatore allosterico positivo del recettore NMDA (Vallée, 2001).

1.9.2.8. Diidrotestosterone (DHT)

Diidrotestosterone è uno steroide androgeno sessuale endogeno prodotto a partire dal testosterone ad opera della 5 α -reduttasi, o a partire dal progesterone in assenza di testosterone. Il Diidrotestosterone è principalmente coinvolto nello sviluppo degli organi genitali e dei caratteri sessuali maschili, ma svolge anche funzioni diverse tra cui quella sul SNC: i metaboliti del DHT, infatti, possono agire come neurosteroidi (ad es. il 3 α -androstane-20-one) svolgendo ruoli importanti negli effetti centrali del DHT, inclusi gli effetti antidepressivi, ansiolitici, ricompensanti/edonici, anti-stress e procognitivi (Kohtz, 2011).

1.9.2.9. Allopregnanolone (ALLO)

Allopregnanolone è un neurosteroido endogeno naturalmente presente nel corpo, prodotto a partire dall'ormone progesterone. Agisce come modulatore allosterico positivo del recettore GABA-A. Allopregnanolone possiede una vasta gamma di effetti, tra cui, senza un ordine specifico, attività antidepressiva, ansiolitica, di riduzione dello stress, ricompensante, prosociale, antiaggressiva, pro-sessuale, sedativa, di promozione del sonno, effetti cognitivi, impairment della memoria, analgesica, anestetica, anticonvulsivante, neuroprotettiva, e neurogenica. Le fluttuazioni nei livelli di allopregnanolone e degli altri neurosteroidi sembrano giocare un ruolo importante nella fisiopatologia dell'umore, dell'ansia, della sindrome premestruale, dell'epilessia catameniale e di varie altre condizioni neuropsichiatriche. Durante la gravidanza, allopregnanolone e pregnenolone sono coinvolti nella sedazione e nell'anestesia del feto (Backstrom, 2013).

Occorre inoltre sottolineare che, sebbene gli steroidi neuroattivi come allopregnanolone possano essere sintetizzati de novo nel sistema nervoso centrale, nelle donne fertili il contributo principale ai livelli endogeni di allopregnanolone proviene dal corpo luteo dell'ovaio (Backstrom, 2013). Infatti, i livelli di allopregnanolone variano durante le diverse fasi del ciclo mestruale e in particolari momenti della vita riproduttiva della donna: i livelli plasmatici di sono approssimativamente 0,2-0,5 nmol/L nella fase follicolare e fino a 4 nmol/L nella fase luteale (Figura 13). Nel terzo trimestre di gravidanza, questi livelli aumentano fino a più di 100 nmol/L (Backstrom, 2013).

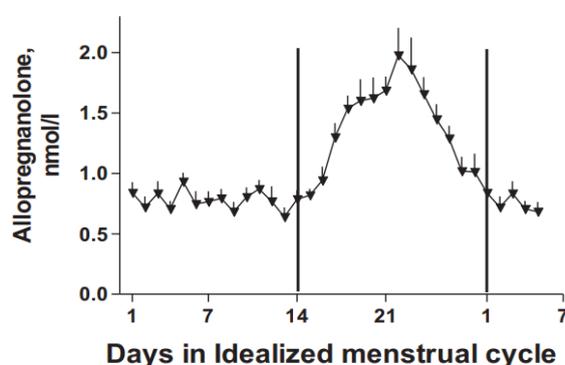


Figura 13: Variazioni di allopregnanolone durante il ciclo mestruale (Backstrom, 2013)

Allopregnanolone riveste dunque anche un ruolo importante nel corretto funzionamento del ciclo mestruale, e le alterazioni di questo neurosteroido potrebbero essere in parte responsabili delle disfunzioni ovariche osservate nelle donne con PCOS (Standeven & Olson, 2021).

1.9.2.10. Isopregnanolone (ISOALLO)

Isopregnanolone, noto anche come isoallopregnanolone, è un neurosteroido endogeno e un epimero naturale a dell'allopregnanolone. Anche isopregnanolone agisce come modulatore allosterico negativo della subunità del recettore GABA-A, antagonizzando alcuni degli effetti mediati dal recettore GABA-A di allopregnanolone (come l'anestesia, la sedazione e la riduzione dei movimenti saccadici degli occhi). In particolare, isopregnanolone non sembra avere alcun effetto sul recettore GABA-A di per sé, ma piuttosto antagonizzare selettivamente l'allopregnanolone (Öfverman, 2009).

Occorre sottolineare anche che i livelli di questi ormoni possono variare in relazione al compartimento analizzato come conseguenza del metabolismo da parte di 5α -reduttasi, che viene espressa in modo differente nel sistema nervoso; pertanto, i livelli di pregnanolone, allopregnanolone e isoallopregnanolone mostrano differenze tra il sistema nervoso, il plasma e il liquido cerebrospinale (CSF), così come tra il sistema nervoso centrale (CNS) e il sistema nervoso periferico (PNS) (Diviccaro, 2022).

1.9.3. Evidenze sperimentali del coinvolgimento dei neurosteroidi nelle patologie psichiatriche

Numerose osservazioni cliniche e sperimentali hanno chiaramente dimostrato che i livelli dei neurosteroidi nel plasma e/o nel liquido cerebrospinale (CSF) e/o a livello cerebrale sono alterati nei disturbi correlati allo stress e nelle malattie psichiatriche come il comportamento ansioso e la depressione, il disturbo disforico premestruale, la depressione post-partum e l'ansia post-partum (Diviccaro, 2022).

In questo contesto, uno studio condotto da Maguire et al. ha evidenziato che i pazienti affetti da depressione maggiore e depressione post-partum mostrano alterazioni nei livelli di neurosteroidi nel plasma rispetto ai soggetti sani (Maguire, 2019). Questo sostiene l'ipotesi che la modulazione dei neurosteroidi sui recettori GABA-A possa

contribuire alla patogenesi del disturbo depressivo maggiore. Similmente, Osborne et al. hanno rilevato che variazioni nei livelli di neurosteroidi durante la gravidanza sono spesso associate all'insorgenza di disturbi psichiatrici come la depressione e l'ansia post-partum (Osborne, 2017). Infine, una metanalisi condotta da Melcangi et al. ha confermato l'esistenza di associazioni tra variazioni nei livelli di neurosteroidi attivi nel plasma e/o nel liquido cerebrospinale e vari disturbi psichiatrici, quali depressione, ansia, disturbo disforico premestruale, depressione post-partum, stress post-traumatico, schizofrenia e aggressività impulsiva (Melcangi, 2015). Questo studio ha inoltre sottolineato che tali alterazioni nei livelli di neurosteroidi potrebbero essere corrette tramite l'uso di diversi antidepressivi (Melcangi, 2015).

Pertanto, comprendere l'interazione complessa tra i sintomi psicologici e la disregolazione ormonale nella PCOS è fondamentale per sviluppare trattamenti efficaci e migliorare il benessere complessivo delle persone colpite. Da ciò si evince la necessità di valutare il complesso rapporto intercorrente tra PCOS, depressione, ansia e neurosteroidi attivi: una comprensione completa di queste connessioni permetterebbe di riconoscere e gestire correttamente la componente psicologica delle pazienti affette da PCOS (Standeven & Olson, 2021).

CAPITOLO 2: OBIETTIVI

La PCOS è un disturbo endocrino-metabolico complesso, che abbraccia diverse sfere della vita del soggetto tra cui quelle psicologiche. Tuttavia, i meccanismi neurochimici sottostanti queste anomalie sono ancora poco chiari. Di conseguenza, questo studio mira a esplorare i livelli di neurosteroidi nelle pazienti con PCOS e a comprendere la loro possibile correlazione con i sintomi psicologici riportati.

Gli obiettivi dello studio comprendono la caratterizzazione biochimica e psicométrica mirata delle pazienti con PCOS, con l'intento di suddividerle in fenotipi specifici. Successivamente, lo studio si propone di analizzare i livelli plasmatici di neurosteroidi durante la fase follicolare precoce nelle donne con PCOS, confrontandoli con i livelli misurati in un gruppo di donne sane, con l'obiettivo di svelare l'eventuale esistenza di un pattern specifico indotto dalla PCOS. Infine, l'analisi della correlazione intercorrente tra i livelli di neurosteroidi e le risposte ai test psicométrici somministrati ai due gruppi mira a identificare eventuali associazioni tra neurosteroidi e specifici sintomi psicologici, contribuendo a una migliore comprensione dei meccanismi neurochimici alla base delle anomalie psicologiche osservate nelle pazienti con PCOS.

CAPITOLO 3: MATERIALI E METODI

La presente tesi è il risultato di un'analisi condotta sui dati ottenuti da uno studio basato sull'attività assistenziale ambulatoriale espletata da endocrinologi e ginecologi presso l' "Ambulatorio dei Disordini Metabolici della Donna" della Divisione di Ginecologia dell'Ospedale Maggiore della Carità di Novara in collaborazione con la Divisione di Medicina dell'Ospedale San Giuseppe (Piancavallo, VB) dell'Istituto Auxologico Italiano. Le pazienti, che dopo screening ormonale e strumentale, ricevono diagnosi di PCOS sono sottoposte a valutazione psicometrica e dietologica ed avviate ad un percorso terapeutico e di follow-up semestrale. Per l'analisi condotta in questo studio, sono state prese in considerazione 27 pazienti affette da PCOS e 26 donne non PCOS, dopo screening analitico dirimente.

3.1. Criteri di inclusione

Sono state incluse nel presente studio pazienti con diagnosi di Sindrome dell'Ovaio Policistico, effettuata secondo quanto previsto dai criteri diagnostici di Rotterdam e appartenenti a uno qualunque dei quattro fenotipi descritti (per la descrizione dei fenotipi, si rimanda alla sezione 1.6.1).

Per l'inclusione nello studio, inoltre, sono stati stabiliti i seguenti criteri:

- Le pazienti non devono aderire a una terapia ormonale con estroprogestinici al momento della diagnosi o devono averla sospesa almeno tre mesi prima della valutazione ormonale;
- Le pazienti non devono essere state sottoposte a terapia steroidea nei sei mesi precedenti la valutazione ormonale;
- Devono essere escluse altre cause extraovariche di iperandrogenismo e/o di alterazioni mestruali;
- Deve essere esclusa l'interferenza di altre terapie con la valutazione del pannello ormonale e, nello specifico, neurosteroidico;
- Le pazienti devono essere in età riproduttiva;
- Le pazienti non devono aver riportato alcun evento acuto o subacuto o patologia organica.

Gli stessi criteri di inclusione sono stati estesi ai soggetti reclutati per la creazione del Gruppo Controllo dello studio, rappresentante la popolazione femminile non affetta da PCOS in termini fenotipici, clinici, biochimici e ovulatori. La partecipazione al gruppo di controllo dello studio è stata volontaria, e le partecipanti sono state reclutate dalla coorte delle studentesse di medicina dell'Università del Piemonte Orientale nell'anno accademico 2023-2024.

3.2. Caratterizzazione della coorte

Si è provveduto a creare una raccolta di dati anagrafici, clinici e biochimici rappresentanti le caratteristiche della coorte delle pazienti selezionate e dei soggetti partecipanti al gruppo controllo. Le caratteristiche osservate comprendono età, peso, altezza, BMI (calcolato come peso in Kg / quadrato dell'altezza misurata in cm), caratteristiche dei flussi mestruali (FM), età al menarca, Ferriman-Gallwey Score (FG), presenza di acne (secondo la Acne Global Assessment Scale, AGA), evidenza ecografica di PCOM e fenotipo clinico di PCOS.

Il reclutamento delle pazienti e delle partecipanti al gruppo di controllo è iniziato in Gennaio 2023 ed è terminato in Maggio 2024. Tutte le donne incluse nel progetto hanno aderito dopo spiegazione delle finalità del progetto e firma del consenso informato. Il progetto è stato approvato dal Comitato Etico dell'Istituto Auxologico Italiano nell'ambito della Ricerca Corrente del Ministero della Salute (Studio Cardio-PCOS).

3.3. Analisi biochimica

E' stata condotta un'analisi biochimica mediante immunoassay su campioni di sangue raccolti in fase follicolare precoce mirata a misurare i livelli sierici di alcuni ormoni indispensabili per la diagnosi e la caratterizzazione della PCOS.

In particolare, sono stati dosati i livelli sierici di FSH (mU/mL), LH (mU/mL), Testosterone totale (ng/mL), Androstenedione (ng/mL), SHBG (nmol/L), E2 Estradiolo (pg/mL), DHEAS (mcg/dL), AMH (ng/mL), 17-OHP (ng/mL), TSH (mU/mL). Utilizzando il valore di Testosterone totale (TT) e di SHBG è stato calcolato l'indice

FAI, utilizzando la seguente formula: $[TT(\text{nmol/l})/SHBG(\text{nmol/l})] \times 100$ (v.n. < 4.5). E' stato inoltre misurato il livello di glicemia (mg/dL) e di insulinemia (microU/mL), per poter calcolare l'indice di resistenza insulinica HOMA-IR, utilizzando la seguente formula: $(\text{glicemia} \times \text{insulinemia}) / 22.5$ (v.n. <2.5).

3.4. Dosaggio dei neurosteroidi

La valutazione quantitativa degli steroidi neuroattivi è stata effettuata mediante cromatografia liquida-spettrometria di massa (LC-MS) presso il Laboratorio del Prof. Roberto Melcangi del Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari dell'Università degli Studi di Milano. Per l'analisi sono stati effettuati prelievi ematici in provette con EDTA, eseguiti al mattino, a digiuno. I campioni ematici sono stati centrifugati a 3000 giri, per 15 minuti a 4 gradi. Le aliquote di plasma così ottenute sono state conservate in freezer a -80 °C.

La LC-MS è una tecnica analitica altamente versatile e potente, che combina la separazione fisica dei componenti di una miscela mediante cromatografia liquida (LC) con l'identificazione e quantificazione degli stessi tramite spettrometria di massa (MS). Nella LC, il campione viene disciolto in una fase mobile liquida e fatto passare attraverso una colonna riempita con una fase stazionaria, dove i diversi componenti del campione si separano in base alle loro interazioni chimico-fisiche con le due fasi. I componenti separati vengono quindi introdotti nella spettrometria di massa, dove vengono ionizzati, separati in base al loro rapporto massa/carica (m/z), rilevati e registrati da un sistema rivelatore.

La spettrometria di massa (MS) combinata con la gas-cromatografia (GC) o con la cromatografia liquida (LC), è estremamente specifica e consente l'analisi del profilo neurosteroidico con alta sensibilità (sotto il livello del picogrammo). Questa tecnica è stata ampiamente utilizzata per la quantificazione dei neurosteroidi nel cervello, nel liquido cerebrospinale (CSF) e nel plasma (Wang, 2006).

In particolare, i campioni di plasma sono stati addizionati con 17 β -Estradiolo (1 ng/campione), Pregnenolone (PREG, 10 ng/campione) e Progesterone (PROG, 4 ng/campione), come standard interni (IS) e omogeneizzati in MeOH/acido acetico (99:1 v/v) utilizzando un tissue lyser (Qiagen, Italia). Dopo un'estrazione notturna a 4 °C, i campioni sono stati centrifugati a 12000 rpm per 5 minuti e il pellet è stato estratto due volte con 1 ml di MeOH/acido acetico (99:1 v/v). I residui organici sono stati risospesi con 3 ml di MeOH/H₂O (10:90 v/v) e passati attraverso cartucce SPE; gli steroidi sono stati eluati in MeOH, concentrati e trasferiti in vial per autoiniettore prima dell'analisi LC-MS/MS. L'analisi quantitativa degli steroidi neuroattivi è stata eseguita sulla base di curve di calibrazione preparate e analizzate quotidianamente. È stata eseguita un'analisi di regressione lineare a minimi quadrati e, inoltre, un campione bianco (non addizionato) e un campione zero (addizionato solo con IS) sono stati analizzati per dimostrare l'assenza di interferenze ai tempi di ritenzione e m/z corrispondenti a tutti gli analiti. Inoltre, la precisione del saggio, l'accuratezza inter-saggio, la precisione e la riproducibilità rientrano nell'intervallo di tolleranza per tutti gli steroidi neuroattivi.

Gli esperimenti di ionizzazione chimica a pressione atmosferica positiva (APCI+) sono stati eseguiti con uno spettrometro di massa a trappola ionica lineare (LTQ, ThermoElectron Co, San Jose, CA, USA) utilizzando azoto come gas di nebulizzazione, gas ausiliario e gas di sweep. Lo strumento era dotato di una pompa per cromatografia liquida (LC) Surveyor Pump Plus e di un autosampler Surveyor Autosampler Plus (ThermoElectron Co, San Jose, CA, USA). Lo spettrometro di massa (MS) è stato utilizzato in modalità tandem (MS/MS) usando elio come gas di collisione (Melcangi, 2016).

3.5. Somministrazione e calcolo dello Scoring dei questionari CBA-H e DEBQ

La valutazione della componente psicometrica è stata condotta in collaborazione con gli specialisti del Servizio di Psicologia Clinica dell'AOU Maggiore della Carità di Novara tramite la somministrazione dei questionari CBA-H e DEBQ afferenti alla Divisione di Ginecologia dove la valutazione ambulatoriale è stata svolta.

3.5.1. Questionario CBA-H

Per la valutazione del benessere psicologico è stato chiesto a tutte le partecipanti allo studio di compilare il questionario CBA-H (Cognitive behavioural assessment - forma Hospital).

Il Questionario CBA-H è un test caratterizzato da una forte valenza pratica e applicativa; esso nasce infatti come strumento rivolto a pazienti ospedalizzati ed è finalizzato allo screening delle problematiche emozionali, comportamentali e psicosociali, antecedenti oppure conseguenti alla patologia organica. La validità e l'utilità clinica del CBA-H sono state sottolineate durante la conferenza internazionale "Health Psychology: from knowledge to interventions" tenutasi a Pisa nel settembre 2009 relativa ai progressi compiuti nell'assessment in psicologia della salute (Hamilton, 2009).

Il questionario CBA-H è composto da 152 items dicotomici di tipo "Vero/Falso", facili da leggere e comprendere, organizzati in quattro schede (A, B, C e D). Il tempo totale stimato per la compilazione del questionario è di 12-20 minuti (De Pasquale, 2017).

Di seguito vengono riportate brevemente la struttura del test e le procedure di analisi per l'interpretazione dei singoli costrutti del CBA-H secondo quanto riportato nel manuale di istruzioni per la somministrazione del CBA-H (Bertolotti, 2020).

1. La *Scheda A* del questionario si focalizza sullo stato emotivo del soggetto al momento della compilazione, esaminando tre principali aree:
 - Ansia di stato (punteggio A1): valuta l'ansia di tratto secondo la scala di Spielberg. I punteggi hanno una gamma da 0 a 9 e indicano livelli crescenti di ansia: punteggi >5 denotano un livello critico di ansia situazionale.
 - Paure sanitarie (punteggio A2): misura il disagio legato alle situazioni di salute come visite mediche ed esami. I punteggi hanno una gamma da 0 a 5: punteggi >3 indicano elevata paura e disagio per le condizioni di salute.
 - Reazioni depressive (punteggio A3): identifica la presenza di cognizioni depressive. I punteggi hanno una gamma da 0 a 5: punteggi >2 richiedono ulteriori valutazioni cliniche per reazioni depressive.

2. La *Scheda B* del questionario riguarda il periodo di tre mesi precedenti alla compilazione, esaminando:
- Tono dell'umore (punteggio B1): valuta l'abbassamento del tono dell'umore e la presenza di comportamenti depressivi. I punteggi hanno una gamma da 0 a 10: punteggi >5 indicano una caduta significativa del tono dell'umore.
 - Benessere psicofisico (punteggio B2): misura il benessere generale. I punteggi hanno una gamma da 0 a 6: punteggi >4 indicano un adeguato stato di benessere psicofisico.
 - Percezione di vita stressante (punteggio B3): valuta la percezione di stress e ansia quotidiana. I punteggi hanno una gamma da 0 a 7: punteggi >5 indicano una percezione molto stressante della vita.
3. La *Scheda C* del questionario esplora le dimensioni stabili della personalità:
- Nevroticismo (punteggio C1): misura l'inclinazione a preoccupazioni, ansia e umore mutevole. I punteggi hanno una gamma da 0 a 9: punteggi >8 indicano una scarsa stabilità emotiva.
 - Introversione/Estroversione (punteggio C2): misurano l'attitudine del soggetto rispetto a queste due caratteristiche. I punteggi hanno una gamma da 0 a 7: punteggi >5 indicano tendenze verso l'introversione o estroversione.
 - Ansia sociale (punteggio C3): misura il disagio sociale. I punteggi hanno una gamma da 0 a 6: punteggi >5 indicano evidente disagio sociale.
 - Fretta ed impazienza (punteggio C4): valuta l'atteggiamento di fretta e impazienza. I punteggi hanno una gamma da 0 a 7: punteggi >5 indicano comportamenti caratterizzati da fretta e impazienza.
 - Ipercoinvolgimento (punteggio C5): misura il coinvolgimento e l'impegno nelle attività quotidiane. I punteggi hanno una gamma da 0 a 7: punteggi >5 indicano un eccessivo coinvolgimento nelle attività.
 - Ostilità (punteggio C6): identifica la tendenza all'ostilità nei rapporti interpersonali. I punteggi hanno una gamma da 0 a 5: punteggi >4 indicano rigidità e ostilità.
 - Incapacità a rilassarsi (punteggio C7): valuta la capacità di rilassamento. I punteggi hanno una gamma da 0 a 3: punteggi >2 indicano difficoltà a rilassarsi.

- Difficoltà interpersonali (punteggio C8): misura le difficoltà nei rapporti interpersonali. I punteggi hanno una gamma: punteggi >4 indicano conflittualità e insoddisfazione.
- Leadership/Competitività (punteggio C9): valuta la propensione alla leadership e alla competitività. I punteggi hanno una gamma da 0 a 4: punteggi >3 indicano una tendenza alla leadership e critica dell'operato altrui.
- Irritabilità (punteggio C10): misura la facilità con cui si manifesta l'irritabilità. I punteggi hanno una gamma da 0 a 3: punteggi >2 indicano una propensione all'irritabilità.

Il punteggio complessivo della Scheda C può indicare un comportamento di Tipo A o B, con punteggi >15 indicativi di un comportamento di tipo A completo e punteggi <8 la propensione per il comportamento di Tipo B. Il modello comportamentale di tipo A è caratterizzato da ostilità, competitività, fretta, impazienza, irrequietezza, aggressività, linguaggio esplosivo e tensione muscolare. Le persone di tipo A lottano contro la pressione del tempo e la responsabilità. Al contrario, le persone di tipo B sono più rilassate, collaborative, costanti nelle attività e soddisfatte della loro vita quotidiana e delle relazioni (Stellman, 2017).

4. La Scheda D del questionario esamina abitudini e comportamenti a rischio per la salute. Occorre sottolineare che la scala D non viene tipicamente utilizzata per la valutazione della componente psicologica in ambito clinico, essendo una scala più che altro descrittiva. Si è quindi deciso di tenere in considerazione soltanto 3 dei 47 items presenti in tale scheda:
 - Abitudine al fumo (punteggio D16): il punteggio 0 indica assenza, il punteggio 1 indica presenza di abitudine al fumo.
 - Disordini alimentari (punteggio D18): i punteggi hanno una gamma da 0 a 5. Punteggi >2 indicano presenza di disturbi alimentari.
 - Fretta nell'alimentarsi (punteggio D19): i punteggi hanno una gamma da 0 a 2. Punteggi >1 indicano abitudine a mangiare in modo affrettato.

Questi parametri offrono un quadro dettagliato dello stato emotivo, delle caratteristiche della personalità e dei comportamenti a rischio del soggetto durante il periodo preso in esame dal questionario.

3.5.2. Questionario DEBQ

Per una valutazione più specifica del tipo di comportamento alimentare più diffuso nel gruppo e caratteristico di ciascun soggetto, è stato chiesto a tutte le partecipanti allo studio di compilare il test DEBQi (Dutch Eating Behaviour Questionnaire - Italian Version) (Dakanalis, 2013).

Il questionario DEBQi è composto da 33 items a cui è associata una scala Likert di risposta a 5 punti che va da mai (1) a molto spesso (5), progettati per misurare in modo accurato e dettagliato il Comportamento Alimentare rispetto ad una specifica dimensione. Le dimensioni indagate includono l'Alimentazione Emotiva (intesa come la tendenza a mangiare in risposta a stati emotivi come ansia, stress o tristezza), l'Alimentazione Indotta Esternamente (comportamento alimentare che è fortemente influenzato da fattori esterni come la vista del cibo o la percezione di odori gradevoli, implicativo di una minore sensibilità alle sensazioni "interne" di fame e sazietà) e l'Alimentazione Restrittiva (comportamento alimentare caratterizzato da restrizione e controllo). La combinazione dei punteggi forniti in queste sezioni fornisce un quadro completo dei diversi aspetti del rapporto di una persona con il cibo (Bozan, 2011). Il questionario è composto secondo quanto segue:

- La scala di valutazione dell'Alimentazione Emotiva è composta da 13 items (D1 - D13): la gamma di punteggio va da 13 a 65 (viene calcolato come somma dei punteggi delle risposte per le domande della sezione).
- La scala di valutazione dell'Alimentazione Indotta Esternamente è composta da 10 items (D14-D23): la gamma di punteggio va da 10 a 50.
- La scala di valutazione dell'Alimentazione Restrittiva è composta da 10 items (D24-D33): la gamma di punteggio va da 10 a 50.

Maggiore è il punteggio in una data categoria, maggiore è la tendenza della persona a manifestare quel particolare comportamento alimentare. Non ci sono punteggi di cut-off

standardizzati universali nel DEBQ; l'interpretazione dei punteggi può variare in base alla popolazione studiata e agli obiettivi della ricerca, in particolare risulta sempre possibile valutare quale sia il pattern di Comportamento Alimentare predominante in una determinata coorte di soggetti, e in che modo questo si differenzi rispetto al comportamento di una coorte di soggetti con caratteristiche differenti (Dakanalis, 2013).

3.6. Analisi statistica

Tutte le analisi sono state eseguite utilizzando SPSS 21.0 (Chicago, IL, USA). Le caratteristiche descrittive sono state presentate per ciascun gruppo e per l'intero campione, come media \pm deviazione standard, mentre le variabili qualitative sono state presentate come valore assoluto e percentuale. Il test t di Student per variabili indipendenti e il test del χ^2 sono stati eseguiti per studiare le differenze tra i due gruppi. L'analisi della correlazione ha seguito gli assunti del coefficiente di Pearson r (dati parametrici). L'analisi multivariata della covarianza (MANCOVA) è stata utilizzata per valutare differenze statistiche su più variabili dipendenti continue da una variabile di raggruppamento indipendente controllando per le covariate. Le correlazioni statisticamente significative sono state espresse come valore r di Pearson e valore p <0.05 . Per una completa valutazione si è assunto che le varianze fossero tutte uguali, data l'esiguità del campione; il senso della significatività non varia. Le variabili indipendenti sono state scelte tra le variabili correlate statisticamente significative. Il modello/migliori modelli sono stati determinati automaticamente dal software.

CAPITOLO 4: RISULTATI

4.1. Valutazione descrittiva della popolazione in studio

La Tabella 1 descrive le principali caratteristiche demografiche, antropometriche, cliniche e biochimiche dei gruppi in esame.

Tabella 1: Analisi descrittiva delle popolazioni in studio. L'analisi statistica comparativa tra gruppi è stata condotta utilizzando il Test T di Student per dati non appaiati e il test del Chi². Il valore p-value è da riferirsi all'analisi di confronto tra le medie dei valori ottenuti per la popolazione di studio (soggetti con PCOS) e la popolazione di controllo (soggetti sani).

Variabili:	CASI (n = 27)	CONTROLLI (n = 26)	p-value
ETÀ (aa)	24.29 ± 5.93	23.23 ± 2.83	N.S.
PESO (Kg)	69.89 ± 15.36	61.01 ± 9.75	0.016
BMI (Kg/cm ²)	26.48 ± 6.41	22.72 ± 3.02	0.011
FM	27 (100%)	1 (3.8%)	0.001
PCOM	22 (81.5%)	0 (0%)	0.001
FG	15 (55.5%)	2 (7.7%)	0.001
ACNE	10 (37.0%)	3 (11.5%)	0.001
CORTISOLO (mg/dL)	15.62 ± 6.64	16.36 ± 6.25	N.S.
FSH (mU/mL)	5.79 ± 1.49	7.12 ± 1.61	0.003
LH (mU/mL)	7.55 ± 4.90	10.79 ± 7.98	N.S.
TSH (mU/mL)	2.07 ± 0.8	2.03 ± 1.43	N.S.
TESTOSTERONE (ng/dL)	43.35 ± 24.16	34.15 ± 12.56	0.09
SHBG (nmol/L)	52.67 ± 29.27	62.83 ± 22.78	N.S.
FAI	4.68 ± 6.61	2.06 ± 1.60	0.05
ESTRADIOLO (pg/mL)	37.03 ± 22.21	39.76 ± 18.71	N.S.
DHEAS (mcg/dL)	226.27 ± 124.63	194.62 ± 89.56	N.S.
ANDROSTENEDIONE (ng/mL)	3.28 ± 1.34	3.69 ± 1.22	N.S.

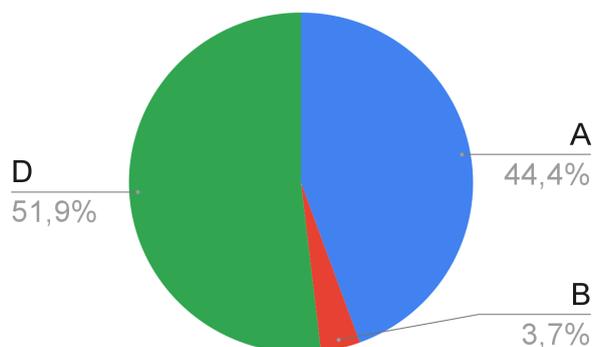
INSULINA (microU/mL)	15.45 ± 12.65	7.712 ± 2.99	0.004
GLICEMIA (mg/dL)	87.44 ± 9.60	86.92 ± 11.39	N.S.
HOMA INDEX	3.75 ± 3.46	1.71 ± 0.89	0.005
17OHP (ng/mL)	1.07 ± 0.84	0.76 ± 0.35	N.S.
AMH (ng/mL)	6.31 ± 2.66	3.83 ± 1.62	0.0001

Abbreviazioni: TOT = totale; DS = Deviazione Standard; aa= anni; BMI= body mass index; FM = Flussi Mestruali; PCOM = Ovaio con Morfologia Policistica; FG = Score di Ferriman e Gallwey; FAI = Free Androgen Index; N.S. = Differenza non statisticamente significativa; N.V. = Non valutabile.

La popolazione oggetto di studio si compone di 27 donne con diagnosi di PCOS, di età media di $24,29 \pm 5,93$ anni. Il valore medio di BMI osservato per la popolazione PCOS è di $26,48 \pm 6,41$ kg/m², con 15 pazienti (55,5%) in sovrappeso (BMI > 25 kg/m²) e 8 pazienti (29,6%) con obesità (BMI > 30). Il calcolo dell'indice FAI per il gruppo di pazienti con PCOS ha mostrato un valore medio di $4,68 \pm 6,61$. Inoltre, 5 pazienti (18,5%) hanno registrato un valore superiore a 4.5. Per quanto riguarda il profilo metabolico dei soggetti, il calcolo dell'HOMA Index ha dato come risultato un valore medio di $3,75 \pm 3,46$. In particolare, 14 pazienti (51,8%) hanno registrato un valore superiore a 2,5

Dall'analisi descrittiva delle caratteristiche delle pazienti appartenenti al gruppo PCOS, è possibile dedurre che 12 soggetti (44,4%) appartengono al fenotipo A, 1 soggetto (3,7%) appartiene al fenotipo B, 0 soggetti (0%) appartengono al fenotipo C, 14 soggetti (51,8%) appartengono al fenotipo D. Le percentuali di distribuzione delle pazienti con PCOS nei tre fenotipi osservati sono illustrate nella Figura 14.

Figura 14: Distribuzione dei fenotipi tra le pazienti con PCOS.



Il gruppo di controllo, invece, si compone di 26 donne sane, con un'età media di $23,23 \pm 2,83$ anni. Il BMI medio osservato per la popolazione di controllo è di $26,48 \pm 6,41$, con 6 soggetti (23%) in sovrappeso ($BMI > 25$) e 1 soggetto (3,8%) con obesità ($BMI > 30$). Per quanto concerne la caratterizzazione clinica dei soggetti del gruppo di controllo, si osserva che 1 soggetto (3,8%) presenta irregolarità mestruali (oligomenorrea o amenorrea), 0 soggetti (0%) presentano evidenza di PCOM, 2 soggetti (7,7%) presentano un Ferriman–Gallwey Score superiore a 8 (compatibile con irsutismo per la popolazione caucasica) e 1 soggetto (3,8%) presenta acne. Il calcolo dell'indice FAI per la popolazione del gruppo controllo ha mostrato un valore medio di $2,06 \pm 1,61$. Inoltre, 2 pazienti (76,9%) hanno registrato un valore superiore a 4,5. Per quanto riguarda il profilo metabolico dei soggetti, il calcolo dell'HOMA Index ha dato come risultato un valore medio di $1,71 \pm 0,89$. In particolare, 3 pazienti (11,5%) hanno registrato un valore superiore a 2,5.

L'analisi comparativa delle caratteristiche cliniche e biochimiche tra i due gruppi rivela differenze significative nelle seguenti variabili: il peso è maggiore nel gruppo PCOS ($p = 0,016$), così come il BMI ($p = 0,011$). I livelli di FSH sono significativamente inferiori nel gruppo PCOS rispetto al gruppo di controllo ($p = 0,003$), mentre l'indice FAI è significativamente più alto nel gruppo PCOS ($p = 0,05$), confermando la presenza di iperandrogenismo biochimico, caratteristico della sindrome. I livelli di insulina a digiuno sono maggiori nel gruppo PCOS ($p = 0,004$) e l'indice HOMA è più elevato ($p = 0,005$), indicando una maggiore resistenza insulinica. Infine, i livelli di AMH sono superiori nel gruppo PCOS rispetto al gruppo di controllo ($p = 0,0001$).

4.2. Analisi spettrofotometrica dei livelli di neurosteroidi

La Tabella 2 riporta i dosaggi degli analiti eseguiti in spettrometria di massa a cromatografia liquida. Questa metodica, nota per la sua precisione, conferisce ai dati ottenuti un'elevata attendibilità e rilevanza.

Tutti i campioni hanno fornito valori di steroidi al di sopra dei limiti di rilevamento. In particolare, i livelli plasmatici medi di alcuni di questi steroidi differiscono significativamente tra il gruppo PCOS e il gruppo di controllo. Il testosterone è aumentato nel gruppo PCOS ($p = 0,041$), mentre il 3α -Diolo è diminuito ($p = 0,006$). Il 17β -Estradiolo è significativamente più alto nel gruppo PCOS ($p = 0,004$), mentre il DHP è inferiore rispetto al gruppo di controllo ($p = 0,002$).

Non sono state riscontrate differenze significative nei livelli plasmatici medi di progesterone, DHEA, DHT, pregnenolone, isopregnanolone e allopregnanolone tra i due gruppi.

Tuttavia, esaminando le differenze tra le medie dei due gruppi dopo aver rimosso i valori di due outliers (uno per ciascun gruppo), emergono differenze significative anche per l'isoallopregnanolone ($p = 0,03$).

Tabella 2: Analisi del valore medio dei livelli plasmatici dei neurosteroidi. Il valore p-value è da riferirsi all'analisi di confronto tra le medie dei valori ottenuti per la popolazione di studio (soggetti con PCOS) e la popolazione di controllo (soggetti sani).

Variabili:	CASI (n = 27)	CONTROLLI (n = 26)	p-value
PROGESTERONE (pg/ μ L)	0.11 \pm 0.08	0.17 \pm 0.12	N.S.
DHEA (pg/ μ L)	11.11 \pm 6.63	12.26 \pm 6.76	N.S.
TESTOSTERONE (pg/ μ L)	0.47 \pm 0.32	0.32 \pm 0.14	0.041
DHT (pg/ μ L)	0.09 \pm 0.04	0.96 \pm 0.09	N.S.
3α -DIOLO (pg/ μ L)	0.06 \pm 0.04	0.12 \pm 0.10	0.006
ESTRADIOLO (pg/ μ L)	0.89 \pm 1.29	0.10 \pm 0.26	0.004
PREGNENOLONE (pg/ μ L)	2.44 \pm 2.79	2.28 \pm 0.73	N.S.
DHP (pg/ μ L)	0.29 \pm 0.12	0.56 \pm 0.41	0.002
ISOALLOPREGNENOLONE (pg/ μ L)	0.86 \pm 1.63	0.55 \pm 1.911	N.S.
ALLOPREGNENOLONE (pg/ μ L)	0.18 \pm 0.14	0.16 \pm 0.13	N.S.

Abbreviazioni: DS = Deviazione standard; DHEA = deidroepiandrosterone; DHT = diidrotestosterone; DHP = diidrossiprogesterone; N.S. = non significativo.

4.3. Scoring CBA-H

La compilazione del Questionario CBA-H, utilizzato per valutare una serie di sintomi psicologici e comportamentali in contesti ospedalieri, ha permesso di evidenziare alcune differenze tra i due gruppi dal punto di vista della componente psicologica.

La Tabella 3 mostra i punteggi medi ottenuti al test CBA-H dai due gruppi e la prevalenza di soggetti per gruppo che ha superato il valore di cut-off nella specifica sezione del test.

Tabella 3: Analisi dei punteggi medi e della prevalenza dei superamenti dei valori di cut-off ottenuti al test CBA-H. Il p-value si riferisce al confronto tra le medie dei valori ottenuti per la popolazione di studio (soggetti con PCOS) e quella di controllo; *, $p < 0.05$ fra gruppi calcolato con il test del χ^2 .

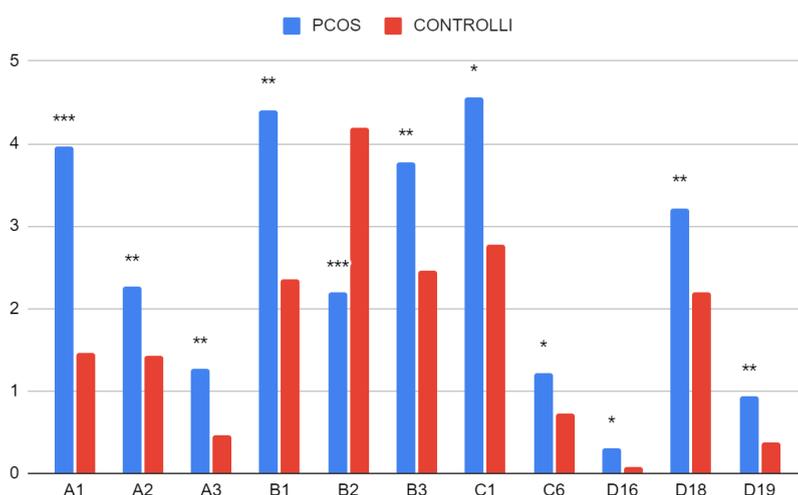
Variabili:	CASI (n = 27)	Prevalenza CASI	CONTROLLI (n = 26)	Prevalenza CASI	p-value
A1: ANSIA DI STATO	3.96 ± 3.06	14 (51.8%)*	1.46 ± 2.21	3 (11.5%)	0.001
A2: PAURE SANITARIE	2.26 ± 1.48	11 (40.7%)*	1.42 ± 1.10	4 (15.4%)	0.024
A3: REAZIONI DEPRESSIVE	1.26 ± 1.50	9 (33.3%)*	0.46 ± 0.94	4 (15.4%)	0.026
B1: TONO DELL'UMORE	4.41 ± 2.57	12 (44.4%)*	2.35 ± 2.03	5 (19.2%)	0.002
B2: BENESSERE PSICOFISICO	2.19 ± 1.94	18 (66.6%)*	4.19 ± 1.69	8 (30,7%)	0.001
B3: PERCEZIONE DI VITA STRESSANTE	3.78 ± 1.55	3 (11.1%)*	2.46 ± 1.81	1 (3.8%)	0.006
C1: NEVROTICISMO	4.56 ± 2.99	14 (51.8%)	2.77 ± 2.88	8 (30,7%)	0.032
C2: INTROVERSIONE/ ESTROVERSIONE	5.04 ± 2.10	6 (22.2%) 14 (51.8%)	5.62 ± 1.69	4 (15.4%) 17 (65.4%)	N.S.
C3: ANSIA SOCIALE	4.22 ± 1.88	14 (51.8%)	4.00 ± 1.62	12 (46.1%)	N.S.
C4: FRETTA E IMPAZIENZA	4.33 ± 1.64	12 (44.4%)	4.00 ± 1.81	13 (50.0%)	N.S.
C5: IPER-COINVOLGIMENTO	4.00 ± 1.64	8 (29.6%)	4.23 ± 1.07	12 (46.1%)	N.S.
C6: OSTILITÀ	1.22 ± 1.01	0 (0%)	0.73 ± 0.82	0 (0%)	0.059
C7: INCAPACITÀ A RILASSARSI	2.11 ± 1.08	6 (22.2%)	2.46 ± 0.70	3 (11.5%)	N.S.
C8: DIFFICOLTÀ INTERPERSONALI	3.30 ± 1.72	14 (51.8%)	2.46 ± 1.52	8 (30.7%)	N.S.
C9: LEADERSHIP / COMPETITIVITÀ	2.11 ± 0.89	1 (3.7%)	2.12 ± 0.76	1 (3.8%)	N.S.
C10: IRRITABILITÀ	0.70 ± 0.91	14 (51.8%)	0.65 ± 0.74	13 (50.0%)	N.S.
D16: ABITUDINE AL FUMO	0.30 ± 0.46	8 (29.6%)*	0.08 ± 0.27	2 (7.7%)	0.042
D18: DISORDINI ALIMENTARI	3.22 ± 1.42	16 (59.2%)*	2.19 ± 1.38	8 (30.7%)	0.01
D19: FRETTA NELL'ALIMENTARSI	0.93 ± 0.61	4 (14.8%)*	0.38 ± 0.57	1 (3.8%)	0.002

Abbreviazioni: TOT = totale; DS = Deviazione Standard; N.S. = Differenza non statisticamente significativa.

Nel gruppo PCOS, i punteggi sono superiori per l'ansia di stato ($p = 0,001$), le paure sanitarie ($p = 0,024$), le reazioni depressive ($p = 0,026$), il tono dell'umore ($p = 0,002$), la percezione di vita stressante ($p = 0,006$), il nevroticismo ($p = 0,032$), l'ostilità ($p = 0,059$), l'abitudine al fumo ($p = 0,042$), la presenza di disordini alimentari ($p = 0,01$), e la fretta nell'alimentarsi ($p = 0,002$). Il benessere psicofisico, invece, risulta inferiore nel gruppo PCOS rispetto al gruppo di controllo ($p = 0,0001$).

Si evidenziano differenze significative nei punteggi medi tra il gruppo PCOS e il gruppo di controllo in diverse sezioni del questionario CBA-H (Figura 15).

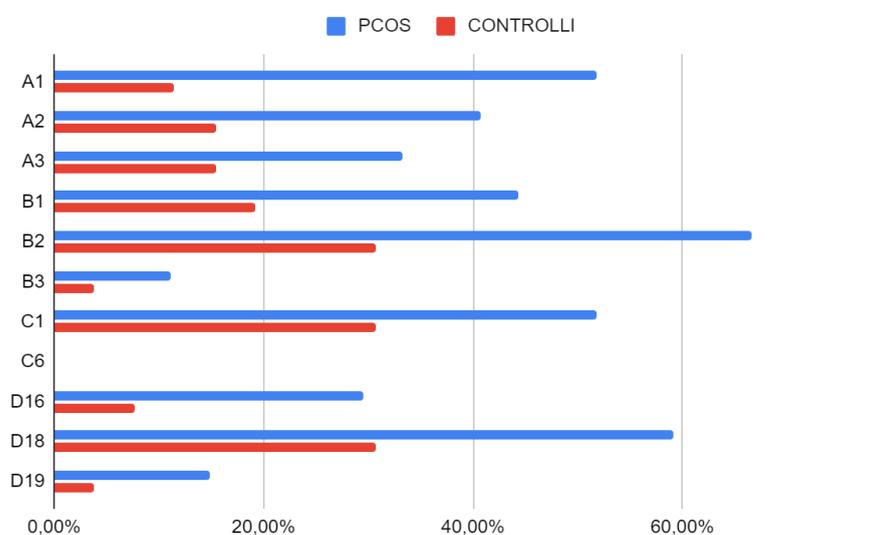
Figura 15: Confronto caso-controllo dei punteggi medi ottenuti al CBA-H. Nel presente grafico vengono riportati solo gli items per cui la differenza tra medie calcolata con il test *T* di Student è risultata statisticamente significativa ($p < 0.05$; ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).



Inoltre, si rileva nel gruppo PCOS una prevalenza significativamente maggiore di soggetti che hanno registrato punteggi pari o superiori ai valori di cut-off, indicativi della necessità di ulteriori approfondimenti clinici dal punto di vista psicologico, in diverse sezioni del test CBA-H. Tale dato viene riportato nella Tabella 3.

La Figura 16 illustra graficamente le percentuali di soggetti che hanno ottenuto punteggi superiori ai cut-off nelle sezioni del test CBA-H nei due gruppi.

Figura 16: Soggetti (%) con punteggi oltre il cut-off al CBA-H (items con differenza al test T di Student significativa con $p < 0.05$).



4.4. Scoring DEBQi

La Tabella 4 descrive i punteggi medi ottenuti al test DEBQi dai due gruppi e la prevalenza di soggetti che hanno ottenuto punteggi più elevati nella sezione corrispondente a un particolare tipo di alimentazione (restrittiva, emotiva o esterna), indicando che il medesimo è il comportamento alimentare principale. Viene usato per valutare i comportamenti alimentari, distinguendo tra tre tipi di abitudini: Alimentazione Restrittiva, Alimentazione Emotiva e Alimentazione Esterna.

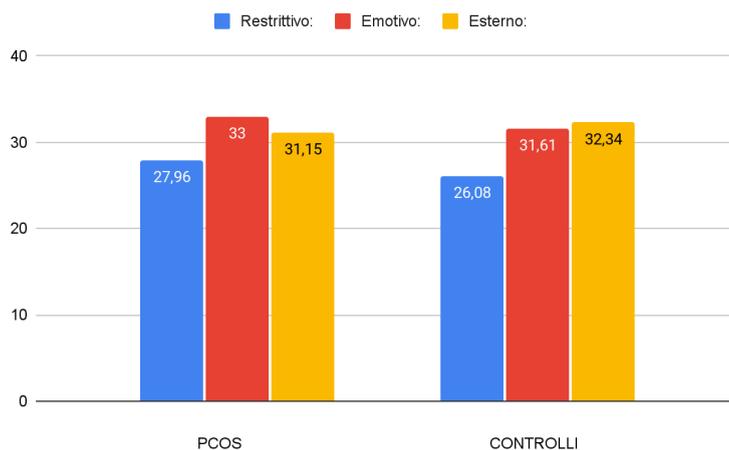
Tabella 4: Analisi dei punteggi medi e della prevalenza dei comportamenti alimentari ottenuti al test DEBQi. Il p-value è da riferirsi all'analisi di confronto tra le medie dei valori ottenuti per la popolazione di studio (soggetti con PCOS) e per la popolazione controllo.

Variabili:	CASI (n = 27)	Prevalenza nel gruppo	CONTROLLI (n = 26)	Prevalenza nel gruppo	p-value
Restrittivo	27,96 ± 8.78	4 (14.8%)	26.08 ± 9.11	3 (11.5%)	N.S.
Emotivo	33 ± 8.40	14 (51.8%)	31.62 ± 10.08	10 (38.4%)	N.S.
Esterno	31.15 ± 5.38	9 (33.3%)	32.35 ± 5.93	13 (50.0%)	N.S.

Abbreviazioni: TOT = totale; DS = Deviazione Standard; N.S. = Differenza non statisticamente significativa.

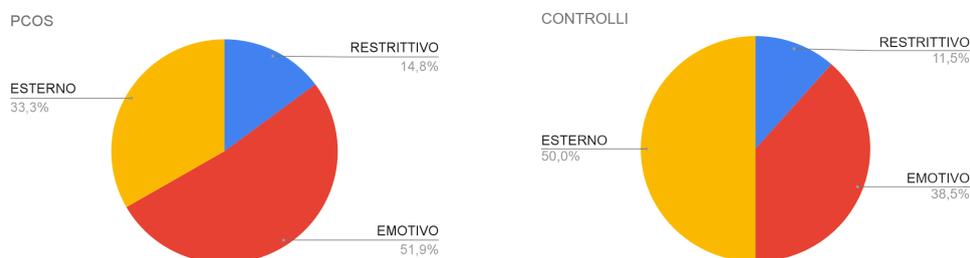
Dalla valutazione del DEBQ_i, emerge che l'Alimentazione Emotiva è il comportamento alimentare più diffuso nel gruppo con PCOS, mentre l'Alimentazione Indotta Esternamente prevale nel gruppo di controllo. Nonostante ciò, non si riscontrano differenze significative nei punteggi medi tra i due gruppi (Figura 17).

Figura 17: Confronto caso-controllo dei punteggi medi ottenuti al DEBQ nelle due popolazioni.



Individualmente, il 51,8% dei soggetti del gruppo PCOS presenta un punteggio più alto per l'Alimentazione Emotiva rispetto all'Alimentazione Restrittiva o Indotta Esternamente. Nel gruppo di controllo, invece, il 50% dei soggetti ha un punteggio più elevato per l'Alimentazione Indotta Esternamente rispetto all'Alimentazione Emotiva o Restrittiva (Figura 18).

Figura 18: Prevalenza dei tipi di comportamento alimentare più diffusi nei due gruppi (grafico di sinistra: PCOS; grafico di destra: controlli).



4.5. Valutazione descrittiva delle correlazioni osservate

Nella Tabella 5 sono esaminate le correlazioni riscontrate tra i livelli ormonali misurati in immunoassay e i punteggi ottenuti nei questionari CBA-H e DEBQ, compilati dalle partecipanti allo studio. Le correlazioni sono valutate controllando l'effetto delle variabili di appartenenza al gruppo (PCOS/controlli, categorica), BMI (continua) e età (continua).

Tabella 5: Analisi delle correlazioni significative tra valori ormonali (misurati in immunoassay) e punteggi ai test. Vengono riportate solo le correlazioni che hanno mostrato un'associazione statisticamente significativa.

Variabili:	Variabili di correlazione:	r:	p:
TESTOSTERONE (ng/dL)	D16: ABITUDINE AL FUMO	0,458	0.005
TESTOSTERONE (ng/dL)	Alimentazione di tipo Esterno	-0.391	0.019
SHBG (nmol/L)	Alimentazione di tipo Esterno	0.351	0.036
FAI	C7: CAPACITA' A RILASSARSI	-0.404	0.015
FAI	C10: IRRITABILITA'	0.346	0.039
FAI	Alimentazione di tipo Esterno	-0.367	0.028
E2 ESTRADIOLO (pg/mL)	C1: NEVROTICISMO	0.352	0.035
E2 ESTRADIOLO (pg/mL)	C3: ANSIA SOCIALE	0.352	0.035
E2 ESTRADIOLO (pg/mL)	C5: IPERCOINVOLGIMENTO	-0.377	0.023
DHEAS (mcg/dL)	C3: ANSIA SOCIALE	0.383	0.021
DHEAS (mcg/dL)	Alimentazione di tipo Esterno	-0.51	0.001
HOMA INDEX	C5: IPERCOINVOLGIMENTO	0.351	0.037
17OHP (ng/mL)	C5: IPERCOINVOLGIMENTO	-0.366	0.028
17OHP (ng/mL)	D16: ABITUDINE AL FUMO	0.386	0.021
AMH (ng/mL)	C4: FRETTE ED IMPAZIENZA	0.346	0.039

In particolare, sono state osservate le seguenti correlazioni: i livelli sierici di testosterone e di 17-OHP mostrano correlazioni positive con i punteggi ottenuti nella sezione D16 del test CBA-H, che valuta l'abitudine al fumo. Al contrario, i livelli di testosterone correlano negativamente con i punteggi ottenuti nella sezione dell'alimentazione di tipo Esterno del DEBQ, mentre i livelli di SHBG mostrano una correlazione positiva con questa stessa sezione. Inoltre, è emersa una correlazione negativa tra i livelli sierici di 17-OHP e i punteggi ottenuti nella sezione C5 (Ipercoinvolgimento) del test CBA-H. L'indice FAI mostra una correlazione negativa

con i punteggi nelle sezioni C7 (Incapacità a rilassarsi) del test CBA-H e nell'alimentazione di tipo Esterno del DEBQ, ma correla positivamente con i punteggi nella sezione C10 (Irritabilità) del test CBA-H. I livelli di Estradiolo (E2) correlano positivamente con i punteggi nelle sezioni C1 (Nevroticismo) e C3 (Ansia sociale) del test CBA-H, ma negativamente con i punteggi nella sezione C5 (Ipercoinvolgimento). Il DHEAS mostra una correlazione positiva con i punteggi nella sezione C3 (Ansia sociale) del test CBA-H e una correlazione negativa nella sezione dell'alimentazione di tipo Esterno del DEBQ. L'HOMA Index correla positivamente solo con i punteggi nella sezione C5 (Ipercoinvolgimento) del test CBA-H. Infine, sono emerse correlazioni tra i livelli sierici di AMH e i punteggi nella sezione C4 (Fretta ed Impazienza) del test CBA-H.

Di seguito vengono esaminate le correlazioni riscontrate tra i livelli dei neurosteroidi misurati in spettrometria di massa e i punteggi ottenuti nei questionari CBA-H e DEBQ, compilati dalle partecipanti allo studio. L'analisi statistica è stata condotta dapprima come analisi bivariata e di seguito controllando l'effetto delle variabili di appartenenza al gruppo (PCOS/controlli, categorica), BMI (continua) e età (continua), per evitare bias di interpretazione. Vengono riportate solo le correlazioni che hanno mostrato un'associazione statisticamente significativa.

Tabella 6: Analisi delle correlazioni significative tra neurosteroidi e punteggi ai test psicometrici (analisi bivariata).

Variabili:	Variabili di correlazione:	r:	p:
PROGESTERONE (pg/ μ L)	B1: TONO DELL'UMORE	-0.28	0.042
TESTOSTERONE (pg/ μ L)	D16: ABITUDINE AL FUMO	0.293	0.035
3 α -DIOLO (pg/ μ L)	Alimentazione di tipo Restrittivo	0.29	0.035
17 β -ESTRADIOLO (pg/ μ L)	A1: ANSIA DI STATO	0.381	0.010
17 β -ESTRADIOLO (pg/ μ L)	B1: TONO DELL'UMORE	0.403	0.006
17 β -ESTRADIOLO (pg/ μ L)	C6: OSTILITA'	0.346	0.020
17 β -ESTRADIOLO (pg/ μ L)	D18: DISORDINI ALIMENTARI	0.293	0.051
DHP (pg/ μ L)	A2: PAURE SANITARIE	0.289	0.040
DHP (pg/ μ L)	B1: TONO DELL'UMORE	0.352	0.011
DHP (pg/ μ L)	B2: BENESSERE PSICOFISICO	0.417	0.002
DHP (pg/ μ L)	C4: FRETTA ED IMPAZIENZA	0.435	0.001

DHP (pg/ μ L)	C6: OSTILITA'	-0.278	0.048
ISOALLOPREGNANOLONE (pg/ μ L)	C2: INTROVERSIONE/ESTROVERSIONE	0.292	0.034

L'analisi bivariata (Tabella 6) ha rivelato un numero cospicuo di associazioni significative tra i neurosteroidi e i punteggi dei test psicometrici, suggerendo un possibile effetto della PCOS. Per evitare bias di interpretazione, abbiamo successivamente controllato queste associazioni per le covariate, ottenendo i risultati riportati in Tabella 7.

Tabella 7: Analisi delle correlazioni significative tra neurosteroidi e punteggi ai test (controllata per le covariate).

Variabili:	Variabili di correlazione:	r:	p:
DHEA (pg/ μ L)	D16: ABITUDINE AL FUMO	0.472	0.004
TESTOSTERONE (pg/ μ L)	C6: OSTILITA'	-0.34	0.046
DHT (pg/ μ L)	C4: FRETТА ED IMPAZIENZA	-0.36	0.034
PREGNANOLONE (pg/ μ L)	A3: REAZIONI DEPRESSIVE	0.427	0.01
PREGNANOLONE (pg/ μ L)	B3: PERCEZIONE DI VITA STRESSANTE	-0.38	0.024
DHP (pg/ μ L)	C4: FRETТА ED IMPAZIENZA	-0.436	0.009
ISOALLO (pg/ μ L)	C2: INTROVERSIONE/ESTROVERSIONE	-0.359	0.034
ALLO (pg/ μ L)	C8: DIFFICOLTA' INTERPERSONALI	-0.382	0.023

In questo contesto, si evidenziano le seguenti correlazioni significative: i livelli plasmatici di DHEA mostrano una correlazione positiva con i punteggi ottenuti nella sezione D16 (Abitudine al fumo) del test CBA-H. Inoltre, si riscontra una correlazione negativa tra i livelli plasmatici di testosterone e i punteggi nella sezione C6 (Ostilità), mentre il DHT mostra una correlazione negativa con i punteggi nella sezione C4 (Fretta ed impazienza) del test CBA-H. In Figura 19, si osserva il grafico di correlazione positiva tra i livelli di pregnanolone e i punteggi nella sezione A3 (Reazioni depressive), ma una correlazione negativa tra pregnanolone e i punteggi nella sezione B3 (Percezione di vita stressante). I livelli di DHP mostrano una correlazione negativa con i punteggi ottenuti nella sezione C4 (Fretta ed Impazienza), mentre sia isoallopregnanolone che allopregnanolone correlano negativamente, rispettivamente,

con i punteggi nella sezione C2 (Introversione/Estroversione) e C8 (Difficoltà Interpersonali) del test CBA-H. La correlazione negativa tra i livelli di allopregnanolone e i punteggi ottenuti alla sezione C8 del CBA-H sono riportati in Figura 20. Non sono presenti correlazioni significative tra i livelli plasmatici dei neurosteroidi e i punteggi ottenuti al test DEBQi.

Figura 19: Grafico di correlazione tra i livelli di pregnanolone (pg/ μ L) e i punteggi ottenuti nella sezione A3 del test CBA-H (Reazioni Depressive).

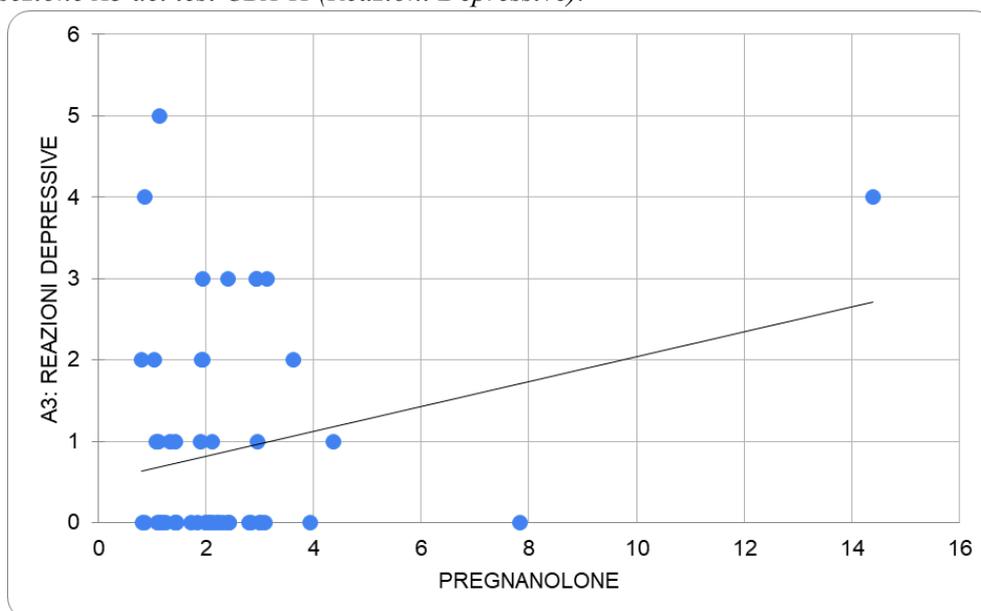
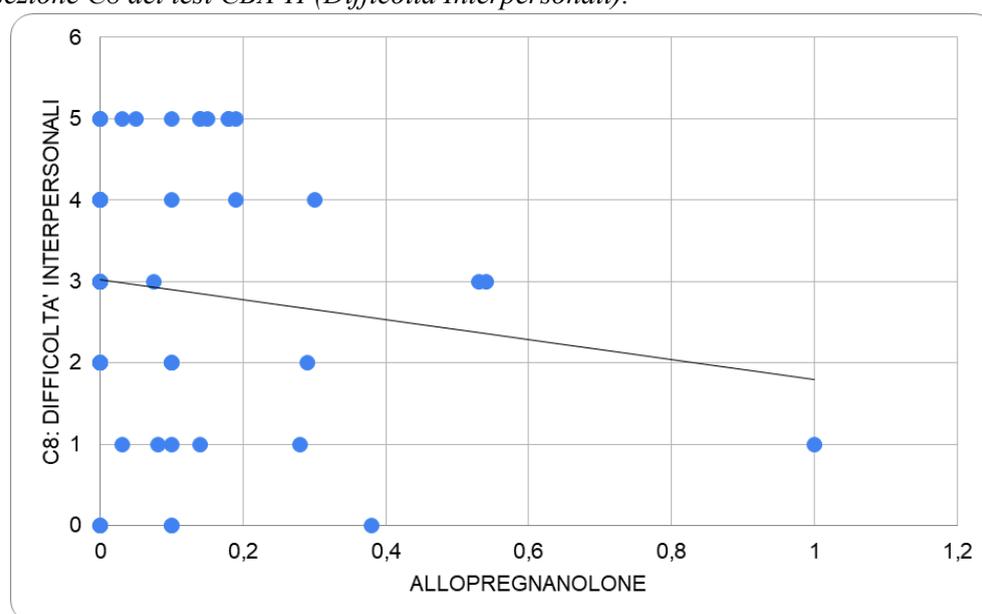


Figura 20: Grafico di correlazione tra i livelli di allopregnanolone (pg/ μ L) e i punteggi ottenuti nella sezione C8 del test CBA-H (Difficoltà Interpersonali).



Nella Tabella 8 sono riportate le correlazioni tra i livelli di testosterone e gli altri neurosteroidi misurati tramite spettrometria di massa. L'analisi è stata condotta controllando l'effetto delle variabili di appartenenza al gruppo, BMI e età.

Tabella 8: Analisi delle correlazioni tra i livelli di testosterone e gli altri neurosteroidi (Test di Pearson).

Variabili di correlazione:	r:	p:
PROGESTERONE (pg/ μ L)	0.015	0.930
DHEA (pg/ μ L)	0.406	0.015
DHT (pg/ μ L)	0.082	0.638
3 α -DIOLO (pg/ μ L)	0.108	0.535
17 β -ESTRADIOLO (pg/ μ L)	0.052	0.766
PREGNANOLONE (pg/ μ L)	0.474	0.004
DHP (pg/ μ L)	-0.139	0.426
ISOALLOPREGNANOLONE (pg/ μ L)	-0.143	0.413
ALLOPREGNANOLONE (pg/ μ L)	-0.152	0.382

Dalla valutazione di questa analisi, emergono correlazioni significative tra i livelli di testosterone e DHEA ($p = 0,015$) e tra i livelli di testosterone e pregnanolone ($p = 0,004$). Non sono state riscontrate correlazioni significative tra i livelli di testosterone e progesterone, DHT, 3 α -Diolo, 17 β -estradiolo, DHP, isoallopregnanolone e allopregnanolone, suggerendo che le variazioni di questi neurosteroidi nella PCOS non dipendano dall'ipersecrezione di testosterone tipica della sindrome.

CAPITOLO 5: DISCUSSIONE

La PCOS è un disturbo endocrino-metabolico complesso che influisce su molteplici aspetti della vita delle donne affette, inclusi quelli psicologici. Gli aspetti psicologici sono una componente cruciale e frequente della PCOS, di cui tutti i professionisti della salute dovrebbero essere consapevoli (Teede, 2023).

Le Linee Guida ESHRE 2023 indicano che le donne con PCOS spesso affrontano disturbi psichiatrici, i quali possono significativamente compromettere la loro qualità della vita. Tuttavia, tali condizioni sono frequentemente sottovalutate e il supporto emotivo è spesso insufficiente, contribuendo a un diffuso disagio riguardo all'esperienza diagnostica nelle donne con PCOS. Nonostante siano disponibili strumenti di screening, il loro riconoscimento e utilizzo nella pratica clinica rimangono limitati (Teede, 2023). Attualmente, non è stata confermata una chiara correlazione tra le alterazioni ormonali presenti nella PCOS e la prevalenza dei disturbi psichiatrici menzionati (Standeven & Olson, 2021). Lo scopo di questa tesi è investigare le alterazioni ormonali, in particolare nei livelli dei neurosteroidi, riscontrate nella PCOS, e identificare eventuali alterazioni psicometriche, al fine di esplorare una possibile correlazione tra questi due aspetti.

Dai risultati delle analisi condotte emerge che le concentrazioni sieriche di FSH, insulina e AMH (misurate tramite immunoassay durante la fase follicolare precoce), così come le concentrazioni plasmatiche di testosterone, 3α -Diolo, 17β -Estradiolo e DHP (misurate tramite spettrometria di massa, anch'esse durante la fase follicolare precoce), sono significativamente alterate nelle donne con PCOS. Inoltre, risultano significativamente alterati anche l'HOMA Index e l'indice FAI.

Per quanto riguarda l'isoallopregnanolone, emergono differenze significative tra i due gruppi quando si esegue un'analisi statistica che esclude i valori outliers. Poiché l'isoallopregnanolone è l'isomero inattivo dell'allopregnanolone e agisce come modulatore negativo degli effetti dell'allopregnanolone sul recettore GABA-A (Bengtsson, 2015), è ragionevole ipotizzare che anche l'azione dell'allopregnanolone possa variare nei due gruppi.

Molti studi evidenziano alterazioni dei livelli di neurosteroidi nelle donne con PCOS (Standeven & Olson, 2021). Ad esempio, Keefe et al. nel 2014 hanno condotto uno studio utilizzando spettrometria di massa per misurare tredici diversi neurosteroidi nelle donne con PCOS, evidenziando significative alterazioni nei livelli di testosterone, androstenedione, progesterone e 17OH progesterone (Keefe, 2014). Similmente, Goodarzi et al. hanno riportato significative variazioni nei livelli di DHEA e DHEAS nella PCOS (Goodarzi, M.), mentre Hedstrom et al. hanno osservato livelli elevati di allopregnanolone nel siero delle donne con PCOS (Hedstrom, 2015).

I risultati dei punteggi ottenuti al test CBA-H indicano che le donne con PCOS hanno registrato punteggi significativamente superiori rispetto al gruppo di controllo nelle sezioni che trattano l'ansia di stato, le paure sanitarie, le reazioni depressive, il tono dell'umore, il benessere psicofisico, la percezione di vita stressante, il nevroticismo, l'ostilità e l'abitudine al fumo. Questi dati supportano l'idea che la popolazione con PCOS sia ad elevato rischio di sviluppare disturbi dell'umore.

Il test CBA-H è uno strumento di screening psicologico che consente di identificare i casi che richiedono un'ulteriore valutazione clinica. Dall'analisi delle risposte fornite da ciascun partecipante al test CBA-H, è emerso che una percentuale significativa di soggetti appartenenti al gruppo PCOS ha registrato punteggi superiori ai cut-off specifici per ciascuna sezione del test. Questo risultato sottolinea la necessità di procedere con un approfondimento clinico per questi individui, al fine di valutare più dettagliatamente il loro stato psicologico e individuare eventuali problematiche che richiedono interventi mirati.

I risultati riportati sono in linea con una metanalisi condotta da Brutocao et al. basata su 57 studi e un totale di 172.040 pazienti, la quale ha evidenziato che le donne con PCOS sono più inclini a ricevere una diagnosi clinica di depressione e ansia rispetto alle donne che non soffrono di questa sindrome (Brutocao, 2018). Analogamente, uno studio di Urban et al. ha rilevato che le pazienti con PCOS ottengono punteggi più alti nel NEO Five-Factor Inventory, un questionario psicométrico progettato per misurare i fattori della personalità) in termini di nevroticismo (Urban, 2022). Inoltre, De Niet et al. hanno dimostrato che il benessere psicofisico è notevolmente ridotto nelle donne con PCOS

(De Niet, 2010), mentre uno studio di Damone et al. ha riportato che i livelli di stress percepito dalle donne con PCOS è superiore a quelli della popolazione sana (Damone, 2018). Infine, uno studio condotto da Scaruffi et al. nel 2019 ha rivelato che i livelli di ostilità misurati nelle donne con PCOS differiscono significativamente da quelli osservati nella popolazione di controllo (Scaruffi, 2019).

Inoltre, emergono differenze significative anche in merito ai punteggi ottenuti nella sezione del test CBA-H che indaga la presenza di disturbi del comportamento alimentare e la tendenza del soggetto ad alimentarsi con fretta. Questo dato è in accordo con quanto riportato da una metanalisi condotta da Thannickal et al., nella quale si riporta che le donne con PCOS sono più inclini a sviluppare qualsiasi disturbo del comportamento alimentare (Thannickal, 2020). Infine, i risultati del questionario DEBQ indicano che l'Alimentazione Emotiva è il comportamento alimentare più diffuso nel gruppo con PCOS, mentre l'Alimentazione Indotta Esternamente prevale nel gruppo di controllo. Una metanalisi condotta da Burnatowska et al. conferma che l'Alimentazione Emotiva è presente nel 50% delle donne con PCOS, suggerendo che la PCOS possa rappresentare un fattore di rischio per lo sviluppo di disturbi del comportamento alimentare (in particolare BED). Questo perché l'Alimentazione Emotiva è associata al rischio di sviluppare il BED, una forma estremamente grave di alimentazione compulsiva (Burnatowska, 2023).

L'analisi delle correlazioni ha evidenziato relazioni sia positive che negative, suggerendo un possibile legame tra i livelli di alcuni ormoni e i punteggi ottenuti nei test CBA-H e DEBQi. In particolare, sono emerse correlazioni significative tra i livelli ormonali misurati tramite immunoassay (testosterone, SHBG, estradiolo, DHEAS, 17OHP e AMH) e le risposte ai test CBA-H e DEBQi, così come tra i livelli dei neurosteroidi misurati tramite spettrometria di massa (DHEA, testosterone, DHT, DHP, pregnanolone, isoallopregnanolone e allopregnanolone) e le risposte al test CBA-H. I risultati ottenuti sembrerebbero dunque suggerire che le alterazioni ormonali presenti nella PCOS possano contribuire, almeno in parte, alla patogenesi di disturbi dell'umore caratteristici di questa sindrome. In linea con i risultati ottenuti, uno studio condotto da Yoshida et al. ha dimostrato che le fluttuazioni nei livelli plasmatici di DHEA,

testosterone e DHT sono correlate a punteggi elevati in questionari che misurano ansia e depressione (Yoshida, 2020). Allo stesso modo, uno studio condotto da Cooney et al. ha riportato che le donne con PCOS e alti livelli di testosterone libero mostrano una prevalenza più alta di depressione (Cooney & Lee, 2017). In questo contesto, inoltre, Hedstrom et al. hanno riferito che i livelli ematici di allopregnanolone erano più alti nei pazienti con PCOS rispetto ai soggetti di controllo, riflettendo possibilmente una compromissione del segnale GABA-A (Hedstrom, 2015). Inoltre, uno studio condotto da Susan et al. dimostra che i livelli di testosterone, DHP, pregnanolone, allopregnanolone e isoallopregnanolone appaiono alterati nelle donne che soffrono di depressione post-partum, supportando l'idea che gli steroidi neuroattivi rivestano effettivamente un ruolo nella patogenesi delle patologie psichiatriche (Susan, 2005).

Una particolare correlazione positiva viene osservata tra i livelli di testosterone e l'abitudine al fumo: in accordo con questo dato, secondo uno studio condotto da Svartberg et al. nel 2007, i fumatori hanno mostrato livelli di testosterone totale fino al 15% più elevati rispetto ai non fumatori (Svartberg, 2007).

Per quanto riguarda i punteggi ottenuti nelle sezioni "D18: Disturbi alimentari" e "D19: Fretta nell'alimentarsi" del test CBA-H, non sono state riscontrate correlazioni significative con i livelli ormonali misurati nello studio attuale. Al contrario, sono emerse correlazioni negative significative tra i punteggi ottenuti nella sezione "Alimentazione Restrittiva" del test DEBQi e i livelli sierici di DHEAS e testosterone (e quindi con l'indice FAI) misurati in immunoassay, suggerendo che livelli più elevati di androgeni possano influenzare una minore propensione a adottare questo tipo di comportamento alimentare rispetto all'Alimentazione Emotiva o Indotta Esternamente. A questo proposito, uno studio condotto da Hirschberg et al. evidenzia come gli ormoni sessuali siano cruciali nella regolazione del comportamento alimentare. In particolare, gli androgeni potrebbero promuovere la bulimia nervosa stimolando l'appetito e diminuendo il controllo degli impulsi, mentre gli estrogeni sembrano associarsi a una riduzione dell'appetito e ad un comportamento di tipo restrittivo (Hirschberg, 2012).

Tuttavia, la stessa correlazione significativa non si osserva se si considerano i livelli di testosterone misurati in spettrometria di massa. Inoltre, non sono emerse chiare correlazioni positive tra gli stessi ormoni e gli altri tipi di comportamento alimentare.

Una possibile spiegazione in merito alla presenza di un legame tra le alterazioni ormonali tipiche della PCOS e l'ottenimento di punteggi più elevati ai questionari che indagano la sfera psicologica del soggetto, potrebbe risiedere nel ruolo dei neurosteroidi come potenti modulatori allosterici del recettore GABA di tipo A. L'acido gamma-aminobutirrico (GABA) è il principale neurotrasmettitore inibitorio nel sistema nervoso centrale, la cui azione si manifesta attraverso i recettori GABA-A e GABA-B, che sono canali ionici situati sulla membrana delle cellule nervose.

In particolare, quando il GABA si lega ai recettori di tipo A, induce un cambiamento conformazionale nella struttura del recettore che porta all'apertura dei canali del cloruro presenti nella membrana cellulare. Questo permette agli ioni cloruro di entrare nella cellula, generando un potenziale di membrana negativo e riducendo così l'eccitabilità cellulare. In sostanza, l'azione del GABA sui recettori GABA-A riduce l'attività elettrica delle cellule nervose, provocando un effetto calmante e inibitorio. Questo è importante per regolare l'attività neurale e prevenire l'eccessiva eccitazione neuronale, che può portare a convulsioni, stati d'ansia o altri disturbi del sistema nervoso (Standeven & Olson, 2021). E' inoltre noto che i circuiti GABAergici nel cervello sono coinvolti nella regolazione dell'alimentazione e che i modulatori del recettore del GABA-A risultino quindi essere forti induttori di iperfagia e aumento di peso (Hedstrom, 2015).

Tra i modulatori allosterici positivi endogeni del recettore GABA-A rientrano, infatti, i neurosteroidi (tra cui progesterone, DHEA, testosterone, DHP, 3 α -Diolo, 17 β -Estradiolo, pregnenolone, DHT, allopregnanolone, isoallopregnanolone). Generalmente, i modulatori del recettore GABA-A a basse concentrazioni inducono effetti avversi e ansiogeni mentre a concentrazioni più elevate mostrano proprietà benefiche e calmanti (Backstrom, 2013).

Alcuni modulatori (come ad esempio allopregnanolone), hanno un effetto di stimolazione sul recettore GABA-A descrivibile con una curva a forma di U invertita (Backstrom, 2013): quando questi composti sono presenti in concentrazioni molto basse, agiscono in presenza di GABA potenziando l'azione del neurotrasmettitore sul proprio recettore, modificando sia la frequenza che la durata dell'apertura dei canali del cloruro; quando invece sono presenti a concentrazioni elevate, possono attivare

direttamente il recettore senza che sia necessaria la presenza di GABA (Standeven & Olson, 2021). In questo senso, concentrazioni basse o elevate di alcuni neurosteroidi (come allopregnanolone) si correlano ad effetti calmanti o sedativi, mentre valori intermedi sembrerebbero correlarsi a effetti ansiogeni e depressivi (Backstrom, 2015). Altri studiosi hanno suggerito che potrebbe non essere tanto il livello assoluto dei neurosteroidi a causare sintomi di ansia e depressione, sia che sia basso o alto, ma piuttosto lo stato di cambiamento che scatena tali sintomi (McEvoy, 2019).

Tuttavia, sebbene la letteratura riporti numerose evidenze a sostegno dell'ipotesi di una correlazione tra i livelli di neurosteroidi e lo sviluppo di diverse manifestazioni psichiatriche patologiche (Backstrom, 2013), il significato di tale correlazione rimane ancora incerto. Infatti, nonostante sia noto che i neurosteroidi possono influenzare la funzionalità del sistema gabaergico, provocando cambiamenti nel tono dell'umore (Backstrom, 2013), non è chiaro se le alterazioni nei livelli di neurosteroidi siano una causa o una conseguenza delle patologie psichiatriche. È possibile che le condizioni psichiatriche stesse, attraverso meccanismi complessi, influenzino la produzione e la regolazione dei neurosteroidi. Ad esempio, è noto che lo stress cronico, spesso associato a disturbi psichiatrici come la depressione e l'ansia, può alterare l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, influenzando di conseguenza i livelli di neurosteroidi derivati dagli ormoni prodotti dalle ghiandole surrenali (Eiland, 2014). Quindi, mentre la correlazione tra neurosteroidi e patologie psichiatriche è ben documentata, ulteriori ricerche sono necessarie per chiarire la direzione e la natura causale di questa relazione. Studi longitudinali e sperimentali potrebbero aiutare a determinare se le alterazioni nei livelli di neurosteroidi precedano l'insorgenza di sintomi psichiatrici o se, al contrario, siano una conseguenza di queste patologie.

Il presente studio presenta diverse limitazioni. Innanzitutto, il numero limitato di partecipanti potrebbe limitare la significatività dei dati. Un aumento del campione, ad esempio includendo un gruppo di studio più ampio composto da donne con PCOS rappresentative dei quattro fenotipi in proporzioni uguali, potrebbe fornire risultati più robusti e generalizzabili. Inoltre, sarebbe opportuno ampliare la valutazione psicologica includendo altri strumenti come i test SF-36, HADS e BES33. Questo permetterebbe di

ottenere una valutazione più completa della componente psicologica dei pazienti con PCOS. È importante, inoltre, notare che i livelli di neurosteroidi misurati nel plasma potrebbero essere meno rappresentativi rispetto a quelli misurati nel liquido cerebrospinale (CSF). Future ricerche longitudinali che includano ampi campioni di pazienti potrebbero aiutare a identificare i fattori associati ai disturbi dell'umore nei pazienti affetti da PCOS in modo più esaustivo e dettagliato.

CAPITOLO 6: CONCLUSIONI

I risultati ottenuti supportano l'ipotesi che le alterazioni intrinseche alla PCOS sottendono alterazioni neurosteroidiche che potrebbero svolgere un ruolo significativo nella comprensione della patogenesi dei disturbi dell'umore connessi a questa sindrome, oltre a influenzare lo sviluppo di specifici comportamenti alimentari. Sebbene la nostra osservazione abbia un mero significato associativo, rappresenta un'assoluta novità in questo contesto e sostanzia la possibilità di una reale connessione tra le modifiche nella regolazione neuroormonale e l'emergere dei sintomi psicologici e comportamentali caratteristici della PCOS.

Per approfondire ulteriormente questo argomento, sarebbe auspicabile condurre future ricerche longitudinali che coinvolgano ampie coorti di pazienti. Questi studi potrebbero fornire una comprensione più dettagliata e completa dei fattori associati ai disturbi dell'umore nei pazienti affetti da PCOS, contribuendo così a migliorare le strategie diagnostiche e terapeutiche per questa condizione.

BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

- American Psychiatric Association. (2022). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (V ed.). American Psychiatric Association.
<https://doi.org/10.1176/appi.books.9780890420249.dsm-iv-tr>
- Andersen, C.Y. (2006, 8 8). *Estradiol and regulation of anti-Müllerian hormone, inhibin-A, and inhibin-B secretion: analysis of small antral and preovulatory human follicles' fluid*. National Library of Medicine. DOI: 10.1210/jc.2006-1066
- Azziz, R. (2016, 02). *Stein and Leventhal: 80 years on*. ScienceDirect.
<https://doi.org/10.1016/j.ajog.2015.12.013>
- Azziz, R. (2016, 08 11). *Polycystic ovary syndrome*. Nature Journal.
<https://www.nature.com/articles/nrdp201657>
- Azziz, R. (2023, 02 01). *Technical report for the international evidence-based guideline for the assessment and management of PCOS*. MCHRI.
<https://mchri.org.au/technical-report/#page%3D17>
- Azziz, R., & Carmina, E. (2014, 05 20). *POSITION STATEMENT: Criteria for Defining Polycystic Ovary Syndrome as a Predominantly Hyperandrogenic Syndrome: An Androgen Excess Society Guideline*. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. DOI: 10.1093/humupd/dmt061
- Azziz, R., & Ochoa, T.M. (1995, 12). *Leuprolide and estrogen versus oral contraceptive pills for the treatment of hirsutism: a prospective randomized study*. National Institutes of Health. DOI: 10.1210/jcem.80.12.8530573
- Azziz, R., & Sanchez, L.A. (2004, 02). *Androgen excess in women: experience with over 1000 consecutive patients*. National Library of Medicine. DOI: 10.1210/jc.2003-031122
- Backstrom, T. (2013). *Allopregnanolone and mood disorders*. Elsevier.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.pneurobio.2013.07.005>
- Backstrom, T. (2015, 9 23). *GABAA Receptor-Modulating Steroids in Relation to Women's Behavioral Health*. National Library of Medicine. DOI 10.1007/s11920-015-0627-4
- Baroud, S. (2021, 11). *Acne Syndromes and Mosaicism*. ResearchGate. DOI: 10.3390/biomedicines9111735
- Bengtsson, S. (2014, 11 8). *Isoallopregnanolone antagonize allopregnanolone-induced effects on saccadic eye velocity and self-reported sedation in humans*. National Library of Medicine. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2014.10.025

- Bernadett, M. (2016). *Prevalence of eating disorders among women with polycystic ovary syndrome*. National Library of Medicine. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27244869/>
- Bertolotti, G. (2020). *CBA-H Cognitive Behavioural Assessment forma Hospital - Manuale* (Seconda ed.). Giunti Psychometrics.
- Bozan, A. (2011, 06 3). *Psychometric properties of Turkish version of Dutch Eating Behaviour Questionnaire (DEBQ). A preliminary results*. ScienceDirect. DOI: 10.1016/j.appet.2011.01.025
- Broekmans, F.J. (2008, 11 19). *Anti-Müllerian hormone and ovarian dysfunction*. National Library of Medicine. DOI: 10.1016/j.tem.2008.08.002
- Brutocao, C. (2018, 07 31). *Psychiatric disorders in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis*. Springer. DOI: 10.1007/s12020-018-1692-3
- Burger, L.L. (2004). *Regulation of gonadotropin subunit gene transcription*. Journal of Molecular Endocrinology. <https://doi.org/10.1677/jme.1.01600>
- Carmina, E. (2012, 12). *PCOS: metabolic impact and long-term management*. National Library of Medicine. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23232534/>
- Carmina, E., & Dreno, B. (2022, 06). *Female Adult Acne and Androgen Excess: A Report From the Multidisciplinary Androgen Excess and PCOS Committee*. Journal of the Endocrine Society. DOI: 10.1210/jendso/bvac003
- Chen, F. (2005, 11 1). *Direct agonist/antagonist functions of dehydroepiandrosterone*. Oxford Academic - Endocrinology. <https://doi.org/10.1210/en.2005-0368>
- Choudhury, A.A. (2022, 12 1). *Polycystic ovary syndrome (PCOS) increases the risk of subsequent gestational diabetes mellitus (GDM): A novel therapeutic perspective*. ScienceDirect. DOI: 10.1016/j.lfs.2022.121069
- Cinar, N. (2012, 06). *Effect of an oral contraceptive on emotional distress, anxiety and depression of women with polycystic ovary syndrome: a prospective study*. National Library of Medicine. DOI: 10.1093/humrep/des113
- Cooney, L.G., & Lee, I. (2017, 03 9). *High prevalence of moderate and severe depressive and anxiety symptoms in polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis*. Oxford Academic. <https://doi.org/10.1093/humrep/dex044>
- Crespo, R.P. (2018, 06). *An update of genetic basis of PCOS pathogenesis*. Archives of Endocrinology and Metabolism. <https://doi.org/10.20945/2359-3997000000049>

- Dai, S. (2022, 05 22). *Effects of IGF-1 on the Three-Dimensional Culture of Ovarian Preantral Follicles and Superovulation Rates in Mice*. MDPI. <https://doi.org/10.3390/biology11060833>
- Dakanalis, A. (2013, 11). *Italian version of the Dutch Eating Behavior Questionnaire. Psychometric proprieties and measurement invariance across sex, BMI-status and age*. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/j.appet.2013.08.010>
- Dakanalis, A. (2013, 12). *Italian version of the Dutch Eating Behavior Questionnaire. Psychometric proprieties and measurement invariance across sex, BMI-status and*. Elsevier - ScienceDirect. DOI: 10.1016/j.appet.2013.08.010
- Damone, A. (2018, 08 22). *Depression, anxiety and perceived stress in women with and without PCOS: a community-based study*. Cambridge University Press. DOI: 10.1017/S0033291718002076
- Daniilidis, A., & Dinas, K. (2009, 2 13). *Long term health consequences of polycystic ovarian syndrome: a review analysis*. HIPPOKRATIA. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2683463/pdf/hippokratia-13-90>
- Davitadze, M. (2023, 08 24). *Body image concerns in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis*. Oxford Academic. <https://doi.org/10.1093/ejendo/lvad110>
- Day, F. (2018, 12 19). *Large-scale genome-wide meta-analysis of polycystic ovary syndrome suggests shared genetic architecture for different diagnosis criteria*. Plos Genetics. <https://journals.plos.org/plosgenetics/article?id=10.1371/journal.pgen.1007813>
- Day, F., & Hinds, D. (2015, 02 17). *Causal mechanisms and balancing selection inferred from genetic associations with polycystic ovary syndrome*. Nature Journal. <https://www.nature.com/articles/ncomms9464>
- De Niet J. (2010, 03 31). *Psychological well-being and sexarche in women with polycystic ovary syndrome*. Oxford Academic. DOI: 10.1093/humrep/deq068
- De Pasquale, C. (2017, 06 30). *Comparison of the CBA-H and SF-36 for the screening of the psychological and behavioural variables in chronic dialysis patients*. PLOS Journal. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180077>
- De Pasquale, C. (2017, 07 30). *Comparison of the CBA-H and SF-36 for the screening of the psychological and behavioural variables in chronic dialysis patients*. Plos One. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180077>
- Dewailly, D. (2023, 12). *Definition and significance of polycystic ovarian morphology: A task force report from the Androgen Excess and Polycystic Ovary Syndrome Society*. ResearchGate. DOI: 10.1093/humupd/dmt061

- Diviccaro, S. (2022, 02). *Allopregnanalone: An overview on its synthesis and effects*. Wiley - Journal of Neuroendocrinology. DOI: 10.1111/jne.12996
- Dokras, A. (2011, 01 01). *Reviews Increased Risk for Abnormal Depression Scores in Women With Polycystic Ovary Syndrome*. National Institutes of Health. DOI: 10.1097/AOG.0b013e318202b0a4
- Dokras, A. (2012, 01). *Increased prevalence of anxiety symptoms in women with polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis*. National Institutes of Health. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2011.10.022
- Donesky, B.W. (1995, 03). *Surgically induced ovulation in the polycystic ovary syndrome*. ScienceDirect. Retrieved May 4, 2024, from DOI: 10.1016/s0015-0282(16)57408-1
- Douma, S.L. (2005). *Estrogen-related mood disorders: reproductive life cycle factors*. ANS: Advance in Nursing Science. doi:10.1097/00012272-200510000-00008.
- Dumesic, D.A. (2013, 08). *Cancer risk and PCOS*. ScienceDirect. DOI: 10.1016/j.steroids.2013.04.004.
- Durlinger, A. (2001, 11 01). *Anti-Müllerian Hormone Attenuates the Effects of FSH on Follicle Development in the Mouse Ovary*. Oxford Academic - Endocrine Society. <https://doi.org/10.1210/endo.142.11.8486>
- Dybciak, P. (2023, 12 10). *Depression in Polycystic Ovary Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis*. MDPI. DOI: 10.3390/jcm12206446
- Eiland, L. (2014, 09 26). *Stress and the Developing Adolescent Brain*. Ibroneuroscience. doi: 10.1016/j.neuroscience.2012.10.048
- Escobar-Morreale, H.F. (2018, 03 23). *Polycystic ovary syndrome: definition, aetiology, diagnosis and treatment*. Nature Reviews Endocrinology. <https://www.nature.com/articles/nrendo.2018.24>
- Fraser, I.S. (2011, 09 29). *The FIGO recommendations on terminologies and definitions for normal and abnormal uterine bleeding*. National Library of Medicine. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22065325/>
- Gibson-Helm, M. (2016, 12 01). *Delayed Diagnosis and a Lack of Information Associated With Dissatisfaction in Women With Polycystic Ovary Syndrome*. Oxford Academic - JCEM. [tps://academic.oup.com/jcem/article/102/2/604/2972079](https://academic.oup.com/jcem/article/102/2/604/2972079)
- Głuszak, O. (2012, 02 29). *Phenotype and Metabolic Disorders in Polycystic Ovary Syndrome*. National Library of Medicine. doi: 10.5402/2012/569862

- Goodarzi, M. (2014, 07 05). *DHEA, DHEAS and PCOS*. Elsevier – ScienceDirect. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2014.06.003
- Hamilton, K. (2009, 10 05). *From knowledge to interventions. Abstracts of Health Psychology 2009. Pisa, Italy*. National Library of Medicine. DOI: 10.1080/08870440903126397
- Harrison, C.L. (2011, 04). *Exercise therapy in polycystic ovary syndrome: a systematic review*. National Institutes of Health. DOI: 10.1093/humupd/dmq045
- Hart, R. (2008, 12). *PCOS and infertility*. National Library of Medicine. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19078871/>
- Hedstrom, H. (2015). *Women with polycystic ovary syndrome have elevated serum concentrations of and altered GABA A receptor sensitivity to allopregnanolone*. Wiley Online Library. doi: 10.1111/cen.12809
- Hirschberg, A.L. (2012, 01 16). *Sex hormones, appetite and eating behaviour in women*. Maturitas. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2011.12.016>
- Hoeger, K.M. (2020, 11 19). *Update on PCOS: Consequences, Challenges, and Guiding Treatment*. Oxford Academic: The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgaa839>
- Hoyt, K.L., & Schmidt, M.C. (2004, 03 17). *Polycystic Ovary (Stein- Leventhal) Syndrome: Etiology, Complications, and Treatments*. National Library of Medicine. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15314890/>
- Hu, M. (2015, 11 17). *Maternal testosterone exposure increases anxiety-like behavior and impacts the limbic system in the offspring*. National Library of Medicine. DOI: 10.1073/pnas.1507514112
- Huber-Buchholz, M. (1999). *Restoration of reproductive potential by lifestyle modification in obese polycystic ovary syndrome: Role of insulin sensitivity and luteinizing hormone*. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. DOI: 10.1210/jc.84.4.1470
- Keefe, C. (2014, 04 08). *Simultaneous measurement of thirteen steroid hormones in women with polycystic ovary syndrome and control women using liquid chromatography-tandem mass spectrometry*. International Library of Medicine. DOI: 10.1371/journal.pone.0093805
- Kohtz, A.S. (2011, 01 01). *Dissociating Behavioral, Autonomic, and Neuroendocrine Effects of Androgen Steroids in Animal Models*. Springer. doi:10.1007/978-1-61779-458-2_26
- Kovacs, G.T., & Norman, R. (2007, 9 29). *Polycystic Ovary Syndrome*. Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511545191>

- Krug, I. (2019, 05 16). *Binge eating in patients with polycystic ovary syndrome: prevalence, causes, and management strategies*. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*. DOI: 10.2147/NDT.S168944
- Lee, I., & Cooney, G.L. (2018, 06 26). *Increased odds of disordered eating in polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis*. Springer. <https://link.springer.com/article/10.1007/s40519-018-0533-y>
- Legro, R.S. (2013, 12 10). *Diagnosis and Treatment of Polycystic Ovary Syndrome: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline*. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. <https://doi.org/10.1210/jc.2013-2350>
- Lim, S. (2012, 12 18). *Overweight, obesity and central obesity in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis*. National Library of Medicine. DOI: 10.1093/humupd/dms030
- Lizneva, D. (2016, 05 24). *Criteria, prevalence, and phenotypes of polycystic ovary syndrome*. *Fertility and Sterility ASRM*. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.05.003>
- Maguire, J. (2019, 03 08). *Neuroactive Steroids and GABAergic Involvement in the Neuroendocrine Dysfunction Associated With Major Depressive Disorder and Postpartum Depression*. *Frontiers*. DOI: 10.3389/fncel.2019.00083
- Mansson, M. (2007, 06 30). *Women with polycystic ovary syndrome are often depressed or anxious--a case control study*. *ScienceDirect*. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2008.06.003>
- Martin, K.A. (2008, 04 01). *Evaluation and Treatment of Hirsutism in Premenopausal Women: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline*. Oxford Academic - Endocrine Society. <https://doi.org/10.1210/jc.2007-2437>
- Mathur, R. (2008, 4 4). *Use of ethinylestradiol/drospirenone combination in patients with the polycystic ovary syndrome*. *ResearchGate*. DOI: 10.2147/tcrm.s6864
- McAllister, J.M., & Legro, R.S. (2015, 03 26). *Functional genomics of PCOS: from GWAS to molecular mechanisms*. National Library of Medicine. DOI: 10.1016/j.tem.2014.12.004
- McEvoy, K. (2019, 01 31). *Allopregnanolone and Reproductive Psychiatry: An Overview*. National Library of Medicine. doi:10.1080/09540261.2018.1553775
- McGee, E.A. (2000, 04 01). *Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles*. Oxford Academic - Endocrine Reviews. DOI: 10.1210/edrv.21.2.0394
- Melcangi, R.C. (2007, 9 26). *Neurosteroids: Measurement and pathophysiologic relevance*. National Library of Medicine. DOI: 10.1016/j.neuint.2007.09.010

- Melcangi, R.C. (2016, 12 30). *Neuroactive steroid levels and psychiatric and andrological features in post- finasteride patients*. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsbmb.2017.04.003>
- Melcangi, R.C. (2015, 09 15). *Levels and actions of neuroactive steroids in the nervous system under physiological and pathological conditions: Sex-specific features*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2015.09.023>
- Mellon, S.H. (2007, 10). *Neurosteroid regulation of central nervous system development*. Elsevier - ScienceDirect. doi:10.1016/j.pharmthera.2007.04.011
- Moran, J. (2010, 08 16). *Impaired glucose tolerance, type 2 diabetes and metabolic syndrome in polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis*. Oxford Library - Human Reproduction Update,. DOI: 10.1093/humupd/dmq001
- Moran, L. (2013, 04 11). *Dietary composition in the treatment of polycystic ovary syndrome: a systematic review to inform evidence-based guidelines*. ScienceDirect. DOI: 10.1016/j.jand.2012.11.018
- Naderpoor, N. (2016, 02 22). *Metformin and lifestyle modification in polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis*. National Institutes of Health. DOI: 10.1093/humupd/dmv063
- Nast, A. (2012, 02 22). *European evidence based (S3) Guidelines for the treatment of acne*. Wiley Online Library. <https://doi.org/10.1111/j.1468-3083.2011.04374.x>
- Öfverman, C. (2009, 11 10). *The progesterone metabolite isoallopregnanolone is a subunit-selective antagonist of the GABA-A receptor*. UMEA University. urn:nbn:se:umu:diva-27069
- Osborne, L. (2016, 17 02). *Lower Allopregnanolone during Pregnancy Predicts Postpartum Depression: An Exploratory Study*. Elsevier. doi: 10.1016/j.psyneuen.2017.02.012
- Pigny, P. (2003, 12). *Elevated serum level of anti-mullerian hormone in patients with polycystic ovary syndrome: relationship to the ovarian follicle excess and to the follicular arrest*. National Library of Medicine. DOI: 10.1210/jc.2003-030727
- Qu, F., & Wang, F.F. (2012, 02 21). *A molecular mechanism underlying ovarian dysfunction of polycystic ovary syndrome: hyperandrogenism induces epigenetic alterations in the granulosa cells*. Springer Link. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00109-012-0881-4>
- Reddy, D.S. (2010, 9). *The testosterone-derived neurosteroid androstanediol is a positive allosteric modulator of GABAA receptors*. ASPET Journal. doi:10.1124/jpet.110.169854.
- Rugarli, C. (2015). *Medicina Interna Sistemica* (Settima ed., Vol. 2). Masson.

Sanchez-Garrido, M.A., & Tena-Sempere, M. (2020, 05 14). *Metabolic dysfunction in polycystic ovary syndrome: Pathogenic role of androgen excess and potential therapeutic strategies*. National Library of Medicine. DOI: 10.1016/j.molmet.2020.01.001

Scaruffi, E. (2018, 11 06). *Body image, personality profiles and alexithymia in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS)*. National Library of Medicine. DOI: 10.1080/0167482X.2018.1530210

Shivaprakash, G. (2013, 02 7). *Acanthosis Nigricansin PCOS Patients and Its Relation with Type 2 Diabetes Mellitus and Body Mass at a Tertiary Care Hospital in Southern India*. Journal of Clinical and Diagnostic Research. DOI: 10.7860/JCDR/2013/4930.2756

Spritzer, P.M. (2022, 08 9). *Hirsutism, Normal Androgens and Diagnosis of PCOS*. MDMolecular Diversity Preservation International (MDPI). DOI: 10.3390/diagnostics12081922

Stamatiades, G.S., & Kaiser, U.B. (2018, 03 5). *Gonadotropin regulation by pulsatile GnRH: Signaling and gene expression*. National Library of Medicine. 10.1016/j.mce.2017.10.015

Standeven, L., & Olson, E. (2021, 04 21). *Polycystic Ovary Syndrome, Affective Symptoms, and Neuroactive Steroids: a Focus on Allopregnanolone*. Springer. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8060230/pdf/11920_2021_Article_1244.pdf

Stellman, J.M. (2017, 11 12). *The A/B Behavior Pattern Model*. Encyclopaedia of Occupational of Healt and Society. https://iloencyclopaedia.org/images/En-Encyclopaedia-OHS_Authors.pdf

Susan, E. (2005, 11 21). *3 α -reduced neuroactive steroids and their precursors during pregnancy and the postpartum period*. Taylor and Francis Group. <https://doi.org/10.1080/09513590500361747>

Svartberg, J. (2006, 11 17). *Endogenous testosterone levels and smoking in men. The fifth Tromsø study*. Wiley – Online Library. DOI: 10.1111/j.1365-2605.2006.00720.x

Szydlarska, D. (2017, 05 26). *History of discovery of polycystic ovary syndrome*. National Library of Medicine. DOI: 10.17219/acem/61987

Tang, T. (2009, 10 07). *Insulin-sensitising drugs (metformin, rosiglitazone, pioglitazone, D-chiro-inositol) for women with polycystic ovary syndrome, oligo amenorrhoea and subfertility*. Europe PMC. <https://doi.org/10.1002/14651858.cd003053.pub3>

Tata, B. (2018, 05 14). *Elevated prenatal anti-Müllerian hormone reprograms the fetus and induces polycystic ovary syndrome in adulthood*. Nature Medicine. <https://www.nature.com/articles/s41591-018-0035-5>

Teede, H. (2023, 02 1). *International Evidence-based Guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome 2023*. European Society of Human Reproduction and

Embryology.

<https://www.eshre.eu/Guidelines-and-Legal/Guidelines/Polycystic-Ovary-Syndrome>

Teede, H., & Thien Tay, C. (2023, 08 15). *Recommendations From the 2023 International Evidence-based Guideline for the Assessment and Management of Polycystic Ovary Syndrome*. Oxford Library -The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgad463>

Thannickal, A., & Brutocao, C. (2020, 01 09). *Eating, sleeping and sexual function disorders in women with polycystic ovary syndrome (PCOS): A systematic review and meta-analysis*. Wiley Online Library. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/cen.14153>

Unfer, V. (2023, 03 25). *A PCOS Paradox: Does Inositol Therapy Find a Rationale in All the Different Phenotypes?* MDPI- Publisher of Open Access Journals. <https://doi.org/10.3390/ijms24076213>

Urban, W. (2022, 04 03). *Polycystic Ovary Syndrome: Personality and Temperamental Characteristics*. JOGC: Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.jogc.2022.03.011>

Valkenburg, O. (2009, 08 24). *Genetic polymorphisms of GnRH and gonadotrophic hormone receptors affect the phenotype of polycystic ovary syndrome*. National Library of Medicine. DOI: 10.1093/humrep/dep113

Vallée, M. (2001, 11). *Neurosteroids and potential therapeutics: Focus on pregnenolone*. Elsevier - ScienceDirect. doi:10.1016/S0165-0173(01)00135-7

Vatier, C., & Christin-Maitre, S. (2024, 04 10). *Epigenetic/circadian clocks and PCOS*. National Library of Medicine. DOI: 10.1093/humrep/deae066

Wang, Y. (2006, 11 2). *Analysis of neurosterols and neurosteroids by mass spectrometry*. ScienceDirect - Elsevier. doi:10.1016/j.biochi.2006.10.008

Weenen, C. (2004, 02 01). *Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment*. Oxford Academic - Molecular Human Reproduction. <https://doi.org/10.1093/molehr/gah015>

Wildt, L. (1981, 08 01). *Frequency and Amplitude of Gonadotropin-Releasing Hormone Stimulation and Gonadotropin Secretion in the Rhesus Monkey*. Oxford Academic - Endocrinole Society. <https://doi.org/10.1210/endo-109-2-376>

Yildiz, B.O., & Azziz, R. (2007, 12 8). *The adrenal and polycystic ovary syndrome*. National Library of Medicine. DOI: 10.1007/s11154-007-9054-0

Yilmaza, C. (2019, 10). *Neurosteroids as regulators of neuroinflammation*. Elsevier. DOI: 10.1016/j.yfrne.2019.100788

Yoshida, T. (2020, 08 17). *Circulating steroids and mood disorders in patients with polycystic ovary syndrome*. Elsevier. DOI: 10.1016/j.steroids.2020.108748

Zhang, Y. (2014). *Effects of acarbose on polycystic ovary syndrome: a meta-analysis*. Thieme Group. DOI: 10.1055/s-0034-1375676

Zhu, T., & Goodarzi, M. (2021, 08 25). *Causes and Consequences of Polycystic Ovary Syndrome: Insights From Mendelian Randomization*. Oxford Academic - The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgab757>