



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Πρόγραμμα μεταπτυχιακών σπουδών
«Εφαρμοσμένη Διαιτολογία-διατροφή»
Κατεύθυνση: Κλινική Διατροφή

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ
«Διερεύνηση της επίδρασης της συχνότητας των
γευμάτων στις συγκεντρώσεις των ινκρετινών σε δείγμα γυναικών με
σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών»

Νικόλαος Μάινας
A.M: 4521212



Αθήνα 2016-2017



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Πρόγραμμα μεταπτυχιακών σπουδών
«Εφαρμοσμένη Διαιτολογία-διατροφή»
Κατεύθυνση: Κλινική Διατροφή

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

«Διερεύνηση της επίδρασης της συχνότητας των γευμάτων στις συγκεντρώσεις των ινκρετινών σε δείγμα γυναικών με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών»

Νικόλαος Μάινας
A.M.: 4521212

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΜΕΡΟΠΗ ΚΟΝΤΟΓΙΑΝΝΗ
(Επίκουρη καθηγήτρια Κλινικής Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο)

ΤΖΩΡΤΖΗΣ ΝΟΜΙΚΟΣ
(Επίκουρος καθηγητής Βιοχημείας, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο)

ΑΙΜΙΛΙΑ ΠΑΠΑΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΥ
(Λέκτορας Διατροφής και Μεταβολισμού, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών)

Ο Νικόλαος Μάινας

δηλώνω υπεύθυνα ότι:

- 1) Είμαι ο κάτοχος των πνευματικών δικαιωμάτων της πρωτότυπης αυτής εργασίας και από όσο γνωρίζω η εργασία μου δε συκοφαντεί πρόσωπα, ούτε προσβάλλει τα πνευματικά δικαιώματα τρίτων.
- 2) Αποδέχομαι ότι η ΒΚΠ μπορεί, χωρίς να αλλάξει το περιεχόμενο της εργασίας μου, να τη διαθέσει σε ηλεκτρονική μορφή μέσα από τη ψηφιακή Βιβλιοθήκη της, να την αντιγράψει σε οποιοδήποτε μέσο ή/και σε οποιοδήποτε μορφότυπο καθώς και να κρατά περισσότερα από ένα αντίγραφα για λόγους συντήρησης και ασφάλειας.

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την υπεύθυνη καθηγήτριά μου κ. Μερóπη Κοντογιάννη για την συνεργασία που είχαμε, για τις γνώσεις και την καθοδήγηση για την περαίωση αυτής της εργασίας.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Επίκουρο καθηγητή Βιοχημείας του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου κ. Τζώρτζη Νομικό για τη βοήθειά του κατά τη διεξαγωγή των βιοχημικών αναλύσεων.

Τέλος ευχαριστώ επίσης την υποψήφια διδάκτορα διαιτολόγο Ιωάννα Κεχριμπάρη για την βοήθεια και υποστήριξή της σε οτιδήποτε χρειάστηκα.

Περιεχόμενα

Περίληψη	6
Abstract	8
Λέξεις κλειδιά	9
A. Εισαγωγή	10
1. Σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών	10
1.1. Κλινικά χαρακτηριστικά και διαγνωστικά κριτήρια	10
1.2. Επιδημιολογία και παράγοντες κινδύνου	14
1.3. Παθοφυσιολογία	16
1.4. Συσχέτιση του συνδρόμου με άλλες συνοσηρότητες	17
1.5. Περίγραμμα των στρατηγικών διαχείρισης του συνδρόμου	20
1.5.1. Αλλαγές στον τρόπο ζωής	20
1.5.2. Φαρμακευτική θεραπεία	23
1.5.2.1. Συμπτώματα που σχετίζονται με ανδρογόνα	23
1.5.2.2. Θεραπεία των διαταραχών που σχετίζονται με την εμμηνόρροια	25
1.5.2.3. Υπογονιμότητα	26
1.5.3. Συμπεράσματα	30
2.1. Ινκρετίνες	31
2.2. Σύνθεση, απελευθέρωση και αποδόμηση των ινκρετινών	32
2.3. Δράσεις του GIP	34
2.4. Δράσεις του GLP-1	35
2.5. Συγκεντρώσεις GIP και GLP-1 σε γυναίκες με ΣΠΩ	36
3. Συχνότητα γευμάτων, μεταβολισμός γλυκόζης και ινκρετίνες	38
B. Σκοπός	41
Γ. Μεθοδολογία	42
1. Πληθυσμός της μελέτης	42
2. Σχεδιασμός της μελέτης και τυχαιοποίηση	42
3. Δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη και αιματολογικές εξετάσεις	44
4. Ατομικό και οικογενειακό ιστορικό	45
5. Αξιολόγηση διατροφικών συνηθειών και διαιτητικής πρόσληψης	46
6. Αξιολόγηση του βαθμού υιοθέτησης της μεσογειακής δίαιτας	47
7. Αξιολόγηση σωματικής δραστηριότητας	47
8. Ενδιάμεσες συνεδρίες	48
9. Βιοχημικές αναλύσεις και υπολογισμοί	49
10. Αξιολόγηση βαθμού προσκόλλησης στην παρέμβαση	50
11. Στατιστική ανάλυση	50
Δ. Αποτελέσματα	52
1. Περιγραφικά χαρακτηριστικά του δείγματος	52
2. Διατροφικά χαρακτηριστικά των δύο διαιτών	52
3. Σύγκριση των αποτελεσμάτων των δύο παρεμβάσεων	53
Ε. Συζήτηση- Συμπεράσματα	58
ΣΤ. Βιβλιογραφία	61

Περίληψη

Εισαγωγή

Το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (ΣΠΩ- Polycystic ovary syndrome-PCOS) είναι μία από τις πιο συχνά εμφανιζόμενες ενδοκρινικές διαταραχές σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας. Η αιτία του συνδρόμου των πολυκυστικών ωοθηκών εμφανίζεται ως γονιδιακή προδιάθεση, που χειροτερεύει με την πάροδο των ετών διότι υπεισέρχονται οι περιβαλλοντολογικοί παράγοντες όπως η αύξηση του βάρους και η παχυσαρκία. Οι γυναίκες με ΣΠΩ παρουσιάζουν υπερανδρογοναιμία, παχυσαρκία, διαταραγμένο μεταβολισμό της γλυκόζης και υπερινσουλιναίμία, με αποτέλεσμα σοβαρές επιπτώσεις στην υγεία, όπως ο σακχαρώδης διαβήτης, και τα καρδιαγγειακά νοσήματα. Η διαταραχή στην ρύθμιση της γλυκόζης εμπλέκεται στην παθογένεια του συνδρόμου, επομένως η ρύθμιση του μεταβολισμού των υδατανθράκων αποτελεί βασικό θεραπευτικό στόχο. Η άσκηση και η δίαιτα φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο. Η συχνότητα των γευμάτων έχει συσχετιστεί με τα επίπεδα γλυκόζης και ινσουλίνης καθώς επίσης και προηγούμενα δεδομένα από την ομάδα μας έδειξαν ότι τα έξι γεύματα έναντι των τριών βελτιώνουν την ευαισθησία στην ινσουλίνη σε γυναίκες με ΣΠΩ. Με δεδομένη την δράση των ινκρετινών στα επίπεδα ινσουλίνης παραμένει προς διερεύνηση η συσχέτιση των επιπέδων τους με την συχνότητα των γευμάτων.

Σκοπός

Με δεδομένη την έλλειψη βιβλιογραφίας αναφορικά με τη επίδραση της συχνότητας γευμάτων στις συγκεντρώσεις ινκρετινών σε γυναίκες με ΣΠΩ, σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να διερευνήσει για πρώτη φορά αν υπάρχει συσχέτιση ανάμεσα στη συχνότητα γευμάτων και τις συγκεντρώσεις ινκρετινών σε γυναίκες με ΣΠΩ, χωρίς ταυτόχρονη απώλεια βάρους.

Μεθοδολογία

Για την εκπόνηση αυτής της μεταπτυχιακής διατριβής χρησιμοποιήθηκε δείγμα 17 γυναικών με ΣΠΩ που συμμετείχαν σε μία διασταυρούμενη κλινική δοκιμή και παρακολούθηθηκαν στο Εξωτερικό Ιατρείο της Β' Προπαιδευτικής Παθολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου "Αττικόν". Κατά την εισαγωγή τους στη μελέτη υποβλήθηκαν σε δίωρη δοκιμασία από του στόματος ανοχής γλυκόζης. Παράλληλα έγινε λήψη ατομικού ιστορικού και ανθρωπομετρικών παραμέτρων και αξιολόγηση διαιτητικών

συνηθειών και σωματικής δραστηριότητας. Στη συνέχεια, τυχαιοποιήθηκαν για ένα διάστημα διάρκειας τριών μηνών σε μία από τις δύο ισοθερμιδικές δίαιτες της παρέμβασης, με στόχο τη διατήρηση σωματικού βάρους. Οι δύο δίαιτες (%Υδατανθράκων: Πρωτεϊνών: Λίπους = 40:25:35) διέφεραν μόνο στον αριθμό των γευμάτων. Η πρώτη δίαιτα παρείχε τρία γεύματα την ημέρα, ενώ η δεύτερη έξι μικρότερα γεύματα την ημέρα. Εν συνεχεία, στο τέλος του πρώτου τριμήνου, επαναλήφθηκε η δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη και ακολούθησε η χορήγηση της δεύτερης δίαιτας. Μετά από τρεις μήνες ακολουθούσε η τελευταία δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη και το τέλος της κλινικής δοκιμής (συνολική διάρκεια 6 μήνες).

Αποτελέσματα

Ο βαθμός προσκόλλησης των συμμετεχόντων στις δύο δίαιτες του ερευνητικού πρωτοκόλλου κρίθηκε ικανοποιητικός, καθώς παρατηρήθηκαν πολύ μικρές αποκλίσεις από τη διαιτητική εντολή που δόθηκε στις συμμετέχουσες στην αρχή της κάθε παρέμβασης αντίστοιχα. Επιπλέον, ο δείκτης μάζας σώματος και το επίπεδο σωματικής δραστηριότητας των συμμετεχόντων δεν μεταβλήθηκαν κατά τη διάρκεια της μελέτης. Δεν βρέθηκε καμία στατιστική διαφορά ανάμεσα στις δύο παρεμβάσεις στις συγκεντρώσεις των ιντεκρινών GIP & GLP-1, στις συγκεντρώσεις γλυκόζης και ινσουλίνης κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας ανοχής στη γλυκόζη αλλά ούτε και στο αίσθημα της πείνας. Ωστόσο εντός των ομάδων παρατηρήθηκε μία αύξηση στις συγκεντρώσεις νηστείας του GLP-1 στο τέλος της παρέμβασης με τα τρία γεύματα ($p < 0.05$)

Συζήτηση- συμπεράσματα

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, δε βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις δύο ομάδες τριών και έξι ημερησίων γευμάτων και στις συγκεντρώσεις GIP & GLP-1, γλυκόζης ή ινσουλίνης. Ωστόσο επειδή το οι ασθενείς που αξιολογήθηκαν ήταν μόλις 17, χρειάζεται να γίνουν και άλλες τυχαιοποιημένες μελέτες με μεγαλύτερο αριθμό γυναικών με ΣΠΩ ώστε να αναδειχθεί η όποια σχέση της συχνότητας των γευμάτων με τις συγκεντρώσεις GIP & GLP-1.

Abstract

Introduction

The polycystic ovary syndrome (PCOS) is one of the most common endocrine disorders among women of reproductive age. The cause of the syndrome of polycystic appears as genetic predisposition, but deteriorates with aging because of environmental factors such as obesity and weight gain. Women with PCOS have hyperandrogenism, obesity, impaired glucose metabolism and hyperinsulinemia, leading to serious health effects, such as diabetes and cardiovascular disease. The disturbances in glucose regulation are involved in the pathogenesis of this syndrome, thus the regulation of carbohydrate metabolism is basic therapeutic target. The exercise and diet appears to play an important role. Meal frequency has been associated with glucose and insulin levels and previous findings of our team showed that the 6-meal pattern was associated with post- OGTT insulin sensitivity. Given that incretins affect insulin levels, it remains unknown whether meal frequency could affect incretin levels in women with PCOS.

Aim

Given the fact that there is a bibliographical gap concerning the effect of meal frequency on blood GIP & GLP-1 concentrations in women with PCOS, the aim of the present study was to investigate any potential associations between meal frequency and blood GIP & GLP-1 concentrations in women with PCOS, without concurrent weight loss.

Methods

A sample of seventeen women with PCOS took part in a crossover clinical trial and were followed up in outpatient pathology clinics of Attikon General Hospital of Athens. At the beginning of the intervention, all participants underwent a 2-hour glucose tolerance test (OGTT). Subsequently, a completed personal history was recorded, anthropometric indices were measured and dietary and physical activity habits were assessed. Afterwards, they were randomized in one of the two isocaloric diets of the intervention for three months, in order to maintain their body weight. The two diets (% Carbohydrates: Proteins: Fats = 40:25:35) differed only in the number of meals. The first diet contained 3 meals per day, while the second diet contained 6 smaller meals per day. At the end of the first trimester, blood sample was taken and the OGTT was repeated before the second diet was given to the participants. After three

months the last blood sample was taken and OGTT was performed and the clinical trial ended (the study's total duration was six months).

Results

The participants' adherence to the two interventions was considered as satisfactory, because few deviations from dietary instructions given at the beginning of the intervention were recorded. In addition, the body mass index and the physical activity level of the participants remained unchanged during the clinical trial. No significant differences were found between the two interventions, as far as the GIP & GLP-1 the glucose and insulin concentrations during OGTT and not even at the feeling of hunger. However within the three meal group there was an increase of the GLP-1 levels at the end of the intervention ($p < 0,05$).

Conclusions

According to the results of the present study, no association was found between meal frequency and the concentrations of GIP & GLP-1, glucose and insulin. Because of the small sample size of this study more randomize trials are needed to prove any relationship between meal frequency and GIP or GLP-1 blood levels.

Λέξεις-κλειδιά

polycystic ovary syndrome (PCOS), incretins, GLP, GIP-1, meal frequency

σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (ΣΠΩ), ινκρετίνες, συχνότητα γευμάτων

A. Εισαγωγή

1. Κεφάλαιο 1. Σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών

Το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (ΣΠΩ) για πρώτη φορά αναφέρθηκε στην σύγχρονη ιατρική βιβλιογραφία από τους Stein και Leventhal το 1935, που περιέγραψαν επτά γυναίκες οι οποίες υπέφεραν από αμηνόρροια, υπερτρίχωση και υπερπλασία ωοθηκών με πολλαπλές κύστεις (1). Στις μέρες μας αναγνωρίζεται πλέον ως μια συχνή αλλά ετερογενής κληρονομούμενη διαταραχή που επηρεάζει τις γυναίκες σε όλη τη διάρκεια της ζωής τους. Το ΣΠΩ χαρακτηρίζεται από υπερανδρογονισμό, διαταραχές στην ωορρηξία και πολυκυστικές ωοθήκες. Παρά το ότι δεν απαιτείται για την διάγνωση η παρουσία αντίστασης στην ινσουλίνη, η υπερινσουλιναμία είναι συχνή και θέτει τις πάσχουσες σε αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη και καρδιαγγειακών νοσημάτων. Έτσι το ΣΠΩ τελικά επηρεάζει την ενδοκρινική, την μεταβολική αλλά και την καρδιαγγειακή υγεία.

1.1. Κλινικά χαρακτηριστικά και διαγνωστικά κριτήρια

Η κλινική εικόνα του ΣΠΩ παρουσιάζει μεγάλη ετερογένεια. Οι γυναίκες με ΣΠΩ συχνά ζητούν θεραπεία για διαταραχές στην έμμηνο ρύση, συμπτωματολογία από υπερανδρογονισμό και υπογονιμότητα. Οι διαταραχές της εμμήνου ρύσεως που παρουσιάζουν περιλαμβάνουν ολιγομηνόρροια, αμηνόρροια και παρατεταμένη αρρυθμιστη έμμηνο ρύση (2). Παραταύτα το 30% των γυναικών με ΣΠΩ έχουν κανονική έμμηνο ρύση (3). Περίπου το 85% με το 90% των γυναικών με ολιγομηνόρροια έχουν ΣΠΩ, ενώ το 30% με 40% των γυναικών με αμηνόρροια έχουν ΣΠΩ (4). Περισσότερες από το 80% των γυναικών που παρουσιάζουν συμπτώματα υπερανδρογονισμού έχουν ΣΠΩ (5). Η υπερτρίχωση είναι συχνή κλινική εκδήλωση του υπερανδρογονισμού και παρουσιάζεται έως και στο 70% των γυναικών με ΣΠΩ (6).

Η υπερτρίχωση αξιολογείται με την χρήση του τροποποιημένου Ferriman- Gallway συστήματος διαβάθμισης (7). Αυτό το εργαλείο χρησιμοποιείται για να αξιολογήσει την υπερτρίχωση σε επτά περιοχές: άνω χείλος, λαιμός/ πρόσωπο, στήθος, κοιλιά, χέρια και πόδια. Η τριχοφυΐα αξιολογείται σε μια κλίμακα από το 0 έως το 4, με το 0 να σημαίνει καθόλου τριχοφυΐα και το 4 πολύ έντονη. Η διάγνωση της υπερτρίχωσης τίθεται με συνολικό

σκορ από οκτώ και πάνω (8). Πάνω από το 90% των γυναικών με υπερτρίχωση και φυσιολογική έμμηνο ρύση διαγιγνώσκονται με υπέρηχο ότι έχουν πολυκυστικές ωοθήκες (9). Βέβαια, το ΣΠΩ εμφανίζεται και στο 50% των γυναικών με λιγότερο έντονη ανεπιθύμητη τριχοφυΐα (10). Η ακμή επίσης μπορεί να αποτελέσει ένδειξη υπερανδρογονισμού, αλλά είναι λιγότερο συχνή και λιγότερο ειδική από την υπερτρίχωση. Περίπου το 15%- 30% των ενήλικων γυναικών με το ΣΠΩ παρουσιάζουν ακμή (5,11). Η διαφορά στην συχνότητα εμφάνισης υπερτρίχωσης και ακμής αποδίδεται στην διαφορετική έκφραση 5^α-ρεντουκτάσης στους σμηγματογόνους αδένες και στα τριχοθυλάκια, με αποτέλεσμα περισσότερη διυδροτεστοστερόνη στα τριχοθυλάκια (12). Από τις γυναίκες που παρουσιάζουν έντονη ακμή, πάνω από το 40% διαγιγνώσκονται με το ΣΠΩ (13). Μερικοί ειδικοί συστήνουν οι γυναίκες που εμφανίζονται με ακμή να ερωτώνται για διαταραχές του κύκλου τους και να αξιολογούνται για άλλα συμπτώματα υπερανδρογονισμού (12).

Το 40% των γυναικών με ΣΠΩ παρουσιάζουν στειρότητα (14). Μάλιστα το ΣΠΩ είναι η συχνότερη αιτία στειρότητας, γεγονός που οφείλεται στην ανωορρηξία. Περίπου το 90% με 95% των γυναικών με ανωορρηξία που καταφεύγουν σε κλινικές γονιμότητας έχουν ΣΠΩ. Ενώ οι γυναίκες αυτές έχουν φυσιολογικό αριθμό άωρων ωαρίων, λόγω διαταραχών, η ανάπτυξη των ωοθυλακίων αναστέλλεται. Επειδή λοιπόν δεν αναπτύσσεται κυρίαρχο ωοθυλάκιο, δεν υφίσταται ωορρηξία (14,15). Επιπλέον, αυτόματες αποβολές συμβαίνουν συχνότερα σε γυναίκες με ΣΠΩ σε ποσοστά που κυμαίνονται από 42% έως 73% (16,17).

Διαγνωστικά κριτήρια του ΣΠΩ έχουν προταθεί από τρεις επιστημονικές ομάδες:

- The National Institutes of Health/National Institute of Child Health and Human Disease (NIH/NICHD) (18)
- The European Society for Human Reproduction and Embryology/American Society for Reproductive Medicine (ESHRE/ASRM) (19) και
- The Androgen Excess and PCOS Society (20)

Τα κριτήρια αυτά περιγράφονται στον πίνακα 1.

Πίνακας 1. Διαγνωστικά κριτήρια του συνδρόμου πολυκυστικών ωοθηκών

NIH/NICHD κριτήρια 1994 (18)	ESHRE/ASRM (Rotterdam) 2004 (19)	Androgen Excess Society 2006 (20)
Αποκλεισμός άλλης διαταραχής υπερέκκρισης ανδρογόνων	Αποκλεισμός άλλης διαταραχής υπερέκκρισης ανδρογόνων	Αποκλεισμός άλλης διαταραχής υπερέκκρισης ανδρογόνων
Περιλαμβάνει όλα τα παρακάτω:	Περιλαμβάνει δύο από τα παρακάτω:	Περιλαμβάνει όλα τα παρακάτω:
Κλινικό και/ή βιοχημικό υπερανδρογονισμό	Κλινικό και/ή βιοχημικό υπερανδρογονισμό	Κλινικό και/ή βιοχημικό υπερανδρογονισμό
Διαταραχές εμμήνου ρύσεως	Ολιγομηνόρροια ή αμηνόρροια	Δυσλειτουργία ωοθηκών και/ή πολυκυστικές ωοθήκες
	Πολυκυστικές ωοθήκες	

Μολονότι υπάρχουν αρκετά κοινά σημεία και στις τρεις ομάδες, παρατηρούνται όμως και σημαντικές διαφορές. Εξ αιτίας του ότι το 20% με 30% των κατά τα άλλα φυσιολογικών γυναικών παρουσιάζουν πολλαπλές κύστες στις ωοθήκες τους (20), η παρουσία πολλαπλών κύστεων στις ωοθήκες από μόνη της δεν αποτελεί επαρκές κριτήριο για καμιά από τις ομάδες. Σύμφωνα με την NIH/NICHD και την Androgen Excess Society, απαιτείται οι γυναίκες να παρουσιάζουν ενδείξεις ή συμπτώματα υπερανδρογονισμού, όπως υπερτρίχωση ή υπερανδρογοναιμία, η οποία συνίσταται σε αυξημένη ελεύθερη τεστοστερόνη, μειωμένη σφαιρίνη δεσμεύουσα τις ορμόνες του φύλου (sexhormone-bindingglobulin- SHBG), αυξημένο δείκτη ελεύθερης τεστοστερόνης ή αυξημένη θεική διυδροεπιανδροστερόνη (18,20). Όμως τα κριτήρια της τρίτης ομάδας ESHRE/ASRM (Rotterdam) θέτουν τη διάγνωση του ΣΠΩ χωρίς υπερανδρογοναιμία. Γυναίκες με δυσλειτουργίες ωορρηξίας και πολυκυστικές ωοθήκες θεωρούνται ως πάσχουσες από ΣΠΩ σύμφωνα με τα κριτήρια του Rotterdam.

Μια άλλη σημαντική διαφορά στα κριτήρια είναι η αξιολόγηση της ολιγομηνόρροιας και της αμηνόρροιας. Σύμφωνα με τα κριτήρια Rotterdam, δεν είναι απαραίτητη η ύπαρξη διαταραχών στον κύκλο ή στην ωορρηξία, μια και παρουσιάζουν ΣΠΩ γυναίκες με ρυθμισμένη

έμμηνο ρύση αλλά με πολυκυστικές ωοθήκες και υπερανδρογοναιμία (19). Υποκλινική δυσλειτουργία ωορρηξίας είναι πιθανό να συμβαίνει σε γυναίκες με ρυθμισμένο έμμηνο κύκλο (20). Ωστόσο, αυτές ακριβώς οι περιπτώσεις αποκλείονται από το ΣΠΩ σύμφωνα με την ομάδα NIH/NICHD.

Η διάγνωση του ΣΠΩ σύμφωνα με τα κριτήρια Rotterdam και Androgen Excess Society εξαρτώνται από την χρήση αξιόπιστων μεθόδων περιγραφής της μορφολογίας των πολυκυστικών ωοθηκών. Τα κριτήρια της μορφολογίας που προτάθηκαν από την ομάδα του Rotterdam περιλαμβάνουν την παρουσία τουλάχιστον δώδεκα ωοθυλακίων, διαστάσεως από 2 έως 9 χιλιοστά και/ή αυξημένο όγκο μίας τουλάχιστον ωοθήκης στα 10 κυβικά εκατοστά (19).

Ωστόσο, έκτοτε βελτιώθηκαν οι τεχνικές υπερηχογραφίας των ωοθηκών ως προς την ευκρίνεια και ως προς τη δυνατότητα απεικόνισης των μικρότερων ωοθυλακίων (21). Η εξέλιξη αυτή είχε ως συνέπεια την ανάγκη επαναπροσδιορισμού των κριτηρίων της μορφολογίας των πολυκυστικών ωοθηκών (21-23). Έτσι με την χρήση τρισδιάστατου ενδοκολπικού υπέρηχου μετρήθηκε ο μέσος αριθμός ωοθυλακίων ανά ωοθήκη (mean follicle number per ovary- FNPO) και ο μέγιστος αριθμός ωοθυλακίων σε δέκα ασθενείς με διαγνωσμένο ΣΠΩ και σε είκοσι εννιά υγιείς (23). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, ένας μέσος όρος ωοθυλακίων ανά ωοθήκη (FNPO) $\geq 20,1$ επιβεβαιώνει την ύπαρξη ΣΠΩ με ειδικότητα 100% και ευαισθησία 70%. Ένας μέγιστος αριθμός δέκα ωοθυλακίων σε μία μόνο απεικόνιση του υπέρηχου επιβεβαιώνει το ΣΠΩ με ειδικότητα 100% και ευαισθησία 90%.

Αν ο όγκος της ωοθήκης μετρούμενος με τρισδιάστατο ενδοκολπικό υπέρηχο είναι $\geq 13,0 \text{ cm}^3$ επιβεβαιώνεται το ΣΠΩ με ειδικότητα 100% και ευαισθησία 50%. Χρησιμοποιώντας τρισδιάστατο ενδοκολπικό υπέρηχο οι Dewailly και συνεργάτες μέτρησαν τον συνολικό αριθμό των ωοθυλακίων διαμέτρου μικρότερης από 10mm, καθώς επίσης και τον όγκο της ωοθήκης (22). Το κατώφλι των 19 ωοθυλακίων έχει ευαισθησία διάγνωσης πολυκυστικών ωοθηκών 81% και ειδικότητα 92%. Όγκος ωοθήκης 7 cm^3 προβλέπει πολυκυστικές ωοθήκες με ευαισθησία 87% και ειδικότητα 89%. Οι Lujan και συνεργάτες μέτρησαν το μέσο αριθμό ωοθυλακίων ανά ωοθήκη (FNPO), τον αριθμό των ωοθυλακίων σε μία τομή και τον όγκο της ωοθήκης σε ψηφιακές απεικονίσεις (21). Από την ανάλυσή τους προκύπτει κατώφλι FNPO 26 ωοθυλακίων για ευαισθησία 85% και ειδικότητα 94% για τη διάγνωση του ΣΠΩ. Το κατώφλι για τον αριθμό των ωοθυλακίων σε μια μόνο τομή ήταν 9 για ευαισθησία 69% και ειδικότητα 90%. Τέλος το κατώφλι όγκου ωοθήκης 10 cm^3 δίνει ευαισθησία 81% και ειδικότητα 84%.

Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες της Endocrine Society συστήνεται να χρησιμοποιούνται τα κριτήρια του Rotterdam για την διάγνωση του συνδρόμου (23).

1.2. Επιδημιολογία και παράγοντες κινδύνου

Ο επιπολασμός του ΣΠΩ, όπως αυτό ορίζεται με τα NIH/NICHD κριτήρια δείχνει να παρουσιάζουν το σύνδρομο 4% με 8% των γυναικών σε αναπαραγωγική ηλικία (25-29). Ωστόσο, πρόσφατα πολλές επιστημονικές ομάδες απέδειξαν ότι ο επιπολασμός του ΣΠΩ εξαρτάται από τα διαγνωστικά κριτήρια όπως αποτυπώνεται στον **Πίνακα 2** (30-33). Οι μελέτες αυτές δείχνουν ότι ο επιπολασμός του ΣΠΩ με τα κριτήρια του Rotterdam είναι δύο με τρεις φορές μεγαλύτερος από αυτόν με τα NIH/NICHD κριτήρια.

Πίνακας 2. Επιπολασμός του συνδρόμου πολυκυστικών ωοθηκών και διαγνωστικά κριτήρια. March και συν. (29)

Συγγραφέας	Πληθυσμός	NIH/NICHD κριτήρια	ESHRE/ASRM (Rotterdam)	Androgen Excess Society
March και συν (29)	728 Αυστραλές	8,70%	17,80%	12%
Mehrabian και συν. (30)	820 Ινδές	7%	15,20%	7,92%
Tehrani και συν. (31)	929 Ιρανές	7,10%	14,60%	11,70%
Yildiz και συν. (32)	392 Τουρκάλες	6,10%	19,90%	15,30%

Το θετικό οικογενειακό ιστορικό αποτελεί παράγοντα κινδύνου για το ΣΠΩ. Στηριζόμενοι στη συχνότητα που εμφανίζεται το σύνδρομο σε οικογένειες, το ΣΠΩ θεωρείται κληρονομική διαταραχή (34,35). Η υψηλή συχνότητα εμφάνισης του συνδρόμου ή των χαρακτηριστικών του μεταξύ συγγενών πρώτου βαθμού υποδεικνύει γενετικές επιρροές (36,37). Επιπλέον, μεγαλύτερη συμφωνία έχει αναφερθεί σε μονοζυγωτικούς διδύμους παρά σε διζυγωτικούς (38). Όμως το μοτίβο της κληρονομικότητας παραμένει ασαφές. Τα θέματα

που δυσκολεύουν την πρόοδο σε αυτόν τον τομέα είναι η μεγάλη ετερογένεια του φαινοτύπου του ΣΠΩ, η δυσκολία να καθορισθεί ο φαινότυπος στους άνδρες, σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και προεφηβικά κορίτσια και δυσκολίες στη συλλογή μεγάλου αριθμού δείγματος, ώστε να έχει στατιστική ισχύ (39). Μια μελέτη συσχέτισης του συνδρόμου με το γονιδίωμα σε Κινέζες ανέδειξε περιοχές προδιάθεσης στα γονίδια 2p16.3, 2p21, και 9q33.3 (40). Μερικά από τα αποτελέσματα επιβεβαιώνονται και σε ευρωπαϊκό πληθυσμό, δείχνοντας τα χρωμοσώματα 2p21 THADA και το 9p33.3 DENNDIA ως χρωμοσώματα προδιάθεσης. Το γεγονός ότι κοινά χρωμοσώματα προδιάθεσης παρουσιάζονται και στις δυο διαφορετικές φυλές δείχνει ότι το ΣΠΩ είναι αρχαία διαταραχή που έχει τις ρίζες του πριν τη μετανάστευση του ανθρώπου από την Αφρική (41).

Αυξημένος επιπολασμός του ΣΠΩ συσχετίζεται με συγκεκριμένες συνθήκες. Αύξηση του σωματικού βάρους συχνά προηγείται της ανάπτυξης των κλινικών χαρακτηριστικών του ΣΠΩ (42) και η υιοθέτηση υγιεινού τρόπου ζωής έχει δείξει ότι μειώνει το βάρος, το κοιλιακό λίπος, μειώνει την τεστοστερόνη, βελτιώνει την ευαισθησία στην ινσουλίνη και την υπερτρίχωση στις γυναίκες με ΣΠΩ (43). Παχύσαρκες γυναίκες που απευθύνονται σε ειδικούς για απώλεια βάρους, έχουν ΣΠΩ σε ποσοστό 28,3% (44).

Παρόλα αυτά υπάρχει εργασία των Yildiz B. και συν. (45) όπου σε μη επιλεγμένο πληθυσμό δεν φαίνεται στατιστικά σημαντική αύξηση του επιπολασμού με τον ΔΜΣ. Πιο συγκεκριμένα ο επιπολασμός του ΣΠΩ κυμαίνεται σε λιποβαρείς, νορμοβαρείς, υπέρβαρες, ήπια παχύσαρκες, μέτρια παχύσαρκες και νοσογόνα παχύσαρκες γυναίκες σε 8,2%, 9,8%, 9,9%, 5,2%, 12,4% και 11,5% αντίστοιχα, επομένως η παχυσαρκία μπορεί να αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης ΣΠΩ αλλά η επίδραση είναι μικρή.

Αυξημένη συχνότητα αναπαραγωγικών διαταραχών, συμπεριλαμβανομένου του ΣΠΩ, έχει αναφερθεί επίσης σε γυναίκες με επιληψία (46). Με τα NIH κριτήρια για την διάγνωση ο Bilo και συνεργάτες (47) διέγνωσε ΣΠΩ σε 13 από τις 50 γυναίκες (26%) με επιληψία. Μάλιστα στις 16 ασθενείς που αρχικά δεν είχε χορηγηθεί αντιεπιληπτική θεραπεία, πέντε (31%) διαγνώσθηκαν με ΣΠΩ, αποδεικνύοντας πως η επιληψία ανεξάρτητα από τα αντιεπιληπτικά φάρμακα αυξάνει τον κίνδυνο του ΣΠΩ. Το βαλπροϊκό οξύ, ένα ευρέως χρήσεως αντιεπιληπτικό φάρμακο, έχει συσχετιστεί με συμπτωματολογία ΣΠΩ. Στα συμπτώματα αυτά περιλαμβάνονται διαταραχές του κύκλου, μορφολογία πολυκυστικών ωοθηκών και υψηλά επίπεδα τεστοστερόνης (48,49). Αντικατάσταση του βαλπροϊκού οξέος με λαμοτριγίνη στις πάσχουσες από επιληψία έχει ως αποτέλεσμα την μείωση του σωματικού βάρους, αύξηση της

ευαισθησίας στην ινσουλίνη και στην μείωση των επιπέδων τεστοστερόνης (50). Επομένως, η επίδραση της φαρμακευτικής αγωγής για την επιληψία πρέπει να λαμβάνεται υπόψη όταν βλέπουμε στην βιβλιογραφία μελέτες συσχέτισης του ΣΠΩ με την επιληψία.

Διαβήτης τύπου I, II ή κύησης έχει συσχετιστεί με αυξημένα ποσοστά εμφάνισης του ΣΠΩ. Οι Escobar- Morre και συνεργάτες έλεγξαν 85 γυναίκες με διαβήτη τύπου I για ΣΠΩ, σύμφωνα με τα NIH/NICHD κριτήρια και διέγνωσαν ΣΠΩ σε 16 γυναίκες, ποσοστό 18,8% (51). Σε άλλη μελέτη των Codner και συνεργατών αξιολογήθηκαν 42 γυναίκες με διαβήτη τύπου I και 38 με ίδιο δείκτη μάζας σώματος ως προς την εμφάνιση του ΣΠΩ σύμφωνα με τα NIH/NICHD κριτήρια (52). Η συχνότητα εμφάνισης του συνδρόμου ήταν 40,5% στην ομάδα του διαβήτη και μόλις 2,6% στην ομάδα ελέγχου. Αυτή η διαφορά αναδεικνύει ένα σχετικό κίνδυνο 15,4 φορές υψηλότερο για τις γυναίκες που έχουν διαβήτη. Στις ασθενείς με διαβήτη τύπου II πολυκυστικές ωοθήκες εμφανίζουν το 82% των γυναικών (53). Το δε ΣΠΩ έχει επιπολασμό σε αυτή την ομάδα ασθενών σύμφωνα με τα NIH/NICHD κριτήρια 26,7% (54). Τέλος, διάγνωση ΣΠΩ επιβεβαιώθηκε σε 15 από τις 94 γυναίκες (16%) με διαβήτη κύησης (55).

Στο άρθρο ανασκόπησης των Robert L. Rosenfield και συν. αναγνωρίζονται παράγοντες κινδύνου στην παιδική ηλικία που συσχετίζονται με εμφάνιση του ΣΠΩ στην ενηλικίωση (56). Στους περιγεννητικούς παράγοντες περιλαμβάνονται το υψηλό βάρος γέννησης για τα κορίτσια που γεννήθηκαν από υπέρβαρες μητέρες, ιδιοπαθής αρρενοποίηση και χαμηλό βάρος γέννησης. Παράγοντες κινδύνου που εμφανίζονται αργότερα στην παιδική ηλικία είναι η πρόωμη έναρξη της εφηβείας, η μελανίζουσα ακάνθωση, η παχυσαρκία και μεταβολικό σύνδρομο. Πολύ πιθανή είναι η διάγνωση του ΣΠΩ σε έφηβες με αρρυθμιστο καταμήνιο κύκλο και τους παραπάνω παράγοντες κινδύνου (57).

1.3. Παθοφυσιολογία του ΣΠΩ

Η πρωτοπαθής διαταραχή είναι προς το παρόν άγνωστη. Το πρώτο σημείο - κλειδί είναι η αυξημένη παραγωγή ινσουλίνης. Αυτό φαίνεται να συμβαίνει λόγω συγκεκριμένης ανώμαλης φωσφορυλίωσης του υποδοχέα ινσουλίνης και ειδικότερα αυξημένη φωσφορυλίωση σερίνης και μειωμένη φωσφορυλίωση τυροσίνης οδηγώντας στην αντίσταση στην ινσουλίνη που παρατηρείται στο ΣΠΩ (58). Ωστόσο, η επίδραση της ινσουλίνης στην στεροειδογένεση στα κύτταρα της θήκης των ωοθηκών δεν επηρεάζεται δυσμενώς. Η υπερινσουλιναιμία δημιουργεί μια υπερανδρογονική κατάσταση δρώντας ως συν-

γοναδοτροπίνη μαζί με την ωχρινोटρόπο ορμόνη (LH), αυξάνοντας την παραγωγή ανδρογόνων από τα κύτταρα της θήκης ενώ παράλληλα μειώνει την παραγωγή σφαιρίνης δεσμευόμενης σε ορμόνες φύλου στο ήπαρ, με αποτέλεσμα υψηλότερες συγκεντρώσεις ελεύθερων ανδρογόνων (59). Εκτός από τις δράσεις της που σχετίζονται με αύξηση του σωματικού βάρους και έχουν άμεση σχέση με τον μεταβολισμό της γλυκόζης, η ινσουλίνη έχει επίδραση και στις ίδιες τις ωοθήκες. Όταν η ινσουλίνη αυξάνεται, οι ωοθήκες παράγουν περισσότερα ανδρογόνα, τα οποία βγαίνουν στην κυκλοφορία του αίματος και προκαλούν τα συμπτώματα που περιγράφηκαν. Επιπλέον, η ινσουλίνη μειώνει την παραγωγή της SHGB από το ήπαρ, της πρωτεΐνης που ρόλος της είναι να μεταφέρει τα ανδρογόνα που παράγονται, ώστε αυτά να μεταβολιστούν και να καταστούν ανενεργά. Αυτό οδηγεί σε περίσσεια ανδρογόνων στην κυκλοφορία του αίματος.

Το δεύτερο σημείο - κλειδί στην παθογένεια του συνδρόμου είναι η διαταραχή στην έκκριση της ωχρινोटρόπου ορμόνης (LH) από την υπόφυση (60). Ο ρόλος της LH είναι να προετοιμάζει το ωάριο, ώστε αυτό να εξελιχθεί σε ώριμο ωοθυλάκιο. Στη φάση της εκκριτικής αιχμής της LH, δηλαδή στο υψηλότερο επίπεδό της, γίνεται η ωοθυλακιορρηξία. Στο σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών όμως αυτή η αλληλουχία δε συμβαίνει με τον φυσιολογικό τρόπο. Η LH εκκρίνεται από την υπόφυση σε μεγαλύτερο βαθμό απ' ό,τι πρέπει και επιδρά στις ωοθήκες με αποτέλεσμα αυτές να εκκρίνουν περισσότερα ανδρογόνα. Επίσης, τα ωοθυλάκια αυξάνουν σε μέγεθος, γίνονται κυστικά, όμως αδυνατούν να ραγούν κάτω από την επίδραση των αυξημένων επιπέδων της LH. Επομένως η υπερινσουλιναμία παίζει καθοριστικό ρόλο στην παθοφυσιολογία του συνδρόμου και αποτελεί κύριο θεραπευτικό στόχο.

1.4. Συσχέτιση του ΣΠΩ με άλλες συνοσηρότητες

Παρά το ότι η εμφάνιση αντίστασης στην ινσουλίνη δεν είναι προαπαιτούμενη για την διάγνωση του ΣΠΩ, εντούτοις είναι εξαιρετικά συχνή. Ο επιπολασμός κυμαίνεται από 50% έως 70% (57-60) και μάλιστα ως ανεξάρτητος παράγοντας από την παχυσαρκία (61). Επιπλέον η παχυσαρκία επιδεινώνει ακόμα περισσότερο την αντίσταση στην ινσουλίνη (61). Το μεταβολικό σύνδρομο επίσης εμφανίζεται συχνότερα σε γυναίκες με ΣΠΩ. Μετα-ανάλυση μελετών με αντίστοιχο δείκτη μάζας σώματος (ΔΜΣ) έδειξε ότι το μεταβολικό σύνδρομο εμφανίζεται συχνότερα στις γυναίκες με ΣΠΩ (λόγος πιθανοτήτων [OR] 2,20, 95% CI 1,36-3,56). Μάλιστα σε νορμοβαρείς γυναίκες ήταν ακόμα μεγαλύτερος ο κίνδυνος εμφάνισης

μεταβολικού συνδρόμου (λόγος πιθανοτήτων [OR] 3,00, 95% CI 1,24- 6,78) (62). Ανεξάρτητα από την παχυσαρκία, το ΣΠΩ συσχετίζεται με υψηλότερο επιπολασμό διαταραγμένης ανοχής της γλυκόζης και σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 (ΣΔτ2). Αν και οι περισσότερες γυναίκες με ΣΠΩ διατηρούν επαρκή λειτουργία β-κυττάρων για διατήρηση καλής ανοχής στη γλυκόζη, ένα σημαντικό ποσοστό, ειδικά εκείνες με συγγενείς πρώτου βαθμού με ΣΔτ2, επιδεικνύουν ανώμαλη αντίδραση των β-κυττάρων μεταγευματικά ή μετά από φόρτιση γλυκόζης (63-67).

Στις γυναίκες με ΣΠΩ και φυσιολογική ανοχή γλυκόζης, ένα 16% θα παρουσιάσει διαταραχή στην ανοχή στη γλυκόζη κάθε χρόνο, ενώ αυτές με διαταραγμένη γλυκόζη θα παρουσιάσουν ΣΔτ2 σε ποσοστό 2% ετησίως (68). Περίπου το 30% με 40% των γυναικών με ΣΠΩ έχουν διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη και 7,5%- 10% έχουν ΣΔτ2 (69,70). Τα ποσοστά αυτά είναι σημαντικά υψηλότερα από το 7,8% με διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη και το 2,5% με διαβήτη που παρατηρήθηκε σε γυναίκες της ίδιας ηλικίας σύμφωνα με την Second National Health and Nutrition Survey (71). Σε πρόσφατη μετα-ανάλυση, η ανάλυση υποομάδων με ίδιο ΔΜΣ δείχνει σχετικό κίνδυνο για διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη 2,54 (95% CI 1,54 - 4,47) για τις γυναίκες με ΣΠΩ (62). Ενώ κατά την αξιολόγηση μόνο των νορμοβαρών γυναικών, ο σχετικός κίνδυνος για διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη ήταν 3,22 (95% CI 1.26 έως 8.24). Στην ίδια μετα-ανάλυση ο σχετικός κίνδυνος εμφάνισης ΣΔτ2 ήταν 4 (OR 4.0, 95% CI 1,97 έως 8,1).

Σε ΣΠΩ έχει αποδειχθεί αυξημένος κίνδυνος δυσλιπιδαιμίας. Ανωμαλίες λιπιδίων περιλαμβάνουν μειωμένες συγκεντρώσεις χοληστερόλης των υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (High density lipoprotein cholesterol - HDL-C), αυξημένα τριγλυκερίδια και αυξημένες συγκεντρώσεις χοληστερόλης των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (Low density lipoprotein cholesterol - LDL-C). Μια πρόσφατη μετα-ανάλυση από τους Wild και συν. αξιολόγησε τις διαφορές στις λιποπρωτεΐνες σε γυναίκες ηλικίας 18-45 ετών με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών σε σύγκριση με υγιείς-μάρτυρες από την ίδια περιοχή (72). Τα τριγλυκερίδια ήταν 26.39 mg / dL υψηλότερα, η HDL -C ήταν 6,41 mg / dL χαμηλότερη στις γυναίκες με ΣΠΩ και η LDL-C ήταν 12,60 mg / dL υψηλότερη στις γυναίκες με ΣΠΩ. Η διαφορά της LDL-C ήταν μεγαλύτερη όταν χρησιμοποιήθηκαν τα NIH/NICHD κριτήρια (14.95 mg / dL) σε σχέση με τα κριτήρια ESHRE / ASRM (8,35 mg / dL) για την διάγνωση του ΣΠΩ. Επιπλέον, μελέτες έχουν δείξει υψηλές συγκεντρώσεις αθηρογόνων μικρών, πυκνών σωματιδίων LDL σε γυναίκες με ΣΠΩ (73-75). Η παχυσαρκία και η αντίσταση στην ινσουλίνη προκαλούν υψηλή συγκέντρωση τριγλυκεριδίων στο ήπαρ, η οποία, με τη σειρά της οδηγεί σε αυξημένη ηπατική

έκκριση πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (VLDL). Η αντίσταση στην ινσουλίνη επίσης συνδέεται με μειωμένη κάθαρση των σωματιδίων VLDL και χυλομικρών με τη μείωση της δραστηριότητας της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης, αυξάνοντας τα επίπεδα της απολιποπρωτεΐνης C-III, και αλλοιώνοντας την διαμεσολαβούμενη κάθαρση των πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών από την απολιποπρωτεΐνη Ε. Επιπρόσθετα, το περιεχόμενο των ηπατικών τριγλυκεριδίων καθορίζει το μέγεθος των σωματιδίων VLDL που παράγεται από το ήπαρ. Όταν η ηπατική περιεκτικότητα των τριγλυκεριδίων είναι υψηλή, μεγαλύτερα σωματίδια VLDL θα παραχθούν. Ο μεταβολισμός αυτών των μεγάλων σωματιδίων έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό μικρών, πυκνών σωματιδίων LDL που δύσκολα εκκαθαρίζονται και είναι περισσότερο αθηρογόνα (76).

Μεγάλος αριθμός μελετών καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι οι γυναίκες με ΣΠΩ έχουν αυξημένο επιπολασμό υπέρτασης. Πιθανοί μηχανισμοί της υπέρτασης σε ΣΠΩ περιλαμβάνουν την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, όπως αποδεικνύεται από τα αυξημένα επίπεδα ενδοθηλίνης-1 (77) και αυξημένες συγκεντρώσεις αλδοστερόνης που σχετίζονται με αντίσταση στην ινσουλίνη (78). Ωστόσο, η παχυσαρκία, μια κοινή συνοσηρότητα με το ΣΠΩ και ένας γνωστός παράγοντας κινδύνου για υπέρταση (79). Επομένως έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον οι μελέτες που δείχνουν διαφορές στην υπέρταση μετά από προσαρμογή ως προς τον ΔΜΣ. Οι Lo et al ανέφεραν ότι οι γυναίκες με ΣΠΩ είχαν περισσότερες πιθανότητες να έχουν υπέρταση ή υψηλή αρτηριακή πίεση μετά την προσαρμογή ανά κατηγορία ΔΜΣ, ηλικία, διαβήτη και δυσλιπιδαιμία (80). Επίσης Τσέχες γυναίκες με ΣΠΩ είχαν επίσης περισσότερες πιθανότητες να έχουν υπέρταση 22% σε σύγκριση με αντίστοιχες χωρίς ΣΠΩ 2,1% και η μέση συστολική και η μέση διαστολική αρτηριακή πίεση παρέμεινε σημαντικά υψηλότερη στην ομάδα με ΣΠΩ μετά την προσαρμογή ως προς τον ΔΜΣ (81). Τέλος σε μια μελέτη στην Ολλανδία σε γυναίκες ηλικίας 45-54 ετών, ο επιπολασμός της υπέρτασης ήταν 28,1% στην ομάδα με ΣΠΩ και 11.1% στην ομάδα ελέγχου (82).

Παρά τη συνάθροιση των διαφόρων παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου σε γυναίκες με ΣΠΩ είναι σπάνιες οι μελέτες συσχέτισης του ΣΠΩ με καρδιαγγειακές εκβάσεις. Μια αναδρομική μελέτη από τους Wild και συν.(83) δεν κατάφερε να αποδείξει την ύπαρξη σημαντικής αύξησης στην επίπτωση στεφανιαίας νόσου και καρδιαγγειακής θνησιμότητας σε γυναίκες με ΣΠΩ. Ωστόσο αγγειακά εγκεφαλικά ήταν πιο συχνά στις γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών μετά από προσαρμογή ως προς τον ΔΜΣ (OR 3.4, 95% CI 1.2 - 9.6). Όσο αναφορά τον κίνδυνο θανάτου από καρδιαγγειακά οι Shaw και συν. αναφέρουν 3,3

φορές μεγαλύτερο κίνδυνο για καρδιαγγειακό θάνατο ή έμφραγμα του μυοκαρδίου σε 104 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με ιστορικό ακανόνιστης εμμήνου ρύσης και υπερανδρογοναιμία (84).

Με μεγαλύτερη συχνότητα εμφανίζεται υποκλινική αθηροσκλήρωση σε ΣΠΩ, όταν αυτή αξιολογείται με μη επεμβατικές μεθόδους όπως η μέτρηση του ασβεστίου των στεφανιαίων αρτηριών (ΑΣΑ) και του πάχους έσω-μέσου χιτώνα της καρωτίδας (ΠΕΜΧΚ). Η μέτρηση του ασβεστίου των στεφανιαίων αρτηριών είναι προγνωστική του εμφράγματος του μυοκαρδίου και του αιφνίδιου καρδιακού θανάτου (85). Η αύξηση στις βαθμολογίες ΑΣΑ που παρατηρείται στο ΣΠΩ είναι ανεξάρτητη της ηλικίας και ΔΜΣ (86-89). Η μέτρηση του πάχους έσω-μέσου χιτώνα της καρωτίδας συνδέεται θετικά με εγκεφαλικά επεισόδια και έμφραγμα του μυοκαρδίου και είναι ένας αξιόπιστος δείκτης αθηροσκλήρωσης (90). Νέες γυναίκες με ΣΠΩ έχουν μεγαλύτερο ΠΕΜΧΚ σε σχέση με γυναίκες αντίστοιχης ηλικίας και ΔΜΣ (78,91-94). Ειδικοί συστήνουν μέτρηση του ΠΕΜΧΚ σε γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών στην ηλικία των 30 ετών και κάθε 3-5 χρόνια μετά, και του ΑΣΑ μέσω αξονικής τομογραφίας από την ηλικία των 45 (95).

Γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών διατρέχουν επίσης αυξημένο κίνδυνο διαταραχών της ψυχικής υγείας όπως η κατάθλιψη (96, 97), η διπολική διαταραχή (98- 100), το άγχος (101) και οι διατροφικές διαταραχές όπως βουλιμικά επεισόδια (96).

1.5. Περίγραμμα των στρατηγικών διαχείρισης του συνδρόμου πολυκυστικών ωοθηκών

Η επιλογή της θεραπείας για τις γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών εξαρτάται από τα συμπτώματα τα οποία παρουσιάζει η ασθενής. Τα συμπτώματα συνήθως χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες: συμπτώματα που σχετίζονται με τα ανδρογόνα, διαταραχές που σχετίζονται με την έμμηνο ρύση και συμπτώματα που σχετίζονται με υπογονιμότητα(102). Οι στρατηγικές διαχείρισης αυτών των χαρακτηριστικών συμπτωμάτων του συνδρόμου χωρίζονται σε δύο βασικές στρατηγικές που αλληλοσυμπληρώνονται: α) Απώλεια βάρους με υιοθέτηση υποθερμιδικής διαίτας με ή χωρίς άσκηση και αλλαγή του τρόπου ζωής, και β) φαρμακευτική αγωγή.

1.5.1. Απώλεια βάρους με υιοθέτηση υποθερμιδικής διαίτας με ή χωρίς άσκηση και αλλαγή του τρόπου ζωής

Πολλές μελέτες έχουν αποδείξει πλέον πως η συμπτωματολογία του ΣΠΩ βελτιώνεται με την απώλεια βάρους ανεξάρτητα από την παρέμβαση στην καθημερινή ζωή. Κατ' αρχάς με τον περιορισμό στις προσλαμβανόμενες ημερήσιες θερμίδες (103- 115). Μάλιστα στη μελέτη των Holte J. και συν. (110) ακόμα και μετά από προσαρμογή ως προς τον ΔΜΣ η απώλεια βάρους βελτίωσε την συμπτωματολογία του ΣΠΩ. Τυχαιοποιημένες δοκιμές με διαφορετικές διατροφικές παρεμβάσεις και με αλλαγές στον τρόπο ζωής (116- 120), επίσης έδειξαν βελτίωση της συμπτωματολογίας. Τέλος άλλες μελέτες χωρίς θερμιδικό περιορισμό αλλά με προσαρμογή σε προγράμματα εκγύμνασης και τρόπου ζωής (121- 128) είχαν επίσης θετική επίδραση στα συμπτώματα του συνδρόμου.

Επομένως η δίαιτα και η παρέμβαση στον τρόπο ζωής αποτελεί καθοριστικό θεραπευτικό παράγοντα στην αντιμετώπιση του ΣΠΩ και μάλιστα έχει περάσει και στις κατευθυντήριες οδηγίες της ενδοκρινολογικής εταιρείας όπως αναφέρουν οι Richard S. και συν. (129). Στις γυναίκες με ΣΠΩ η απώλεια ενδοκοιλιακού λίπους και όχι υποδόριου έχει συσχετιστεί με αποκατάσταση της ωορρηξίας (130). Όσο αναφορά το ποσοστό απώλειας βάρους που απαιτείται πολλές μικρές μη τυχαιοποιημένες μελέτες έδειξαν όφελος με απώλεια βάρους από 5 έως 15% με θερμιδικό μόνο περιορισμό (103- 115). Υπάρχουν επίσης τυχαιοποιημένες μελέτες που διερευνούν την απώλεια βάρους με παράλληλη αλλαγή στον τρόπο ζωής με ή χωρίς άσκηση. Η μεγαλύτερη από αυτές αναφέρεται σε 94 γυναίκες υπέρβαρες ή παχύσαρκες μέσης ηλικίας 29,3 ετών και μέσου ΔΜΣ 36,2 kg/m² που τυχαιοποιήθηκαν σε τρεις ομάδες: 1) 20 εβδομάδες μόνο υποθερμιδική δίαιτα (n= 31), 2) δίαιτα και αερόβια άσκηση (n= 31) και 3) δίαιτα, αερόβια άσκηση και άσκηση με αντιστάσεις (n= 33). Οι τρεις ομάδες παρουσίασαν αντίστοιχα μείωση σωματικού βάρους 8,9%, 10,6%, και 8,7% (P<0.001) (131). Ωστόσο η λιπώδης μάζα μειώθηκε περισσότερο στις δύο ομάδες που είχαν και άσκηση (P≥0.03). Όλες οι ομάδες είχαν βελτίωση στα επίπεδα τεστοστερόνης, στην υπέρταση, στην συνολική χοληστερόλη, στα επίπεδα LDL-c και τριγλυκεριδίων, στην ινσουλίνη και στην γλυκόζη νηστείας. Δεν υπήρξαν διαφορές στην βελτίωση αυτών των παραμέτρων μεταξύ των ομάδων (131). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχει η διαφορετική ανταπόκριση στην απώλεια βάρους των υπέρβαρων και παχύσαρκων γυναικών με ΣΠΩ. Σε προοπτική παρεμβατική μελέτη 65 γυναίκες με ΣΠΩ μέσης ηλικίας 22,5-23,7 χρονών και μέσω ΔΜΣ 33,3- 36,2 kg/m² για έξι μήνες ακολούθησαν δίαιτα 1200 με 1400 θερμίδων ημερησίως και στη συνέχεια ακολούθησαν λιγότερο περιοριστική δίαιτα με ταυτόχρονη όμως έναρξη φυσικής δραστηριότητας (132). Οι γυναίκες παρακολουθήθηκαν για 20,4 ± 12,5 μήνες και τα αποτελέσματα μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε τρεις κατηγορίες: 1) Η ομάδα γυναικών με

ανθεκτικό ΣΠΩ στην οποία ανήκει το 15,4% και οι οποίες δεν παρουσίασαν σημαντικές βελτιώσεις στην υπερτρίχωση, στα επίπεδα ανδρογόνων ή στην ομαλοποίηση του κύκλου τους, 2) η ομάδα των γυναικών με μερική ανταπόκριση, το 47,7% του συνόλου, που αν και δεν είχαν βελτίωση στην υπερτρίχωση είχαν ομαλοποίηση του κύκλου τους και 3) η ομάδα με της πλήρους ανταπόκρισης, το υπόλοιπο 36,9%, που παρουσίασαν απόλυτη εξάλειψη του συνδρόμου (132). Το ποσοστό απώλειας βάρους δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των ομάδων (12,7 kg, 15,3 kg, και 14,1 kg, αντίστοιχα), υποδεικνύοντας διαφορετικές ανταποκρίσεις των υπέρβαρων και παχύσαρκων γυναικών με ΣΠΩ ανεξάρτητα από το ποσοστό απώλειας βάρους. Επιπλέον κατευθυντήριες οδηγίες της Androgen Excess and Polycystic Ovary Syndrome Society για την αντιμετώπιση της παχυσαρκίας σε γυναίκες με ΣΠΩ, δημοσιεύτηκαν το 2009 και δεν έχουν αναθεωρηθεί ως σήμερα. Σύμφωνα με αυτές, οι αλλαγές του τρόπου ζωής πρέπει να χρησιμοποιούνται ως κύρια θεραπεία σε υπέρβαρες και παχύσαρκες γυναίκες με PCOS για την αντιμετώπιση των μεταβολικών διαταραχών (133). Στον πίνακα 3 συνοψίζονται αυτές οι κατευθυντήριες οδηγίες:

Πίνακας 3. Κατευθυντήριες οδηγίες για αλλαγές του τρόπου ζωής σε γυναίκες με ΣΠΩ (133)
Οι αλλαγές του τρόπου ζωής πρέπει να αποτελούν το πρώτο βήμα της αντιμετώπισης, συνδυάζοντας συμπεριφορικές αλλαγές (μείωση ψυχοκοινωνικών στρεσογόνων παραγόντων), αλλαγές στη διατροφή και αύξηση της σωματικής δραστηριότητας.
Οι υποθερμιδικές δίαιτες (θερμιδικό έλλειμμα 500-1000 kcal /ημέρα) είναι αποτελεσματικές για απώλεια βάρους και μπορούν να μειώσουν το σωματικό βάρος 7-10% σε 6-12 μήνες.
Η διατροφή που πρέπει να ακολουθούν οι γυναίκες με PCOS πρέπει να είναι επαρκής σε θρεπτικά συστατικά και πρέπει να είναι χαμηλή σε ολικό και κορεσμένο λίπος (<30% και <10% της συνολικής ενέργειας αντίστοιχα) και να χαρακτηρίζεται από υψηλή κατανάλωση αμυλούχων τροφίμων ολικής άλεσης, φρούτων και λαχανικών.
Εναλλακτικές διαιτητικές προσεγγίσεις (αυξημένη πρόσληψη πρωτεΐνης, επιλογή τροφών με χαμηλό γλυκαιμικό δείκτη, μειωμένη πρόσληψη υδατανθράκων) μπορεί να είναι επιτυχείς για τη μείωση και τη διατήρηση του σωματικού βάρους. Παρόλα αυτά, απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση.
Η σωστή δομή και η υποστήριξη ενός προγράμματος διαχείρισης του σωματικού βάρους

είναι απαραίτητες και ίσως και πιο σημαντικές από τη σύσταση της δίαιτας από μόνη της. Η εξατομίκευση του προγράμματος, η εντατική παρακολούθηση και η υποστήριξη από το κοινωνικό περιβάλλον φαίνεται να βελτιώνουν τη συμμόρφωση.

Ένα δομημένο πρόγραμμα σωματικής δραστηριότητας >30 λεπτά/ημέρα πρέπει να αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι της προσπάθειας απώλειας σωματικού βάρους.

1.5.2. Φαρμακευτική θεραπεία

1.5.2.1. Συμπτωμάτων που σχετίζονται με ανδρογόνα

Τα πιο κοινά συμπτώματα των ανδρογόνων που συνδέονται με το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών είναι η ακμή, η υπερτρίχωση και η αλωπεκία. Τα συμπτώματα ποικίλουν από ασθενή σε ασθενή. Μερικοί ασθενείς παρουσιάζουν μόνο ένα ή δύο συμπτώματα, ενώ μικρός αριθμός ασθενών παραπονούνται και για τα τρία. Συνήθως, η λήψη από το στόμα αντισυλληπτικών (ΑΤΣΑ) είναι η πρώτη γραμμής φαρμακευτική θεραπεία της υπερτρίχωσης σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (102). Οι γυναίκες χρησιμοποιούν συχνά αποτρίχωση με λέιζερ και άλλες επιλογές μηχανικής αποτρίχωσης γιατί οι φαρμακευτικές θεραπείες δεν έχουν τα επιθυμητά αποτελέσματα (134). Χρειάζονται τουλάχιστον 6 μήνες θεραπείας για να υπάρξουν αποτελέσματα, λόγω του κύκλου ανάπτυξης της τρίχας (6). Αντιανδρογόνα μπορούν να προστεθούν εάν δεν παρουσιαστεί βελτίωση μετά από 6 μήνες θεραπείας.

ΑΤΣΑ και αντιανδρογόνα είναι και τα δύο αποτελεσματικά στη θεραπεία της ακμής (108). Σε σοβαρή ακμή, η ισοτρετινοΐνη μπορεί να προσφέρει οφέλη σε κάποιες ασθενείς (6). Υπάρχουν περιορισμένα δεδομένα για τη θεραπεία της αλωπεκίας, παραταύτα χρησιμοποιούνται ΑΤΣΑ και αναστολείς ανδρογόνων (102).

Ο συνδυασμός αντιανδρογόνων με από το στόμα αντισυλληπτικά χάπια ΑΤΣΑ είναι μια καλή επιλογή θεραπείας για τις ασθενείς που δεν επιθυμούν να μείνουν έγκυες, και συχνά θεωρούνται πρώτη γραμμής θεραπεία για την υπερτρίχωση και την ακμή. Ο συνδυασμός αυτός προκαλεί αρνητική ανάδραση για την παραγωγή της LH, προκαλώντας έτσι μειωμένη σύνθεση των ανδρογόνων από τις ωοθήκες.

Άλλοι μηχανισμοί με τους οποίους ο συνδυασμός αντιανδρογόνων και ΑΤΣΑ προκαλεί μείωση ανδρογόνων είναι: 1) μείωση των κυκλοφορούντων επιπέδων των ελεύθερων ανδρογόνων με την αύξηση της παραγωγής SHBG στο ήπαρ, 2) μείωση της έκκρισης ανδρογόνων από τα επινεφρίδια και 3) αναστολή περιφερικής μετατροπής της τεστοστερόνης σε διυδροτεστοστερόνη και δέσμευσης της διυδροτεστοστερόνης σε ανδρογονικούς υποδοχείς. Τα προγεσταγόνα έχουν ποικίλους βαθμούς ανδρογόνου δράσης. Τα νεότερα ΑΤΣΑ τυπικά περιέχουν λιγότερες προγεστίνες όπως νορεθινδρόνη, δεσογκεστρέλη και νορελγκεστρομίνη (102).

Η δροσπιρενόνη είναι μια νεότερη προγεστίνη που λειτουργεί σαν ανταγωνιστής υποδοχέων ανδρογόνων και είναι ανάλογο της σπιρονολακτόνης. Με προσοχή θα πρέπει να χρησιμοποιείται σε ασθενείς με αυξημένο κίνδυνο υπερκαλιαιμίας, και το κάλιο θα πρέπει να ελέγχεται σε ασθενείς που επίσης λαμβάνουν σπιρονολακτόνη (102,134). Η διενογέστη είναι μια άλλη νεότερη προγεστερόνη που έχει αντιανδρογόνο δράση (102). Δεν υπάρχει καμία οριστική απόδειξη ότι υπάρχουν διαφορές στην αποτελεσματικότητα μεταξύ χαμηλών δόσεων συνδυασμού αντιανδρογόνων και ΑΤΣΑ. Αν και υπάρχουν κίνδυνοι, τα οφέλη φαίνεται να υπερτερούν των κινδύνων στην πλειονότητα των ασθενών με ΣΠΩ (6).

Η σπιρονολακτόνη, ένας ανταγωνιστής της αλδοστερόνης, είναι ένα αντιανδρογόνο που δρα κυρίως συνδεόμενη ανταγωνιστικά στους ανδρογονικούς υποδοχείς. Αναστέλλει επίσης τη στεροειδογένεση στις ωθήκες και στα επινεφρίδια, αναστέλλει άμεσα την δρατικότητα της 5-α-αναγωγάσης, και ανταγωνίζεται τους υποδοχείς ανδρογόνων στα τριχοθυλάκια (102,134). Συνταγογραφούνται συνήθως δόσεις των 25-200 mg σε μία έως δύο διαιρεμένες ημερήσιες δόσεις (135). Επειδή, όταν χρησιμοποιείται ως μονοθεραπεία μπορεί να προκαλέσει διαταραχές του εμμηνορρυσιακού κύκλου και έχει τον κίνδυνο, σε περίπτωση εγκυμοσύνης, θηλεοποίησης του αρσενικού εμβρύου, χρησιμοποιείται συνήθως σε συνδυασμό με ΑΣΑΧ για τη θεραπεία των συμπτωμάτων που σχετίζονται με το ΣΠΩ (102,134). Επειδή η σπιρονολακτόνη μπορεί να προκαλέσει υπερκαλιαιμία, θα πρέπει να χρησιμοποιείται με προσοχή σε ασθενείς με επηρεασμένη νεφρική λειτουργία (134).

Η φιναστερίδη είναι ένα αντιανδρογόνο που αναστέλλει ανταγωνιστικά την 5-α-αναγωγάση στην περιφέρεια και στο ήπαρ με αποτέλεσμα την αναστολή της μετατροπής της τεστοστερόνης σε διυδροτεστοστερόνη και μείωση των επιπέδων της διυδροτεστοστερόνης στον ορό (134,135). Λόγω του κινδύνου της θηλεοποίησης αρσενικού εμβρύου σε περίπτωση εγκυμοσύνης οι ασθενείς που λαμβάνουν φιναστερίδη πρέπει να χρησιμοποιούν επαρκή

αντισύλληψη, με ΑΤΣΑ αλλά και ως μια επιλογή που θα μπορούσε ενδεχομένως να προσφέρει συνεργική δράση (102,134).

Η μετφορμίνη και οι θειαζολιδινεδιόνες μειώνουν τα επίπεδα ινσουλίνης βελτιώνοντας την ευαισθησία στην ινσουλίνη, γεγονός που με τη σειρά του μπορεί να μειώσει τα επίπεδα των κυκλοφορούντων ανδρογόνων (102). Επιπλέον, οι παράγοντες αυτοί έχουν ρόλο στη θεραπεία του συνδρόμου, λόγω του γεγονότος ότι οι γυναίκες με ΣΠΩ είναι σε αυξημένο κίνδυνο αντίστασης στην ινσουλίνη, και με τη σειρά του στην ανάπτυξη μεταβολικών διαταραχών και καρδιαγγειακών νοσημάτων (134). Η μετφορμίνη προτιμάται αυτή τη στιγμή γιατί φαίνεται να έχει την ασφαλέστερη σχέση κινδύνου-οφέλους, γιατί μπορεί να προκαλέσει απώλεια βάρους, ενώ οι θειαζολιδινεδιόνες μπορεί να αυξήσουν το βάρος, ως αποτέλεσμα της κατακράτησης υγρών (134).

Η εφλορνιθίνη είναι μια τοπική κρέμα που έχει εγκριθεί από τον Αμερικανικό Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων για την αφαίρεση των ανεπιθύμητων τριχών προσώπου σε γυναίκες (102,134). Η εφλορνιθίνη αναστέλλει το ένζυμο αποκαρβοξυλάση της ορνιθίνης στο δέρμα, η οποία αναστέλλει την κυτταρική διαίρεση και συνθετικές λειτουργίες, μειώνοντας έτσι το ποσοστό ανάπτυξης των τριχών. Θα πρέπει να χρησιμοποιείται δύο φορές ημερησίως με απόσταση τουλάχιστον οκτώ ωρών στα σημεία του προσώπου που έχουν το πρόβλημα (102, 135).

1.5.2.2. Θεραπεία των διαταραχών που σχετίζονται με την εμμηνόρροια

Μαζί με τις αναφορές των ασθενών για διαταραχές του εμμηνορρυσιακού κύκλου, η συχνά χρόνια ανωορρηξία που σχετίζεται με το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο ενός ασθενούς για υπερπλασία του ενδομητρίου και καρκίνο. Χρησιμοποιώντας είτε κυκλική προγεστερόνη ή μια χαμηλή δόση συνδυασμού ορμονικών αντισυλληπτικών (ΣΟΑ) που περιέχουν οιστρογόνα και προγεστερόνη μπορούν να βοηθήσουν στην αναστολή της υπερπλασίας του ενδομητρίου (102). Η χαμηλή δόση ΣΟΑ είναι η κύρια συνιστώμενη θεραπευτική επιλογή για τις διαταραχές της εμμήνου ρύσεως στο ΣΠΩ (134).

Η απώλεια βάρους μπορεί να βελτιώσει τα επίπεδα κυκλοφορούντων ανδρογόνων, προσφέροντας και άλλα μεταβολικά οφέλη στις ασθενείς με ΣΠΩ (108). Τα οφέλη της απώλειας βάρους μπορεί να γίνουν εμφανή με την απώλεια 5% του αρχικού σωματικού βάρους (134). Μία επιπλέον θεραπεία που κερδίζει δημοτικότητα είναι ο βελονισμός. Τα

κύρια οφέλη που έχουν προταθεί με το βελονισμό είναι μειωμένη υπερανδρογοναιμία και βελτιωμένη ρύθμιση της έμμηνης ρύσης (102,136).

1.5.2.3. Θεραπεία της υπογονιμότητας

Η απώλεια βάρους συστήνεται ως θεραπεία πρώτης γραμμής για τη διαχείριση της υπογονιμότητας σε υπέρβαρες και παχύσαρκες γυναίκες με ΣΠΩ. Η ανωορρηξία (137) και η διακοπή της εγκυμοσύνης (138) συνδέονται με την παχυσαρκία. Επιπλέον, η παχυσαρκία σχετίζεται με μειωμένη ανταπόκριση στις θεραπείες γονιμότητας, συμπεριλαμβανομένων κιτρική κλομιφαίνη, γοναδοτροπίνες (139,140), (141,142) και λαπαροσκοπική διαθερμία ωοθηκών (143). Μελέτες παρατήρησης δείχνουν ότι η απώλεια βάρους κατά 5% -10% μπορεί να αυξήσει την ωορρηξία και τις εγκυμοσύνες (144). Η βαριατρική χειρουργική έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνει την κανονικότητα του κύκλου, αυξάνει την ωορρηξία, και την αυθόρμητη σύλληψη (145-147).

Η κιτρική κλομιφαίνη είναι το φάρμακο πρώτης επιλογής για την πρόκληση ωορρηξίας σε γυναίκες με ΣΠΩ (148). Η κιτρική κλομιφαίνη είναι ένας μερικώς εκλεκτικός ρυθμιστής υποδοχέα οιστρογόνου. Η αντιοιστρογονική δραστικότητά της στον υποθάλαμο προκαλεί μια αλλαγή στη συχνότητα απελευθέρωσης γοναδοτροπίνης ορμόνης (GnRH) που οδηγεί σε αυξημένη απελευθέρωση ορμόνης διέγερσης θυλακίου (FSH) από την υπόφυση. Το ποσοστό ωορρηξίας με κλομιφαίνη κυμαίνεται από 70% -85% ανά κύκλο, ενώ το ποσοστό επιτυχούς γέννησης κυμαίνεται από 50% -60% για θεραπεία μέχρι και έξι κύκλους (149). Η δόση έναρξης της κιτρικής κλομιφαίνης είναι 50 mg ανά ημέρα για 5 ημέρες αρχής γενομένης από την ημέρα 2-5 μετά το τέλος περιόδου αυθόρμητης ή προκαλούμενης από προγεστερόνη. Εάν δεν προκύψει ωορρηξία, η δόση αυξάνεται κατά 50 mg ανά κύκλο με μέγιστη δόση 150 mg / ημέρα. Ο μέγιστος αριθμός των κύκλων περιορίζεται σε έξι(148). Εάν η ωορρηξία δεν μπορεί να προκληθεί σε δόσεις των 150 mg / ημέρα, ο ασθενής θεωρείται ότι είναι ανθεκτικός στην κλομιφαίνη. Η μη επίτευξη εγκυμοσύνης μετά από έξι κύκλους ωορρηξίας κατατάσσεται ως αποτυχία στην κλομιφαίνη (150).

Η μετφορμίνη είναι ένα διγουανίδιο που χρησιμοποιείται ευρύτατα ως αντιυπεργλυκαιμικός παράγοντας. Έχει εκτεταμένα αξιολογηθεί στην υπογονιμότητα που συνδέεται με το ΣΠΩ. Στα συμπεράσματα του ESHRE/ASRM το 2008 αναφέρεται ότι: α) η μετφορμίνη είναι λιγότερο αποτελεσματική από την κλομιφαίνη στην πρόκληση ωορρηξίας και

β) δεν υπήρχε κανένα πλεονέκτημα στην προσθήκη μετφορμίνης (148). Σε μετα-ανάλυση τυχαιοποιημένων ελεγχόμενων με εικονικό φάρμακο δοκιμών, η μετφορμίνη βελτίωσε το ποσοστό εγκυμοσύνης, όχι όμως και το ποσοστό γεννήσεων (151).

Ωστόσο, σε μια πρόσφατη πολυκεντρική, τυχαιοποιημένη, διπλή-τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο μελέτη, η μετφορμίνη αύξησε τα ποσοστά γεννήσεων συγκριτικά με το εικονικό φάρμακο (41,9% έναντι 28,8%, $P = 0,014$) με το πλέον ευεργετικό αποτέλεσμα να φαίνεται στις παχύσαρκες γυναίκες (152). Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με μια άλλη μελέτη η οποία αξιολόγησε την χορήγηση μετφορμίνης για 3 μήνες πριν από την *in vitro* γονιμοποίηση ενδοκυτταροπλασματική έγχυση σπέρματος (IVF / ICSI) (153). Αν και ο ρόλος της μετφορμίνης για την πρόκληση ωορρηξίας στο ΣΠΩ ήταν περιορισμένος, αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η μετφορμίνη μπορεί να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στη βελτίωση των ποσοστών επιτυχών γεννήσεων όταν χορηγείται 3 μήνες πριν και ταυτόχρονα με τις συνήθεις θεραπείες υπογονιμότητας.

Οι αναστολές αρωματάσης εμποδίζουν την μετατροπή της τεστοστερόνης και της ανδροστενεδιόνης σε οιστρόνη και οιστραδιόλη, αντίστοιχα. Αυτή η μείωση σε οιστρογονική δράση επιτρέπει την αύξηση της FSH(154). Η λετροζόλη, ο πιο συχνά χρησιμοποιούμενος αναστολέας αρωματάσης για επαγωγή ωορρηξίας, χορηγείται σε δόσεις μεταξύ 2.5 - 7.5 mg ανά ημέρα επί 5 ημέρες αρχίζοντας την ημέρα 3 του έμμηνου κύκλου(155). Το πλεονέκτημα της λετροζόλης είναι η έλλειψη αντι-οιστρογονικής δράσης στο ενδομήτριο (156).

Μια πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση των τυχαιοποιημένων μελετών που συνέκριναν λετροζόλη με κλομιφαίνη έδειξε ότι η λετροζόλη συσχετίστηκε με υψηλότερο ποσοστό ωορρηξίας ανά άτομο. Ωστόσο, η λετροζόλη δεν αυξάνει την ωορρηξία σε κάθε κύκλο, την εγκυμοσύνη, ή το ποσοστό γεννήσεων (157).

Από την ανασκόπηση αυτή, μια μελέτη που συνέκρινε κιτρική κλομιφαίνη με λετροζόλη σε 103 πρωτοθεραπευόμενες υπογόνιμες γυναίκες με ΣΠΩ έδειξε ότι η λετροζόλη σχετίστηκε με παρόμοια ποσοστά ωορρηξίας (73,08% στην ομάδα της λετροζόλης έναντι 60,78% στην ομάδα κλομιφαίνη, $P = 0,39$), αλλά σημαντικά υψηλότερο ποσοστό εγκυμοσύνης (21,56% στην ομάδα λετροζόλη έναντι 7,84% στην ομάδα κλομιφαίνη, $P = 0.015$) (158).

Στην πιο πρόσφατη μελέτη τυχαιοποιήθηκαν 750 υπογόνιμες γυναίκες με ΣΠΩ και τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης έδειξαν ότι οι γυναίκες που έλαβαν λετροζόλη είχαν περισσότερες γεννήσεις από εκείνες που έλαβαν κλομιφαίνη (103 από 374 [27,5%] έναντι 72 από 376 [19,1%], $P = 0,007$ Αναλογία ποσοστού για επιτυχή γέννηση, 1,44 με 95% διάστημα

εμπιστοσύνης, (1.10 έως 1,87) χωρίς σημαντικές διαφορές στο ποσοστό συγγενών ανωμαλιών, αν και υπήρχαν τέσσερις σημαντικές συγγενείς ανωμαλίες στην ομάδα της λετροζόλης έναντι μίας στην ομάδα της κλομιφαίνης ($P = 0,65$). Το ποσοστό ωορρηξίας ήταν υψηλότερο με λετροζόλη παρά με κλομιφαίνη (834 από 1352 κύκλους θεραπείας [61,7%] έναντι 688 από 1425 κύκλους θεραπείας [48,3%], $P < 0.001$ (159).

Η πρόκληση ωοθυλακιωρρηξίας με γοναδοτροπίνες και η λαπαροσκοπική διάτρηση των ωοθηκών (ΛΔΩ) θεωρούνται ότι είναι δεύτερης γραμμής θεραπείες για την πρόκληση ωορρηξίας από την ESHRE / ASRM (148). Η προσέγγιση με γοναδοτροπίνη είναι λιγότερο επεμβατική και είναι η προτιμώμενη θεραπεία σε γυναίκες που δεν επιθυμούν τη χειρουργική επέμβαση. Η ΛΔΩ προτιμάται όταν η ασθενής έχει και άλλες ενδείξεις για τη χειρουργική επέμβαση ή όταν η ασθενής δεν είναι σε θέση να συμμορφωθεί με τις συχνές επισκέψεις παρακολούθησης που απαιτούνται με τη θεραπεία με γοναδοτροπίνη (160).

Ο στόχος της χορήγησης της FSH για πρόκληση ωορρηξίας είναι η ανάπτυξη ενός ωοθηλακίου. Ο κίνδυνος που σχετίζεται με την πρόκληση ωοθυλακιωρρηξίας είναι το σύνδρομο υπερδιέγερσης των ωοθηκών (ΣΥΩ). Επειδή οι γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών είναι πολύ ευαίσθητες στη δράση της FSH, συστήνεται πρωτόκολλο σταδιακής αύξησης ξεκινώντας από χαμηλή δόση (148,161). Η δόση έναρξης της FSH από 37,5 έως 50 IU ημερησίως αυξάνεται σε βήματα των 25 έως 37,5 IU σε 7-14 ημέρες μέχρι την ανάπτυξη των ωοθυλακίων.

Οι συγκεντρώσεις της οιστραδιόλης στον ορό καθώς και επαναλαμβανόμενοι υπέρηχοι χρησιμοποιούνται για την τιτλοποίηση των δόσεων της FSH και για να καθορίσει πότε πρέπει να χορηγείται ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη για να προκαλέσει ωορρηξία (162). Διακοπή συνιστάται εάν υπάρχουν περισσότερα από δύο ωοθυλάκια μεγαλύτερα από 16 mm ή ένα ωοθυλάκιο μεγαλύτερο των 16 mm και δύο άλλα ωοθυλάκια μεγαλύτερα από 14 mm (148). Μια πρόσφατη μελέτη συνέκρινε την αποτελεσματικότητα της κλομιφαίνης έναντι πρωτοκόλλου FSH για μέχρι τρεις κύκλους ως θεραπεία πρώτης γραμμής για τη θεραπεία της στειρότητας σε γυναίκες με ΣΠΩ. Ανά πρωτόκολλο ανάλυση έδειξε ότι το πρωτόκολλο χαμηλής δόσης FSH παρήγαγε ένα υψηλότερο ποσοστό εγκυμοσύνης στον πρώτο κύκλο (30% έναντι 14,6%, $p = 0,003$), ένα υψηλότερο ποσοστό εγκυμοσύνης (52,1% έναντι 41,2%, $p = 0,021$), και ένα υψηλότερο ποσοστό γέννησης (47,4% έναντι 36,9%, $P = 0,031$) 0,138. Ωστόσο, η θεραπεία κλομιφαίνη είναι πιο βολική και λιγότερο δαπανηρή από τη θεραπεία με γοναδοτροπίνη.

Η ΛΔΩ περιλαμβάνει τη χρήση λέιζερ ή ηλεκτροκαυτηρίασης ώστε να ανοίξουν τέσσερις ως δέκα οπές στην επιφάνεια και το στρώμα της ωοθήκης. Ενδείκνυται για τη θεραπεία της υπογονιμότητας σε ΣΠΩ ανθεκτικές στην κλομιφαίνη (148). Μία μόνη αγωγή έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία της ωορρηξίας εμμήνου ρύσεως στο 92% των γυναικών και σε εγκυμοσύνη σε 58%(164). Προγνωστικοί παράγοντες κακής απάντηση ΛΔΩ περιλαμβάνουν μάζα δείκτη σώματος $\geq 35 \text{ kg / m}^2$, οι συγκεντρώσεις τεστοστερόνης στον ορό $\geq 4,5 \text{ nmol / L}$, δείκτη ελεύθερων ανδρογόνων ≥ 15 , και διάρκεια στειρότητας μεγαλύτερη των 0,3 χρόνων. Συγκεντρώσεις ορού LH $\geq 10 \text{ IU / L}$ κατά την έναρξη συσχετίστηκε με σημαντικά μεγαλύτερη πιθανότητα εγκυμοσύνης (165).

Στην σύγκριση της ΛΔΩ με κλομιφαίνη ως θεραπεία πρώτης γραμμής, δεν παρατηρήθηκε διαφορά στην ωορρηξία ή την εγκυμοσύνη μεταξύ των δύο θεραπειών (166). Μια μελέτη ανασκόπηση αναφέρει ότι η ΛΔΩ σε σύγκριση με τη γοναδοτροπίνη παρουσιάζει τα ίδια ποσοστά στις κυήσεις αλλά και στις γεννήσεις χωρίς να θέτει την ασθενή σε κίνδυνο του ΣΥΩ ή πολύδυμης εγκυμοσύνης (167). Μια πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση σε σύγκριση ΛΔΩ με ή χωρίς φαρμακολογική πρόκληση ωοθυλακιωρρηξίας σε ασθενείς με ΣΠΩ ανθεκτικές στην κλομιφαίνη, δεν παρουσίασε καμία διαφορά στον ρυθμό της ωορρηξίας ή στο ποσοστό γεννήσεων μεταξύ των ομάδων. Ωστόσο, δεν υπήρξαν περιπτώσεις ΣΥΩ στην ομάδα ΛΔΩ και πολύδυμη κύηση εμφανίστηκε λιγότερο συχνά (OR 0,21, 95% CI 0,08 έως 0,58, P = 0,002) 0,143

Η εξωσωματική γονιμοποίηση (ΕΓ) συστήνεται ως θεραπεία τρίτης γραμμής για την αντιμετώπιση της υπογονιμότητας σύμφωνα με το Consensus Workshop Group του ESHRE / ASRM το 2008 στη Θεσσαλονίκη (148). Οι γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών έχουν παρόμοια ποσοστά εγκυμοσύνης, αποβολών και γεννήσεων με συμβατική ΕΓ σε σύγκριση με γυναίκες που δεν έχουν ΣΠΩ (169). Τέλος σε μια τυχαιοποιημένη, διπλή-τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο μελέτη, μετφορμίνη 500 mg τρεις φορές ημερησίως μείωσε σημαντικά τον κίνδυνο του ΣΥΩ (RR 0,28, 95% CI 0,11 -0,67) σε γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών που υποβάλλονται σε εξωσωματική γονιμοποίηση και που ήταν σε υψηλό κίνδυνο για ΣΥΩ (170).

1.5.3. Συμπεράσματα

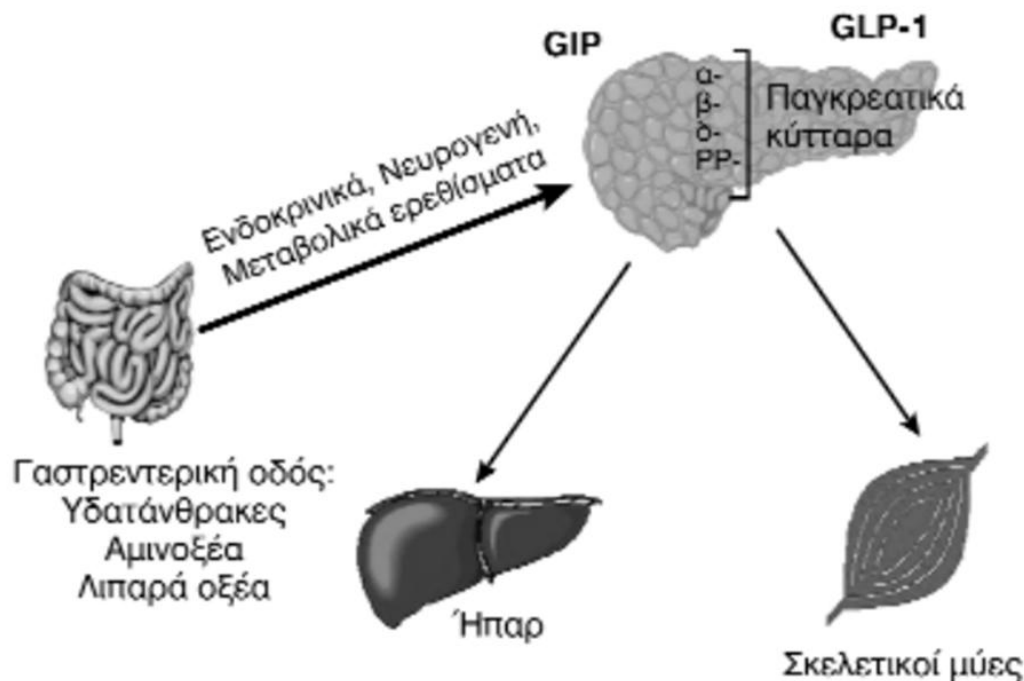
Η σωστή διάγνωση και αντιμετώπιση του ΣΠΩ είναι πολύ σημαντικά γιατί το σύνδρομο συνδέεται με καρδιαγγειακούς και μεταβολικούς κινδύνους (134). Είναι επίσης βέβαιο ότι η παθοφυσιολογία του συνδρόμου δεν έχει διευκρινιστεί (102) όμως η μείωση του βάρους ιδιαίτερα για τις υπέρβαρες και τις παχύσαρκες γυναίκες θεωρείται πρώτης γραμμής θεραπεία με σημαντικά οφέλη σε όλες τις παραμέτρους του συνδρόμου και κυρίως στην ινσουλινοαντίσταση. Αρκετές όμως μελέτες έχουν δείξει αυξημένη επίπτωση ινσουλινοαντίστασης, διαταραγμένου μεταβολισμού της γλυκόζης και σακχαρώδους διαβήτη τύπου II σε γυναίκες με ΣΠΩ και φυσιολογικό σωματικό βάρος (171-174). Για τις γυναίκες αυτές δεν είναι γνωστό ποιος είναι ο ιδανικός διαιτητικός χειρισμός που έχει τα καλύτερα αποτελέσματα και που προφανώς δεν θα πρέπει να στοχεύει στην μείωση του σωματικού βάρους. Βέβαια όσο αποσαφηνίζεται η παθοφυσιολογία του συνδρόμου τόσο και θα βελτιώνονται και οι θεραπείες. Στο πλαίσιο της διερεύνησης της παθοφυσιολογίας της αντίστασης στην ινσουλίνη που παρουσιάζεται συχνά στο σύνδρομο και που είναι κοινός παρανομαστής σε πολλές συνοσηρότητες, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει ο ρόλος ορμονών όπως οι ινκρετίνες που παίζουν σημαντικό ρόλο στην σηματοδότηση της έκκρισης ινσουλίνης.

Κεφάλαιο 2: Ινκρετίνες

Είναι γνωστό ότι η ινσουλίνη εκκρίνεται από τα β-κύτταρα του παγκρέατος ταχέως ως απάντηση στην πρόσληψη τροφής, σε συγκεντρώσεις οι οποίες σχετίζονται με την περιεκτικότητα της τροφής σε σάκχαρα, αμινοξέα και λιπαρά οξέα (175). Ωστόσο, υπάρχουν κλινικές μελέτες που δείχνουν ότι η χορήγηση του ίδιου γλυκαιμικού φορτίου από δύο διαφορετικές οδούς, από το στόμα και ενδοφλεβίως, προκαλεί διαφορετική απάντηση στην έκκριση ινσουλίνης από το πάγκρεας. Συγκεκριμένα, η από του στόματος χορήγηση του ίδιου γλυκαιμικού φορτίου προκαλεί μεγαλύτερη έκκριση ινσουλίνης σε σύγκριση με την ενδοφλέβια χορήγηση (176). Το παραπάνω οδήγησε στην υπόθεση ότι η έκκριση ινσουλίνης από τα β-κύτταρα του παγκρέατος δεν εξαρτάται μόνο από τα επίπεδα γλυκόζης πλάσματος αλλά και από πεπτίδια που εκκρίνονται από το έντερο, εισάγοντας τους όρους «εντεροϊνσουλινικός άξονας» (Εικόνα 1), «ινκρετίνες» και «φαινόμενο ινκρετινών» (175). Ο όρος «φαινόμενο ινκρετινών» αναφέρεται στην ενίσχυση της εξαρτώμενης από τα επίπεδα γλυκόζης πλάσματος έκκρισης ινσουλίνης, η οποία προκαλείται από πεπτίδια που εκκρίνονται στο έντερο και ονομάζονται ινκρετίνες. Η πρώτη παρατήρηση της επίδρασης του «φαινομένου των ινκρετινών» έγινε το 1902, ενώ το 1932 δόθηκε ο πρώτος ορισμός των ινκρετινών. Η απόδειξη του «φαινομένου των ινκρετινών» έγινε το 1964 από δύο ανεξάρτητες ερευνητικές ομάδες (176, 177). Στον άνθρωπο έχουν απομονωθεί δύο πεπτίδια που θεωρούνται υπεύθυνα για το 80% του «φαινομένου των ινκρετινών», το εξαρτώμενο από τη γλυκόζη πολυπεπτίδιο απελευθέρωσης ινσουλίνης (glucose-dependent insulinitropic polypeptide, GIP) και το προσομοιάζον με τη γλυκαγόνη πεπτίδιο-1 (glucagon-like peptide 1, GLP-1) (178,179). Και τα δύο πεπτίδια εκκρίνονται από το έντερο ως απάντηση στην πρόσληψη τροφής και επάγουν την εξαρτώμενη από τα επίπεδα γλυκόζης πλάσματος έκκριση ινσουλίνης από τα β-κύτταρα του παγκρέατος (178).

Εικόνα 1. Εντεροϊνσουλινικός άξονας

Ελληνικά διαβητολογικά χρονικά 22,1 : 25- 38 2009 Z. Mouslex



Ο εντεροϊνσουλινικός άξονας, με τον όρο αυτό περιγράφεται το σύνολο των ερεθισμάτων - μεταβολικά, νευρογενή και ορμονικά - που ξεκινούν από το λεπτό έντερο και δρουν διεγείροντας τα νησίδια του Langerhans. Ο όρος ινκρετίνη περιγράφει μόνο τους ενδοκρινικούς μεταβιβαστές που δρουν ινσουλινοτρόπα.

2.1. Σύνθεση, απελευθέρωση και αποδόμηση των ινκρετινών

Στον άνθρωπο, το πεπτίδιο GIP αποτελείται από 42 αμινοξέα και κωδικοποιείται από γονίδια που βρίσκονται στο χρωμόσωμα 17. Εκκρίνεται από τα κύτταρα K, που εντοπίζονται στα ανώτερα τμήματα του πεπτικού σωλήνα (δωδεκαδάκτυλο και εγγύς νήστιδα), ως απάντηση στην από του στόματος πρόσληψη υδατανθράκων και λιπιδίων (178). Το GLP-1 ανακαλύφθηκε το 1985, αποτελείται από 30 αμινοξέα και είναι προϊόν της μετατροπής της προγλυκαγόνης (μιας ορμόνης αποτελούμενης από 160 αμινοξέα) σε γλυκαγόνη. Η προγλυκαγόνη υφίσταται διαφορετική ενζυμική επεξεργασία σε κάθε ιστό, αποδίδοντας γλυκαγόνη στο πάγκρεας, ενώ στο κεντρικό νευρικό σύστημα τα κύρια προϊόντα είναι το GLP-1, το GLP-2 και η οξυντομοντουλίνη (παλαιότερα γνωστή ως εντερογλυκαγόνη) (180).

Πειράματα σε τρωκτικά έδειξαν ότι η περιφερική χορήγηση του GLP-1 οδηγεί σε ενεργοποίηση νευρώνων του στελέχους, δείχνοντας ότι η ανορεξιογόνος δράση του GLP-1 εξασκείται μέσω του στελέχους (180).

Αντίθετα, η δράση της οξυτομοντουλίνης διαμεσολαβείται από την ενεργοποίηση νευρώνων του τοξοειδούς πυρήνα (180). Τα γονίδια που κωδικοποιούν το GLP-1 εντοπίζονται στο χρωμόσωμα 2 (178). Το GLP-1 παράγεται από τα L κύτταρα του παχέος εντέρου (ειλεός και κόλον), ως απάντηση στην είσοδο της τροφής στον πεπτικό σωλήνα, καθώς και από τα α-κύτταρα του παγκρέατος (178). Εκτός από το παχύ έντερο, L κύτταρα βρίσκονται και σε ανώτερα τμήματα του πεπτικού σωλήνα, όπως είναι το λεπτό έντερο, και οι συγκεντρώσεις τους αυξάνονται προοδευτικά στα περιφερικότερα τμήματα. Επίσης, έχει βρεθεί ότι το GLP-1 παράγεται και σε κύτταρα περιοχών του εγκεφάλου (υποθάλαμος και υπόφυση) (178). Το GLP-1 εκκρίνεται από τα L κύτταρα σε δύο μορφές, το GLP-1 (7–37) και το GLP-1 (7–36), που μοιράζονται τις ίδιες δράσεις, δρουν στον ίδιο υποδοχέα και έχουν τον ίδιο χρόνο ημίσειας ζωής (περίπου 5 min). Έχει βρεθεί ότι η σύσταση και η μορφή της προσλαμβανόμενης τροφής επηρεάζει την έκκριση των GLP-1 και GIP (178,181). Συγκεκριμένα, τροφές πλούσιες σε υδατάνθρακες και λιπίδια προκαλούν μεγαλύτερη αύξηση των συγκεντρώσεων του GLP-1 (6–8 φορές), ενώ, αντίθετα, τροφές πλούσιες σε πρωτεΐνες δεν προκαλούν έκκριση του GLP-1. Επίσης, τροφές με υδαρή σύσταση προκαλούν μεγαλύτερη αύξηση του GLP-1 σε σύγκριση με γεύματα στερεάς σύστασης και ίδιου γλυκαιμικού φορτίου (178,181). Μελέτες έδειξαν ότι σε φυσιολογικές συνθήκες η χορήγηση μικρών, γρήγορα απορροφούμενων γευμάτων επάγει την παραγωγή και την έκκριση του GIP ενώ, αντίθετα, τροφές που περιέχουν σύνθετα συστατικά, χορηγούμενες σε μεγάλες ποσότητες, επάγουν την έκκριση του GLP-1 (178,181).

Παρά το γεγονός ότι τα L κύτταρα που παράγουν το GLP-1 βρίσκονται κυρίως στα κατώτερα τμήματα του παχέος εντέρου, έχει διαπιστωθεί ότι τα επίπεδά του αυξάνονται λίγο μόλις λεπτά μετά από την είσοδο της τροφής στον πεπτικό σωλήνα (178). Πιο συγκεκριμένα, η έκκριση του GLP-1 από τα L κύτταρα παρουσιάζει δύο φάσεις. Η πρώτη φάση αρχίζει αμέσως μετά από την πρόσληψη της τροφής και διαρκεί 30–60 min, ενώ η δεύτερη χαρακτηρίζεται από παρατεταμένη έκκριση του GLP-1 και είναι διάρκειας 60–120 min (178).

Από τα παραπάνω φαίνεται ότι η πρώτη φάση έκκρισης του GLP-1 είναι το αποτέλεσμα της επίδρασης νευροενδοκρινικών παραγόντων που εκκρίνονται με την είσοδο της τροφής στο πεπτικό σύστημα, ενώ η δεύτερη είναι το αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης της τροφής με τα L κύτταρα του παχέος εντέρου (178). Σε κατάσταση νηστείας, τα επίπεδα πλάσματος των GIP και

GLP-1 είναι χαμηλά. Ωστόσο, οι συγκεντρώσεις τους αυξάνονται ταχέως μετά από την πρόσληψη γεύματος (178).

Έχει βρεθεί ότι σε άτομα με φυσιολογικό σωματικό βάρος στη φάση νηστείας οι συγκεντρώσεις του GLP-1 είναι 5–10 pm/L και αυξάνονται στα 25 pm/L μετά από τη λήψη γεύματος. Η μεταγευματική αυτή αύξηση του GLP-1 αποτελεί τον κυριότερο ρυθμιστή της έκκρισης ινσουλίνης από τα β-κύτταρα του παγκρέατος (178). Και τα δύο πεπτίδια, με την είσοδό τους στην κυκλοφορία, διασπώνται πολύ γρήγορα από το ένζυμο διπεπτιδυλπεπτιδάση 4 (dipeptidyl peptidase 4, DPP-4), με αποτέλεσμα ο χρόνος ημίσειας ζωής τους να είναι ιδιαίτερα μικρός (5–7 min για το GIP και 1–2 min για το GLP-1) (181). Το ένζυμο DPP-4 ανακαλύφθηκε το 1995, εντοπίζεται στην ψηκτροειδή παρυφή του εντερικού βλεννογόνου, στο νεφρικό επιθήλιο, στο ενδοθήλιο των τριχοειδών, καθώς και σε διαλυτή μορφή στην κυκλοφορία. Μετά την ταχεία διάσπασή τους από το ένζυμο DPP-4, οι μεταβολίτες των GIP και GLP-1 αποβάλλονται μέσω των νεφρών (181). Η δράση των GIP και GLP-1 εκδηλώνεται μέσω της σύνδεσής τους με ειδικούς υποδοχείς. Οι υποδοχείς του GIP εκφράζονται στα κύτταρα του παγκρέατος, του εντέρου, του λιπώδους ιστού, της καρδιάς, καθώς και σε περιοχές του εγκεφάλου (178). Οι υποδοχείς του GLP-1 εκφράζονται στα κύτταρα του γαστρεντερικού συστήματος, του παγκρέατος (α- και β-κύτταρα), των πνευμόνων, της καρδιάς και περιοχών του εγκεφάλου (182). Η σύνδεση του GLP-1 με τον υποδοχέα του (GLP-1-R) προκαλεί αύξηση του ενδοκυττάριου cAMP, ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης A, η οποία με τη σειρά της προκαλεί τη φωσφορυλίωση πρωτεϊνών, που έχει ως τελικό αποτέλεσμα την αύξηση του ενδοκυττάριου Ca^{+2} , την εκπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης και την απελευθέρωση ινσουλίνης από τα β-κύτταρα του παγκρέατος (183).

2.3. Δράσεις του GIP

Μελέτες τόσο σε ανθρώπους όσο και σε πειραματόζωα έδειξαν ότι το GIP προκαλεί την έκκριση ινσουλίνης από τα β-κύτταρα του παγκρέατος μόνον όταν τα επίπεδα γλυκόζης πλάσματος είναι υψηλά (184). Έχει βρεθεί ότι πειραματόζωα με έλλειψη του υποδοχέα του GIP παρουσιάζουν διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη και υψηλές τιμές γλυκόζης νηστείας (185). Εκτός από την έκκριση ινσουλίνης, το GIP ρυθμίζει το μεταβολισμό των λιπιδίων, προάγει τη μετατροπή των ελεύθερων λιπαρών οξέων σε τριγλυκερίδια, ενεργοποιεί τη λιποπρωτεϊνική λιπάση και επάγει τον πολλαπλασιασμό των β-κυττάρων του παγκρέατος (186). Σε αντίθεση με το GLP-1, το GIP δεν έχει κάποια επίδραση στην έκκριση γλυκαγόνης από τα α-κύτταρα του παγκρέατος, δεν επηρεάζει το ρυθμό της γαστρικής κένωσης και, το κυριότερο, δεν προκαλεί

αύξηση της μεταγευματικής έκκρισης ινσουλίνης σε άτομα με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (187).

2.4. Δράσεις του GLP-1

Το GLP-1, όπως ήδη αναφέρθηκε, είναι μια ινκρετίνη με δράσεις σε πολλές περιοχές του σώματος. Οι κυριότερες από αυτές είναι οι εξής:

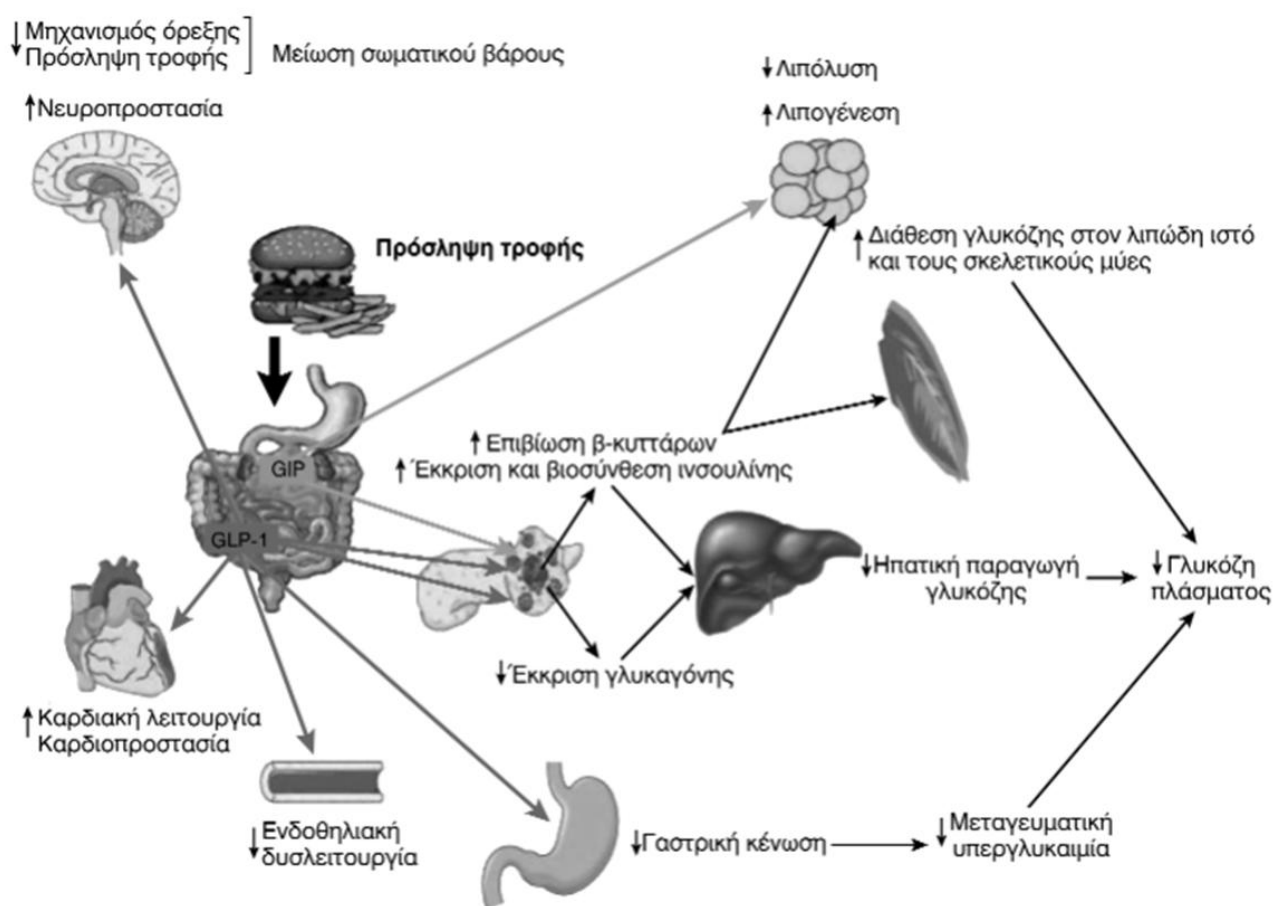
Το GLP-1 επάγει την εξαρτώμενη από τη γλυκόζη έκκριση ινσουλίνης από τα β-κύτταρα του παγκρέατος. Μελέτη σε knockout τρωκτικά με έλλειψη του GLP-1 έδειξε ότι αυτά παρουσιάζουν υψηλές τιμές γλυκόζης νηστείας και μείωση της ικανότητας έκκρισης ινσουλίνης μετά από τη λήψη τροφής (188). Είναι ιδιαίτερα σημαντικό ότι η εξαρτώμενη από το GLP-1 έκκριση ινσουλίνης καταργείται σε επίπεδα γλυκόζης πλάσματος <80 mg/dL, φαινόμενο που παρέχει προστασία έναντι της εμφάνισης υπογλυκαιμιών (178).

Έχει βρεθεί ότι το GLP-1 επάγει την έκφραση γονιδίων που κωδικοποιούν την ινσουλίνη και, επιπλέον, επάγει την έκκριση σωματοστατίνης ανεξάρτητα από τα επίπεδα γλυκόζης πλάσματος (178). Το GLP-1 καταστέλλει την έκκριση γλυκαγόνης από τα α-κύτταρα του παγκρέατος κατά τρόπο που εξαρτάται από τα επίπεδα γλυκόζης πλάσματος και συνεπώς δεν επηρεάζει τον προστατευτικό ρόλο της γλυκαγόνης στην υπογλυκαιμία (189). Το GLP-1 προκαλεί μείωση της κινητικότητας του στομάχου (189). Η χορήγηση του GLP-1 σε υγιή άτομα προκάλεσε μια δόσοεξαρτώμενη μείωση του ρυθμού της γαστρικής κένωσης και της απορρόφησης των συστατικών της τροφής, με αποτέλεσμα τη μείωση των μεταγευματικών επιπέδων γλυκόζης πλάσματος και συνεπώς και των αναγκών σε ινσουλίνη (190). Η δράση αυτή του GLP-1 είναι ιδιαίτερα σημαντική σε παθολογικές καταστάσεις, όπως είναι ο ΣΔΤ2, όπου η μείωση του ρυθμού γαστρικής κένωσης ενδέχεται να έχει ευνοϊκά αποτελέσματα στα μεταγευματικά επίπεδα γλυκόζης πλάσματος (190). Το GLP-1 μειώνει την πρόσληψη θερμίδων και προκαλεί γρήγορο κορεσμό. Σε υγιή άτομα, η ενδοφλέβια χορήγηση GLP-1 προκάλεσε την αύξηση του αισθήματος κορεσμού και τη μείωση της πρόσληψης τροφής (191). Σε ασθενείς με ΣΔΤ2, η χορήγηση για 6 εβδομάδες του GLP-1 προκάλεσε μείωση της πρόσληψης τροφής με συνακόλουθη μείωση του σωματικού βάρους (192). Μια άλλη σημαντική ιδιότητα του GLP-1 είναι η αύξηση της μάζας των β-κυττάρων του παγκρέατος. Μια μελέτη έδειξε ότι θεραπεία διάρκειας 10 ημερών σε τρωκτικά που είχαν υποστεί υφολική παγκρεατεκτομή (κατά 90%) με το ανάλογο του GLP-1, exendin-4, προκάλεσε αύξηση της μάζας των β-κυττάρων κατά 40% (193). Έχει βρεθεί ότι το GLP-1 ελέγχει τη μεταγραφή συγκεκριμένων γονιδίων που ευθύνονται για τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των β-κυττάρων του παγκρέατος και

καταστέλλουν την απόπτωσή τους, καθώς και γονιδίων που ρυθμίζουν τη μεταγραφή του υποδοχέα GLUT-1 (193). Οι ιδιότητες αυτές του GLP-1 το καθιστούν ιδιαίτερα χρήσιμο στη διατήρηση της μάζας των β-κυττάρων σε ασθενείς με ΣΔΤ2. Τέλος, αποτελέσματα μελετών έδειξαν αυξημένη μεταγευματική απόκριση του GLP-1 μετά από επεμβάσεις γαστρικής παράκαμψης (τύπου Roux-en-Y), η οποία συνοδευόταν από ενίσχυση του αισθήματος κορεσμού, δείχνοντας τη συμμετοχή των χαμηλών επιπέδων GLP-1 στην παθογένεια της παχυσαρκίας (194).

Σχηματικά οι δράσεις των ινκρετινών απεικονίζονται στην παρακάτω εικόνα 2.:

Εικόνα 2, σχηματική απεικόνιση των δράσεων των ινκρετινών



Ελληνικά διαβητολογικά χρονικά 22,1 : 25- 38 2009 Z. Mouslex

2.5. Συγκεντρώσεις GIP και GLP-1 σε γυναίκες με ΣΠΩ

Μόνο λίγες μελέτες έχουν διερευνήσει το μοτίβο έκκρισης GLP-1 σε γυναίκες με ΣΠΩ. Στην πρώτη μελέτη, οι Gama και συν. (195) μέτρησαν τα επίπεδα στο πλάσμα του GIP και του GLP-1, μετά από την χορήγηση από το στόμα 75 g γλυκόζης (OGTT) σε επτά νορμοβαρείς γυναίκες με ΣΠΩ και οκτώ υγιείς γυναίκες. Οι καμπύλες τόσο του GIP όσο και του GLP-1 ήταν

παρόμοιες τόσο στη φάση της νηστείας όσο και μετά την χορήγηση της γλυκόζης και στις δύο ομάδες. Στη συνέχεια, μελετώντας 21 νορμοβαρείς γυναίκες με ΣΠΩ και 13 υγιείς μάρτυρες, οι Vrbíkova και συν. (196) διαπίστωσαν ότι τα επίπεδα GLP-1 ήταν παρόμοια μεταξύ των δύο ομάδων στην πρώιμη φάση της OGTT, ενώ οι ασθενείς με ΣΠΩ είχαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα κατά τη διάρκεια της τελευταίας φάσης της OGTT.

Στη μελέτη των Pontikis και συν. (197) αξιολογήθηκαν 10 παχύσαρκες και 10 νορμοβαρείς γυναίκες με ΣΠΩ μαζί με 10 νορμοβαρείς υγιείς ως ομάδα ελέγχου. Φάνηκε ότι οι παχύσαρκες γυναίκες με ΣΠΩ είχαν χαμηλότερες τιμές GLP-1 κατά τη διάρκεια της OGTT σε σύγκριση με τις νορμοβαρείς με ΣΠΩ αλλά και με την ομάδα ελέγχου.

Οι Svendsen και συν. (198) ανίχνευσαν τα επίπεδα GLP-1 σε 40 γυναίκες με ΣΠΩ (19 νορμοβαρείς και 21 παχύσαρκες) σε σύγκριση με 26 υγιείς (9 νορμοβαρείς και 17 παχύσαρκες). Οι συγκεντρώσεις των ιντεκρινών δεν διέφεραν σημαντικά στις δύο ομάδες, όμως η ανάλυση των υποομάδων έδειξε χαμηλότερη GIP επιφάνεια κάτω από την καμπύλη (Area Under the Curve) για τις παχύσαρκες με ΣΠΩ σε σύγκριση με τις υγιείς παχύσαρκες αλλά και τις νορμοβαρείς με ΣΠΩ ($P < 0,05$).

Τέλος, στην πιο πρόσφατη μελέτη των Kadriye Aydin και συν. (199) αξιολογήθηκαν 11 υγιείς και 14 με ΣΠΩ, πριν και μετά από τρεις μήνες λήψης ορμονοθεραπείας, προκειμένου να αξιολογηθεί η επίδραση της θεραπείας στις συγκεντρώσεις GLP-1. Τα αποτελέσματα έδειξαν χαμηλότερα επίπεδα GLP-1 στην αρχή της μελέτης, καθώς και καμιά διαφοροποίηση μετά την τρίμηνη λήψη ορμονοθεραπείας ανάμεσα στις δύο ομάδες.

3. Κεφάλαιο 3. Συχνότητα γευμάτων, μεταβολισμός γλυκόζης και ινκρετίνες

Συνήθως ως ξεχωριστό γεύμα ορίζεται η κατανάλωση κανονικού γεύματος ή απλά ενός σνακ που απέχει όμως από ένα άλλο τουλάχιστον κατά δεκαπέντε λεπτά (200). Ωστόσο επίσημος ορισμός δεν υπάρχει και στη βιβλιογραφία ορίζεται κάθε φορά από τους ερευνητές. Τα δημοσιευμένα στοιχεία σήμερα που συνδέουν τη συχνότητα των γευμάτων με την συνολική ημερήσια πρόσληψη θερμίδων είναι αντικρουόμενα. Σε πειραματόζωα έχει βρεθεί ότι η αυξημένη συχνότητα των γευμάτων συνδέεται και με αυξημένη θερμιδική πρόσληψη (201) γεγονός που συνάδει με παρατηρήσεις σε ανθρώπους (202).

Οι Speechly και συν. (203) αναφέρουν ότι η αυξημένη συχνότητα γευμάτων οδήγησε σε καλύτερο έλεγχο της πείνας και τελικά σε μικρότερη ημερήσια θερμιδική πρόσληψη. Οι Leidy και συν. σε ανασκόπηση του 2011 προτείνουν ότι η αύξηση της συχνότητας έχει ελάχιστη επίπτωση στην μείωση της όρεξης αλλά η μείωση της συχνότητας αυξάνει την όρεξη και την θερμιδική πρόσληψη (204).

Παρά τα αντικρουόμενα αποτελέσματα φαίνεται να υπάρχει σχετική συμφωνία πως με τον έναν ή τον άλλο τρόπο η αύξηση της συχνότητας των γευμάτων βοηθάει στον έλεγχο του βάρους και τελικά μειώνεται ο κίνδυνος παχυσαρκίας με τον αριθμό των γευμάτων (205-207). Μάλιστα η πρώτη χρονικά αναφορά στο όφελος της συχνότητας γευμάτων αναφέρθηκε από τους Fabry και συν. την δεκαετία του 1960 (208). Ωστόσο, οι Dunaï και συν. πρότειναν ότι αν υπολογίσουμε την αύξηση της δραστηριότητας που παρουσιάζει η ομάδα της αυξημένης συχνότητας γευμάτων η συσχέτιση με την παχυσαρκία παύει να έχει στατιστική σημαντικότητα (209). Η πιο πρόσφατη μετα-ανάλυση που δημοσιεύτηκε το 2016 των Yue-Qiaoetal δείχνει μια μείωση του κινδύνου παχυσαρκίας 17% με την αύξηση της συχνότητας των ημερήσιων γευμάτων (210).

Πολλές θεωρίες έχουν προταθεί για να εξηγήσουν το παραπάνω. Παραδείγματος χάριν έχει αναφερθεί ότι η αύξηση της συχνότητας βελτιώνει την ποιότητα της τροφής, μειώνει την ενεργειακή πυκνότητα της τροφής (200) και έτσι μειώνει τον ΔΜΣ (211-213). Η υψηλή συχνότητα γευμάτων συνδέεται με υψηλή πρόσληψη υδατανθράκων αλλά χαμηλή πρόσληψη θερμίδων από πρωτεΐνες και λιπίδια, λόγω μεγάλης κατανάλωσης υγιεινών σνακ όπως τα φρούτα (214,215,216). Επίσης, η μεγάλη συχνότητα γευμάτων αυξάνει και την θερμογόνο δράση της τροφής η οποία με τη σειρά της αυξάνει την κατανάλωση ενέργειας. Συνδέεται

επίσης με αυξημένη κατανάλωση θερμίδων το πρωί, γεγονός το οποίο είναι πολύ πιθανό να αυξάνει επίσης την ενεργειακή δαπάνη.

Επιδημιολογικές μελέτες δείχνουν πως η αυξημένη συχνότητα γευμάτων συνδέεται με χαμηλότερα επίπεδα γλυκόζης και ινσουλίνης καθώς και με μειωμένο κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη τύπου δύο και στεφανιαίας νόσου (217, 218). Παρεμβατικές μελέτες ωρών ή λίγων ημερών φαίνεται να συμφωνούν με τα παραπάνω όπως φαίνεται από τον πίνακα 4. Ωστόσο σε μεγαλύτερα διαστήματα παρακολούθησης τα αποτελέσματα είναι διφορούμενα. Τρεις μελέτες απώλειας βάρους (219, 220, 221) δεν κατάφεραν να βρουν κάποια συσχέτιση ανάμεσα στις συγκεντρώσεις γλυκόζης και ινσουλίνης με τη συχνότητα γευμάτων. Πρόκειται για τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές, διάρκειας από 2 μήνες μέχρι 1 έτος, οι οποίες μελέτησαν την επίδραση τριών ή τεσσάρων γευμάτων στο μεταβολισμό της γλυκόζης και της ινσουλίνης, εν συγκρίσει με αυτήν των έξι γευμάτων. Όμως οι Jenkins και συν. βρήκαν ότι σε υψηλή συχνότητα γευμάτων τα μέσα επίπεδα ινσουλίνης μειώνονται περίπου 28% (222). Επίσης σε ασθενείς με μη ινσουλινεξαρτώμενο διαβήτη τύπου δύο η αύξηση της συχνότητας γευμάτων συσχετίστηκε με βελτίωση του γλυκαιμικού προφίλ (223, 224).

Πίνακας 4. Μελέτες συσχέτισης συχνότητας γευμάτων με γλυκαιμικό προφίλ

Πληθυσμός μελέτης	Διάρκεια	Συχνότητα γευμάτων	Όρεξη	Ινσουλίνη	Γλυκόζη	Ενεργειακός μεταβολισμός	Αναφορά
Νορμοβαρείς άνδρες & γυναίκες (6)	4 ημ.	1 vs. 4	–	↓	↓	↑	J. LeBlanc (225)
Νορμοβαρείς άνδρες (20)	4 ώρ.	1 vs. 4	↓	↓		↓	X. Alliot (226)
Παχύσαρκοι άνδρες (20)	4 ώρ.	1 vs. 4	↓	↓		↓	X. Alliot (227)
Παχύσαρκες γυναίκες (8)	12 ώρ.	3 vs. 6	–	↓		–	T.D. Heden (228)
Υπέρβαροι και παχύσαρκοι άνδρες (13)	11 ώρ.	3 vs. 6	↓	↓	↓	–	H.J. Leidy (229)

Συνεπώς απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση, διεξάγοντας καλά σχεδιασμένες τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές με μεγαλύτερη διάρκεια και δείγμα, σε άτομα με διαταραγμένο μεταβολισμό της γλυκόζης και της ινσουλίνης για να αποδειχθεί η συσχέτιση της συχνότητας γευμάτων με το γλυκαιμικό προφίλ.

Όσο αναφορά τη συσχέτιση του μεταβολισμού της γλυκόζης και της ινσουλίνης με την συχνότητα των γευμάτων σε γυναίκες με ΣΠΩ υπάρχει μόνο μια δημοσίευση από τους Parakonstantinou και συν. (230). Πρόκειται για διασταυρούμενη τυχαιοποιημένη μελέτη με 40 γυναίκες με ΣΠΩ μέσης ηλικίας 27 ετών και μέσου ΔΜΣ 27kg/m^2 . Οι μισές ήταν παχύσαρκες ή υπέρβαρες. Το 49% ανέφερε οικογενειακό ιστορικό διαβήτη ενώ το αντίστοιχο ποσοστό επί των υπέρβαρων ή παχύσαρκων ήταν 65%. Σύμφωνα με το τεστ ανοχής γλυκόζης που έγινε με την εισαγωγή στο πρωτόκολλο καμία γυναίκα δεν είχε διαβήτη, δύο είχαν αυξημένα επίπεδα γλυκόζης νηστείας και δύο διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη. Όλες ακολούθησαν δίαιτα διατήρησης του σωματικού βάρους (40% υδατάνθρακες, 25% πρωτεΐνες και 35% λιπαρά) καταναεμημένη σε τρία ή σε έξι ημερήσια γεύματα. Στις δώδεκα εβδομάδες έγινε αμοιβαία αλλαγή στη συχνότητα των γευμάτων. Βιοχημικές αναλύσεις και τεστ ανοχής γλυκόζης πραγματοποιήθηκαν κατά την ένταξη στη μελέτη και κατά την ολοκλήρωση κάθε τρίμηνης παρέμβασης. Τα αποτελέσματα έδειξαν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα ινσουλίνης νηστείας ($p=0,03$) και καλύτερη ευαισθησία στην ινσουλίνη (Matsuda index $p=0,02$), στην ομάδα των έξι γευμάτων, διαφορές που παρέμειναν στατιστικά σημαντικές ακόμα και μετά από την προσαρμογή ως προς το οικογενειακό ιστορικό διαβήτη ($p=0,01$) ή τον ΔΜΣ ($p=0,001$). Τα σημαντικά οφέλη που προέκυψαν στην ρύθμιση των επιπέδων γλυκόζης οφείλονται, σύμφωνα με τους ερευνητές, στην διασπορά των θρεπτικών συστατικών μέσα στην ημέρα που οδήγησε σε χαμηλότερη έκκριση ινσουλίνης μείωσε την αίσθηση της πείνας και περιορίσε την ανασταλτική δράση των ελεύθερων λιπαρών οξέων στην πρόσληψη της γλυκόζης, οδηγώντας έτσι σε μείωση της συγκέντρωσής της και συνεπώς σε λιγότερη έκκριση ινσουλίνης. Ωστόσο δεν έγινε μέτρηση των επιπέδων των ιντεκρινών.

B. Σκοπός της μελέτης

Με βάση λοιπόν τα αποτελέσματα της δημοσίευσης αυτής των Papakonstantinou και συν. και λαμβάνοντας υπ' όψιν ότι σε φυσιολογικές συνθήκες η χορήγηση μικρών, γρήγορα απορροφούμενων γευμάτων επάγει την παραγωγή και την έκκριση ινκρετινών (178), που προκαλούν μείωση της κινητικότητας του στομάχου (189), δόσοεξαρτώμενη μείωση του ρυθμού της γαστρικής κένωσης και της απορρόφησης των συστατικών της τροφής, με αποτέλεσμα τη μείωση των μεταγευματικών επιπέδων γλυκόζης πλάσματος και συνεπώς και των αναγκών σε ινσουλίνη (190) παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον η μέτρηση των επιπέδων ιντεκρινών σε αυτές τις γυναίκες. Συνεπώς σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση πιθανών επιδράσεων της συχνότητας γευμάτων στα επίπεδα των ινκρετινών καθώς και στις συγκεντρώσεις ινσουλίνης και γλυκόζης σε δείγμα γυναικών με ΣΠΩ και υπό συνθήκες διατήρησης του σωματικού βάρους. Η διερεύνηση αυτή πραγματοποιήθηκε σε τυχαίο υπό-δείγμα της μελέτης των Papakonstantinou και συν.

Γ. Μεθοδολογία

1. Πληθυσμός της μελέτης

Η μελέτη αυτή αποτελεί μέρος ενός ερευνητικού πρωτοκόλλου που στόχευε στη διερεύνηση της συσχέτισης ανάμεσα στη συχνότητα γευμάτων και τις συγκεντρώσεις γλυκόζης και ινσουλίνης γυναικών με ΣΠΩ, χωρίς να υπάρχει ταυτόχρονη απώλεια βάρους. Αξιολογήθηκαν 17 γυναίκες με ΣΠΩ από τις 40 συνολικά που είχαν ενταχθεί στη δημοσιευμένη εργασία των Parakonstantinou και συν. (230). Η έγκριση για τη διεξαγωγή της μελέτης λήφθηκε από την Επιτροπή έρευνας του Επιστημονικού Συμβουλίου του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου «Αττικόν» και είναι διασταυρούμενη τυχαιοποιημένη.

Τα κριτήρια εισαγωγής στη μελέτη ήταν τα ακόλουθα:

1. Ηλικία: 17-45 ετών (προεμμηνοπαυσιακές).
2. Διάγνωση του συνδρόμου, σύμφωνα με τα διαγνωστικά κριτήρια του Rotterdam, εφόσον οι γυναίκες πληρούν 2 από τα 3 παρακάτω κριτήρια: υπερανδρογονισμός, χρόνια ανωορρηξία, πολυκυστικές ωοθήκες.
3. Απουσία ΣΔ, καρδιαγγειακών και ηπατικών νόσων.
4. Απουσία άλλων αιτιών υπερβολικής έκκρισης ανδρογόνων.

Επιπλέον, καμία από τις συμμετέχουσες δεν λαμβάνει από του στόματος αντισυλληπτικά χάπια και αντιδιαβητικά δισκία.

2. Σχεδιασμός της μελέτης και τυχαιοποίηση

Η κλινική δοκιμή αφορά γυναίκες που πληρούσαν τα κριτήρια εισαγωγής και διενεργούσαν την πρώτη τους επίσκεψη στα Εξωτερικά Ιατρεία της Β' Προπαιδευτικής Παθολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου «Αττικόν». Αφού προηγουμένως ενημερώθηκαν για τον σχεδιασμό της μελέτης, δέχθηκαν να συμμετέχουν σε αυτήν και υπέγραψαν ένα έντυπο συγκατάθεσης.

Πίνακας 4. Σχεδιασμός της μελέτης

Πρώτη επίσκεψη	Ενημέρωση Έγγραφη συγκατάθεση
Αρχή 1ης παρέμβασης	Δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη από του στόματος με 75 g γλυκόζης. Χορήγηση ισοθερμιδικής διαίτας (CHO 40%, PRO 25%, FAT 35%) με 3 ή 6 γεύματα αντίστοιχα. Καταγράφηκαν: Ατομικό και οικογενειακό ιστορικό. Ανθρωπομετρικές παράμετροι (ύψος, βάρος, περιφέρειες μέσης και ισχίων). Ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων. Ερωτηματολόγιο σωματικής δραστηριότητας (HRAQ). Ερωτηματολόγια (Δημογραφικό, γνώσεων σχετικές με τον ΣΔ)
1η-3η συνεδρία (1η, 3η, 7η, 9η εβδομάδα)	Ανθρωπομετρικές παράμετροι (βάρος, περιφέρειες μέσης και ισχίων) Ανακλήσεις 24ωρου Εκπαίδευση στα ισοδύναμα τροφίμων. Κλίμακα πείνας, κορεσμού, επιθυμίας για φαγητό.
12η εβδομάδα Αρχή 2ης παρέμβασης	Τέλος 1ης παρέμβασης. Δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη από του στόματος με 75 g γλυκόζης. Χορήγηση ισοθερμιδικής διαίτας (CHO 40%, PRO 20%, FAT 35%) με 6 ή 3 γεύματα αντίστοιχα. Ανθρωπομετρικές παράμετροι (βάρος, περιφέρειες μέσης και ισχίων). Ερωτηματολόγιο σωματικής δραστηριότητας (HRAQ).
1η-3η συνεδρία (1η, 3η, 7η, 9η εβδομάδα)	Ανθρωπομετρικές παράμετροι (βάρος, περιφέρειες μέσης και ισχίων) Ανακλήσεις 24ωρου. Κλίμακα πείνας, κορεσμού, επιθυμίας για φαγητό.
12η εβδομάδα	Τέλος 2ης παρέμβασης. Δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη από του στόματος με 75 g γλυκόζης. Ανθρωπομετρικές παράμετροι (βάρος, περιφέρειες μέσης και ισχίων). Ερωτηματολόγιο σωματικής δραστηριότητας (HRAQ).

Η κλινική δοκιμή είχε συνολική διάρκεια 6 μήνες. Πριν την έναρξη της παρέμβασης, μετά το α' τρίμηνο και κατά το τέλος της παρέμβασης, στη Μονάδα Έρευνας της Β' Προπαιδευτικής Παθολογικής Κλινικής του νοσοκομείου υποβλήθηκαν σε δοκιμασία ανοχής γλυκόζης μετά από 12ωρη νηστεία και λήφθηκε ορός ο οποίος και καταψύχθηκε για τους σκοπούς της μελέτης.

Μετά την πρώτη δοκιμασία, οι συμμετέχουσες τυχαιοποιήθηκαν σε δύο δίαιτες για χρονικό διάστημα τριών μηνών. Τα ποσοστά υδατανθράκων, πρωτεϊνών και λίπους ήταν 40%, 25% και 35% αντίστοιχα και στις δύο δίαιτες, με μόνη διαφορά τον αριθμό των γευμάτων, στα οποία έγινε κατανομή των θερμίδων και των θρεπτικών συστατικών.

Οι δύο δίαιτες είχαν την ακόλουθη δομή:

- η πρώτη δίαιτα περιείχε 3 γεύματα την ημέρα, με την ακόλουθη θερμιδική κατανομή: πρωινό 20%, μεσημεριανό 50%, βραδινό 30%
- η δεύτερη δίαιτα περιείχε 6 γεύματα την ημέρα με θερμιδική κατανομή: πρωινό 20%, δεκατιανό 10%, μεσημεριανό 30%, απογευματινό 10%, βραδινό 20%, γεύμα πριν τον ύπνο 10%.

Επίσης, οι δύο δίαιτες ήταν ισοθερμιδικές. Επειδή στόχος ήταν η διατήρηση του σωματικού βάρους ζητήθηκε στις συμμετέχουσες να μην τροποποιήσουν σημαντικά τη σωματική τους δραστηριότητα κατά το διάστημα της δοκιμής.

Μετά το τέλος του πρώτου τριμήνου και αφού επανέλαβαν τη δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη και διενεργήθηκε λήψη ορού, τους δόθηκε δεύτερη δίαιτα με τα ίδια χαρακτηριστικά, με μόνη διαφορά, εκείνες που ακολούθησαν κατά το α' τρίμηνο τη δίαιτα των 3 γευμάτων, στη β' φάση ακολούθησαν τη δίαιτα των 6 γευμάτων, ενώ εκείνες που ακολούθησαν κατά την α' φάση τη δίαιτα των 6 γευμάτων, στη φάση αυτή ακολούθησαν τη δίαιτα των 3.

Μετά από τρεις μήνες και αφού ακολούθησε η τελευταία δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη και η τελευταία λήψη ορού, ολοκληρώθηκε η κλινική δοκιμή (Ο σχεδιασμός της μελέτης παρουσιάζεται αναλυτικά στον Πίνακα 1).

3. Δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη και αιματολογικές εξετάσεις

Οι αιμοληψίες στις συμμετέχουσες στη μελέτη διενεργήθηκαν στη Μονάδα Έρευνας της Β' Προπαιδευτικής Παθολογικής Κλινικής του νοσοκομείου «Αττικόν» μέσω φλεβικού καθετήρα.

Στην αρχή γινόταν λήψη του πρώτου δείγματος αίματος (χρόνος 0) για να προσδιοριστούν τα επίπεδα γλυκόζης και ινσουλίνης νηστείας και διαφόρων βιοχημικών παραμέτρων (ολική χοληστερόλη, LDL χοληστερόλη, HDL χοληστερόλη, ηπατικά ένζυμα, γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη-HbA1c).

Στη συνέχεια ακολουθούσε η λήψη 75 γραμμαρίων γλυκόζης διαλυμένα σε ένα ποτήρι νερό. Κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας λήφθηκαν άλλα 4 δείγματα αίματος στις χρονικές στιγμές 30, 60, 90 και 120 λεπτά μετά τη λήψη του διαλύματος γλυκόζης.

Στο τέλος της δοκιμασίας, έγινε απομόνωση και διατήρηση ορού και πλάσματος σε βαθιά κατάψυξη (-80°C) για προσδιορισμό των συγκεντρώσεων των βιοχημικών παραμέτρων.

Πραγματοποιήθηκαν συνολικά 3 αιμοληψίες και δοκιμασίες ανοχής στη γλυκόζη στην αρχή (1η εβδομάδα) και στο τέλος κάθε παρέμβασης (12η και 24η εβδομάδα).

4. Ατομικό και οικογενειακό ιστορικό / Γενικές πληροφορίες

Μετά την ένταξη στη μελέτη λήφθηκε από τις συμμετέχουσες λεπτομερές ατομικό ιστορικό με έμφαση στην ηλικία διάγνωσης του συνδρόμου, στο ιστορικό σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 και στο γυναικολογικό ιστορικό (ηλικία εμμηναρχής, διάρκεια έμμηνου κύκλου, αριθμός κυήσεων και βάρος γέννησης παιδιών). Άλλες παράμετροι που αξιολογήθηκαν ήταν η λήψη φαρμακευτικής αγωγής, οι καπνιστικές συνήθειες και η κατανάλωση αλκοόλ. Τέλος, πραγματοποιήθηκε λεπτομερής καταγραφή του οικογενειακού ιστορικού, με έμφαση στο σακχαρώδη διαβήτη, στα καρδιαγγειακά νοσήματα και στις ενδοκρινοπάθειες. Τέλος, συλλέχθηκαν πληροφορίες σχετικά με την επαγγελματική δραστηριότητα, τα έτη σπουδών και το ατομικό και οικογενειακό εισόδημα της τελευταίας τριετίας.

α.Ανθρωπομετρήσεις

Το σωματικό βάρος των γυναικών μετρήθηκε:

- α) χωρίς υποδήματα,
- β) με ελαφρύ ρουχισμό,
- γ) με χρήση ζυγοσταθμισμένης ζυγαριάς Seca με ακρίβεια ± 100 g.

Το ύψος τους μετρήθηκε:

- α) χωρίς υποδήματα,

β) σε όρθια στάση και κρατώντας τους ώμους σε χαλαρή θέση, με τα χέρια να κρέμονται ελεύθερα από τους ώμους και το κεφάλι προσανατολισμένο σε οριζόντιο επίπεδο (Frankfort horizontal plane).

Από τις παραπάνω ανθρωπομετρήσεις υπολογίστηκε ο ΔΜΣ διαιρώντας το βάρος (kg) με το τετράγωνο του ύψους τους (m^2). Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (World Health Organization, 2000) οι συμμετέχουσες της μελέτης χαρακτηρίστηκαν:

- λιποβαρείς για $\Delta M \Sigma < 18,5 kg/m^2$,
- φυσιολογικού βάρους για $18,5 kg/m^2 \leq \Delta M \Sigma \leq 24,9 kg/m^2$,
- υπέρβαρες για $25 kg/m^2 \leq \Delta M \Sigma \leq 29,9 kg/m^2$,
- παχύσαρκες για $\Delta M \Sigma \geq 30 kg/m^2$.

Παράλληλα, λήφθηκαν μετρήσεις για την περιφέρεια μέσης (στο ύψος του ομφαλού) και ισχίων (μεγαλύτερη περιφέρεια στο ύψος των γλουτών) με μία μη-εκτατή ταινία με ακρίβεια $\pm 0,1$ cm. Οι μετρήσεις του βάρους και των περιφερειών έγιναν στην αρχή και στο τέλος της κάθε παρέμβασης, καθώς και στις ενδιάμεσες συνεδρίες.

5. Αξιολόγηση διατροφικών συνηθειών & διαιτητικής πρόσληψης

Προκειμένου να εκτιμηθούν οι μακροχρόνιες διαιτητικές συνήθειες των συμμετεχουσών αναφορικά με τη συχνότητα κατανάλωσης συγκεκριμένων τροφίμων, συμπλήρωσαν ένα ημιποσοτικό ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων (Food frequency questionnaire-FFQ), το οποίο στηρίζεται σε έγκυρο FFQ για ενήλικες. Στην αρχή της πρώτης παρέμβασης, οι συμμετέχουσες στη μελέτη κλήθηκαν να απαντήσουν αν καταναλώνουν τρόφιμα από συγκεκριμένες ομάδες τροφίμων (ομάδες δημητριακών, λαχανικών, φρούτων, γαλακτοκομικών, αμυλούχων, φρούτων, λαχανικών, κρέατος, οσπρίων, ψαριών, γλυκών, αλκοόλ), όπως και μεμονωμένα τρόφιμα (έτοιμα φαγητά-σνακ, ξηρούς καρπούς, αναψυκτικά, σύνθετα τρόφιμα) και με ποια συχνότητα γίνεται η κατανάλωση αυτή.

Το ερωτηματολόγιο συνοδευόταν από ένα έγχρωμο μεριδολόγιο με εικόνες τροφίμων σε δύο (μικρή, μεγάλη), τρεις (μικρή, μεσαία, μεγάλη) και τέσσερις (πολύ μικρή, μικρή, μεσαία και μεγάλη) προζυγισμένες μερίδες, έτσι ώστε να προσδιορίζει ο συμμετέχων την ποσότητα του εκάστοτε τροφίμου που καταναλώνει, δείχνοντας την αντίστοιχη εικόνα.

Από την επεξεργασία του ανωτέρω ερωτηματολογίου προέκυψαν πληροφορίες για την πρόσληψη ομάδων τροφίμων και πιο συγκεκριμένα για τις ομάδες: γαλακτοκομικών (γάλα, γιαούρτι, τυρί, τυρί από πίτσα, τυρί από πίτα και τυρί από fast food- πλήρη και άπαχα), αμυλούχων (ψωμί, παξιμάδια, φρυγανιές, δημητριακά πρωινού, ζυμαρικά, ρύζι, καλαμπόκι, ψωμί από burger, ψωμί από πίτα, ψωμί από πίτσα και πίτα από σουβλάκι – επεξεργασμένα και ολικής άλεσης), φρούτων (ωμά φρούτα και φρέσκοι φυσιικοί χυμοί), λαχανικών (σαλάτα ωμή, σαλάτα βραστή, λαδερά φαγητά, χόρτα βρασμένα, κατεψυγμένα λαχανικά και λαχανικά από πίτα), κόκκινου κρέατος (άπαχο, κρέας από σουβλάκι, κρέας από burger, παχύ, κρέας από πίτσα, αλλαντικά), γλυκών (κρουασάν, παγωτά, πάστες, κέικ, μπισκότα, σοκολάτες γάλακτος, σοκολάτες υγείας, γλυκά ταψιού και γλυκά κουταλιού), λίπους (ελαιόλαδο, βούτυρο ή μαργαρίνη, άσπρη σάλτσα ή κρέμα γάλακτος και μαγιονέζα κανονική ή μειωμένων λιπαρών) και αλκοόλ (κρασί, μπύρα και άλλα ποτά), καθώς και για μεμονωμένα τρόφιμα, όπως: ξηροί καρποί, πατάτες (τηγανιτές και βραστές/φούρνου), όσπρια, πουλερικά και κοτόπουλο από σουβλάκι, αυγά (βραστά, ομελέτα, τηγανιτά) και ψάρια (τηγανιτά και βραστά, θαλασσινά).

6. Αξιολόγηση του βαθμού υιοθέτησης της Μεσογειακής δίαιτας

Βάσει της κατανάλωσης των διαφόρων ομάδων τροφίμων που εκτιμήθηκαν μέσω του FFQ υπολογίστηκε για κάθε συμμετέχουσα ο βαθμός υιοθέτησης της μεσογειακής δίαιτας με χρήση του δείκτη MedDietScore (231). Ο δείκτης MedDietScore λαμβάνει υπόψη την κατανάλωση 9 ομάδων τροφίμων και συγκεκριμένα την κατανάλωση μη επεξεργασμένων δημητριακών (π.χ. ψωμί ολικής άλεσης), φρούτων, λαχανικών, οσπρίων, πατάτας, ψαριού, κρέατος και προϊόντων κρέατος, πουλερικών και γαλακτοκομικών προϊόντων πλήρους περιεκτικότητας σε λίπος (τυρί, γιαούρτι, γάλα), καθώς και την κατανάλωση ελαιολάδου και αλκοόλ. Ο δείκτης παίρνει τιμές από 0 έως 55 και υψηλότερη βαθμολόγηση συνεπάγεται με μεγαλύτερη προσκόλληση στη Μεσογειακή δίαιτα.

7. Αξιολόγηση σωματικής δραστηριότητας

Άλλη μία παράμετρος που εκτιμήθηκε ήταν η σωματική δραστηριότητα των συμμετεχόντων με τη χρήση ερωτηματολογίου φυσικής δραστηριότητας HPAQ (the Harokopio Physical Activity Questionnaire), το οποίο έχει αξιολογηθεί για την αξιοπιστία του από το

εργαστήριο Κλινικής Διαιτολογίας και Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου (232). Το HPAQ συγκεντρώνει τις πληροφορίες για τη σωματική δραστηριότητα του ατόμου κατά τη διάρκεια των 7 προηγούμενων ημερών, κατόπιν αυτό-αναφοράς. Καταγράφονται οι ώρες που δαπανώνται σε δραστηριότητες ελαφριάς, μέτριας και υψηλής έντασης, καθώς και η διάρκεια ύπνου.

Το ερωτηματολόγιο βασίζεται στον υπολογισμό των μεταβολικών ισοδυνάμων (MET) όλων των δραστηριοτήτων της προηγούμενης εβδομάδας, συμπεριλαμβανομένων των δραστηριοτήτων της δουλειάς, του ελεύθερου χρόνου και της ανάπαυσης ή του ύπνου. Με αυτό τον τρόπο, μπορεί να εκτιμηθεί το μέσο επίπεδο σωματικής δραστηριότητας του ατόμου.

Οι συμμετέχουσες συμπλήρωσαν το HPAQ στην αρχή και στο τέλος της κάθε παρέμβασης (συνολικά 3 φορές).

8. Ενδιάμεσες συνεδρίες

Κατά τη διάρκεια των παρεμβάσεων, προγραμματίζονταν ενδιάμεσες συνεδρίες για όλες τις συμμετέχουσες της μελέτης. Επισκέπτονταν τα Εξωτερικά Ιατρεία της Β' Προπαιδευτικής Παθολογικής Κλινικής του νοσοκομείου συνολικά 4 φορές κατά τη διάρκεια της κάθε παρέμβασης αντίστοιχα (1η, 3η, 7η και 9η εβδομάδα).

Σε αυτές τις συνεδρίες:

- πραγματοποιούνταν ανθρωπομετρήσεις (σωματικό βάρος και περιφέρειες μέσης/ισχίων),
- γινόταν εκτίμηση της διαιτητικής πρόσληψης με ανάκληση 24ώρου και
- συμπληρωνόταν ένα ερωτηματολόγιο πείνας, κορεσμού και επιθυμίας για φαγητό (παρατίθεται στο Παράρτημα).

Το ερωτηματολόγιο περιελάμβανε 3 ερωτήσεις:

- Πόσο πεινασμένη νιώθατε;
- Πόσο χορτασμένη νιώθατε;
- Πόσο μεγάλη ήταν η επιθυμία σας για φαγητό;

Αφορούσε το διάστημα από την προηγούμενη συνεδρία, μέχρι την επόμενη. Κάτω από την κάθε ερώτηση υπήρχε μία κλίμακα από το 0 μέχρι το 10. Οι εθελόντριες της μελέτης βαθμολογούσαν την κάθε ερώτηση με τον αριθμό που κατά τη γνώμη τους τις αντιπροσώπευε καλύτερα.

Στο τέλος κάθε παρέμβασης υπολογίστηκε ο μέσος όρος των απαντήσεων για την κάθε ερώτηση. Αν το σωματικό βάρος κάποιας συμμετέχουσας είχε αυξηθεί ή μειωθεί αντίστοιχα, προσαρμοζόταν το ενεργειακό περιεχόμενο της δίαιτας που της είχε δοθεί στην αρχή προκειμένου να διατηρηθεί το σωματικό τους βάρος.

Την πρώτη εβδομάδα μετά την αρχή της πρώτης παρέμβασης πραγματοποιήθηκε εκπαίδευση στα ισοδύναμα τροφίμων, για να είναι σε θέση οι εθελόντριες να αντικαθιστούν τα τρόφιμα του διαιτολογίου που τους είχε, αρχικά, δοθεί, με τρόφιμα παρόμοιας σύστασης σε μακροθρεπτικά συστατικά και ενέργεια.

9. Βιοχημικές αναλύσεις και υπολογισμοί

Οι αναλύσεις των βιοχημικών εξετάσεων (λιπίδια, ηπατικά ένζυμα, HbA1c) πραγματοποιήθηκαν στη Μονάδα Έρευνας της Β' Προπαιδευτικής Κλινικής του νοσοκομείου, με τη χρήση κατάλληλων βιοχημικών αναλυτών στην αρχή και στο τέλος της κάθε παρέμβασης.

Οι τιμές της γλυκόζης και της ινσουλίνης στο πλάσμα για τις 5 διαφορετικές χρονικές στιγμές του OGTT προσδιορίστηκαν με χρήση κατάλληλων μεθόδων στο Εργαστήριο Βιολογίας, Βιοχημείας και Φυσιολογίας του Ανθρώπου και των Μικροοργανισμών του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου στην αρχή και στο τέλος της κάθε παρέμβασης.

Πιο συγκεκριμένα οι τιμές της γλυκόζης προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο GOD/PAP, με χρήση αντιδραστηρίων προσδιορισμού σακχάρου της εταιρίας BIOSIS (Βιοτεχνολογικές εφαρμογές Ε.Π.Ε., Άγιος Δημήτριος, Αθήνα. Οι τιμές της ινσουλίνης προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο Elisa, με χρήση του Human Insulin Elisa kit της εταιρίας Invitrogen (Invitrogen corporation, life technologies, Frederick, USA). Ο συντελεστής μεταβλητότητας εντός του ίδιου προσδιορισμού και ο συντελεστής μεταβλητότητας μεταξύ διαφορετικών προσδιορισμών για την ινσουλίνη ήταν <6% και <9 % αντίστοιχα.

Τέλος, με τη μέθοδο ELISA υπολογίστηκαν οι συγκεντρώσεις των GIP και GLP-1 (Merk Millipore, Darmstadt, Germany).

10. Αξιολόγηση βαθμού προσκόλλησης στην παρέμβαση

Για την εκτίμηση του βαθμού προσκόλλησης στην παρέμβαση πραγματοποιήθηκαν ανακλήσεις 24ώρου στις 4 συνεδρίες (1η, 3η, 7η, 9η εβδομάδα) στα Εξωτερικά Ιατρεία της Β' Προπαιδευτικής Παθολογικής Κλινικής του νοσοκομείου αλλά και τηλεφωνικές κατά τη διάρκεια των 2 παρεμβάσεων αντίστοιχα. Οι ανακλήσεις έγιναν από το διαιτολόγο και ελήφθησαν έτσι ώστε να περιλαμβάνουν καθημερινές ημέρες και ημέρες Σαββατοκύριακου. Για τον προσδιορισμό των ποσοτήτων των τροφίμων που κατανάλωναν οι συμμετέχουσες στη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν οικιακά σκεύη (π.χ. φλιτζάνι του τσαγιού) και άλλα γνωστά αντικείμενα (π.χ. σπιρτόκουτο). Στη συνέχεια επιλέχθηκαν τυχαία 12 ανακλήσεις 24ώρου (6 καθημερινές και 6 μέρες Σαββατοκύριακου) από την κάθε παρέμβαση αντίστοιχα (4 από την 1η-2η εβδομάδα, 4 από την 5-6η εβδομάδα και 4 από την 11η-12η εβδομάδα).

Οι ανακλήσεις αναλύθηκαν με το πρόγραμμα Diet Analysis Plus (ESHA Research, Version 6.1, 2003). Η βάση δεδομένων του προγράμματος τροποποιήθηκε, έτσι ώστε να περιλαμβάνει τρόφιμα, που κυκλοφορούν στην ελληνική αγορά (για παράδειγμα γαλακτοκομικά προϊόντα, δημητριακά πρωινού και τυποποιημένοι χυμοί φρούτων) και συνταγές. Από τις 12 ανακλήσεις της κάθε παρέμβασης υπολογίστηκαν οι μέσοι όροι της ενέργειας, του συνολικού ποσοστού υδατανθράκων, πρωτεϊνών, ολικού λίπους, κορεσμένων, μονοακόρεστων και πολυακόρεστων λιπαρών, των φυτικών ινών και του αριθμού γευμάτων/ημέρα αντίστοιχα.

11. Στατιστική ανάλυση

Για τη στατιστική ανάλυση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα Pasw Statistics 22 για τα Windows. Οι συνεχείς μεταβλητές που ακολουθούν την κανονική κατανομή παρουσιάζονται ως μέση τιμή $\pm$ τυπική απόκλιση, ενώ οι ποιοτικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως απόλυτες τιμές ή ποσοστά (%). Η κανονικότητα των συνεχών μεταβλητών αξιολογήθηκε γραφικά.

Για τη σύγκριση ανεξάρτητων μεταβλητών που μετρήθηκαν σε διαφορετικές χρονικές στιγμές (αρχή και τέλος της κάθε παρέμβασης) χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση διακύμανσης επαναλαμβανόμενων μετρήσεων (Repeated Measures ANOVA).

Για τη σύγκριση συνεχών μεταβλητών ανάμεσα στις δύο παρεμβάσεις που μετρήθηκαν σε μία χρονική στιγμή (αρχή ή τέλος κάθε παρέμβασης) και ακολουθούσαν την κανονική κατανομή χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος t-test του Student. Για τη σύγκριση των μεταβλητών, που ακολουθούσαν την κανονική κατανομή, ανάμεσα στην έναρξη και στο τέλος της κάθε παρέμβασης αντίστοιχα, χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος paired t-test του Student, ενώ για τη σύγκριση των συνεχών μεταβλητών που δεν ακολουθούσαν την κανονική κατανομή χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος Mann-Whitney U-test.

Για τη σύγκριση των μεταβλητών, που ακολουθούσαν την κανονική κατανομή, ανάμεσα στην έναρξη και στο τέλος της κάθε παρέμβασης αντίστοιχα, χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος paired t-test του Student, ενώ για όσες δεν πληρούσαν το κριτήριο της κανονικότητας, χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος λ του Wilcoxon. Ως επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε το 5%.

Δ. Αποτελέσματα

1. Περιγραφικά χαρακτηριστικά του δείγματος

Τα αποτελέσματα που ακολουθούν αφορούν δείγμα 17 γυναικών με ΣΠΩ (10 φυσιολογικού βάρους και 7 υπέρβαρες/παχύσαρκες). Στον Πίνακα 5 παρατίθενται τα περιγραφικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων στη μελέτη κατά την εισαγωγή τους σε αυτή.

Πίνακας 5 : Περιγραφικά χαρακτηριστικά συμμετεχόντων στην αρχή της μελέτης

Μεταβλητές	Μέση τιμή ± τυπική απόκλιση
Ηλικία (έτη)	27,5 ± 7
ΔΜΣ (kg/m ²)	26,6 ± 6
Περιφέρεια μέσης (cm)	84,8 ± 16
Επίπεδο σωματικής δραστηριότητας (PAL)	1,3 ± 0,2
Med Diet Score (0-55)	33,18 ± 4
Σκορ ερωτηματολογίου γνώσεων πάνω στο διαβήτη (0-12)	7,4 ± 2
Οικογενειακό ιστορικό σακχαρώδους διαβήτη	
Ναι (n %)	5 (29,4)
Έτη σπουδών (έτη)	14 ± 3
Ατομικό εισόδημα την τελευταία τριετία (n%)	
<12000 €	11 (65)
12000-18000 €	6 (35)
18000-25000 €	0

ΔΜΣ: Δείκτης μάζας σώματος, Med Diet Score: Δείκτης υιοθέτησης της μεσογειακής διαίτας

2. Διατροφικά χαρακτηριστικά των δύο διαιτών

Στον πίνακα, που ακολουθεί (Πίνακας 6) παρουσιάζονται τα διατροφικά χαρακτηριστικά των δύο διαιτών που δόθηκαν στις συμμετέχουσες, όπως αυτά προέκυψαν από την ανάλυση των ανακλήσεων 24ώρου. Παρατηρούμε ότι οι δύο δίαιτες διαφέρουν μόνο ως προς τον αριθμό γευμάτων ανά ημέρα, ενώ δεν βρέθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στη συνολική ενέργεια ανά ημέρα, στα ποσοστά μακροθρεπτικών συστατικών και στο σύνολο των διαιτητικών ινών. Επιπλέον, ο βαθμός προσκόλλησης των

συμμετεχόντων στις 2 δίαιτες του ερευνητικού πρωτοκόλλου κρίνεται ικανοποιητικός, καθώς παρατηρούνται πολύ μικρές αποκλίσεις από τη διαιτητική εντολή που δόθηκε στις συμμετέχουσες στην αρχή της κάθε παρέμβασης αντίστοιχα.

Πίνακας 6 : Διατροφικά χαρακτηριστικά των δύο διαιτών.

	3 γεύματα	6 γεύματα	
Μεταβλητές	N=17	N=17	P
Ενέργεια (kcal)	1771 ± 452	1822,48 ± 397	0,48
Υδατάνθρακες (%)	41,01 ± 4,16	42,39 ± 3,93	0,27
Πρωτεΐνες (%)	23,02 ± 2,84	21,6 ± 2,23	0,09
Λίπη (%)*	35,86 ± 4,56	35,96 ± 3,66	0,93
Κορεσμένα λίπη (%)*	12,32 ± 5,36	12,33 ± 2,24	0,92
Μονοακόρεστα λίπη (%)*	15,1 ± 4,76	15,68 ± 1,59	0,97
Πολυακόρεστα λίπη (%)*	3,57 ± 1,09	4,04 ± 1,06	0,29
Διαιτητικές ίνες (g/ημέρα)	15,52 ± 4,48	16,11 ± 5,3	0,633
Αριθμός γευμάτων	3,2 ± 0,75	5,7 ± 0,53	<0,001

P value με paired test εκτός από * Wilcoxon test

3. Σύγκριση των αποτελεσμάτων των δύο παρεμβάσεων

Στους Πίνακες 7-9, που ακολουθούν, συγκρίνονται μεταξύ τους τα αποτελέσματα των δύο παρεμβάσεων όσον αφορά δείκτες πείνας, κορεσμού και επιθυμίας για φαγητό, ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά, δεδομένα για την ημερήσια ενεργειακή δαπάνη, καθώς και βιοχημικές παραμέτρους.

Πίνακας 7: Δείκτες πείνας, κορεσμού και επιθυμίας για φαγητό.

	3 γεύματα	6 γεύματα	
Μεταβλητές	N=17	N=17	P
Πείνα*	2,74 ± 1,94	2,28 ± 1,94	0,35
Κορεσμός*	7,74 ± 1,48	8,21 ± 1,56	0,27
Επιθυμία για φαγητό*	3,32 ± 1,9	3,5 ± 2,2	0,71

*Χρήση κλίμακας βαθμολόγησης από το 0 έως το 10, με το 0 να αντιπροσωπεύει το καθόλου και το 10 το πολύ.

Όπως προκύπτει από τον παραπάνω πίνακα 7 δεν υπήρξε καμιά διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων ως προς το αίσθημα της πείνας, του κορεσμού και της επιθυμίας για φαγητό.

Πίνακας 8 : Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά και ημερήσια ενεργειακή δαπάνη στην έναρξη και στο τέλος της κάθε παρέμβασης.

	3 γεύματα N=17		6 γεύματα N=17		Ρ χρόνου	Ρ συχν. Γεύματος	Ρ χρόνου x συχν. Γεύματος
Μεταβλητές	Αρχή	Τέλος	Αρχή	Τέλος			
ΔΜΣ (kg/m ²)	26,4 ± 5,9	26,3 ± 5,8	26,2 ± 6,5	26,0 ± 6,1	0,24	0,19	0,78
Περιφέρεια μέσης (cm)	81,5 ± 12,5	80,2 ± 11,9	83,6 ± 16,0*	80,1 ± 12,9*	0,008	0,36	0,15
Ημερήσια ενεργειακή δαπάνη (kcal/ημέρα)	2240 ± 701	2307 ± 803	2245 ± 763	2211 ± 680	0,76	0,41	0,43

***P<0,05** P value Wicoxon test

Δεν υπήρξε διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων σε καμιά από τις παραπάνω παραμέτρους. Ωστόσο παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση της περιφέρειας μέσης εντός της ομάδας των έξι γευμάτων κατά 3,5cm μεταξύ της έναρξης και του τέλους της παρέμβασης. Εφόσον δεν είχαμε διαφορά στην θερμιδική πρόσληψη αλλά ούτε στον ΔΜΣ και ούτε στην ενεργειακή δαπάνη η μείωση της περιφέρειας δεν μπορεί να αποδοθεί στην δίαιτα αλλά ούτε σε ενδεχόμενη αύξηση της φυσικής δραστηριότητας και ενδεχομένως αποτελεί τυχαίο εύρημα οφειλόμενο στον μικρό αριθμό των συμμετεχόντων.

Επίσης όπως φαίνεται στον πίνακα 8 δεν παρατηρήθηκε καμιά διαφορά στα επίπεδα της γλυκόζης και ινσουλίνης μεταξύ των δύο ομάδων. Ωστόσο παρατηρήθηκε διαφορά εντός της ομάδας των τριών γευμάτων, πριν και μετά την παρέμβαση στα επίπεδα της γλυκόζης στα 90' μετά τη λήψη του διαλύματος γλυκόζης, που επίσης αποτελεί τυχαίο εύρημα.

Πίνακας 9: HbA1c και δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη στην αρχή και στο τέλος της παρέμβασης.

	3 γεύματα N=17		6 γεύματα N=17				
Μεταβλητές	Αρχή	Τέλος	Αρχή	Τέλος	Ρ χρόνου	P συχν. Γεύματος	Ρ χρόνου x συχν. Γεύματος
HbA1c (%)	5,3 ± 0,43	5,3 ± 0,47	5,1 ± 0,58	5,3 ± 0,37	0,18	0,79	0,28
Γλυκόζη (mg/dL) - Έναρξη	75,9 ± 15,8	76,7 ± 17,5	77,1 ± 13,6	71,3 ± 16,2	0,17	0,46	0,44
Γλυκόζη (mg/dL) - 30 λεπτά	112,0 ± 26,11	120,5 ± 34,7	126,6 ± 31,8	113,4 ± 28,9	0,48	0,19	0,09
Γλυκόζη (mg/dL) - 60 λεπτά	101,3 ± 24	110,9 ± 46,3	113,7 ± 38,1	97,4 ± 28,2	0,60	0,67	0,21
Γλυκόζη (mg/dL) - 90 λεπτά	92,9 ± 31,9	113,4 ± 30,8*	97,9 ± 33,9	90,2 ± 32,0	0,26	0,12	0,11
Γλυκόζη (mg/dL) - 120 λεπτά	86,3 ± 23,4	95,2 ± 36,4	91,3 ± 31,2	83,6 ± 24,9	0,87	0,60	0,31
Ινσουλίνη (μIU/mL)- Έναρξη	12,4 ± 9,5	13,4 ± 6,5	12,1 ± 7,7	13,2 ± 9,6	0,66	0,78	0,73
Ινσουλίνη (μIU/mL)- 30 λεπτά	90,3 ± 45,4	107,7 ± 35,4	98,3 ± 41,8	94,8 ± 42,6	0,43	0,66	0,29
Ινσουλίνη (μIU/mL)- 60 λεπτά	81,2 ± 57,3	90,5 ± 62,1	89,1 ± 37,8	89,3 ± 60,1	0,86	0,93	0,69
Ινσουλίνη (μIU/mL)- 90 λεπτά	70,2 ± 51,2	95,3 ± 52,9	67,7 ± 34,6	69,9 ± 49,7	0,29	0,88	0,24
Ινσουλίνη (μIU/mL)- 120 λεπτά	45,2 ± 45,8	53,4 ± 37,5	55,6 ± 38,1	50,8 ± 46,9	0,72	0,86	0,84

***P< 0.05** P value με paired test

Πίνακας 10 : Συγκεντρώσεις των ινκρετινών GLP-1 και GIP κατά την έναρξη και την ολοκλήρωση της κάθε παρέμβασης.

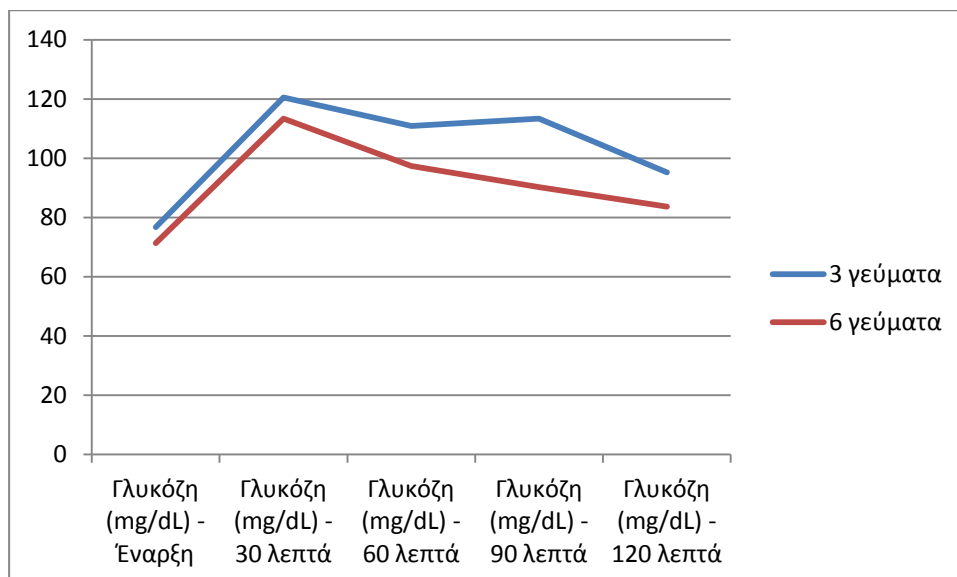
	3 γεύματα N=17		6 γεύματα N=17				
Μεταβλητές	Αρχή	Τέλος	Αρχή	Τέλος	Ρ χρόνου	P συχν. Γεύματος	Ρ χρόνου x συχν. Γεύματος
GLP-1 (pM)- Έναρξη	48,5 ± 25,0*	64,5 ± 30,1*	46,9 ± 20,2	51,6 ± 29,7	0,69	0,73	0,68
GLP-1 (pM) - 30 λεπτά	72,3 ± 32,0	63,7 ± 30,2	71,4 ± 40,6	75,4 ± 35,1	>0,99	>0,99	>0,99
GLP-1 (pM) - 60 λεπτά	64,2 ± 28,3	57 ± 19,1	54,6 ± 37,3	66,8 ± 27,7	>0,99	>0,99	>0,99
GLP-1 (pM) - 120 λεπτά	43,6 ± 19,8	43,5 ± 19,8	39,5 ± 23,6	45,7 ± 17,4	0,71	0,76	0,64
GIP (pg/ml)- Έναρξη	107,8 ± 91,6	119,7 ± 81,4	97,7 ± 43,2	114,6 ± 90,4	>0,99	>0,99	>0,99
GIP- (pg/ml)- 30 λεπτά	351,4 ± 76,1	321,7 ± 90,5	331,3 ± 76,7	354,1 ± 81,5	>0,99	>0,99	0,99
GIP (pg/ml)- 60 λεπτά	335,4 ± 75,4	315,8 ± 113,4	332,6 ± 89,9	334,0 ± 76,0	0,48	0,55	0,66
GIP (pg/ml)- 120 λεπτά	300,9 ± 93,7	295,3 ± 106,5	285,1 ± 108,9	299,5 ± 102,7	0,72	0,65	0,70

***P<0,05** P value με paired test

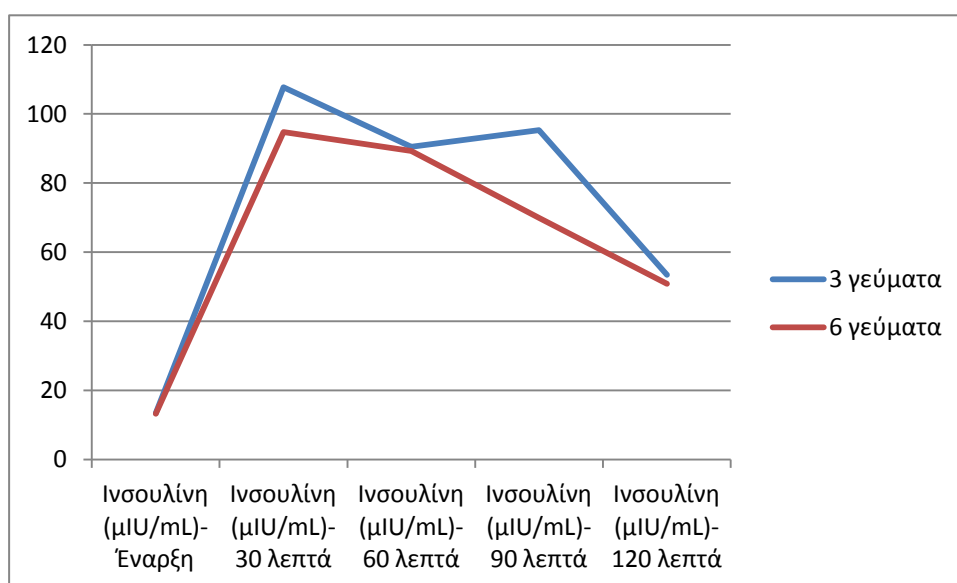
Μεταξύ των ομάδων δεν παρατηρήθηκε καμία διαφορά στις συγκεντρώσεις τόσο του GLP-1 όσο και του GIP. Η μόνη διαφορά που καταγράφηκε στις εντός των ομάδων συγκρίσεις ήταν μία αύξηση στη συγκέντρωση νηστείας του GLP-1 στο τέλος της παρέμβασης με τα τρία γεύματα, διαφορά που κι αυτή χαρακτηρίζεται ως τυχαίο εύρημα.

Στα γραφήματα, που ακολουθούν, απεικονίζονται γραφικά τα αποτελέσματα για τη γλυκόζη την ινσουλίνη την GIP & την GLP-1 κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας ανοχής στη γλυκόζη στο τέλος της παρέμβασης με τα 3 γεύματα και με τα 6 γεύματα.

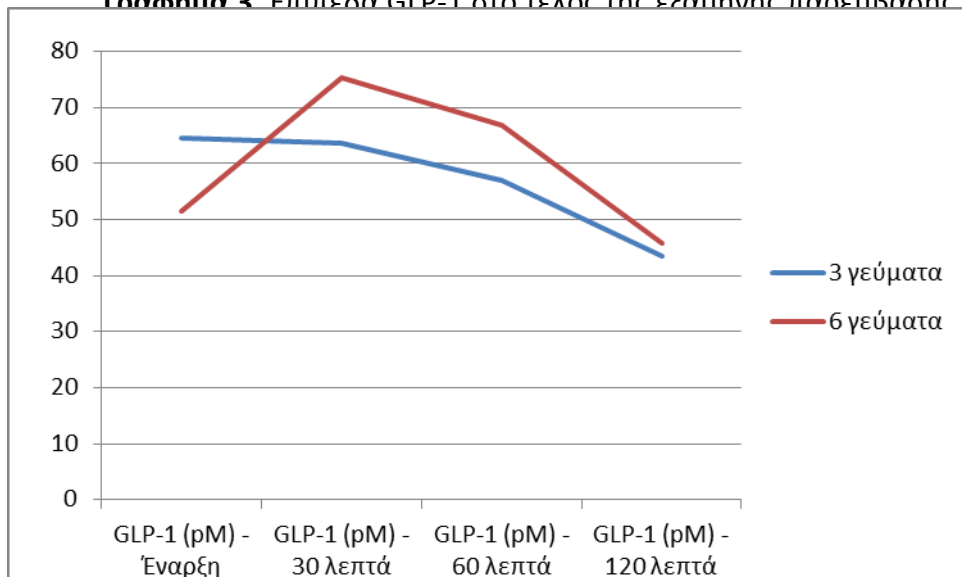
Γράφημα 1. Επίπεδα γλυκόζης στο τέλος της εξάμηνης παρέμβασης με τρία ή έξι γεύματα.



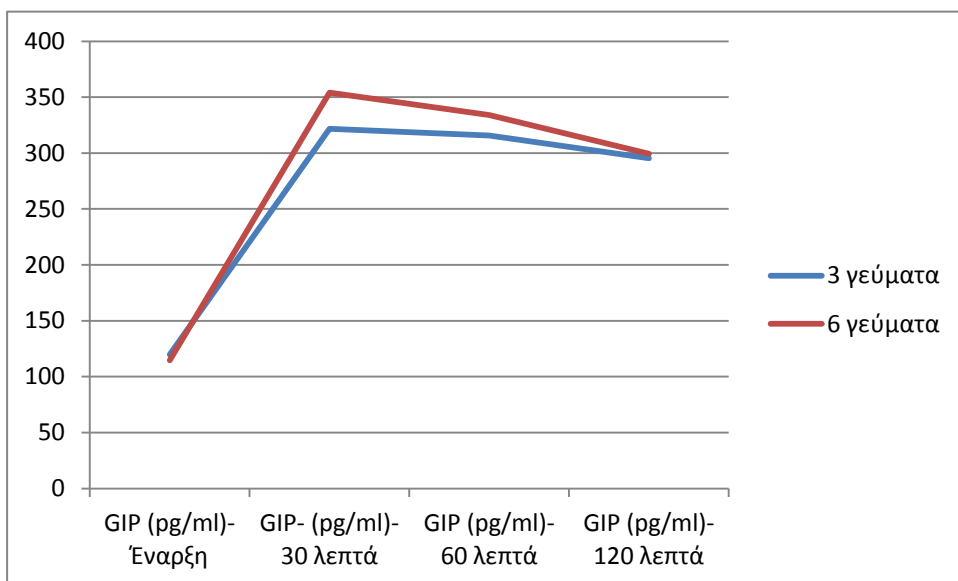
Γράφημα 2. Επίπεδα ινσουλίνης στο τέλος της εξάμηνης παρέμβασης με τρία ή έξι γεύματα.



Γράφημα 3. Επίπεδα GLP-1 στο τέλος της εξάμηνης παρέμβασης με τρία ή έξι γεύματα.



Γράφημα 4. Επίπεδα GIP στο τέλος της εξάμηνης παρέμβασης με τρία ή έξι γεύματα



Δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά μετά την παρέμβαση στις δύο ομάδες των τριών και έξι ημερησίων γευμάτων.

Ε. Συζήτηση- Συμπεράσματα

Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής ήταν να αναδείξει αν υπάρχει συσχέτιση ανάμεσα στη συχνότητα γευμάτων και στις συγκεντρώσεις GIP & GLP-1 σε γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, χωρίς να υπάρχει ταυτόχρονη απώλεια βάρους. Στην μελέτη των Παραkonstantinou και συν. (231) είχαν προκύψει στατιστικά χαμηλότερα επίπεδα ινσουλίνης νηστείας ($p = 0,03$) και καλύτερη ευαισθησία στην ινσουλίνη (Matsuda index $p =$

0,02), στην ομάδα των έξι γευμάτων, διαφορές που παρέμειναν στατιστικά σημαντικές ακόμα και μετά από την προσαρμογή ως προς το οικογενειακό ιστορικό διαβήτη ($p=0,01$) ή τον ΔΜΣ ($p=0,001$). Ο λόγος που επιλέχθηκε οι συμμετέχουσες να διατηρήσουν το σωματικό τους βάρος κατά τη διάρκεια της κλινικής δοκιμής ήταν διότι έχει φανεί στη βιβλιογραφία ότι η απώλεια βάρους επηρεάζει τα επίπεδα των ιντεκρινών (233) σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 2 και το μεταβολισμό της γλυκόζης βελτιώνοντας την ινσουλινοευαισθησία σε γυναίκες με ΣΠΩ (234). Το γεγονός αυτό, θα καθιστούσε δύσκολη την απομόνωση της επίδρασης της συχνότητας γευμάτων καθ' αυτή στις συγκεντρώσεις των ιντεκρινών.

Στα αποτελέσματα δεν παρουσιάστηκε καμία μεταβολή στο σωματικό βάρος ούτε και στο επίπεδο σωματικής δραστηριότητας των συμμετεχόντων κατά τη διάρκεια της μελέτης και η προσκόλληση στη διαιτητική εντολή που τους δόθηκε κατά την εισαγωγή τους στο πρωτόκολλο ήταν υψηλή. Έγινε επίσης έλεγχος ανάμεσα στις δύο διαφορετικές ομάδες παρέμβασης των τριών και έξι ημερησίων γευμάτων ως προς το αίσθημα της πείνας, κορεσμού και επιθυμίας για φαγητό. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, δεν παρουσιάστηκε καμία σημαντική διαφορά στις παραπάνω παραμέτρους παρά τις διαφορές που έδειξε η εργασία των Parakonstantinou και συν. (230) γεγονός που προφανώς οφείλεται στο μικρό μέγεθος του δείγματος. Στον βιοχημικό έλεγχο της γλυκόζης της ινσουλίνης νηστείας και στα επίπεδα των ιντεκρινών GIP & GLP-1 δεν παρουσιάστηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο ομάδες παρέμβασης με τρία και έξι ημερήσια γεύματα. Τα βιβλιογραφικά δεδομένα (195- 199) δείχνουν πως δεν υπάρχουν διαφορές στα επίπεδα των ιντεκρινών σε γυναίκες με ΣΠΩ και υγιείς γυναίκες. Ωστόσο δεν υπάρχουν δεδομένα συσχέτισης των ινκρετινών και της συχνότητας των ημερησίων γευμάτων. Για τη γλυκόζη και την ινσουλίνη υπάρχουν μόνο τα δεδομένα των Parakonstantinou και συν. (230) που δείχνουν διαφορές υπέρ των έξι γευμάτων. Και πάλι η διαφοροποίηση στα αποτελέσματα πρέπει να αποδοθεί στο μέγεθος του δείγματος.

Το πλεονέκτημα της μελέτης αυτής είναι ότι είναι τυχαιοποιημένη διασταυρούμενη κλινική δοκιμή. Τα επίπεδα των ιντεκρινών GIP & GLP-1 σε γυναίκες με ΣΠΩ έχουν διερευνηθεί (195, 196, 197) και έχει φανεί πως δεν διαφέρουν σε σχέση με αυτά των υγιών γυναικών. Ωστόσο στην διεθνή βιβλιογραφία δεν υπάρχει αναφορά για την συσχέτιση τους με την συχνότητα των γευμάτων. Επομένως είναι πρωτότυπη και με καλό σχεδιασμό.

Οι περιορισμοί της παρούσας μελέτης προέρχονται καταρχάς από συστηματικά σφάλματα, όπως το σφάλμα ανάκλησης. Πιο συγκεκριμένα, είναι αναμενόμενο να υπάρχει

σχετική υπερεκτίμηση ή υποεκτίμηση κάποιων παραμέτρων, όπως για παράδειγμα η διαιτητική πρόσληψη, οι οποίες δεν είναι δυνατό να αποφευχθούν. Περιορισμοί προέρχονται επίσης από το μέγεθος του δείγματος που αναλύθηκε στην παρούσα εργασία. Μπορεί να μην ήταν επαρκές για να εξασφαλίσει την απαιτούμενη ισχύ και συνεπώς να αναδείξει τις πραγματικές επιδράσεις των δύο παρεμβάσεων.

Επίσης από την εργασία των Svendsen και συν. (198) ανιχνεύτηκε χαμηλότερη GIP επιφάνεια κάτω από την καμπύλη (Area Under the Curve) για τις παχύσαρκες με ΣΠΩ σε σύγκριση με τις υγιείς παχύσαρκες αλλά και τις νορμοβαρείς με ΣΠΩ ($P < 0,05$). Ανάλυση όμως της υποομάδας των παχύσαρκων ασθενών δεν ήταν εφικτή μια και ήταν μόλις τρεις γυναίκες.

Συνοψίζοντας, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, δεν βρέθηκε καμία συσχέτιση ανάμεσα στη συχνότητα γευμάτων και τις συγκεντρώσεις των ιντεκρινών ή της γλυκόζης και ινσουλίνης. Συνεπώς φαίνεται πως η χορήγηση τριών έως έξι γευμάτων ημερησίως μπορούν να προσφέρονται ως επιλογές κατά την κατάρτιση των διαιτολογίων των γυναικών με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών. Ωστόσο είναι σαφές πως απαιτούνται μεγάλες τυχαιοποιημένες μελέτες για την διερεύνηση της συχνότητας των γευμάτων στα επίπεδα των ιντεκρινών.

ΣΤ. Βιβλιογραφία

1. Stein IF, Leventhal ML. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *Am J Obstet Gynecol.* 1935;29:181–191.
2. Farquhar C. Introduction and history of polycystic ovary syndrome. In: Kovacs G, Norman R, editors. *Polycystic Ovary Syndrome*. 2nd ed. Cambridge, UK: Cambridge University Press; 2007:4–24.
3. Balen A, Conway G, Kaltsas G. Polycystic ovary syndrome: the spectrum of the disorder in 1741 patients. *Hum Reprod.* 1995;10:2107–2111.
4. Hart R. Definitions, prevalence and symptoms of polycystic ovaries and the polycystic ovary syndrome. In: Allahbadia GN, Agrawal R, editors. *Polycystic Ovary Syndrome*. Kent, UK: Anshan, Ltd; 2007:15–26.
5. Azziz R, Sanchez L, Knochelhauer ES, et al. Androgen excess in women: experience with over 1000 consecutive patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(2):453–462.
6. Fauser B, Tarlatzis B, Rebar R, et al. Consensus on women's health aspects of polycystic ovary syndrome (PCOS): the Amsterdam ESHRE/ASRM-Sponsored 3rd PCOS Consensus Workshop Group. *Fertil Steril.* 2012;97(1):28–38. e25.
7. Ferriman D, Gallwey J. Clinical assessment of body hair growth in women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1961;21:1440–1447.
8. Unluhizarci K, Kaltsas G, Kelestimur F. Non polycystic ovary syndrome-related endocrine disorders associated with hirsutism. *Eur J Clin Invest.* 2012;42(1):86–94.
9. Adams J, Polson D, Franks S. Prevalence of polycystic ovaries in women with anovulation and idiopathic hirsutism. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1986;293(6543):355–359.
10. Souter I, Sanchez L, Perez M, Bartolucci A, Azziz R. The prevalence of androgen excess among patients with minimal unwanted hair growth. *Am J Obstet Gynecol.* 2004;191:1914–1920.

11. Wijeyaratne CN, Balen AH, Barth JH, Belchetz PE. Clinical manifestations and insulin resistance (IR) in polycystic ovary syndrome (PCOS) among south Asians and Caucasians: is there a difference? *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2002;57:343–350.
12. Lowenstein E. Diagnosis and management of the dermatologic manifestations of the polycystic ovary syndrome. *Dermatol Ther*. 2006;19(4):210–223.
13. Eden J. The polycystic ovary syndrome presenting as resistant acne successfully treated with cyproterone acetate. *Med J Aust*. 1991;155(10):677–680.
14. Teede H, Deeks A, Moran L. Polycystic ovary syndrome: a complex condition with psychological, reproductive and metabolic manifestations that impacts on health across the lifespan. *BMC Med*. 2010;8:41.
15. Brassard M, AinMelk Y, Baillargeon JP. Basic infertility including polycystic ovary syndrome. *Med Clin North Am*. 2008;92: 1163–1192.
16. Glueck C, Phillips H, Cameron D, Sieve-Smith L, Wang P. Continuing metformin throughout pregnancy in women with polycystic ovary syndrome appears to safely reduce first-trimester spontaneous abortion: a pilot study. *Fertil Steril*. 2001;75(1):46–52.
17. Jakubowicz DJ, Luorno MJ, Jakubowicz S, Roberts K, Nestler JE. Effects of metformin on early pregnancy loss in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(2):524–529.
18. Zawadzki JK, Dunaif A. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome. In: Givens JHF, Merriman G, editors. *The Polycystic Ovary Syndrome*. Cambridge, MA: Blackwell Scientific; 1992:377–384.
19. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2004;81:19–25.
20. Azziz R, Carmina E, DeWailly D, et al. Position statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an Androgen Excess Society guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:4237–4245.

21. Lujan ME, Jarrett BY, Brooks ED, et al. Updated ultrasound criteria for polycystic ovary syndrome: reliable thresholds for elevated follicle population and ovarian volume. *Hum Reprod.* 2013;28(5):1361–1368.
22. Dewailly D, Gronier H, Poncelet E, et al. Diagnosis of polycystic ovary syndrome (PCOS): revisiting the threshold values of follicle count on ultrasound and of the serum AMH level for the definition of polycystic ovaries. *Hum Reprod.* 2011;26(11):3123–3129.
23. Richard S. Legro, Silva A. Arslanian, David A. Ehrmann, Kathleen M. Hoeger, M. Hassan Murad, Renato Pasquali, and Corrine K. Welt. *Diagnosis and Treatment of Polycystic Ovary Syndrome: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline* - The Endocrine Society, 8401 Connecticut Avenue, Suite 900, Chevy Chase, Maryland 20815. First Published Online: November 20, 2013
24. Allemand MC, Tummon IS, Phy JL, Foong SC, Dumesic DA, Session DR. Diagnosis of polycystic ovaries by three-dimensional transvaginal ultrasound. *Fertil Steril.* 2006;85(1):214–219.
25. Azziz R, Woods KS, Reyna R, Key TJ, Knochenhauer ES, Yildiz BO. The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:2745–2749.
26. Diamanti-Kandarakis E, Kouli CR, Bergiele AT, et al. A survey of the polycystic ovary syndrome in the Greek island of Lesbos: hormonal and metabolic profile. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:4006–4011.
27. Knochenhauer ES, Key TJ, Kahsar-Miller M, Waggoner W, Boots LR, Azziz R. Prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected black and white women of the southeastern United States: a prospective study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:3078–3082.
28. Michelmore KF, Balen AH, Dunger DB, Vessey MP. Polycystic ovaries and associated clinical and biochemical features in young women. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1999;51:779–786.
29. Asuncion M, Calvo RM, San Millan JL, Sancho J, Avila S, Escobar-Morreale HF. A prospective study of the prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected Caucasian women from Spain. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:2434–2438.

30. March WA, Moore VM, Willson KJ, Phillips DI, Norman RJ, Davies MJ. The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample assessed under contrasting diagnostic criteria. *Hum Reprod.* 2010;25(2): 544–551.
31. Mehrabian F, Khani B, Kelishadi R, Ghanbari E. The prevalence of polycystic ovary syndrome in Iranian women based on different diagnostic criteria. *Endokrynol Pol.* 2011;62(3):238–242.
32. Tehrani FR, Simbar M, Tohidi M, Hoseinpanah F, Azizi F. The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample of Iranian population: Iranian PCOS prevalence study. *Reprod Biol Endocrinol.* 2011;9:39.
33. Yildiz BO, Bozdog G, Yapici Z, Esinler I, Yarali H. Prevalence, phenotype and cardiometabolic risk of polycystic ovary syndrome under different diagnostic criteria. *Hum Reprod.* 2012;27(10):3067–3073.
34. Franks S, Gharani N, Waterworth D, et al. The genetic basis of polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod.* 1997;12:2641–2648.
35. Legro RS, Driscoll D, Straus III JF, Fox J, Dunaif A. Evidence for a genetic basis for hyperandrogenemia in polycystic ovary syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95:14956–14960.
36. Amato P, Simpson JL. The genetics of polycystic ovary syndrome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2004;18(5):707–718.
37. Crosignani PG, Nicolosi AE. Polycystic ovarian disease: heritability and heterogeneity. *Hum Reprod Update.* 2001;7(1):3–7.
38. Vink JM, Sadrzadeh S, Lambalk CB, Boomsma DI. Heritability of polycystic ovary syndrome in a Dutch twin-family study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(6):2100–2104.
39. Goodarzi MO, Dumesic DA, Chazenbalk G, Azziz R. Polycystic ovary syndrome: etiology, pathogenesis and diagnosis. *Nat Rev Endocrinol.* 2011;7:219–231.
40. Chen ZJ, Zhao H, He L, et al. Genome-wide association study identifies susceptibility loci for polycystic ovary syndrome on chromosome 2p16.3, 2p21 and 9q33.3. *Nat Genet.* 2011;43:55–59.

41. Diamanti-Kandarakis E, Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome revisited: An update on mechanism and implication. *Endocrine Reviews*. 2012;33(6):981–1030.
42. Isikoglu M, Berkkanoglu M, Cemal H, Ozgur K. Polycystic ovary syndrome: What is the role of obesity? In: Allahbadia GN, Agrawal R, editors. *Polycystic Ovary Syndrome*. Kent, UK: Anshan, Ltd; 2007:157–163.
43. Moran LJ, Hutchison SK, Norman RJ, Teede HJ. Lifestyle changes in women with polycystic ovary syndrome. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011;(7):CD007506.
44. Alvarez-Blasco F, Botella-Carretero JI, San Millan JL, Escobar-Morreale H. Prevalence and characteristics of the polycystic ovary syndrome in overweight and obese women. *Arch Intern Med*. 2006;166:2081–2086.
45. Yildiz B, Knochauer ES, Azziz R. Impact of obesity on the risk for polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(1): 162–168.
46. Herzog AG. Menstrual disorders in women with epilepsy. *Neurology*. 2006;66(6 Suppl 3):S23–S28.
47. Bilo L, Meo R, Valentino R, Di Carlo C, Striano S, Nappi C. Characterization of reproductive endocrine disorders in women with epilepsy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:2950–2956.
48. Betts T, Yarrow H, Dutton N, Greenhill L, Rolfe T. A study of anticonvulsant medication on ovarian function in a group of women with epilepsy who have only ever taken one anticonvulsant compared with a group of women without epilepsy. *Seizure*. 2003;12:323–329.
49. Isojarvi JI, Laatikainen TJ, Pakarinen AJ, Juntunen KT, Myllya VV. Polycystic ovaries and hyperandrogenism in women taking valproate for epilepsy. *N Engl J Med*. 1993;329:1383–1388.
50. Isojarvi JI, Rattya J, Myllyla W, et al. Valproate, lamotrigine, and insulin-mediated risks in women with epilepsy. *Ann Neurol*. 1998;43(4): 446–451.
51. Escobar-Morreale HF, Roldan B, Barrio R, et al. High prevalence of the polycystic ovary syndrome and hirsutism in women with type 1 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85(11):4182–4187.

52. Codner E, Soto N, Lopez P, et al. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome and ovarian morphology in women with type 1 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(6):2250–2256.
53. Conn JJ, Jacobs HS, Conway GS. The prevalence of polycystic ovaries in women with type 2 diabetes mellitus. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2000;52(1):81–86.
54. Peppard HR, Marfori J, Luorno MJ, Nestler JE. Prevalence of polycystic ovary syndrome among premenopausal women with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2001;24:1050–1052.
55. Kashanian M, Fazy Z, Pirak A. Evaluation of the relationship between gestational diabetes and a history of polycystic ovarian syndrome. *Diabetes Res Clin Pract.* 2008;80(2):289–292.
56. Rosenfield RL. Clinical review: identifying children at risk for polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(3):787–796.
57. Nicandri KF, Hoeger K. Diagnosis and treatment of polycystic ovarian syndrome in adolescents. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2012;19(6):497–504.
58. Dunaif A, Xia J, Book CB, Schenker E, Tang Z. Excessive insulin receptor serine phosphorylation in cultured fibroblasts and in skeletal muscle. A potential mechanism for insulin resistance in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Invest.* 1995;96:801–810.
59. Abdallah MA, Awwad J. The pathophysiology of polycystic ovary syndrome. In: Allahbadia GN, Agrawal R, editors. *Polycystic Ovary Syndrome*. Kent, UK: Anshan, Ltd; 2007:93–101.
60. Tasoula Tsilchorozidou, Caroline Overton and Gerard S. Conway. The pathophysiology of polycystic ovary syndrome. Review, *Clinical Endocrinology* (2004), 1–17
61. Dunaif A, Segal KR, Futterweit W, Dobrjansky A. Profound peripheral insulin resistance, independent of obesity, in polycystic ovary syndrome. *Diabetes.* 1989;38:1165–1174.
62. Moran LJ, Misso ML, Wild RA, Norman RJ. Impaired glucose tolerance, type 2 diabetes and metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2010;16(4):347–363.

63. Ehrmann D, Sturis J, Byrne M, Karrison T, Rosenfield R, Polonsky K. Insulin secretory defects in polycystic ovary syndrome: relationship to insulin sensitivity and family history of non-insulin dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest.* 1995;96:520–527.
64. O'Meara NM, Blackman JD, Erhman DA. Defects in β -cell function and insulin action in functional ovarian hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993;76:1241–1247.
65. Ehrmann DA, Breda E, Cavaghan MK, et al. Insulin secretory responses to rising and falling glucose concentrations are delayed in subjects with impaired glucose tolerance. *Diabetologia.* 2002;45(4):509–517.
66. Ehrmann DA, Breda E, Corcoran MC, et al. Impaired beta-cell compensation to dexamethasone-induced hyperglycemia in women with polycystic ovary syndrome. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2004;287(2):E241–E246.
67. Dunaif A, Finegood DT. β -cell dysfunction independent of obesity and glucose intolerance in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81:942–947.
68. Legro RS, Gnatuk CL, KusanmanAR, Dunaif A. Changes in glucose tolerance over time in women with polycystic ovary syndrome: A controlled study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:3236–3242.
69. Ehrmann DA, Barnes RB, Rosenfield RL, Cavaghan MK, Imperial J. Prevalence of impaired glucose tolerance and diabetes in women with polycystic ovary syndrome. *Diabetes Care.* 1999;22:141–146.
70. Legro RS, KusanmanAR, Dodson WC, Dunaif A. Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: A prospective, controlled study in 254 affected women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:165–169.
71. Harris MI, Hadden WC, Knowler WC, Bennett PH. Prevalence of diabetes and impaired glucose tolerance and plasma glucose levels in U.S. population aged 20-74 yr. *Diabetes.* 1987;36:523–534.
72. Wild RA, Rizzo M, Clifton S, Carmina E. Lipid levels in polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* 2011;95(3):1073–1079.

73. Legro RS, Blanche P, Krauss RM, Lobo RA. Alterations in low-density lipoprotein and high-density lipoprotein subclasses among Hispanic women with polycystic ovary syndrome: influence of insulin and genetic factors. *Fertil Steril*. 1999;72(6):990–995.
74. Dejager S, Pichard C, Giral P, et al. Smaller LDL particle size in women with polycystic ovary syndrome compared to controls. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2001;54(4):455–462.
75. Pirwany IR, Fleming R, Greer IA, Packard CJ, Sattar N. Lipids and lipoprotein subfractions in women with PCOS: relationship to metabolic and endocrine parameters. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2001;54(4):447–453.
76. Krauss RM, Siri PW. Metabolic abnormalities: triglyceride and low-density lipoprotein. *Endocrinol Metab Clin N Am*. 2004;33:405–415.
77. Diamanti-Kandarakis E, Spina G, Kouli C, Migdalism I. Increased endothelin-1 levels in women with polycystic ovary syndrome and the beneficial effect of metformin therapy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(10):4666–4673.
78. Cascella T, Palomba S, Tauchmanova L, et al. Serum aldosterone concentration and cardiovascular risk in women with polycystic ovarian syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:4395–4400.
79. Bentley-Lewis R, Seely E, Dunaif A. Ovarian hypertension: polycystic ovary syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2011;40: 433–449.
80. Lo JC, Feigenbaum SL, Yand J, PressmanAR, Selby JV, Go AS. Epidemiology and adverse cardiovascular risk profile of diagnosed polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:1357–1363.
81. Vrbikova J, Cifkova R, Jirkovska A, et al. Cardiovascular risk factors in young Czech females with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod*. 2003;18(5):980–894
82. Elting MW, Korsen TJM, Bezemer PD, Schoemaker J. Prevalence of diabetes mellitus, hypertension and cardiac complaints in a follow-up study of Dutch PCOS population. *Hum Reprod*. 2001;16:556–560.

83. Wild S, Pierpoint T, McKeigue P, Jacobs H. Cardiovascular disease in women with polycystic ovary syndrome at long-term follow-up: a retrospective cohort study. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2000;52: 595–600.
84. Shaw LJ, Bairey Merz CN, Azziz R, et al. Postmenopausal women with a history of irregular menses and elevated androgen measurements at high risk for worsening cardiovascular event-free survival: Results from the National Institutes of Health-National Heart, Lung, and Blood Institute Sponsored Women's Ischemia Syndrome Evaluation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:1276–1284.
85. Arad Y, Spadaro LA, Goodman K, Newstein D, Guerci AD. Prediction of coronary events with electron beam computed tomography. *J Am Coll Cardiol*. 2000;36:1253–1260.
86. Christian RC, Dumesic DA, Behrenbeck T, Oberg AL, Sheedy PF, Fitzpatrick LA. Prevalence and predictors of coronary artery calcification in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88:2562–2568.
87. Talbott EO, Zborowski JV, Rager JR, Boudreaux MY, Edmundowicz DA, Guzick DS. Evidence for an association between metabolic cardiovascular syndrome and coronary and aortic calcification among women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:5454–5461.
88. Shroff R, Kerchner A, Maifeld M, Van Beek E, Jagasia D, Dokras A. Young obese women with polycystic ovary syndrome have evidence of early coronary atherosclerosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92: 4609–4614.
89. Talbott EO, Zborowski JV, Rager J, Stragand JR. Is there an independent effect of polycystic ovary syndrome (PCOS) and menopause on the prevalence of subclinical atherosclerosis in middle aged women? *Vasc Health Risk Manag*. 2008;4:453–462.
90. Talbott EO, Guzick DS, Sutton-Tyrrell K, et al. Evidence for association between polycystic ovary syndrome and premature carotid atherosclerosis in middle-aged women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20: 2414–2421.
91. Guzick DS, Talbot EO, Sutton-Tyrrell K. Carotid atherosclerosis in women with polycystic ovary syndrome: initial results from a case-control study. *Am J Obstet Gynecol*. 1996;174:1224–1232.

92. Carmina E, Orio F, Palomba S, et al. Endothelial dysfunction in PCOS: role of obesity and adipose hormones. *Am J Med.* 2006;119:356. e351–e356.
93. Vryonidou A, Papatheodorou A, Tavridou A, et al. Association of hyperandrogenemic and metabolic phenotype with carotid intima-media thickness in young women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;2005:2740–2746.
94. Orio F Jr, Palomba S, Cascella T, et al. Early impairment of endothelial structure and function in young normal-weight women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:4588–4593.
95. Alexander CJ, Tangchitnob EP, Lepor NE. Polycystic ovary syndrome: a major unrecognized cardiovascular risk factor in women. *Rev Obstet Gynecol.* 2009;2(4):232–239.
96. Hollinrake E, Abreu A, Maifeld M, Van Voorhis BJ, Dokras A. Increased risk of depressive disorders in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2007;87:1369–1376.
97. Dokras A, Clifton S, Futterweit W, Wild R. Increased risk for abnormal depression scores in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol.* 2011;117(1): 145–152.
98. Klipstein KG, Goldberg JF. Screening for bipolar disorder in women with polycystic ovary syndrome: a pilot study. *J Affect Disord.* 2006;91(2–3):205–209.
99. Rassi A, Veras AB, dos Reis M, et al. Prevalence of psychiatric disorders in patients with polycystic ovary syndrome. *Compr Psychiatry.* 2010;51:599–602.
100. Merikangas KR, Spence A, Kupfer DJ. Linkage studies of bipolar disorder: methodologic and analytic issues. *Arch Gen Psychiatry.* 1989;46:1137–1141.
101. Dokras A, Clifton S, Futterweit W, Wild R. Increased prevalence of anxiety symptoms in women with polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* 2012;97(1):225–230.
102. Badawy A, Elnashar A. Treatment options for polycystic ovary syndrome. *Int J Womens Health.* 2011;3:25–35.

103. Pasquali R, Antenucci D, Casimirri F, et al. Clinical and hormonal characteristics of obese amenorrheic hyperandrogenic women before and after weight loss. *J Clin Endocrinol Metab.* 1989;68(1):173-179.
104. Pasquali R, Fabbri R, Venturoli S, Paradisi R, Antenucci D, Melchionda N. Effect of weight loss and antiandrogenic therapy on sex hormone blood levels and insulin resistance in obese patients with polycystic ovaries. *Am J Obstet Gynecol.* 1986;154(1):139-144.
105. Pasquali R, Gambineri A, Biscotti D, et al. Effect of long-term treatment with metformin added to hypocaloric diet on body composition, fat distribution, and androgen and insulin levels in abdominally obese women with and without the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(8):2767-2774.
106. Kiddy DS, Hamilton-Fairley D, Bush A, et al. Improvement in endocrine and ovarian function during dietary treatment of obese women with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol.* 1992;36(1):105-111.
107. Kiddy DS, Hamilton-Fairley D, Seppälä M, et al. Diet-induced changes in sex hormone binding globulin and free testosterone in women with normal or polycystic ovaries: correlation with serum insulin and insulin-like growth factor-I. *Clin Endocrinol.* 1989;31(6):757-763.
108. Hamilton-Fairley D, Kiddy D, Anyaoku V, Koistinen R, Seppälä M, Franks S. Response of sex hormone binding globulin and insulin-like growth factor binding protein-1 to an oral glucose tolerance test in obese women with polycystic ovary syndrome before and after calorie restriction. *Clin Endocrinol.* 1993;39(3):363-367.
109. Andersen P, Seljeflot I, Abdelnoor M, et al. Increased insulin sensitivity and fibrinolytic capacity after dietary intervention in obese women with polycystic ovary syndrome. *Metabolism.* 1995;44(5):611-616.
110. Holte J, Bergh T, Berne C, Wide L, Lithell H. Restored insulin sensitivity but persistently increased early insulin secretion after weight loss in obese women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995;80(9):2586-2593.
111. Jakubowicz DJ, Nestler JE. 17 alpha-Hydroxy-progesterone responses to leuprolide and serum androgens in obese women with and without polycystic ovary syndrome offer dietary weight loss. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82(2):556-560.

112. Wahrenberg H, Ek I, Reynisdottir S, Carlström K, Bergqvist A, Arner P. Divergent effects of weight reduction and oral contraception treatment on adrenergic lipolysis regulation in obese women with the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(6): 2182-2187.
113. Van Dam EW, Roelfsema F, Veldhuis JD, et al. Increase in daily LH secretion in response to short-term caloric restriction in obese women with PCOS. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002;282(4):E865-E872.
114. van Dam EW, Roelfsema F, Veldhuis JD, et al. Retention of estradiol negative feedback relationship to LH predicts ovulation in response to caloric restriction and weight loss in obese patients with polycystic ovary syndrome. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2004;286(4):E615-E620. [EL2; PCS]
115. Tolino A, Gambardella V, Caccavale C, et al. Evaluation of ovarian functionality after a dietary treatment in obese women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2005;119(1):87-93.
116. Moran LJ, Noakes M, Clifton PM, Tomlinson L, Galletly C, Norman RJ. Dietary composition in restoring reproductive and metabolic physiology in overweight women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(2):812-819.
117. Moran LJ, Noakes M, Clifton PM, Wittert GA, Williams G, Norman RJ. Short-term meal replacements followed by dietary macronutrient restriction enhance weight loss in polycystic ovary syndrome. *Am J Clin Nutr.* 2006;84(1):77-87.
118. Stamets K, Taylor DS, Kunselman A, Demers LM, Pelkman CL, Legro RS. A randomized trial of the effects of two types of short-term hypocaloric diets on weight loss in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2004;81(3):630-637.
119. Hays JH, DiSabatino A, Gorman RT, Vincent S, Stillabower ME. Effect of a high saturated fat and no starch diet on serum lipid subfractions in patients with documented atherosclerotic cardiovascular disease. *Mayo Clin Proc.* 2003;78(11):1331-1336. [EL 2; PCS]
120. Mavropoulos JC, Yancy WS, Hepburn J, Westman EC. The effects of a low-carbohydrate, ketogenic diet on the polycystic ovary syndrome: a pilot study. *Nutr Metab.* 2005;2:35. [EL 2; PCS]

121. Palomba S, Giallauria F, Falbo A, et al. Structured exercise training programme versus hypocaloric hyperproteic diet in obese polycystic ovary syndrome patients with anovulatory infertility: a 24-week pilot study. *HumReprod.* 2008;23(3):642-650. [EL 2; PCS]
122. Vigorito C, Giallauria F, Palomba S, et al. Beneficial effects of a three-month structured exercise training program on cardiopulmonary functional capacity in young women with polycystic ovary syndrome. *J Clin EndocrinolMetab.* 2007;92(4):1379-1384. [EL 1; RCT]
123. Bruner B, Chad K, Chizen D. Effects of exercise and nutritional counseling in women with polycystic ovary syndrome. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2006;31(4):384-391.
124. Randeva HS, Lewandowski KC, Drzewoski J, et al. Exercise decreases plasma total homocysteine in overweight young women with polycystic ovary syndrome. *JClin Endocrinol Metab.* 2002;87(10):4496-4501.
124. Guzick DS, Wing R, Smith D, Berga SL, WintersSJ. Endocrine consequences of weight loss in obese,hyperandrogenic, anovulatory women. *Fertil Steril.*1994;61(4):598-604. [EL 1; RCT]
125. Clark AM, Ledger W, Galletly C, et al. Weight lossresults in significant improvement in pregnancy and ovulationrates in anovulatory obese women. *Hum Reprod.*1995;10(10):2705-2712. [EL 2; PCS]
126. Clark AM, Thornley B, Tomlinson L, Galletley C,Norman RJ. Weight loss in obese infertile women resultsin improvement in reproductive outcome for all forms offertility treatment. *Hum Reprod.* 1998;13(6):1502-1505.
127. Huber-Buchholz MM, Carey DG, Norman RJ.Restoration of reproductive potential by lifestyle modificationin obese polycystic ovary syndrome: role of insulinsensitivity and luteinizing hormone. *J Clin EndocrinolMetab.* 1999;84(4):1470-1474.
128. Hoeger KM, Kochman L, Wixom N, Craig K, MillerRK, Guzick DS. A randomized, 48-week, placebocontrolledtrial of intensive lifestyle modification and/or metformin therapy in overweight women with polycysticovary syndrome: a pilot study. *Fertil Steril.* 2004; 82(2):421-429.

129. Legro RS, Arslanian SA, Ehrmann DA, et al. Diagnosis and treatment of polycystic ovary syndrome: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(12):4565-4592.
130. Kuchenbecker WK, Groen H, van Asselt SJ, et al. In women with polycystic ovary syndrome and obesity, loss of intra-abdominal fat is associated with resumption of ovulation. *Hum Reprod.* 2011;26(9):2505-2512.
131. Thomson RL, Buckley JD, Noakes M, Clifton PM, Norman RJ, Brinkworth GD. The effect of a hypocaloric diet with and without exercise training on body composition, cardiometabolic risk profile, and reproductive function in overweight and obese women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(9):3373-3380.
132. Pasquali R, Gambineri A, Cavazza C, et al. Heterogeneity in the responsiveness to long-term lifestyle intervention and predictability in obese women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol.* 2011; 164(1):53-60.
133. Moran LJ, Pasquali R, Teede HJ, Hoeger KM, Norman RJ. Treatment of obesity in polycystic ovary syndrome: a position statement of the Androgen Excess and Polycystic Ovary Syndrome Society. *Fertility and sterility.* [Practice Guideline]. 2009 Dec;92(6):1966-82.
134. ACOG Committee on Practice Bulletins – Gynecology. ACOG Practice Bulletin No 108: Polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol.* 2009;114(4):936–949.
135. Lexi-Comp Online™, Lexi-Drugs Online™. Hudson, Ohio: Lexi-Comp, Inc; August 9, 2013.
136. Bates GW, Propst AM. Polycystic ovarian syndrome management options. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2012;39(4):495–506.
137. Pasquali R, Pelusi C, Genghini S, Caciari M, Gambineri A. Obesity and reproductive disorders in women. *Hum Reprod Update.* 2003;9(4): 359–372.
138. Froen JF, Arnestad M, Frey K, Vege A, Saugstad OD, Stray-Pedersen B. Risk factors for sudden intrauterine unexplained death: epidemiologic characteristics of singleton cases in Oslo, Norway, 1986–1995. *Am J Obstet Gynecol.* 2001;184(4):694–702.

139. Imani B, Eijkemans MJ, te Velde ER, Habbema JD, Fauser BC. Predictors of patients remaining anovulatory during clomiphene citrate induction of ovulation in normogonadotropic oligoamenorrheic infertility. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83(7):2361–2365.
140. Imani B, Eijkemans MJ, te Velde ER, Habbema JD, Fauser BC. Predictors of chances to conceive in ovulatory patients during clomiphene citrate induction of ovulation in normogonadotropic oligoamenorrheic infertility. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(5):1617–1622.
141. Mulders AG, Laven JS, Eijkemans MJ, Hughes EG, Fauser BC. Patient predictors for outcome of gonadotrophin ovulation induction in women with normogonadotrophic anovulatory infertility: a meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2003;9(5):429–449.
142. Balen AH, Platteau P, Andersen AN, Devroey P, Sorensen P, Helmgaard L. The influence of body weight on response to ovulation induction with gonadotrophin in 335 women with World Health Organization group II anovulatory infertility. *BJOG.* 2006;113:1195–1202.
143. Gjonnaess H. Ovarian electrocautery in the treatment of women with polycystic ovary syndrome (PCOS). Factors affecting the results. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1994;73(5):407–412.
144. Homburg R. The management of infertility associated with polycystic ovary syndrome. *Reprod Biol Endocrinol.* 2003;1:109.
145. Escobar-Morreale HF, Botella-Carretero JI, Alvarez-Blasco F, Sancho J, San Millan JL. The polycystic ovary syndrome associated with morbid obesity may resolve after weight loss induced by bariatric surgery. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(12):6364–6369.
146. Eid GM, Cottam DR, Velcu LM, et al. Effective treatment of polycystic ovarian syndrome with Roux-en-Y gastric bypass. *Surg Obes Relat Dis.* 2005;1(2):77–80.
147. Jamal M, Gunay Y, Capper A, Eid A, Heitshusen D, Samuel I. Roux-en-Y gastric bypass ameliorates polycystic ovary syndrome and dramatically improves conception rates: a 9-year analysis. *Surg Obes Relat Dis.* 2012;8(4):440–444.
148. Thessaloniki ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Consensus on infertility treatment related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2008;89(3):505–522.
149. Balen AH. Ovulation induction in the management of anovulatory polycystic ovary syndrome. *Mol Cell Endocrinol.* 2013;373(1–2):77–82.

150. Costello MF, Misso ML, Wong J, et al. The treatment of infertility in polycystic ovary syndrome: a brief update. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2012;52:400–403.
151. Tang T, Lord JM, Norman RJ, Yasmin E, Balen AH. Insulin-sensitising drugs (metformin, rosiglitazone, pioglitazone, D-chiroinositol) for women with polycystic ovary syndrome, oligo amenorrhoea and subfertility. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;5:CD003053.
152. Morin-Papunen L, Rantala AS, Unkila-Kallio L, et al. Metformin improves pregnancy and live-birth rates in women with polycystic ovary syndrome (PCOS): a multicenter, double-blind, placebo-controlled randomized trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97: 1492–1500.
153. Kjøtrod SB, Carlsen SM, Rasmussen PE, et al. Use of metformin before and during assisted reproductive technology in non-obese young infertile women with polycystic ovary syndrome: a prospective, randomized, double-blind, multi-centre study. *Hum Reprod.* 2011;26(8):2045–2053.
154. Casper RF, Mitwally MF. Use of the aromatase inhibitor letrozole for ovulation induction in women with polycystic ovarian syndrome. *Clin Obstet Gynecol.* 2011;54(4):685–695.
155. Pritts EA. Letrozole for ovulation induction and controlled ovarian hyperstimulation. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2010;22(4):289–294.
156. Holzer H, Casper R, Tulandi T. A new era in ovulation induction. *Fertil Steril.* 2006;85(2):277–284.
157. Misso ML, Wong JL, Teede HJ, et al. Aromatase inhibitors for PCOS: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2012;18(3):301–312.
158. Kar S. Clomiphene citrate or letrozole as first-line ovulation induction drug in infertile PCOS women. *J Hum Reprod Sci.* 2012;5(3): 262–265.
159. Legro RS, Kunselman AR, Brzyski RG, et al. The pregnancy in polycystic ovary syndrome II (PPCOS II) trial: Letrozole versus Clomiphene for Infertility in the Polycystic Ovary Syndrome. *The New England Journal of Medicine.* 2014.
160. Perales-Puchalt A, Legro RS. Ovulation induction in women with polycystic ovary syndrome. *Steroids.* 2013;78:767–772.

161. Christin-Maitre S, Hugues JN. A comparative randomized multicentric study comparing the step-up versus step-down protocol in polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod*. 2003;18(8):1626–1631.
162. Homburg R. Ovulation induction for women with polycystic ovary syndrome. In: Kovacs G, Norman R, editors. *Polycystic Ovary Syndrome*. 2nd ed. Cambridge, UK: Cambridge University Press; 2007:140–158.
163. Homburg R, Hendriks ML, Konig TE, et al. Clomifene citrate or low-dose FSH for the first-line treatment of infertile women with anovulation associated with polycystic ovary syndrome: a prospective randomized multinational study. *Hum Reprod*. 2012;17(2):468–473.
164. Gjonnaess H. Polycystic ovarian syndrome treated by ovarian electrocautery through the laparoscope. *Fertil Steril*. 1984;41(1):20–25.
165. Amer SA, Li TC, Ledger WL. Ovulation induction using laparoscopic ovarian drilling in women with polycystic ovarian syndrome: predictors of success. *Hum Reprod*. 2004;19(8):1719–1724.
166. Amer SA, Li TC, Metwally M, Emarh M, Ledger WL. Randomized controlled trial comparing laparoscopic ovarian diathermy with clomiphene citrate as a first-line method of ovulation induction in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod*. 2009;24(1): 219–225.
167. Farquhar C, Lilford RJ, Marjoribanks J, Vandekerckhove P. Laparoscopic ‘drilling’ by diathermy or laser for ovulation induction in anovulatory polycystic ovary syndrome. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007;18(3):CD001122.
168. Farquhar C, Brown J, Majoribanks J. Laparoscopic drilling by diathermy or laser for ovulation induction in anovulatory polycystic ovary syndrome. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012;13(6):CD001122.
169. Heijnen EM, Eijkemans MJ, Hughes EG, Laven JS, Macklon NS, Fauser BC. A meta-analysis of outcomes of conventional IVF in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update*. 2006;12(1):13–21.

170. Palomba S, Falbo A, Carrillo L, et al. Metformin reduces risk of ovarian hyperstimulation syndrome in patients with polycystic ovary syndrome during gonadotropin-stimulated in vitro fertilization cycles: a randomized, controlled trial. *Fertil Steril*. 2011;96(6):1384–1390.
171. Chang RJ, Nakamura RM, Judd HL, Kaplan SA. Insulin resistance in nonobese patients with polycystic ovarian disease. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. 1983 Aug;57(2):356-9.
172. Jialal I, Naiker P, Reddi K, Moodley J, Joubert SM. Evidence for insulin resistance in nonobese patients with polycystic ovarian disease. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1987 May;64(5):1066-9.
173. Dunaif A, Segal KR, Futterweit W, Dobrjansky A. Profound peripheral insulin resistance, independent of obesity, in polycystic ovary syndrome. *Diabetes*. [Comparative Study Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. 1989 Sep;38(9):1165-74.
174. Fenkci V, Fenkci S, Yilmazer M, Serteser M. Decreased total antioxidant status and increased oxidative stress in women with polycystic ovary syndrome may contribute to the risk of cardiovascular disease. *Fertility and sterility*. 2003 Jul;80(1):123-7.
175. Unger RH, Eisentraut AM. Entero-insular axis. *Arch Intern Med* 1969, 124:261–266
176. McIntyre N, Holdsworth CD, Turner DS. New interpretation of oral glucose tolerance. *Lancet* 1964, 4:20–21
177. Elrich H, Stimmler L, Hlad CJ Jr, Arai Y. Plasma insulin response to oral and intravenous glucose administration. *J Clin Endocrinol Metab* 1964, 24:1076–1082
178. Fehmann HC, Goke R, Goke B. Cell and molecular biology of the incretin hormones glucagon-like peptide 1 and glucose dependent insulin releasing polypeptide. *Endocr Rev* 1995, 16:390–410
179. Drucker DJ, Nauck MA. The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. *Lancet* 2006, 368:1696–1705
180. Stanley S, Wynne K, McGowan B, Bloom S. Hormonal regulation of food intake. *Physiol Rev* 2005, 85:1131–1158

181. Yip RGC, Wolfe MM. GIP biology and fat metabolism. *Life Sci* 2000, 66:91–103
182. Drucker DJ. Mini review: The glucagon-like peptides. *Endocrinology* 2001, 142:521–527
183. Holz GG, Chepurny OG. Glucagon-like peptide-1 synthetic analogues: New therapeutic agents for use in the treatment of diabetes mellitus. *Curr Med Chem* 2003, 10:2471–2483
184. Andersen DK, Elahi D, Brown JC, Tobin JD, Andres R. Oral glucose augmentation of insulin secretion: Interactions of gastric inhibitory polypeptide with ambient glucose and insulin levels. *J Clin Invest* 1978, 49:152–161
185. Miyawaki K, Yamada Y, Yano H, Niwa H, Ban N, Ihara Y et al. Glucose intolerance caused by a defect in the enteroinsular axis: A study in gastric inhibitory polypeptide receptor knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999, 96:14843–14847
186. Trumper A, Trumper K, Trusheim H, Arnold R, Goke B, Horsch D. Glucose-dependent insulinotropic polypeptide is a growth factor for beta (INS-1) cells by pleiotropic signalling. *Mol Endocrinol* 2001, 15:1559–1570
187. Nauck MA, Heimesaat MM, Orskov C, Holst JJ, Ebert R, Creutzfeldt W. Preserved incretin activity of glucagon-like-peptide-1 [7–36 amide] but not synthetic human gastric inhibitory polypeptide in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1993, 91:301–307
188. Nauck MA. Is glucagon-like peptide 1 an incretin hormone? *Diabetologia* 1999, 42:373–379
189. Orskov C, Wettergren A, Holst JJ. Secretion of the incretin hormones glucagon-like peptide-1 and gastric inhibitory polypeptide correlates with insulin secretion in normal man throughout the day. *Scand J Gastroenterol* 1996, 31:665–670
190. Nauck MA, Niedereichholtz U, Ettler R, Holst JJ, Orskov C, Schmeigel WH. Inhibition of gastric emptying by physiological and pharmacological doses of exogenous glucagon-like peptide-1 (GLP-1) outweighs insulinotropic effects in healthy normoglycemic volunteers. *Am J Physiol* 1997, 273:E981–E988
191. Gutzwiller JP, Drewe J, Goke B, Schmidt H, Rohrer B, Lareida J et al. Glucagon-like peptide-1 promotes satiety and reduces food intake in patients with diabetes mellitus type 2. *Am J Physiol* 1999, 276:1541–1544

192. Zander M, Madsbad S, Madsen JL, Holst JJ. Effect of 6-weekcourse of glucagon-like peptide-1 on glycemic control, insulinsensitivity, and β -cell function in type 2 diabetes: A parallel-group study. *Lancet* 2002, 359:824–830
193. Drucker DJ. Glucagon-like peptide-1 and the islet β -cell: Augmentationof cell proliferation and inhibition of apoptosis.*Endocrinology* 2003, 144:5145–5148
194. le Roux CW, Aylwin SJ, Batterham RL, Borg CM, Coyle F, Prasad V ET AL. Gut hormone profiles following bariatric surgeryfavor an anorectic state, facilitate weight loss, and improvemetabolic parameters. *Ann Surg* 2006, 243:108–114
195. Gama, R., Norris, F., Wright, J. et al. (1996) The entero-insularaxis in polycystic ovarian syndrome. *Annals of clinical biochemistry*,33(Pt 3), 190–195.
196. Vrbikova, J., Hill, M., Bendlova, B. et al. (2008) Incretin levels inpolycystic ovary syndrome. *European Journal of Endocrinology*,159, 121–127.
197. Pontikis, C., Yavropoulou, M.P., Toulis, K.A. et al. (2011) Theincretin effect and secretion in obese and lean women with polycysticovary syndrome: a pilot study. *J Womens Health (Larchmt)*,20, 971–976
- 198 Svendsen, P.F., Nilas, L., Madsbad, S. et al. (2009) Incretin hormonesecretion in women with polycystic ovary syndrome: rolesof obesity, insulin sensitivity, and treatment withmetformin.*Metabolism*, 58, 586–593
199. Kadriye Aydin, Gulcan Arusoglu, Gulden Koksall, Nese Cinar, Duygu Yazgan Aksoy and Bulent O. Yildiz (2014) Fasting and post-prandial glucagon like peptide 1 and oral contraception in polycystic ovary syndrome. *Clinical Endocrinology* (2014) 81, 588–592
200. Aljuraiban, G.S.; Chan, Q.; Griep, L.M.O.; Brown, I.J.; Daviglus, M.L.; Stamler, J.; Van Horn, L.; Elliott, P.; Frost, G.S.; Group, I.R. The impact of eating frequency and time of intake on nutrient quality and body mass index: The intermap study, a population-based study. *J. Acad. Nutr. Diet.*2015, 115, 528–536. [CrossRef][PubMed]

201. Atalayer, D.; Rowland, N.E. Effects of meal frequency and snacking on food demand in mice. *Appetite* 2012, 58, 117–123. [CrossRef] [PubMed]
202. House, B.T.; Shearrer, G.E.; Miller, S.J.; Pasch, K.E.; Goran, M.I.; Davis, J.N. Increased eating frequency linked to decreased obesity and improved metabolic outcomes. *Int. J. Obes.* 2015, 39, 136–141. [CrossRef] [PubMed]
203. Speechly, D.P.; Buffenstein, R. Greater appetite control associated with an increased frequency of eating in lean males. *Appetite* 1999, 33, 285–297. [CrossRef] [PubMed]
204. Leidy, H.J.; Campbell, W.W. The effect of eating frequency on appetite control and food intake: Brief synopsis of controlled feeding studies. *J. Nutr.* 2011, 141, 154–157. [CrossRef] [PubMed]
205. Fabry, P.; Hejda, S.; Cerny, K.; Osancova, K.; Pechar, J. Effect of meal frequency in schoolchildren—Changes in weight-height proportion and skinfold thickness. *Am. J. Clin. Nutr.* 1966, 18, 358–361. [PubMed]
206. Drummond, S.E.; Crombie, N.E.; Cursiter, M.C.; Kirk, T.R. Evidence that eating frequency is inversely related to body weight status in male, but not female, non-obese adults reporting valid dietary intakes. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 1998, 22, 105–112. [CrossRef] [PubMed]
207. Yannakoulia, M.; Melistas, L.; Solomou, E.; Yiannakouris, N. Association of eating frequency with body fatness in pre- and postmenopausal women. *Obesity* 2007, 15, 100–106. [CrossRef] [PubMed]
208. Fabry, P.; Hejl, Z.; Fodor, J.; Braun, T.; Zvolankova, K. The frequency of meals: Its relation to overweight, hypercholesterolaemia, and decreased glucose-tolerance. *Lancet* 1964, 2, 614–615. [CrossRef]

209. Duval, K.; Strychar, I.; Cyr, M.J.; Prud'homme, D.; Rabasa-Lhoret, R.; Doucet, E. Physical activity is a confounding factor of the relation between eating frequency and body composition. *Am. J. Clin. Nutr.* 2008, 88, 1200–1205. [PubMed]
210. Yue-Qiao Wang, Yun-Quan Zhang, Fei Zhang, Yi-Wen Zhang, Rui Li, and Guo-Xun Chen. Increased Eating Frequency Is Associated with Lower Obesity Risk, But Higher Energy Intake in Adults: A Meta-Analysis. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. Academic Editor: Paul B. Tchounwou Received: 21 April 2016; Accepted: 14 June 2016; Published: 17 June 2016
211. Fung, T.T.; Pan, A.; Hou, T.; Chiuve, S.E.; Tobias, D.K.; Mozaffarian, D.; Willett, W.C.; Hu, F.B. Long-term change in diet quality is associated with body weight change in men and women. *J. Nutr.* **2015**, 145, 1850–1856. [CrossRef] [PubMed]
212. Collins, C.E.; Young, A.F.; Hodge, A. Diet quality is associated with higher nutrient intake and self-rated health in mid-aged women. *J. Am. Coll. Nutr.* **2008**, 27, 146–157. [CrossRef] [PubMed]
213. De Oliveira, E.P.; Diegoli, A.C.M.; Corrente, J.E.; McLellan, K.C.P.; Burini, R.C. The increase of dairy intake is the main dietary factor associated with reduction of body weight in overweight adults after lifestyle change program. *Nutr. Hosp.* **2015**, 32, 1042–1049. [CrossRef] [PubMed]
214. Holmback, I.; Ericson, U.; Gullberg, B.; Wirfalt, E. A high eating frequency is associated with an overall healthy lifestyle in middle-aged men and women and reduced likelihood of general and central obesity in men. *Br. J. Nutr.* **2010**, 104, 1065–1073. [CrossRef] [PubMed]
215. Marin-Guerrero, A.C.; Gutierrez-Fisac, J.L.; Guallar-Castillon, P.; Banegas, J.R.; Rodriguez-Artalejo, F. Eating behaviours and obesity in the adult population of Spain. *Br. J. Nutr.* 2008, 100, 1142–1148.

216. Chapelot, D.; Marmonier, C.; Aubert, R.; Allegre, C.; Gausseres, N.; Fantino, M.; Louis-Sylvestre, J. Consequence of omitting or adding a meal in man on body composition, food intake, and metabolism. *Obesity* 2006, 14, 215–227.
217. S.L. Edelstein, E.L. Barrett-Connor, D.L. Wingard, B.A. Cohn, Increased meal frequency associated with decreased cholesterol concentrations; Rancho Bernardo, CA, 1984e1987, *Am. J. Clin. Nutr.* 55 (1992) 664e669
218. N.A. Schwarz, B.R. Rigby, P. La Bounty, B. Shelmadine, R.G. Bowden, A review of weight control strategies and their effects on the regulation of hormonal balance, *J. Nutr. Metab.* 2011 (2011) 237932
219. Finkelstein B, Fryer BA. Meal frequency and weight reduction of young women. *The American journal of clinical nutrition*. [Clinical Trial Randomized Controlled Trial]. 1971 Apr;24(4):465-8.
220. Poston WS, Haddock CK, Pinkston MM, Pace P, Karakoc ND, Reeves RS, et al. Weight loss with meal replacement and meal replacement plus snacks: a randomized trial. *Int J Obes (Lond)*. [Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2005 Sep;29(9):1107-14.
221. Carlson O, Martin B, Stote KS, Golden E, Maudsley S, Najjar SS, et al. Impact of reduced meal frequency without caloric restriction on glucose regulation in healthy, normal-weight middle-aged men and women. *Metabolism: clinical and experimental*. [Randomized Controlled Trial Research Support, N.I.H., Intramural]. 2007 Dec;56(12):1729-34.
222. Jenkins, D.J.; Wolever, T.M.; Vuksan, V.; Brighenti, F.; Cunnane, S.C.; Rao, A.V.; Jenkins, A.L.; Buckley, G.; Patten, R.; Singer, W.; et al. Nibbling versus gorging: Metabolic advantages of increased meal frequency. *N. Engl. J. Med.* 1989, 321, 929–934.
223. Jenkins DJ, Ocana A, Jenkins AL, Wolever TM, Vuksan V, Katzman L, et al. Metabolic advantages of spreading the nutrient load: effects of increased meal frequency in non-insulin-dependent diabetes. *The American journal of clinical nutrition*. (Research Support, Non-U.S. Gov't). 1992 Feb;55(2):461-7.

224. Bertelsen J, Christiansen C, Thomsen C, Poulsen PL, Vestergaard S, Steinov A, et al. Effect of meal frequency on blood glucose, insulin, and free fatty acids in NIDDM subjects. *Diabetes care*. (Clinical Trial Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't). 1993 Jan;16(1):4-7.
225. J. LeBlanc, I. Mercier, A. Nadeau, Components of postprandial thermogenesis in relation to meal frequency in humans, *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 71(1993) 879e883.
226. X. Alliot, L. Saulais, K. Seyssel, J. Graeppi-Dulac, H. Roth, A. Charrie, J. Draï, J. Goudable, E. Blond, E. Disse, et al., An isocaloric increase of eating episodes in the morning contributes to decrease energy intake at lunch in lean men, *Physiol. Behav.* 110e111 (2013) 169e178.
227. X. Alliot, K. Seyssel, L. Saulais, H. Roth, A. Charrie, J. Draï, J. Goudable, E. Blond, E. Disse, M. Laville, Effects of a breakfast spread out over time on the food intake at lunch and the hormonal responses in obese men, *Physiol. Behav.* 127 (2014) 37e44.
228. T.D. Heden, Y. Liu, L.J. Sims, A.T. Whaley-Connell, A. Chockalingam, K.C. Dellsperger, J.A. Kanaley, Meal frequency differentially alters postprandial triacylglycerol and insulin concentrations in obese women, *Obesity (Silver Spring)* 21 (2013) 123e129 .
229. H.J. Leidy, C.L. Armstrong, M. Tang, R.D. Mattes, W.W. Campbell, The influence of higher protein intake and greater eating frequency on appetite control in overweight and obese men, *Obesity (Silver Spring)* 18 (2010) 1725e1732.
230. E Papakonstantinou, I Kechribari, P Mitrou, E Trakakis, D Vassiliadi, E Georgousopoulou, A Zampela, MD Kontogianni and G Dimitriadis. Effect of meal frequency on glucose and insulin levels in women with polycystic ovary syndrome: a randomised trial. *European Journal of Clinical Nutrition* (2016), 1–7 © 2016 Macmillan Publishers Limited. All rights reserved 0954-3007/16
231. D. B. Panagiotakos, G. A. Miliatis, C. Pitsavos, and C. Stefanadis, “MedDietScore: a computer program that evaluates the adherence to the Mediterranean dietary pattern and its relation to

cardiovascular disease risk,” *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, vol. 83, no. 1, pp. 73–77, 2006.

232. Kollia M, Gioxari A, Maraki M, Kavouras SA. Development, validity and reliability of the Harokopio Physical Activity Questionnaire in Greek adults. *Proceedings of the 8th Panhellenic Congress on Nutrition and Dietetics*. Beta Medical Publishing:Greece, 2006.

233. Laferrère B, Teixeira J, McGinty J, Tran H, Egger JR, Colarusso A, Kovack B, Bawa B, Koshy N, Lee H, Yapp K, Olivan B. Effect of weight loss by gastric bypass surgery versus hypocaloric diet on glucose and incretin levels in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008 Jul;93(7):2479-85.

234. Moran LJ, Pasquali R, Teede HJ, Hoeger KM, Norman RJ. Treatment of obesity in polycystic ovary syndrome: a position statement of the Androgen Excess and Polycystic Ovary Syndrome Society. *Fertility and sterility*. (Practice Guideline. 2009 Dec;92(6):1966-82.