



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών

Σχολή Επιστημών Υγείας
Ιατρική Σχολή
Τομέας Υγείας Μητέρας – Παιδιού

Ειδικό Κέντρο Εφηβικής Ιατρικής
Εδρα Unesco Εφηβικής Υγείας και Ιατρικής
Α' Πανεπιστημιακή Παιδιατρική Κλινική
Ν. Παίδων «Η Αγία Σοφία»
Διευδύντρια: Καθηγήτρια Χριστίνα Κανακά Gantenbein

**Ηπατικές Εκδηλώσεις του
Συνδρόμου των Πολυκυστικών
Ωοθηκών στην Εφηβεία**

Διδακτορική διατριβή

Αικατερίνη Γιαννούλη
Μαιευτήρας - Γυναικολόγος

Αθήνα 2023

Διδακτορική διατριβή
της
Αικατερίνης Β. Γιαννούλη

**«Ηπατικές Εκδηλώσεις του Συνδρόμου Πολυκυστικών Ωοθηκών στην
Εφηβεία»**

Ημερομηνία αιτήσεως: 07/10/2016

Ημερομηνία ορισμού 3μελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 29/11/2016

Τριμελής Επιτροπή

1. Φλώρα Μπακοπούλου

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής - Εφηβικής Ιατρικής
Ειδικό Κέντρο Εφηβικής Ιατρικής & Έδρα UNESCO
Εφηβικής Υγείας και Ιατρικής
Α' Παιδιατρική Κλινική, , Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ
Νοσοκομείο Παίδων «Η Αγία Σοφία»

2. Ευθύμιος Δεληγεώργλου

Ομότιμος Καθηγητής Μαιευτικής – Γυναικολογίας
Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ

3. Αριστείδης – Απόστολος Αντωνίου

Αναπληρωτής Καθηγητής Ακτινολογίας
Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ
Ο αποθανών κ. Αριστείδης - Απόστολος Αντωνίου αντικαταστάθηκε από τον

Λέοντα Αραβαντινό

Αναπληρωτή Καθηγητή Μαιευτικής – Γυναικολογίας
Β' Μαιευτική – Γυναικολογική Κλινική, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ
«Αρεταίειο» Νοσοκομείο

Ημερομηνία ορισμού του θέματος: 17/2/2017

Ημερομηνία κατάθεσης 1^{ης} προόδου: 15/12/2017

Ημερομηνία κατάθεσης 2^{ης} προόδου: 30/11/2018

Ημερομηνία κατάθεσης 3^{ης} προόδου: 18/10/2021

Ημερομηνία κατάθεσης 4^{ης} προόδου: 24/5/2023

Ημερομηνία καταθέσεως της διδακτορικής διατριβής: 24/05/2023

Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ: Γεράσιμος Σιάσος

Ημερομηνία Υποστήριξης Διατριβής: 27/6/2023

Επταμελής επιτροπή:

1. Ευθύμιος Δεληγεώρογλου, Ομότιμος Καθηγητής Μαιευτικής – Γυναικολογίας, ΕΚΠΑ
2. Κωνσταντίνος Πανουλής, Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας - Εμμηνόπαυσης, ΕΚΠΑ
3. Αθανάσιος Μίχος, Καθηγητής Παιδιατρικής-Λοιμωξιολογίας, ΕΚΠΑ
4. Φλώρα Μπακοπούλου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής - Εφηβικής Ιατρικής, ΕΚΠΑ
5. Λέων Αραβαντινός, Αναπληρωτής Καθηγητή Μαιευτικής – Γυναικολογίας, ΕΚΠΑ
6. Σταυρούλα Μιχαλά, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μαιευτικής-Γυναικολογίας, ΕΚΠΑ
7. Αρτεμησία Τσίτσικα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Εφηβικής Ιατρικής, ΕΚΠΑ

Βαθμός: Άριστα

Όρκος του Ιπποκράτη

"Ορκίζομαι στον Απόλλωνα τον Ιατρό και στον Ασκληπιό και στην Υγεία και στην Πανάκεια και σ' όλους τους Θεούς επικαλούμενος την μαρτυρία τους, να τηρήσω πιστά κατά τη δύναμη και την κρίση μου αυτό τον όρκο και το συμβόλαιό μου αυτό. Να θεωρώ αυτόν που μου δίδαξε αυτή την τέχνη ίσο με τους γονείς μου και να μοιραστώ μαζί μου τα υπάρχοντά μου και τα χρήματά μου αν έχει ανάγκη φροντίδας.

Να θεωρώ τους απογόνους του ίσους με τ' αδέρφια μου και να τους διδάξω την τέχνη αυτή αν θέλουν να τη μάθουν, χωρίς αμοιβή και συμβόλαιο και να μεταδώσω με παραγγελίες, οδηγίες και συμβουλές όλη την υπόλοιπη γνώση μου και στα παιδιά μου και στα παιδιά εκείνου με δίδαξε και στους άλλους μαθητές που έχουν κάνει γραπτή συμφωνία μαζί μου και σ' αυτούς που έχουν ορκισθεί στον ιατρικό νόμο και σε κανέναν άλλο και να θεραπεύω τους πάσχοντες κατά τη δύναμή μου και την κρίση μου χωρίς ποτέ, εκουσίως, να τους βλάψω ή να τους αδικήσω. Και να μη δώσω ποτέ σε κανένα, έστω κι αν μου το ζητήσει, θανατηφόρο φάρμακο, ούτε να δώσω ποτέ τέτοια συμβουλή. Ομοίως να μη δώσω ποτέ σε γυναίκα φάρμακο για ν' αποβάλει. Να διατηρήσω δε τη ζωή μου και την τέχνη μου καθαρή και αγνή. Και να μη χειρουργήσω πάσχοντες από λίθους αλλά ν' αφήσω την πράξη αυτή για τους ειδικούς. Και σ' όποια σπίτια κι αν μπω, να μπω για την ωφέλεια των πασχόντων αποφεύγοντας κάθε εκούσια αδικία και βλάβη και κάθε γενετήσια πράξη και με γυναίκες και με άνδρες, ελεύθερους και δούλους. Και ό,τι δω ή ακούσω κατά την άσκηση του επαγγέλματός μου, ή κι εκτός, για τη ζωή των ανθρώπων, που δεν πρέπει ποτέ να κοινοποιηθεί, να σιωπήσω και να το τηρήσω μυστικό. Αν τον όρκο μου αυτό τηρήσω πιστά και δεν τον αθετήσω, είθε ν' απολαύσω για πάντα την εκτίμηση όλων των ανθρώπων για τη ζωή μου και για την τέχνη μου, αν όμως παραβώ και αθετήσω τον όρκο μου να υποστώ τα αντίθετα από αυτά."

Σύντομο βιογραφικό Σημείωμα

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

ΕΠΩΝΥΜΟ: Γιαννούλη
ΟΝΟΜΑ: Αικατερίνη
ΟΝΟΜΑ ΠΑΤΡΟΣ: Βησσαρίων
ΗΜ/ΝΙΑ ΓΕΝΝΗΣΗΣ: 17/11/1988

ΕΡΓΑΣΙΑ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ & ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ

20/10/2020 έως σήμερα Επιμελήτρια Β', Μαιευτήρας – Γυναικολόγος, Κέντρο Υγείας Νέας Φιλαδέλφειας

20/07/2016 έως σήμερα: Ιατρός στο Εθνικό Κέντρο Επιχειρήσεων Υγείας του Υπουργείου Υγείας (πλέον Κέντρο Επιχειρήσεων Υγείας του ΕΚΑΒ) & συντονίστρια στην Ομάδα Διαχείρισης Κρίσεων (ΟΔΙΚ) του ΕΚΑΒ

01/06/2022 Fellow of the International Federation of Pediatric and Adolescent Gynecology (IFEPAG)

19/07/2022 Ολοκλήρωση του 25ου Μετεκπαιδευτικού Προγράμματος «Επείγουσα Προνοσοκομειακή Ιατρική»

04/07/2021 Prehospital Trauma Life Support course

08/07/2020 Τίτλος ειδικότητας Μαιευτικής – Γυναικολογίας

04/02/2020 έως 19/10/2020: Παράταση σύμβασης ειδικευόμενης ιατρού στη Β' Μαιευτικής και Γυναικολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, Αρεταίειο Νοσοκομείο

24/08/2017 έως 03/02/2020: Ειδικευόμενη ιατρός Μαιευτικής-Γυναικολογίας στη Β' Μαιευτικής και Γυναικολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, Αρεταίειο Νοσοκομείο

7/12/2019: Neonatal Life Support course (Αθήνα, ΕΚΑΑ)

08/2019 Ολοκλήρωση προγράμματος e-learning του Οικονομικού Πανεπιστημίου Αθηνών : «Ανάλυση Δεδομένων Κλινικών Δοκιμών μέσω SPSS»

01/02/2016 έως 23/08/2017: Ειδικευόμενη ιατρός Μαιευτικής-Γυναικολογίας στο Γενικό Νοσοκομείο Ελευσίνας «Θριάσιο»

08/08/2013 έως 08/01/2015: Ειδικευόμενη ιατρός Χειρουργικής στο Ειδικό Αντικαρκινικό Νοσοκομείο Μεταξά Πειραιά για την απόκτηση του τίτλου ειδικότητας της Μαιευτικής – Γυναικολογίας

2013 έως σήμερα: Συνεργάτης του Ειδικού Κέντρου Εφηβικής Ιατρικής, Χωρέμειο Ερευνητικό Εργαστήριο, Α΄ Παιδιατρική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, Νοσοκομείο Παίδων «Η Αγία Σοφία»

06/08/2012 Πτυχίο Ιατρικής Σχολής Αθηνών – βαθμός πτυχίου 8,1 (λίαν καλώς) - Υπότροφος κληροδοτήματος Α. Παπαδάκη

07/2006 Αποφοίτηση από τα Ιδιωτικά Εκπαιδευτήρια «Αθηνά» Τρικάλων με βαθμό 19,7 και εισαγωγή με Πανελλαδικές Εξετάσεις στην Ιατρική Σχολή του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ
ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ
ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

“The Burden of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Adolescents with Polycystic Ovary Syndrome: A Case–Control Study”
Giannouli, A.; Efthymiou, V.; Konidari, M.; Mani, I.; Aravantinos, L.; Dourakis, S. P.; Antoniou, A.; Deligeoroglou, E.; Bacopoulou, F.
J. Clin. Med., 2023, 12 (2). doi.org/10.3390/JCM12020557.

“Comparison of Hospital Consultation and Summer Camp Lifestyle Intervention Programs for Sustained Body Weight Loss in Overweight/Obese Greek Children”
Papageorgiou, A. L.; Efthymiou, V.; Giannouli, A.; Xekouki, P.; Kranioti, C. C.; Chrousos, G. P.
Children, 2022, 9 (1). doi.org/10.3390/CHILDREN9010086.

“Vulvar Varicosities in an Adolescent Girl with Morbid Obesity: A Case Report”
Aikaterini Giannouli, Vasiliki Rengina Tsinopoulou, Artemis Tsitsika, Efthimios Deligeoroglou, Flora Bacopoulou
Children (Basel) 2021 Mar 7;8(3):202. doi: 10.3390/children8030202.

“Alleviation of vulvovaginitis symptoms: Can probiotics lead the treatment plan?”
Tsimaris P., Giannouli A., Tzouma C., Athanasopoulos N., Creatsas G., Deligeoroglou E. Benef Microbes. 2019 Dec 9;10(8):867-872. doi: .3920/BM2019.0048.

"HPV infection: Immunological aspects and their utility in future therapy"
E. Deligeoroglou, Aikaterini Giannouli, Nikolaos Athanasopoulos, Vasileios Karountzos, Anastasia Vatopoulou, Konstantinos Dimopoulos, George C. Creatsas
Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology, vol. 2013, Article ID 540850, 9 pages, 2013. doi:10.1155/2013/540850

ΣΥΜΜΕΤΟΧΕΣ ΣΕ
ΣΥΝΕΔΡΙΑ ΩΣ
ΟΜΙΛΗΤΡΙΑ ΚΑΤΑ ΤΗ
ΔΙΑΡΚΕΙΑ
ΕΚΠΟΝΗΣΗΣ ΤΗΣ
ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Επίπεδα εγκεφαλικού νευροτροφικού παράγοντα (BDNF) σε έφηβες με
Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών (ΣΠΩ)
Γιαννούλη Αικ., Μπέτα Α., Λαμπροπούλου Δ., Αποστολάκη Δ., Αραβαντινός Λ.,
Μάντζου Αιμιλία, Μπακοπούλου Φλώρα
9ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γυναικολογικής Ενδοκρινολογίας, 27-29 Ιανουαρίου
2023, Θεσσαλονίκη

Serum Concentrations of Hepatokines in Adolescents with Polycystic Ovary
Syndrome

A. Giannouli, V. Efthymiou, D. Lampropoulou, D. Apostolaki, L. Aravantinos, E.
Deligeoroglou, F. Bacopoulou

22nd International Association for Adolescent Health (IAAH) European
Regional Conference & 15th STATE OF THE ART Panhellenic Adolescent
Health/Medicine Congress, 5-7th October 2022

Προσδιορισμός των ηπατοκινών σε έφηβες με Σύνδρομο Πολυκυστικών
Ωοθηκών

Γιαννούλη Α., Ευθυμίου Β., Λαμπροπούλου Δ., Αποστολάκη Δ., Αραβαντινός
Λ., Δεληγεωρογλου Ε., Μπακοπούλου Φ.

7^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδικής & Εφηβικής Γυναικολογίας, 23-25
Σεπτεμβρίου 2022, Πάτρα

Assessment of hepatic disease with non-invasive indices in adolescent PCOS
patients

A. Giannouli, V. Efthymiou, D. Lampropoulou, I. Mani, M. Konidari, F.
Bacopoulou

60th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Endocrinology, 15-
17th September 2022, Rome, Italy
(top 20 poster)

Exploring the hepatic manifestations of PCOS in adolescents

A. Giannouli, A. Beta, I. Mani, M. Konidari, D. Lampropoulou, P. Tsimaris, F.
Bacopoulou

Gynecological Endocrinology - the 20th World Congress, 11-14 May 2022,
Firenze
(Under 34 competition winner)

Δευτεροπαθής αμηνόρροια στην εφηβεία: εξερευνώντας τα αίτια

Γιαννούλη Α., Τσίμαρης Π., Αποστολάκη Δ., Καρούντζος Β., Σαλάκος Ν.,
Δεληγεώρογλου Ευθ.

8ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γυναικολογικής Ενδοκρινολογίας, 21-24 Ιανουαρίου
2021, Αθήνα

Γιατί οι έφηβες διακόπτουν τα αντισυλληπτικά δισκία;

Α. Γιαννούλη, Π. Τσίμαρης, Α. Ποτήρης, Δ. Αποστολάκη, Ν. Αθανασόπουλος,
Β. Καρούντζος, Κ. Δημόπουλος, Ε. Κ. Δεληγεώρογλου

6ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδικής & Εφηβικής Γυναικολογίας, 5-7 Απριλίου 2019, Θεσσαλονίκη

Προσέγγιση εφήβων με στοιχεία του Συνδρόμου Πολυκυστικών Ωοθηκών βάσει κατευθυντηρίων οδηγιών

A. Γιαννούλη, Π. Τσίμαρης, Ε. Δεληγεώρογλου, Α. Μπέτα, Δ. Αποστολάκη, Σ. Στουρνάρας, Ν. Αθανασόπουλος, Ε. Κ. Δεληγεώρογλου

6ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδικής & Εφηβικής Γυναικολογίας, 5-7 Απριλίου 2019, Θεσσαλονίκη

Ενδιαφέρον κλινικό περιστατικό κίρσοειδούς διόγκωσης αιδοίου σε έφηβη με παχυσαρκία

A. Γιαννούλη, Δ. Λαμπροπούλου, Δ. Αποστολάκη, Π. Τσίμαρης, Ε. Κ. Δεληγεώρογλου,

Φ. Μπακοπούλου

6ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδικής & Εφηβικής Γυναικολογίας, 5-7 Απριλίου 2019, Θεσσαλονίκη

Metabolic changes in adolescent oral contraceptives users

A. Giannouli, P. Tsimaris, D. Apostolaki, I. Iordanidou, S. Stournaras, G. Papadimitriou, A. Vatoroulou, E. Deligeoroglou

11th Athens Congress on Women's Health and Disease Athens 2018, 6-8 September 2018, Athens

Λειτουργική Υποθαλαμική Αμηνόρροια στην εφηβεία: Υπάρχει μεταβολική επιβάρυνση;

Γιαννούλη Α., Τσίμαρης Π., Ιορδανίδου Ε., Στουρνάρας Σ., Αποστολάκη Δ., Αθανασόπουλος Ν., Καρούντζος Β., Δημόπουλος Κ., Βατοπούλου Α., Δεληγεώρογλου Ε.

14ο Πανελλήνιο Συνέδριο Μαιευτικής και Γυναικολογίας, 31 Μαΐου - 3 Ιουνίου 2018, Αθήνα

Adolescents explain: why did they decided to discontinue the pill?

A. Giannouli, P. Tsimaris, A. Potiris, D. Apostolaki, N. Athanasopoulos, V. Karountzos, K. D. Dimopoulos, E. Deligeoroglou

The 15th Congress of the European Society of Contraception and Reproductive Health, 9-12 May 2018, Budapest, Hungary

Metabolic burden in adolescents with secondary Functional Hypothalamic Amenorrhea: is the risk real?

A. Giannouli, P. Tsimaris, I. Iordanidou, S. Stournaras, D. Apostolaki, N. Athanasopoulos, V. Karountzos, K. Dimopoulos, A. Vatoroulou, E. Deligeoroglou

Gynecological Endocrinology, the 18th World Congress, 7-10 March 2018, Firenze, Italy

Amenorrhea and stress related hypothalamic disorders Two interesting cases of primary amenorrhea with double pathology.

A. Giannouli, P. Tsimaris, C. Tzouma, N. Athanasopoulos, Karountzos, A. Vatopoulou, E. Deligeoroglou

Gynecological Endocrinology, the 18th World Congress, 7-10 March 2018, Firenze, Italy

(Under 34 competition winner)

Περιστατικό πρωτοπαθούς αμηνόρροιας με διπλή αιτιοπαθολογία σε επίπεδο μήτρας & ωοθήκης

Αικ. Γιαννούλη, Ε. Ιορδανίδου, Χρ. Τζούμα, Στ. Στουρνάρας, Ν. Αθανασόπουλος, Β. Καρούντζος, Κ. Δημόπουλος, Π. Τσίμαρης, Ε. Δεληγεώρογλου

Προφορική ανακοίνωση στο 5^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδικής & Εφηβικής Γυναικολογίας, 6-8 Οκτωβρίου 2017, Αθήνα

Κίνηση εφήβων ασθενών στη Μαιευτική - Γυναικολογική Κλινική του ΓΝΕ Θριάσιο το έτος 2016

Αικ. Γιαννούλη, Ευαγ. Δεληγεώρογλου, Β. Μιχοπούλου, Χ. Μαχαιριώτης
Γραπτή ανακοίνωση στο 5^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδικής & Εφηβικής Γυναικολογίας, 6-8 Οκτωβρίου 2017, Αθήνα

Περίληψη

Σκοπός: Πρωτεύων στόχος της παρούσας έρευνας ήταν να μελετηθεί η παρουσία λιπώδους νόσου του ήπατος (non-alcoholic fatty liver disease - NAFLD) σε έφηβες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (polycystic ovary syndrome - PCOS) συγκριτικά με υγιείς μάρτυρες. Δευτερεύων στόχος ήταν η σύγκριση μεταξύ των δύο ομάδων (PCOS – μαρτύρων) των επιπέδων των ηπατοκινών οι οποίες είναι οργανοκίνες παραγόμενες από το ήπαρ και σχετίζονται με τη μετάδοση μεταβολικών πληροφοριών από το ήπαρ στην περιφέρεια.

Υλικό – Μέθοδος: Στην έρευνα συμπεριλήφθηκαν έφηβες ηλικίας 13-21 ετών στις οποίες είχαν παρέλθει τουλάχιστον 2 έτη από την εμμηναρχή. Η διάγνωση του PCOS έγινε βάσει των κριτηρίων του Rotterdam. Η παρουσία NAFLD αξιολογήθηκε με υπερηχογράφημα ήπατος, ελαστογραφία ήπατος και δείκτες υπολογιζόμενους από βιοχημικές παραμέτρους (Fatty liver index - FLI, Liver fat score - LFS, Lipid accumulation product - LAP, ALT/τριγλυκερίδια ορού, Hepatic steatosis index - HSI, PCOS hepatic steatosis index, Visceral adiposity index – VAI, Fibrosis-4 index – FIB-4, NAFLD fibrosis score - NFS, BARD score, AST to Platelet Ratio Index – APRI, και BAAT score). Ο προσδιορισμός των επιπέδων των ηπατοκινών (Fibroblast growth factor – FGF21, Selenoprotein P, fetuin A) έγινε με τη ανοσοενζυμική μέθοδο ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay).

Αποτελέσματα: Στην έρευνα συμμετείχαν συνολικά 87 έφηβες (47 έφηβες με PCOS και 40 μάρτυρες), με μέση ηλικία 15,31 (\pm SD 1,55) έτη. Στις έφηβες με PCOS, συγκριτικά με τις μάρτυρες, βρέθηκε αυξημένος επιπολασμός NAFLD τόσο με το υπερηχογράφημα (22,7% vs. 6,1%, $p=0,046$) όσο και τον δείκτη HSI (40,9% vs. 14,2%, $p=0,010$), με σημαντικά υψηλότερες τιμές στους δείκτες LFS, FLI, και ALT/τριγλυκερίδια ($p=0,019$, $p=0,007$ και $p=0,009$ αντίστοιχα). Ωστόσο, δεν βρέθηκε αντίστοιχη διαφορά στην ηπατική ίνωση, όπως

αξιολογήθηκε με το Fibroscan®, ανάμεσα στις δύο ομάδες. Οι έφηβες με PCOS και ηπατική στεάτωση είχαν σε σημαντικά μεγαλύτερο βαθμό υπερανδρογονισμό, ινσουλινοαντίσταση και δυσλιπιδαιμία σε σχέση με εκείνες που είχαν μόνο PCOS [free androgen index (FAI) 5,31(IQR=5,69) vs. 3,05(3,48), $p=0,034$; HOMA-IR 3,16(2,03) vs. 2,02(0,89), $p=0,002$; LDL 94,07 \pm 29,08 vs. 77,56 \pm 20,21, $p=0,031$; τριγλυκερίδια 75,00(31,00) vs. 51,50(30,90), $p=0,019$]. Ο fibroblast growth factor 21 (FGF21) ήταν προγνωστικός της ηπατικής στεάτωσης, καθώς αύξηση του FGF21 κατά 1 pg/mL, αύξησε κατά 1% την πιθανότητα διάγνωσης λιπώδους διήθησης του ήπατος υπερηχογραφικά, όταν οι υπόλοιπες παράμετροι παρέμειναν αμετάβλητες. Τα επίπεδα των selenoprotein P και sex hormone binding globulin (SHBG) βρέθηκαν σημαντικά χαμηλότερα στις έφηβες με PCOS από τις μάρτυρες. Η selenoprotein P παρουσίασε σημαντική συσχέτιση με την τεστοστερόνη και τον FAI ($r=0,325$, $p=0,007$ και $r=0,361$, $p=0,002$) ενώ η SHBG παρουσίασε πληθώρα συσχετίσεων με μεταβολικές παραμέτρους.

Συμπεράσματα: Οι έφηβες με PCOS είχαν αυξημένο επιπολασμό λιπώδους νόσου του ήπατος από τις μάρτυρες. Οι ηπατοκίνες συσχετίστηκαν τόσο με τις μεταβολικές παραμέτρους όσο και με τα ανδρογόνα, με προγνωστική αξία για τη διάγνωση της NAFLD. Η συννοσηρότητα του PCOS με τη λιπώδη νόσο του ήπατος ήδη από την εφηβεία, συνιστά έλεγχο ρουτίνας του ήπατος στις έφηβες με PCOS, στοχεύοντας στην έγκαιρη διάγνωση πιθανής ηπατικής νόσου, πιθανώς και με τη χρήση ηπατοκινών.

Περίληψη στην αγγλική γλώσσα

Objective: To study the prevalence of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and circulating hepatokines (organokines produced by the liver cells) in adolescents with polycystic ovary syndrome (PCOS) vs. healthy controls.

Materials and methods: Adolescent girls, aged 13-21 years, at least 2 years after menarche, were eligible to enter the study. The diagnosis of PCOS was based on the Rotterdam criteria whereas NAFLD was assessed by liver ultrasound, liver elastography and calculated indices (Fatty liver index - FLI, Liver fat score - LFS, Lipid accumulation product - LAP, ALT/triglycerides, Hepatic steatosis index - HSI, PCOS hepatic steatosis index, Visceral adiposity index – VAI, Fibrosis-4 index – FIB-4, NAFLD fibrosis score - NFS, BARD score, AST to Platelet Ratio Index – APRI, and BAAT score). Serum concentrations of fibroblast growth factor (FGF21), selenoprotein P and fetuin A were measured with ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay).

Results: A total of 87 adolescents, 47 with PCOS and 40 controls, with mean age 15,31 (\pm SD 1,55) years participated in the study and underwent clinical, laboratory and imaging evaluation. Adolescents with PCOS vs. controls had a higher prevalence of NAFLD diagnosed both by ultrasound (22,7% vs. 6,1%, $p=0,046$) and HSI (40.9% vs. 14.2%, $p=0,010$), and significantly worse LFS, FLI, and ALT/triglycerides scores ($p=0,019$, $p=0,007$ and $p=0,009$ respectively). Nevertheless, there was no significant difference in hepatic fibrosis (assessed by Fibroscan®) between adolescents with PCOS and controls. Adolescents with PCOS and concurrent NAFLD had significantly worse hyperandrogenism, insulin resistance and lipid parameters than adolescents with PCOS and healthy liver [free androgen index (FAI) 5,31(IQR=5,69) vs. 3,05(3,48), $p=0,034$; HOMA-IR 3,16(2,03) vs. 2,02(0,89), $p=0,002$; LDL

94,07±29,08 vs. 77,56±20,21, $p=0,031$; and triglycerides 75,00(31,00) vs. 51,50(30,90), $p=0,019$]. Regression analysis revealed that 1 pg/mL increase of FGF21, increased by 1% the odds of diagnosing NAFLD by ultrasound, when all other parameters remained unchanged. Selenoprotein P and Sex hormone binding globulin (SHBG) were lower in adolescents with PCOS than controls. Additionally, selenoprotein P was associated with testosterone levels and FAI ($r=0,325$, $p=0,007$ and $r=0,361$, $p=0,002$) while SHBG was associated with several metabolic parameters.

Conclusion: The prevalence of NAFLD was higher in adolescents with PCOS than controls. Hepatokines were associated with metabolic and hyperandrogenism parameters and could be used as biomarkers for fatty liver. The burden of liver steatosis in PCOS, which is evident from adolescence, suggests routine screening of all adolescents with PCOS for NAFLD.

Ευχαριστίες

Η διατριβή αυτή θα ήταν αδύνατο να ολοκληρωθεί χωρίς τη στενή καθοδήγηση της επιβλέπουσας Αναπληρώτριας Καθηγήτριας κ. Φλώρας Μπακοπούλου. Την ευχαριστώ τόσο για τη βοήθεια της στο σχεδιασμό και την ολοκλήρωση της μελέτης, όσο και για την ευκαιρία να παρακολουθήσω το έργο της στο Ειδικό Κέντρο Εφηβικής Ιατρικής της Α' Παιδιατρικής Κλινικής του Νοσοκομείου Παίδων «Η Αγία Σοφία».

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους δασκάλους μου, τον κ. Ευθύμιο Δεληγεώρογλου, Ομότιμο Καθηγητή Μαιευτικής-Γυναικολογίας καθώς και τον κ. Τσίμαρη Παντελή, μαιευτήρα - γυναικολόγο που με μύησαν στον κόσμο της Παιδικής - Εφηβικής Γυναικολογίας και της έρευνας γενικότερα.

Ιδιαίτερη μνεία αξίζει ο εκλιπών κ. Αριστείδης Αντωνίου, ο οποίος βοήθησε στο σχεδιασμό αλλά και την πραγματοποίηση του απεικονιστικού ελέγχου της μελέτης αλλά δεν πρόλαβε, δυστυχώς, την ολοκλήρωση της. Τη θέση του στη συμβουλευτική επιτροπή της διδακτορικής διατριβής ανέλαβε με προθυμία ο κ. Λέων Αραβαντινός, Αναπληρωτής Καθηγητής Μαιευτικής - Γυναικολογίας, τον οποίο ευχαριστώ πολύ.

Θα ήταν παράλειψη να μην ευχαριστήσω τους φίλους και συναδέλφους μαιευτήρες – γυναικολόγους, κ. Αναστασία Μπέτα και κ. Νικόλαο Αθανασόπουλο για την καθοδήγηση και στήριξή τους.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου, για την αδιάκοπη υποστήριξή τους και το σύζυγό μου, Πέτρο, για την ατέρμονη υπομονή και συμπαράσταση όλα αυτά τα χρόνια.

Περιεχόμενα

Πίνακας συντμήσεων	σελ 18
<u>Γενικό Μέρος</u>	σελ 20
Το Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών και ο ορισμός του	σελ 21
Ο επιπολασμός του Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών	σελ 27
Τα επιμέρους στοιχεία του Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών	σελ 29
Διαταραχή ωοθυλακιορρηξίας και εμμηνορρυσίας	σελ 29
Κλινικός υπερανδρογονισμός	σελ 31
Υπερανδρογοναιμία	σελ 33
Πολυκυστική μορφολογία ωοθηκών	σελ 35
Αποκλεισμός άλλων σχετικών διαταραχών	σελ 38
Διαταραχές στην έκκριση των γοναδοτροπινών	σελ 43
Αντιμυλλέριος ορμόνη	σελ 44
Αντίσταση στην ινσουλίνη	σελ 45
Ιδιαιτερότητες του Συνδρόμου Πολυκυστικών Ωοθηκών στην εφηβεία	σελ 49
Ανωοθυλακιορρηξία και διαταραχές εμμηνορρυσίας	σελ 52
Κλινικός και εργαστηριακός υπερανδρογονισμός	σελ 57
Υπερηχογραφικά ευρήματα ανωοθυλακιορρηξίας	σελ 60
Η παθοφυσιολογία του Συνδρόμου Πολυκυστικών Ωοθηκών	σελ 62
Η προέλευση του Συνδρόμου Πολυκυστικών Ωοθηκών	σελ 68
Μεταβολικό σύνδρομο και καρδιαγγειακός κίνδυνος	σελ 71
Η διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου στην εφηβεία	σελ 71
Μεταβολικό σύνδρομο και καρδιαγγειακός κίνδυνος	σελ 73
Δείκτες καρδιαγγειακού κινδύνου και μεταβολικού προφίλ	σελ 74
Μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος	σελ 79
Μη επεμβατικές μέθοδοι διάγνωσης της λιπώδους νόσου του ήπατος	σελ 82
Θεραπευτική προσέγγιση ασθενών με λιπώδη νόσος του ήπατος	σελ 90
Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών και λιπώδης νόσος του ήπατος	σελ 92
Ηπατοκίνες	σελ 97

Fibroblast growth factor 21	σελ 101
Fetuin A	σελ 102
Senenoprotein P	σελ 104
Sex hormone binding globulin	σελ 106
<u>Ειδικό Μέρος</u>	σελ 108
Σκοπός μελέτης	σελ 109
Υλικό – Μέθοδος	σελ 110
Δείγμα	σελ 110
Κριτήρια ένταξης	σελ 110
Κριτήρια αποκλεισμού	σελ 109
Μετρήσεις	σελ 112
Ανοσοενζυμική μέθοδος προσδιορισμού ηπατοκινών	σελ 118
Υπολογισμός σκορ ινσουλινοαντίστασης, ηπατικής στεάτωσης, ίνωσης	σελ 119
Υπερηχογραφήματα	σελ 124
Στατιστική ανάλυση	σελ 127
Αποτελέσματα	σελ 128
Περιγραφική στατιστική	σελ 128
Σύγκριση μεταξύ εφήβων με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών και μαρτύρων	σελ 135
Σύγκριση μεταξύ νορμοβαρών εφήβων και εφήβων με υπερβαρότητα/ παχυσαρκία	σελ 152
Σύγκριση ασθενών με ηπατική στεάτωση (HSI>36) με ασθενείς χωρίς στεάτωση	σελ 162
Συσχετίσεις	σελ 170
Λογιστική παλινδρόμηση	σελ 172
Συζήτηση	σελ 173
Συμπεράσματα	σελ 189
Βιβλιογραφικές αναφορές	σελ 190

Πίνακας Συντμήσεων

17OH-PRG: 17υδροξύ-προγεστερόνη	ESHRE: European Society for Human Reproduction και της Embryology
ACOG: American College of Obstetricians and Gynecologists	FAI: Free androgen index
AASLD: American Association for the Study of Liver Diseases	FIB-4: Fibrosis-4 index
ACTH: φλοιοεπινεφριδιοτρόπος ορμόνη	FG: Ferriman-Gallway score
AE-PCOS: Androgen Excess and Polycystic Ovary Syndrome	FSH: θυλακιοτρόπος ορμόνη
ALP: αλκαλική φωσφατάση	FreeT: ελεύθερη τεστοστερόνη
AMH: αντιμυλλέριος ορμόνη	FLI: Fatty liver index
AMP: μονοφωσφορική αδενοσίνη	FNPO: follicle number per ovary
ANGPTL: angiotensin-like protein	FGF: Fibroblast Growth Factors
APRI: AST to Platelet Ratio Index	FOH: λειτουργικός ωοθηκικός υπερανδρογονισμός
ASRM: American Society for Reproductive Medicine	FTO: fat mass and obesity associated gene
AUB: abnormal uterine bleeding	Glu: γλυκόζη
BMI: body mass index	GWAS: μελέτες συσχέτισης ολόκληρου του γονιδιώματος
BDNF: brain-derived neurotrophic factor	IDF: International Diabetes Federation
CAH: Congenital adrenal hyperplasia	Ins: ινσουλίνη
CAP: controlled attenuation parameter	IQR: interquartile range
cIMT: carotid intima media thickness	HC: περίμετρος γοφών
CI: confidence interval	HDL: λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας
CT: computed tomography	HAIR-AN: Hyperandrogenic insulin resistance - acanthosis nigricans syndrome
DHEA: δεϋδροεπιανδροστερόνη	HOMA-IR: Homeostatic model assessment Insulin Resistance index
DHEA-S: θειϊκή δεϋδροεπιανδροστερόνη	HSI: Hepatic steatosis index
E ₂ : οιστραδιόλη	kPA: kilopascals
EASL: European Association for the Study of the Liver	LFS Liver fat score
EASO: European Association for the Study of Obesity	LAP: Lipid accumulation product
ECON: Expert Committee on NAFLD	LECT: leukocyte cell-derived chemotaxin
ELISA: Enzyme-linked Immunosorbent Assay	LH: ωχρινοτρόπος ορμόνη
	LDL: λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας

LOD: limit of detection	SAFETY: Screening ALT for Elevation in Today's Youth
MetS: μεταβολικό σύνδρομο	SD: Standard deviation
mFG: τροποποιημένο σκορ Ferriman- Galloway	SHBG: Sex hormone binding globulin
MRI: Magnetic Resonance Imaging	SGOT (AST): οξαλοξική τρανσαμινάση
NAFLD: Μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος	SGPT (ALT): πυροσταφυλική τρανσαμινάση
NAFL: Nonalcoholic fatty liver	SGTA: small glutamine-richtetracopeptide repeat containing protein-α
NASH: nonalcoholic steatohepatitis	T: τεστοστερόνη
NASPGHAN: North American Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition	TG: τριγλυκερίδια
NFS: NAFLD fibrosis score	VAI: Visceral adiposity index
NIH: National Institutes of Health	VLDL: πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη
NC-CAH: Μη κλασική συγγενή υπερπλασία επινεφριδίων	WC: περίμετρος μέσης
NPV: αρνητική προγνωστική αξία	WHO: Παγκόσμιος οργανισμός υγείας
OGTT: Oral glucose tolerance test	WHR: waist hip ratio
OR: odds ratio	WHtR: waist to height ratio
PCOS: Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών	QUICKI: Quantitive insulin sensitivity check index
PCOM: Πολυκυστική μορφολογία ωοθηκών	γGT: γ-γλουταμυλτρανσφεράση
PCOS-HS: PCOS hepatic steatosis index	Δ4: ανδροστενεδιόνη
PRL: προλακτίνη	ΕΕΜΗ: Ελληνική Εταιρεία Μελέτης του Ήπατος
PPV: θετική προγνωστική αξία	ΕΚΠΑ: Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
RBP: retinol-binding protein	ΣΑΠ: συστολική αρτηριακή πίεση
ROC: receiver operating characteristic	ΣΔ2: σακχαρώδους διαβήτης τύπου 2

Γενικό μέρος

Το Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών και ο ορισμός του

Το Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών (Polycystic ovary syndrome - PCOS) είναι μια κοινή χρόνια πάθηση, η οποία συνδέεται τόσο με βραχυπρόθεσμες όσο και με μακροπρόθεσμες επιπτώσεις σε διάφορα συστήματα του οργανισμού [1].

Εκτιμάται πως στο 2-18% των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας μπορεί να διαγνωσθεί το PCOS [2]. Ωστόσο, ο καθορισμός του ακριβούς επιπολασμού του συνδρόμου δεν είναι εύκολος λόγω της ετερογένειας των χρησιμοποιούμενων διαγνωστικών κριτηρίων και των φυσιολογικών τιμών των διαγνωστικών εργαστηρίων, της μεταβλητότητας των συμπτωμάτων, καθώς και ενδογενών διαφορών μεταξύ πληθυσμών.

Οι πρώτες αναφορές γυναικών με τα χαρακτηριστικά του PCOS έγιναν στην αρχαιότητα από τον Ιπποκράτη (460-377 π.Χ) και το Σωρανό τον Εφέσιο (98-138 μ.Χ). Ο πρώτος έγραψε για γυναίκες με ελάχιστη εμμηνορρυσία, αρρενωπά χαρακτηριστικά και δυσκολίες σύλληψης και ο δεύτερος για γυναίκες χωρίς εμμηνορρυσία με αρρενωπό σωματότυπο και στείρες [3].

Το PCOS ως σύνδρομο περιεγράφηκε αρχικά από τον I.F. Stein και τον M.L. Leventhal στο Σικάγο το 1935, και οι ερευνητές δημοσίευσαν τα ευρήματά τους σε ένα άρθρο-ορόσημο με τίτλο “Amenorrhea Associated with Bilateral Polycystic Ovaries” στο American Journal of Obstetrics and Gynecology (AJOG) την ίδια χρονιά [4]. Η αρχική περιγραφή του συνδρόμου ήταν μια σύνδεση μεταξύ της χαρακτηριστικής συμπτωματολογίας και του αυξημένου μεγέθους ωοθηκών (2-4 φορές του φυσιολογικού μεγέθους), όπως βρέθηκε κατά τη λαπαροτομία των ασθενών αυτών. Οι Stein και Leventhal πραγματοποίησαν σφηνοειδή εκτομή-βιοψία στις ωοθήκες αυτές για περαιτέρω παθολογοανατομικό έλεγχο λόγω της μακροσκοπικής εικόνας θαμπών, γκριζωπών ωοθηκών με πολλαπλά μικρά κυστίδια γεμάτα

με υγρό. Παρατήρησαν πως μερικούς μήνες μετά τη σφηνοειδή εκτομή, οι ασθενείς είχαν αυτόματους εμμηνορρυσιακούς κύκλους και επέτυχαν σύλληψη. Συγκεκριμένα, από το δείγμα των 71 ασθενών τους, οι 68 επέτυχαν αυτόματη εμμηνορρυσία και οι 63 επέτυχαν αυτόματη κύηση [5,6].

Από την περιγραφή του PCOS από τους Stein και Leventhal το 1935, αρκετά διαφορετικά «σετ» διαγνωστικών κριτηρίων για το PCOS έχουν εξετασθεί, συμπεριλαμβανομένων εκείνων του συνεδρίου του National Institutes of Health (1990), της European Society for Human Reproduction and Embryology/American Society for Reproductive Medicine (ESHRE/ASRM), και της Androgen Excess/PCOS Society, και άλλων μικρών τροποποιήσεων ή επεξηγηματικών οδηγιών [7–10].

Η συνάντηση του National Institutes of Health (NIH) το 1990 ήταν το πρώτο συνέδριο για το PCOS, και οι κατευθυντήριες οδηγίες στις οποίες κατέληξε αυτή η συνάντηση βασίστηκαν κυρίως στη γνωμοδότηση των ειδικών επί του θέματος συμμετεχόντων παρά σε αναλυτικές μελέτες [7]. Το σετ των κριτηρίων που καθορίστηκε περιλάμβανε:

1. Τη χρόνια ανωθυλακιορρηξία
2. Κλινικά ή/και βιοχημικά στοιχεία υπερανδρογονισμού

Και τα δύο αυτά κριτήρια πρέπει να είναι παρόντα και άλλες συναφείς διαγνώσεις πρέπει να αποκλειστούν για να οδηγηθούμε στη διάγνωση του PCOS βάσει των NIH κριτηρίων. Ο σαφής πλέον ορισμός τους συνδρόμου από το NIH, έθεσε τη βάση για καλύτερες αναλυτικές μελέτες που έδωσαν επιπλέον πληροφορίες. Αυτές αξιολογήθηκαν τον Μάιο του 2003 στο Rotterdam από ομάδα εργασίας της European Society for Human Reproduction και της Embryology/American Society for Reproductive Medicine (ESHRE/ASRM) ώστε να αναθεωρηθούν εάν ήτο απαραίτητο τα κριτήρια του που είχαν τεθεί από το NIH.

Η αναθεώρηση του Rotterdam Consensus περιλαμβάνει 3 διαγνωστικά κριτήρια αναφέροντας πως για να τεθεί η διάγνωση του PCOS πρέπει να συνυπάρχουν τουλάχιστον 2 από τα 3. Αυτά είναι:

1. Αραιο-/ ανωθυλακιορρηξία
2. Κλινικά ή βιοχημικά στοιχεία υπερανδρογονισμού
3. Απεικόνιση πολυκυστικής μορφολογίας των ωοθηκών (polycystic ovary morphology - PCOM).

Απαραίτητος είναι και ο αποκλεισμός άλλων διαταραχών όπως η μη κλασσική συγγενής υπερπλασία των επινεφριδίων, το σύνδρομο Cushing, ανδρογονοπαραγωγοί όγκοι ωοθηκών, διαταραχές της θυρεοειδικής λειτουργίας και υπερπρολακτιναιμία. Με την προσθήκη του 3^{ου} κριτηρίου οι φαινότυποι του PCOS διευρύνθηκαν περιλαμβάνοντας πλέον περισσότερες ασθενείς. Οι δύο φαινότυποι που περιλαμβάνονταν στον ορισμό του NIH χαρακτηρίστηκαν πλέον ως κλασσικοί:

- Αραιο-/ ανωθυλακιορρηξία + Κλινικά ή βιοχημικά στοιχεία υπερανδρογονισμού + PCOM (Φαινότυπος A)
- Αραιο-/ ανωθυλακιορρηξία + Κλινικά ή βιοχημικά στοιχεία υπερανδρογονισμού (Φαινότυπος B)

Δυο νέοι φαινότυποι αναγνωρίστηκαν ως νοσούντες από PCOS:

- Κλινικά ή βιοχημικά στοιχεία υπερανδρογονισμού και PCOM χωρίς διαταραχής της ωοθυλακιορρηξίας. (Φαινότυπος C)
- Αραιο-/ ανωθυλακιορρηξία και PCOM χωρίς υπερανδρογονισμό (Φαινότυπος D)

Ερευνητές έχουν ασχοληθεί επισταμένως με την αναζήτηση διαφορών στις ορμονικές και μεταβολικές παραμέτρους μεταξύ των διαφορετικών φαινοτύπων, ιδιαίτερα μεταξύ των κλασικών και των νέων φαινοτύπων. Η διεύρυνση του ορισμού του PCOS από το Rotterdam Consensus είχε σκοπό να μη διαλάθει η διάγνωση του συνδρόμου καθώς και οι μακροπρόθεσμες επιπτώσεις της [8].

Το 2009, η Androgen Excess and Polycystic Ovary Syndrome (AE-PCOS) Society δημοσίευσε τα αποτελέσματα της ομάδας εργασίας που είχε δημιουργήσει για την αξιολόγηση και ανάλυση των δημοσιεύσεων σχετικά με τον ορισμό του PCOS για να βοηθήσει τόσο την κλινική του διάγνωση όσο και την έρευνα πάνω σε αυτό. Έγινε μια εμπειριστατωμένη αναθεώρηση όλων των επιμέρους στοιχείων που είχαν χρησιμοποιηθεί έως τότε στον ορισμό του PCOS [9].

Οι κύριες προτάσεις της AE-PCOS Society για τα κριτήρια της διάγνωσης του PCOS είναι:

a) Υπερανδρογονισμός (δασυτριχισμός ή/και υπερανδρογοναιμία)

και

b) Ωοθηκική δυσλειτουργία (ολιγο-/ανωθυλακιορρηξία ή/και μορφολογία πολυκυστικών ωοθηκών)

και

c) Εξαίρεση άλλων σχετικών διαταραχών ή διαταραχών με περίσσεια ανδρογόνων

(όπως ανεπάρκεια 21-hydroxylase και μη κλασική υπερπλασία επινεφριδίων, ανδρογόνου-παραγωγά νεοπλάσματα, χρήση/κατάχρηση αναβολικών φαρμάκων, σύνδρομο Cushing's, Σύνδρομο υπερανδρογονικής ινσουλινο-αντίστασης – Μελανίζουσας ακάνθωσης (HAIR-AN - Hyperandrogenic-Insulin Resistance-

Acanthosis Nigricans syndrome), θυρεοειδική δυσλειτουργία και υπερπρολακτιναιμία) [9].

Άρα εκτός συνδρόμου παραμένει ο φαινότυπος D, με το κύριο σώμα των συμμετεχόντων να θεωρεί πως στις γυναίκες αυτές πρέπει να τεθεί άλλη διάγνωση, δίνοντας έμφαση στο στοιχείο του υπερανδρογονισμού του συνδρόμου. Η Ομάδα Εργασίας τονίζει στα συμπεράσματα πως η διάγνωση του PCOS δεν πρέπει να δίνεται απερίσκεπτα, λαμβανομένων υπόψη των πιθανών επιπτώσεων της για τη ζωή.

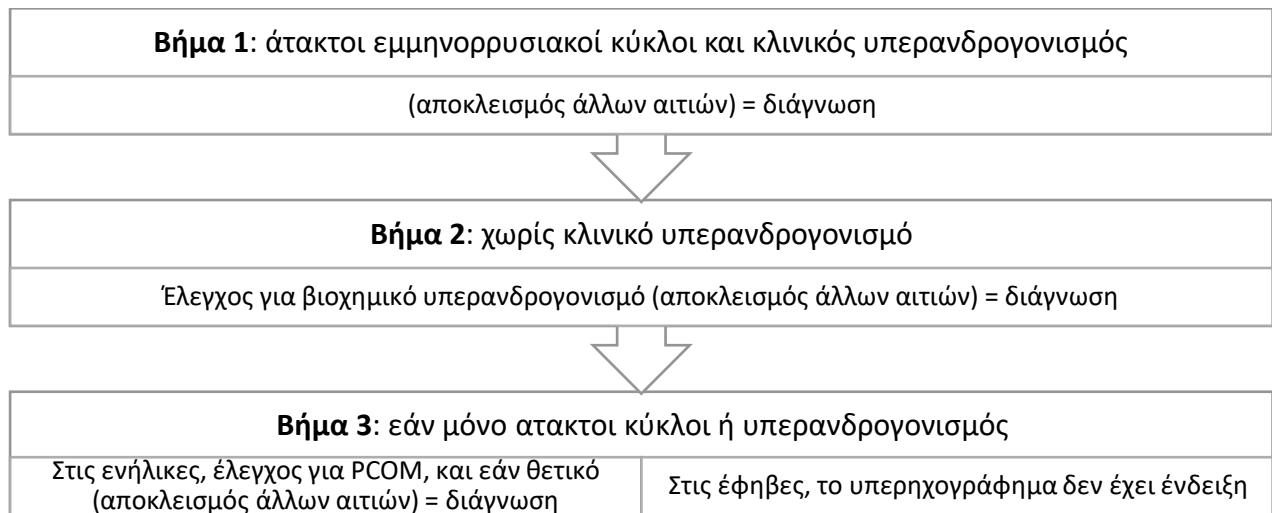
Πίνακας 1: Διαγνωστικά κριτήρια για το PCOS

1990 NIH	2003 ESHRE/ASRM (Rotterdam)	2006 AE-PCOS Society
όλα	τουλάχιστον 2/3	όλα
Αραιο-/ανωθυλακιορρηξία	Αραιο-/ανωθυλακιορρηξία	Ωθηκική δυσλειτουργία (ολιγο-/ανωθυλακιορρηξία ή/και μορφολογία πολυκυστικών ωθηκών
Κλινικά ή βιοχημικά στοιχεία υπερανδρογονισμού	Κλινικά ή βιοχημικά στοιχεία υπερανδρογονισμού	Υπερανδρογονισμός (δασυτριχισμός ή/και υπερανδρογοναιμία)
Εξαίρεση άλλων σχετικών διαταραχών ή διαταραχών με περίσσεια ανδρογόνων		

Το 2012, η επιτροπή στο National Institutes of Health Consensus Conference πρότεινε τη χρήση του ορισμού του 2003, του Rotterdam αλλά με την προϋπόθεση ότι θα σημειώνεται και ο φαινότυπος του PCOS κατά τη διάγνωση [11].

Το 2018 δημοσιεύτηκαν οι διεθνείς τεκμηριωμένες κατευθυντήριες γραμμές καλής πρακτικής για το PCOS από το Australian Centre for Research Excellence in PCOS, που χρηματοδοτήθηκαν από το National Health and Medical Research Council (NHMRC) της Αυστραλίας, με τη συνεργασία της European Society of Human Reproduction and Embryology

(ESHRE) και την American Society for Reproductive Medicine (ASRM), και υποστηρίζουν τη χρήση των κριτηρίων του Rotterdam για τη διάγνωση του PCOS στις ενήλικες γυναίκες, τονίζοντας πως όταν συνυπάρχουν ο υπερανδρογονισμός και η ωθηκική δυσλειτουργία, η υπερηχογραφική απεικόνιση δεν είναι απαραίτητη. Προτείνουν τον παρακάτω αλγόριθμο διαλογής για το PCOS [10]:



*Εικόνα 1: Αλγόριθμος διαλογής για τη διάγνωση του PCOS από το Recommendations from the international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome
Πηγή Teede et al. [10]*

Για ειδικούς πληθυσμούς όπως ο εφηβικός υπάρχουν είτε ειδικές σημειώσεις στους ανωτέρω ορισμούς, είτε εισηγήσεις ειδικών παιδιατρικών εταιριών, οι οποίες θα αναλυθούν εκτενώς σε επόμενο κεφάλαιο.

Ο επιπολασμός του Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών

Ο επιπολασμός του PCOS εξαρτάται φυσικά από το σετ των κριτηρίων που θα χρησιμοποιηθεί για τη διάγνωση του συνδρόμου [12]. Το ποσοστό του επιπολασμού έχει υπολογισθεί από 1,6% όταν υπάρχει η προϋπόθεση και των 3 κριτηρίων του Rotterdam έως 18% σε παρόμοιους καυκάσιους πληθυσμούς χρησιμοποιώντας τα 2/3 κριτήρια του Rotterdam [13,14]. Ωστόσο και κάποιοι φυλετικοί παράγοντες πιθανώς να επηρεάζουν.

Η πρώτη μελέτη για τον καθορισμό του PCOS στο γενικό πληθυσμό εκπονήθηκε στην Αλαμπάμα των ΗΠΑ και δημοσιεύτηκε το 1998. Για τον ορισμό του συνδρόμου χρησιμοποιήθηκαν τα κριτήρια του NIH (1990) και κατέληξαν πως στο δείγμα τους το 6,2% των καυκάσιων και το 3,4% των μαύρων γυναικών διαγνώστηκαν με PCOS [15].

Ακολούθησαν πολλές μελέτες επιπολασμού καταλήγοντας σε ποσοστά 5-20% των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας [16]. Στις μελέτες αυτές, χρησιμοποιώντας τον ορισμό του NIH (1990), ο επιπολασμός υπολογίζεται μεταξύ 5 και 8%, με τον ορισμό της AE/PCOS society (2006) μεταξύ 7-13% ενώ χρησιμοποιώντας τα κριτήρια του Rotterdam (2003) μεταξύ 8 με 13% [17].

Μια μεγάλη αναδρομική μελέτη, σε μη επιλεγμένο πληθυσμό γυναικών από την Αυστραλία, που δημοσιεύτηκε το 2010, υπολόγισε τον επιπολασμό του PCOS σε 17,8 % (SD +/- 2.8%) χρησιμοποιώντας τα κριτήρια του Rotterdam, σε 12.0 % (SD +/- 2.4%) με τον ορισμό της AE PCOS και σε 8.7 % (SD +/- 2.0%) χρησιμοποιώντας τον ορισμό του NIH [14].

Πολλοί ερευνητές έχουν μελετήσει γυναίκες σε ΗΠΑ, Ηνωμένο Βασίλειο, Ισπανία, Ελλάδα, Αυστραλία και Μεξικό για να καθορίσουν εάν τα ποσοστά του επιπολασμού του PCOS είναι

παρόμοια μεταξύ των πληθυσμών των χωρών αυτών. Παρόλο που στις μελέτες αυτές δεν εκπροσωπούνται όλες οι χώρες, εντός τους υπήρχαν γυναίκες όλων των φυλών και βρέθηκε παρόμοιος επιπολασμός, μεταξύ 6-9% με τα NIH κριτήρια. [3] Λίγες μελέτες έχουν καταδείξει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ διαφορετικών φυλών, όπως αυξημένο επιπολασμό στη μαύρη φυλή [15].

Αξιοσημείωτη είναι η κλασική μελέτη επιπολασμού του Συνδρόμου στο νησί της Λέσβου, στην οποία συμμετείχαν 192 γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας (17-45 ετών), το σύνδρομο διαγνώστηκε βάσει του ορισμού του NIH (1990) και ο επιπολασμός στο δείγμα αυτό υπολογίστηκε στο 6,77% (13 από τις 192) [2].

Όσον αφορά την εφηβική ηλικία, μια μεταανάλυση που δημοσιεύτηκε το 2019 ανέδειξε επιπολασμό του PCOS στην εφηβεία βάσει των κριτηρίων του Rotterdam : 11,04% (95% CI: 6,84–16,09%), βάσει του ορισμού του NIH: 3,39% (95% CI: 0,28–9,54%), και βάσει AE-PCOS: 8,03% (95% CI: 6,24–10,01%) [18].

Τα επιμέρους στοιχεία του Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών

Κανένα μεμονωμένο σημείο, σύμπτωμα ή εργαστηριακό εύρημα δεν είναι παθογνωμονικό για το PCOS καθώς αποτελεί «σύνδρομο», δηλαδή μια συλλογή σημείων και συμπτωμάτων [9]. Συστηματική προσέγγιση απαιτείται για τη διάγνωση και στους περισσότερους ορισμούς, η διάγνωση του PCOS αποτελεί, διάγνωση εξ αποκλεισμού.

Στη συνέχεια αναλύονται τα κύρια και δευτερεύοντα στοιχεία του PCOS που έχουν μελετηθεί και αξιολογηθεί ως σχετιζόμενα με το PCOS. Από αυτά, ήδη τα 3 πρώτα, η ανωθυλακιορρηξία, ο υπερανδρογονισμός και η πολυκυστική μορφολογία ωοθηκών αποτελούν μέρος του ορισμού του συνδρόμου.

Διαταραχή ωοθυλακιορρηξίας και εμμηνορρυσίας

Διαταραχές της ωοθυλακιορρηξίας παρουσιάζονται κλινικά ως διαταραχή στο πρότυπο της εμμηνορρυσίας, συνήθως είτε με αραιομηνόρροια, αμηνόρροια ή ανώμαλη αιμορραγία (abnormal uterine bleeding - AUB). Ως AUB αναφέρεται η αιμορραγία της μήτρας ανώμαλη σε ποσότητα, διάρκεια ή πρόγραμμα. Επίσης, μπορεί να είναι υποκλινική, χωρίς πρόδηλη διαταραχή της εμμηνορρυσίας. Συνεπώς η τακτική κολπική αιμόρροια δεν είναι πάντα ενδεικτική ωοθυλακιορρηκτικών κύκλων, και μπορεί να αποτελεί απλά αιμόρροια εκ διαφυγής. Το ποσοστό των γυναικών με PCOS που παρουσιάζουν διαταραχές εμμηνορρυσίας αγγίζει το 80% στη συστηματική ανασκόπηση που έγινε στα πλαίσια του AE-PCOS Task Force το 2009 [9]. Ωστόσο, τονίζεται από τους ίδιους ερευνητές πως όταν το δείγμα είναι μη επιλεγμένο, άρα και πιο αντιπροσωπευτικό, το 60% μόνο παρουσίαζε

εμφανή εμμηνορρυσιακή διαταραχή ενώ το υπόλοιπο 40% είναι αραιή ωοθυλακιορρηξία αλλά σχετικά τακτικούς κύκλους [19]. Μόνο στο 1,5% των ασθενών με PCOS εμφανίζεται ως συχνομηνόρροια, δηλαδή κύκλο μικρότερο των 26 ημερών [20].

Όπως έχει αναφερθεί το 15-40% των γυναικών διεγνωσμένων με PCOS είναι ευμηνorroϊκές [19,21]. Σε αυτές είναι χρήσιμο να αναζητηθούν στοιχεία ωοθυλακιορρηξίας όπως προεμμηνορρυσιακά συμπτώματα (οίδημα, τάση μαστών και αλλαγές διάθεσης) ή ακόμη και εργαστηριακός έλεγχος για την απόδειξη ωοθυλακιορρηξίας ή ωχρινικής φάσης. Μέτρηση της προγεστερόνης ορού σε επίπεδο άνω των 3 - 4 ng/mL φανερώνει πως έχει γίνει ωοθυλακιορρηξία, χωρίς αυτό να σημαίνει πως με έναν ανωοθυλακιορρηκτικό κύκλο τίθεται η διάγνωση χρόνιας ανωοθυλακιορρηξίας, καθώς ακόμα και αρκετά χρόνια μετά την εμμηναρχή, δεν είναι όλοι οι κύκλοι του έτους ωοθυλακιορρηκτικοί.

Οι διαταραχές εμμηνορρυσίας δεν είναι σαφώς ορισμένες καθώς πολλές επιστημονικές εταιρείες ή μεμονωμένοι ερευνητές-ειδικοί δίνουν διαφορετικούς, αντικρουόμενους ορισμούς.

Οι διεθνείς τεκμηριωμένες κατευθυντήριες γραμμές καλής πρακτικής για το PCOS από το Australian Centre for Research Excellence in PCOS, που δημοσιεύτηκαν το 2018, αναφέρουν τις παρακάτω συστάσεις σχετικά με τους άτακτους κύκλους και την ωοθυλακική δυσλειτουργία. Άτακτοι (ακανόνιστοι) κύκλοι ορίζονται ως:

- Φυσιολογικοί το πρώτο έτος από την εμμηναρχή και στοιχείο της μετάβασης της ήβης
- Μεταξύ 1^{ου} και 3^{ου} έτους από την εμμηναρχή: <21 ή >45 ημέρες
- Μετά το 3^ο έτος από την εμμηναρχή: <21 και >35 ημέρες ή <8 κύκλοι ανά έτος
- Μετά τον 1^ο χρόνο από την εμμηναρχή: >90 ημέρες σε κάποιον κύκλο
- Πρωτοπαθής αμηνόρροια στην ηλικία των 15 ετών ή >3 έτη από τη θηλαρχή. [10]

Κλινικός υπερανδρογονισμός

Ως κλινικός υπερανδρογονισμός αναφέρονται συνήθως ο δασυτριχισμός, η ακμή και η ανδρικού τύπου αλωπεκία. Πιο έντονα σημεία αρρενοποίησης με αλλαγή στην κατανομή του λίπους, κλειτοριδομεγαλία και έντονη τριχόπτωση παραπέμπουν περισσότερο σε αρρενοποιητικούς όγκους παρά σε PCOS. Σε μια μεγάλη μελέτη 950 ασθενών με κλινικό υπερανδρογονισμό το 72,1% τέθηκε εντός του ορισμού του PCOS με τα κριτήρια του Rotterdam. Από αυτές στο 56,6% συνυπήρχε ανωθυλακιορρηξία, άρα είχαν κλασσικό PCOS φαινότυπο ενώ το 15,5% αυτών είχαν ωθυλακιορρηκτικούς κύκλους [22]. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ αυτών των κλινικών στοιχείων δεν είναι ξεκάθαρες, διαφέρουν ανάλογα με την εθνικότητα και απαιτούν κλινική εμπειρία, επαγρύπνηση και ικανότητα. Τα στοιχεία αυτά επηρεάζουν σημαντικά την ποιότητα ζωής των γυναικών με PCOS και τις οδηγούν συνήθως σε μακροχρόνιες κοσμητικές θεραπείες [10].

- **Δασυτριχισμός**

Το πιο αναγνωρίσιμο κλινικό σημείο υπερανδρογονισμού είναι ο δασυτριχισμός, δηλαδή η ανάπτυξη τελικών τριχών σε ανδρικό πρότυπο. Στην πλειονότητα των γυναικών με δασυτριχισμό (>70%) ανιχνεύονται και αυξημένα ανδρογόνα στον ορό [23]. Συνήθως χρησιμοποιείται για την ποσοτική εκτίμηση το τροποποιημένο σκορ Ferriman- Gallway (modified Ferriman- Gallway score - mFG). Αξιολογούνται μόνο οι τελικές τρίχες (>5mm σε μήκος εάν δεν κοπούν, συνήθως μελαχρωματικές) στις 9 περιοχές που συνήθως υπάρχει τριχοφυΐα στους άνδρες: άνω χείλος, πώγωνας και λαιμός, στήθος, κοιλία άνωθεν του ομφαλού, κοιλία κάτωθεν του ομφαλού, μηροί, πλάτη, οσφύ και βραχίονας

[23,24]. Σε κάθε περιοχή τίθεται βαθμολογία από 0 (χωρίς τριχοφυΐα) έως 4 (τριχοφυΐα όπως στον άνδρα).

Παρότι το mFG σκορ υπάρχει ήδη 60 χρόνια στην κλινική πράξη, το κατώφλι, πάνω από το οποίο η τριχοφυΐα θεωρείται παθολογική, δηλαδή δασυτριχισμός, είναι ακόμη αμφισβητούμενο. Σε μη επιλεγμένο πληθυσμό η 95^η εκατοστιαία θέση αντιστοιχεί σε σκορ 6-8 [15]. Ωστόσο και χαμηλότερο κατώφλι μπορεί να χρησιμοποιηθεί, όπως η 85^η - 90^η ε.θ. που αντιστοιχεί στο σκορ 3 για την καυκάσια και τη μαύρη φυλή. Οι πρόσφατες κατευθυντήριες οδηγίες για το PCOS που δημοσιεύτηκαν το 2018 προτείνουν το όριο στο 4-6 της κλίμακας mFG [10].

- **Ακμή**

Η ακμή είναι μια φλεγμονώδης διαταραχή του θύλακα της τρίχας και του σμηγματογόνου και αποκρινούς αδένα αυτού. Τα ανδρογόνα έχουν άμεση δράση σμηγματογόνους αδένες, αυξάνοντας τόσο την παραγωγή των κυττάρων όσο και του σμήγματος. Τόσο στις γυναίκες με υπερανδρογοναιμία, όσο και σε αυτές με φυσιολογικές τιμές ανδρογόνων που παρουσιάζουν ακμή, ο σημαντικότερος παράγοντας φαίνεται πως είναι ο αυξημένος μεταβολισμός της ανδροστερόνης, τοπικά [25].

Η φαγεσωρική ακμή είναι συνήθως είναι συχνή στην εφηβεία. Ωστόσο, στις ενήλικες γυναίκες, το 20-40% αυτών με ακμή διαγιγνώσκονται με PCOS [26]. Δεν υπάρχει κοινώς αποδεκτή κλίμακα για την αξιολόγηση της ακμής, παρόλο που έχουν αναπτυχθεί κάποια σκορ που προσπαθούν να ποσοτικοποιήσουν τις δερματικές βλάβες, την εντόπιση και την έκτασή τους [10,27].

- **Ανδρογενετική Αλωπεκία**

Εμφανίζεται ως διάχυτη λέπτυνση των τριχών χωρίς υποχώρηση του ορίου του τριχωτού, με εντονότερη εικόνα αραίωσης στην κορυφή του τριχωτού. Από μελέτες, μία στις τέσσερις γυναίκες που έχει αλωπεκία στα πλαίσια του PCOS, δεν έχει άλλο κλινικό σημείο υπερανδρογονισμού [28]. Ωστόσο σε μια μελέτη 110 ασθενών με αλωπεκία χωρίς άλλο κλινικό σημείο υπερανδρογονισμού μόνο μία στις 10 ασθενείς είχε PCOS [29]. Στις πρόσφατες κατευθυντήριες οδηγίες για το PCOS προτείνεται το Ludwig score για την αξιολόγηση της αλωπεκίας [10,30].

Υπερανδρογοναιμία

Η υπερανδρογοναιμία είναι η εύρεση τιμών ανδρογόνων στον ορό άνω του φυσιολογικού ορίου. Τα ανδρογόνα που μετρούνται συνήθως είναι η τεστοστερόνη (T), η ανδροστενεδιόνη (Δ4), η δεϋδροεπιανδροστερόνη (DHEA) και ο μεταβολίτης της, η θειϊκή δεϋδροεπιανδροστερόνη (DHEA-S) [9].

Η αξιολόγηση του βιοχημικού υπερανδρογονισμού παρεμποδίζεται από την έλλειψη σαφήνειας σχετικά με το ποια ανδρογόνα πρέπει να μετρηθούν, ποιες δοκιμασίες πρέπει να χρησιμοποιηθούν για την μέτρηση τους, πως να προσδιοριστούν οι φυσιολογικές τιμές, αλληλοεπικάλυψη των τιμών των υγιών γυναικών και των PCOS καθώς και ζητήματα πρόσβασης και κόστους για δοκιμασίες υψηλής ποιότητας, ειδικά όσον αφορά τη μέτρηση της τεστοστερόνης [10].

Η **τεστοστερόνη** είναι το πιο σημαντικό ανδρογόνο στις γυναίκες. Το 25% της παραγωγής της προέρχεται από την ωθήκη, το 25% από τα επινεφρίδια και το υπόλοιπο 50% από την μετατροπή της Δ4. Ο ρυθμός παραγωγής της ορμόνης είναι 0,1-0,4 mg/ημέρα και τα φυσιολογικά της όρια στον ορό είναι 20-80ng/dl. Δεν έχουν ευρεία διακύμανση αλλά είναι

χαμηλότερα στην πρώιμη ωοθυλακική φάση του καταμήνιου κύκλου. Φυσιολογικά το 80% της τεστοστερόνης στη γυναίκα είναι δεσμευμένο σε μια β-σφαιρίνη, την φυλοδεσμευτική σφαιρίνη ορού (SHBG – Sex hormone binding globulin), το 19% χαλαρά συνδεδεμένη με την αλβουμίνη και μόνο το 1% είναι ελεύθερο. Η ελεύθερη τεστοστερόνη και μερικώς η συνδεδεμένη με την αλβουμίνη είναι υπεύθυνες για την ανδρογονική δράση στους ιστούς. Η ίδια η τεστοστερόνη μειώνει την παραγωγή της SHBG στο ήπαρ [31]. Οι ανοσοχημικοί προσδιορισμοί που χρησιμοποιούνται σαν ρουτίνα μετρούν την ολική τεστοστερόνη, ενώ υπάρχουν και ακριβότερες μέθοδοι που υπολογίζουν απευθείας την ελεύθερη τεστοστερόνη. Η καλύτερη μέθοδος για τον υπολογισμό της ελεύθερης τεστοστερόνης είναι με τεχνικές διάλυσης (equilibrium dialysis) [32,33]. Η ελεύθερη τεστοστερόνη (freeT) υπολογίζεται στην καθ' ημέρα πράξη με εξισώσεις που χρησιμοποιούν τις τιμές την ολικής T, της SHBG, της αλβουμίνης και σταθερών. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιείται κυρίως το Free Androgen Index ($FAI = 100 \times \text{total testosterone} / \text{SHBG}$) και η φόρμουλα του Vermeulen [34]. Η υπολογιζόμενη με τις εξισώσεις freeT συμφωνεί και συσχετίζεται σε ικανοποιητικό βαθμό με την freeT που μετριέται με τεχνικές equilibrium dialysis [33].

Η **DHEA** και ο μεταβολίτης της **DHEA-S** προέρχονται σχεδόν αποκλειστικά από τα επινεφρίδια και λειτουργούν ως υπόστρωμα για την παραγωγή της τεστοστερόνης και των μεταβολιτών τους στην περιφέρεια. Η DHEA-S, που μετριέται συνήθως λόγω της ελάχιστης διακύμανσης της είναι μέτρια αυξημένη στο 25-50% των γυναικών με PCOS [35]. Εμμένουσα αυξημένη συγκέντρωση DHEA-S δημιουργεί επίσης υποψία για μη κλασσική συγγενή υπερπλασία επινεφριδίων (NC-CAH) λόγω ανεπάρκειας της 3β υδροξυστεροειδικής αφυδρογονάσης ή ορμονοπαραγωγό επινεφριδιακό νεόπλασμα [32].

Η παραγωγή της **ανδροστενεδιόνης** μοιράζεται ισόποσα μεταξύ ωοθηκών και επινεφριδίων. Είναι υπεύθυνη για το 50% της τεστοστερόνης που κυκλοφορεί καθώς αποτελεί προορμόνη της. Σε μία μελέτη 277 γυναικών, το 18% των ασθενών που διαγνώστηκαν με PCOS είχαν αυξημένα επίπεδα Δ4, ενώ στο 9% αυτών ήταν το μοναδικό ανδρογόνο με αυξημένες τιμές [15].

Οι πρόσφατες κατευθυντήριες οδηγίες του 2018 κάνουν αναφορά στις δυσκολίες που υπάρχουν στη μέτρηση των ανδρογόνων του ορού και προτείνουν την χρήση χρωματογραφίας - φασματομετρίας μάζας για τον ακριβή προσδιορισμό της ολικής και την ελεύθερης τεστοστερόνης. Άμεσοι ανοσοχημικοί προσδιορισμοί και μέθοδοι ανίχνευσης με τη χρήση αντιγόνου/αντισώματος (enzyme-linked assays) δεν είναι ακριβείς για τη μέτρηση της ελεύθερης τεστοστερόνης. Στην ερμηνεία των επιπέδων των ανδρογόνων πρέπει να καθοδηγούμαστε από το εύρος φυσιολογικών τιμών του εκάστοτε εργαστηρίου. Οι φυσιολογικές τιμές πρέπει βασίζονται ιδανικά σε έναν πληθυσμό ελέγχου, του οποίου γνωρίζουμε τον φαινότυπο ή σε ανάλυση ενός μεγάλου μέρους του γενικού πληθυσμού λαμβάνοντας υπόψη την ηλικία αυτού και τα στάδια της ήβης. Η υπολογισμένης μέσω εξισώσεων ελεύθερης, βιοδιαθέσιμης τεστοστερόνης και του FAI μπορούν να χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση του PCOS. Εάν η ολική ή η ελεύθερη τεστοστερόνη δεν είναι αυξημένες, μπορεί κανείς, βάσει των συστάσεων, να καταφύγει στη μέτρηση της Δ4 και της DHEA-S, οι οποίες ωστόσο έχουν περιορισμένο ρόλο στη διάγνωση του PCOS [10].

Πολυκυστική μορφολογία ωοθηκών

Παρόλο η πολυκυστική μορφολογία της ωοθήκης αποτέλεσε τη βάση του συνδρόμου για τους Stein και Leventhal, και έδωσε το όνομα σε αυτό, ήδη από το πρώτο σετ κριτηρίων, αυτό

του NIH (1990) φάνηκε πως δεν αποτελεί ούτε ικανή ούτε αναγκαία συνθήκη για τη διάγνωση του συνδρόμου [7]. Το σύνδρομο θεωρείται κυρίως λειτουργική παρά μορφολογική διαταραχή. Παρόλα αυτά, στο consensus του Rotterdam, έγινε κατανοητό πως το PCOS περιλαμβάνει ένα ευρύτερο φάσμα σημείων και συμπτωμάτων, εντάσσοντας εκ νέου την πολυκυστική μορφολογία των ωθηκών στα κριτήρια αλλά χωρίς η παρουσία τους να είναι αναγκαία για τη διάγνωση του συνδρόμου [36]. Σε μελέτες έχει καταδειχθεί πως περίπου το 60-80% των γυναικών με PCOS έχουν πολυκυστική μορφολογία ωθηκών, ποσοστό που ποικίλλει ανάλογα με τα κριτήρια που χρησιμοποιούνται [9,37]. Ο επιπολασμός της πολυκυστικής μορφολογίας σε υγιείς γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας κυμαίνεται από 21 έως 33 % [38–40].

Τα τρία υπερηχογραφικά στοιχεία που αξιολογούνται για τον χαρακτηρισμό της ωθήκης ως πολυκυστική είναι:

- Οι διαστάσεις και ο όγκος της ωθήκης
- Ο αριθμός, το μέγεθος και η κατανομή των ωθυλακίων
- Το στρώμα της ωθήκης

Τα κριτήρια του Rotterdam χαρακτηρίζουν πολυκυστική την ωθήκη με παρουσία >12 ωθυλακίων εντός της ωθήκης με διάμετρο 2-9mm ή/και ωθηκικό όγκο >10ml [8]. Ωστόσο σε κάποιες μελέτες χρησιμοποιείται το όριο των 7-7,5 ml για τον ωθηκικό όγκο [37]. Σε περίπτωση παρουσία επικρατούς ωθυλακίου (>10mm) ή άλλου κυστικού μορφώματος προτείνεται η επανάληψη της εξέτασης σε επόμενο κύκλο [36].

Το 2013 συντάχθηκε μια ομάδα εργασίας από την Androgen Excess and Polycystic Ovary Syndrome Society για τη μελέτη της βιβλιογραφίας σχετικά με τον ορισμό και τη σημασία της πολυκυστικής μορφολογίας των ωθηκών. Η ομάδα εργασίας κατέληξε πως

χρησιμοποιώντας υπερηχογράφους νεότερης τεχνολογίας, με συχνότητα ηχοβολέα ≥ 8 MHz και real-time τεχνικές, το όριο των ≥ 25 ωοθυλακίων ανά ωοθήκη (follicle number per ovary - FNPO) πρέπει να χρησιμοποιείται για τον ορισμό της πολυκυστικής μορφολογίας [41]. Το παραπάνω όριο προέκυψε ως η 95^η ε.θ. της μεταανάλυσης μελετών υγιών γυναικών 18-40 ετών και παρουσιάζει εξαιρετική διαγνωστική απόδοση [42,43]. Όταν χρησιμοποιείται υπερηχογράφος παλαιότερης τεχνολογίας πρέπει να μετριέται προσεχτικά ο ωοθηκικός όγκος, χρησιμοποιώντας το όριο των ≥ 10 ml, ωστόσο το κριτήριο αυτό είναι έχει μικρότερη ευαισθησία από το FNPO [41].

Οι διεθνής κατευθυντήριες οδηγίες του 2018 συστήνουν σαφώς καθορισμένα πρότυπα στην αναφορά της υπερηχογραφικής μελέτης, η οποία πρέπει να περιλαμβάνει τα παρακάτω:

- Τελευταία έμμηνο ρύση
- Το εύρος συχνοτήτων του ηχοβολέα
- Την οδό (διακοιλιακό/διακολπικό υπερηχογράφημα)
- Το συνολικό αριθμό ωοθυλακίων 2-9mm σε κάθε ωοθήκη
- Τρεις διαστάσεις και όγκο σε κάθε ωοθήκη
- Πάχος ενδομητρίου και μορφολογία (εκτίμηση 3 στιβάδων για αναζήτηση ενδομήτριας παθολογίας)
- Άλλη παθολογία ή εύρημα μήτρας ή ωοθηκών (κύστη, ωχρο σωματίο, επικρατές ωοθυλάκιο).

Το όριο που προτείνεται είναι τα ≥ 20 FNPO ή/και ωοθηκικός όγκος ≥ 10 ml κατά τη μέτρηση με διακολπικό υπερηχογράφημα, η οποία είναι και η προτεινόμενη οδός.

Τέλος, αναφέρεται πως τα όρια για την πολυκυστική μορφολογία πρέπει να αναθεωρούνται συχνά ανάλογα και με τις τεχνολογικές εξελίξεις στην υπερηχοτομογραφία καθώς και την ανάγκη για καθορισμό ξεχωριστών ορίων για κάθε ηλικία [10].

Αποκλεισμός άλλων σχετικών διαταραχών

Από την πρώτη προσπάθεια για τον ορισμό του PCOS στο NIH το 1990 τέθηκε το κριτήριο του αποκλεισμού άλλων αιτιών υπερανδρογονισμού [7]. Στα κριτήρια του Rotterdam, παρέμεινε η συγκεκριμένη συνθήκη. Συγκεκριμένα, τονίζεται ότι είναι σημαντικό να αποκλειστούν άλλες διαταραχές με παρόμοια κλινική εικόνα όπως η συγγενής υπερπλασία επινεφριδίων, το σύνδρομο Cushing και οι ανδρογονοπαραγωγοί όγκοι, καθώς επίσης και αποκλεισμός του υπογοναδοτροφικού υπογοναδισμού και η πρώιμη ωθηκική ανεπάρκεια. Επιπλέον, συστήνεται ο έλεγχος ρουτίνας όλων των ασθενών για θυρεοειδικές διαταραχές και υπερπρολακτιναιμία, παρόλο που ο επιπολασμός των διαταραχών αυτών δεν είναι συχνότερος ανάμεσα στους ασθενείς σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό [36].

Η AE-PCOS Society στα κριτήρια που δημοσίευσε το 2009 κάνει ιδιαίτερη μνεία στον αποκλεισμό άλλων σχετικών διαταραχών και διαταραχών που προκαλούν αύξηση ανδρογόνων, και αναλύει την κάθε διαταραχή ξεχωριστά [9]. Αντίθετα, οι πρόσφατες διεθνείς οδηγίες για το PCOS κάνουν μια απλή αναφορά στις βιοχημικές παραμέτρους που απαιτούνται για τον αποκλεισμό άλλων αιτιών υπερανδρογονισμού και ανωθυλακιορρηξίας [10].

- Διαταραχές θυρεοειδικής λειτουργίας

Οι θυρεοειδικές διαταραχές δεν είναι συχνές στις γυναίκες με υπερανδρογονισμό και ο επιπολασμός τους, όπως έχει καταδειχθεί στη βιβλιογραφία είναι παρόμοιος με

αυτόν του γενικού πληθυσμού στις γυναίκες της ίδιας ηλικίας : 0,46% ως 7,3% [44,45]. Επίσης παρόλο που οι διαταραχή της θυρεοειδικής λειτουργίας μπορεί να οδηγήσει σε διαταραχή της εμμηνορρυσίας, η σχέση αυτή είναι μάλλον λιγότερο συχνή απ' ότι αρχικά είχε υπολογιστεί [46]. Ωστόσο, η μέτρηση της θυρεοειδοτρόπου ορμόνης (TSH) δεν είναι κοστοβόρα και μετριέται συχνά και ως ρουτίνα σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας.

- Υπερπρολακτιναιμία

Η υπερπρολακτιναιμία είναι μια συχνή αιτία αμηνόρροιας και υπογονιμότητας ενώ έχει συνδεθεί και με υπέρμετρη παραγωγή επινεφριδιακών ανδρογόνων *in vivo* και *in vitro* [47]. Μπορεί να οφείλεται σε φυσιολογικά αίτια, φάρμακα, πρωτοπαθή υπερθυρεοειδισμό, χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, ορμονοεκκριτικά αδενώματα υπόφυσης, και ακόμη και στο ίδιο το PCOS [32]. Σε μια μεγάλη σειρά ασθενών με περίσσεια ανδρογόνων μόνο το 0,3% παρουσίαζε και αυξημένα επίπεδα προλακτίνης [20]. Συμπερασματικά, η αξία του ελέγχου ρουτίνα των επιπέδων της προλακτίνης είναι αμφισβητήσιμη ειδικά στις ασθενείς που δεν παρουσιάζουν σχετική συμπτωματολογία (π.χ. γαλακτόρροια, χρόνια κεφαλαλγία, οπτικές διαταραχές. Ωστόσο επειδή ο έλεγχος της προλακτίνης είναι μια σχετικά φτηνή εξέταση, γίνεται στην κλινική πράξη σε όλες τις ασθενείς, ύποπτες για PCOS. [9]

- Συγγενής υπερπλασία επινεφριδίων (Congenital adrenal hyperplasia - CAH)

Πρόκειται για αυτοσωμικές υπολειπόμενες διαταραχές που χαρακτηρίζονται από διαταραχή στα μονοπάτια βιοσύνθεσης της κορτιζόλης λόγω αδρανοποιητικών μεταλλάξεων στα ένζυμα της στεροειδογένεσης. Η απώλεια της αρνητικής

ανατροφοδότησης στην φλοιοεπινεφριδιοτρόπου ορμόνης (ACTH) οδηγεί σε αύξηση της έκκρισης της ACTH και την υπερπαραγωγή επινεφριδιακών ανδρογόνων και ενδιάμεσων παραγόντων του μονοπατιού της στεροειδογένεσης. Η κλινική εικόνα της μη κλασσική συγγενούς υπερπλασίας επινεφριδίων διαφέρει ανάλογα με το ένζυμο που έχει ελαττωματική λειτουργία, τη σοβαρότητα της βλάβης και την ηλικία εμφάνισης των συμπτωμάτων, ωστόσο ομοιάζει πολύ με την εικόνα του PCOS με αραιομηνόρροια, δασυτριχισμό, υπερανδρογοναιμία, ακμή και υπογονιμότητα χωρίς να περιλαμβάνει την αντίσταση στην ινσουλίνη. Περίπου το 1-10% των γυναικών με υπερανδρογονισμό πάσχουν από το NC-CAH (μη κλασσική) [48]. Η πιο συχνή γενετική μετάλλαξη που οδηγεί σε CAH λόγω ανεπάρκειας του ενζύμου της 21-υδροξυλάσης, είναι στο γονίδιο CYP21 του χρωμοσώματος 6. Η ανεπάρκεια της 21-υδροξυλάσης οδηγεί σε υπέρμετρη έκκριση της 17-OH-προγεστερόνης, πρόδρομη ορμόνη της Δ4. Η μη κλασσική συγγενής υπερπλασία επινεφριδίων, η οποία μοιάζει κλινικά με το PCOS και πρωτοεμφανίζεται στην εφηβεία, οφείλεται συνήθως σε σύνθετη ετεροζυγωτία, δηλαδή μια κλασσική μετάλλαξη στο ένα αλληλόμορφο και ένα αλληλόμορφο που συνδέεται με πιο ήπια ενζυμική ανεπάρκεια (variant allele) ή δύο variant αλληλόμορφα [32].

Η διάγνωση της ανεπάρκειας της 21-υδροξυλάσης βασίζεται στην αύξηση στον ορό της 17-OH-προγεστερόνης που αποτελεί το υπόστρωμα του διαταραγμένου ενζύμου. Πρωινή τιμή, στην ωοθυλακική φάση του κύκλου, της 17-OH-προγεστερόνης <2ng/ml καθιστά λιγότερο πιθανή τη διάγνωση NC-CAH, τιμή >8-10ng/ml είναι διαγνωστική, ενώ στην γκρίζα ζώνη 2-8ng/ml χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση. Αυτή γίνεται συνήθως με δοκιμασία διέγερσης με ACTH, στην οποία η απάντηση της 17-OH-προγεστερόνης είναι υπέρμετρη [32].

- Σύνδρομο Cushing

Το σύνδρομο Cushing μπορεί να προκαλέσει κλινική εικόνα ομοιάζουσα με το PCOS [9]. Συνήθως η υποψία για σύνδρομο Cushing εγείρεται όταν μια ασθενής παρουσιάζεται με γρήγορη αύξηση βάρους, αραιομηνόρροια, κλινικά σημεία υπερανδρογονισμού, διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη, υπέρταση, μυοπάθεια, λέπτυνση του δέρματος, ραγάδες, πανσεληνοειδές προσωπίο και προδιάθεση για εκχυμώσεις [9]. Οι διαταραχές εμμηνορρυσίας είναι παρούσες στο 80-100% των γυναικών με σύνδρομο Cushing, ο δασυτριχισμός στο 60-100% και η ακμή στο 40-50% [49–51]. Επιπλέον, πιθανή είναι και η παρουσία πολυκυστικής μορφολογίας ωοθηκών στις ασθενείς αυτές [52]. Λόγω της ιδιαίτερα χαμηλής συχνότητας του συνδρόμου στις γυναίκες με υπερανδρογονισμό, δεν απαιτείται ειδικός εργαστηριακός έλεγχος για τον αποκλεισμό του, αλλά αυξημένη κλινική υποψία. Σε περίπτωση που η ασθενής εμφανίζει το συνονθύλευμα των συμπτωμάτων του συνδρόμου Cushing, επιλέγεται συνήθως η δοκιμασία καταστολής με δεξαμεθαζόνη ή η μέτρησης της ελεύθερης κορτιζόλης σε συλλογή ούρων 24ώρου [9].

- Όγκοι που παράγουν ανδρογόνα

Όγκοι των ωοθηκών που παράγουν ανδρογόνα είναι η αιτία της υπερανδρογοναιμίας στο 0,1-0,3% των γυναικών με κλινικό υπερανδρογονισμό, ενώ αυτοί των επινεφριδίων είναι ακόμα πιο σπάνιοι [20]. Συνήθως είναι Sertoli-Leydig ή σπανιότερα κοκκιοκυτταρικοί (<10%) και διαγιγνώσκονται κατά την κλινική εξέταση ή το υπερηχογράφημα [9]. Οι ασθενείς αυτές παρουσιάζουν συνήθως ταχεία έναρξη του υπερανδρογονισμού με αληθή αρρενοποίηση, δηλαδή σοβαρό δασυτριχισμό και

ακμή, αλωπεκία ανδρικού τύπου, μείωση μεγέθους μαστών, αύξηση μυϊκής μάζας, ανδρικό πρότυπο κατανομής λίπους και αυξημένη libido.

Αδενώματα ή καρκινώματα επινεφριδίων είναι πιο σπάνια και συνήθως η κλινική τους εικόνα περιλαμβάνει και χαρακτηριστικά του συνδρόμου Cushing και συνήθως διαγιγνώσκονται στην αξονική τομογραφία. [53]

Εκτός από την ραγδαία εξέλιξη του κλινικού υπερανδρογονισμού, υποψία για ανδρογονοπαραγωγό όγκο εγείρουν οι υπερβολικά άνω των φυσιολογικών ορίων, εμμένουσες τιμές ανδρογόνων του αίματος, κυρίως της τεστοστερόνης (>150-200ng/dL) και της DHEA-S (>600-700 μg/dL) [9].

- Σύνδρομα σοβαρής αντίστασης στην ινσουλίνη

Από τα σύνδρομα σοβαρής αντίστασης στην ινσουλίνη, ο τύπος Γ (HAIR-AN – Hyperandrogenic insulin resistant acanthosis nigricans), χαρακτηρίζεται από εκσεσημασμένη μελανίζουσα ακάνθωση, υπερανδρογονισμό, παχυσαρκία και απουσία βλάβης στον υποδοχέα της ινσουλίνης [32]. Στο HAIR-AN παρατηρείται συχνά υπερθήκωση των ωοθηκών με νησίδες ωχρινοποιημένων κυττάρων θήκης διάσπαρτες εντός του στρώματος της ωοθήκης. Θα μπορούσε το σύνδρομο αυτό να θεωρηθεί ακραία εκδήλωση του PCOS, ωστόσο σε αυτό κυριαρχεί η αντίσταση στην ινσουλίνη και οι σχετικές μεταβολικές διαταραχές [54,55].

Δεν υπάρχουν συγκεκριμένα διαγνωστικά κριτήρια για τα σύνδρομα σοβαρής αντίστασης στην ινσουλίνη ωστόσο η διάγνωση στοιχειοθετείται από τα κλινικά σημεία και τη μέτρηση αυξημένων επιπέδων ινσουλίνης σε νηστεία (>80mU/mL) και στις 2 ώρες στη δοκιμασία γλυκόζης (>300 mU/mL) [54].

- Ιδιοπαθής δασυτριχισμός

Δασυτριχισμός, που συνοδεύεται από φυσιολογικά επίπεδα ανδρογόνων στο αίμα και φυσιολογική ωοθυλακιορρηκτική λειτουργία και εμμηνορρυσιακό κύκλο, θεωρείται ιδιοπαθής [32,56]. Χρησιμοποιώντας αυτό τον ορισμό, περίπου στο 5-7% των γυναικών με δασυτριχισμό, θεωρείται ιδιοπαθής [20,22]. Πιθανή θεωρία για την παθοφυσιολογία του ιδιοπαθούς δασυτριχισμού είναι η αυξημένη δράση του ενζύμου 5α-αναγωγάση στην περιφέρεια που μετατρέπει την τεστοστερόνη που κυκλοφορεί στο πιο δραστικό ανδρογόνο την διϋδροτεστοστερόνη (DHT) [57].

Διαταραχές στην έκκριση των γοναδοτροπινών – λόγος LH/FSH

Η αυξημένη έκκριση της ωχρινοτρόπου ορμόνης (LH) προκύπτει βάσει της παθοφυσιολογίας του PCOS και οδηγεί σε έναν αυξημένο λόγο της LH προς την θυλακιοτρόπο ορμόνη (FSH). Ο λόγος LH/FSH έχει προταθεί κατά καιρούς ως δείκτης για τη διάγνωση του συνδρόμου. Από πολλούς ερευνητές ο αυξημένος λόγος LH/FSH χρησιμοποιείται υποστηρικτικά στη διάγνωση του PCOS, χωρίς ωστόσο η απουσία του να αποκλείει τη διάγνωση του συνδρόμου [58]. Συνήθως τα επίπεδα των LH και FSH είναι διαθέσιμα καθώς συμπεριλαμβάνονται στον βασικό ορμονικό έλεγχο που ζητείται σε γυναίκες που προσέρχονται με διαταραχές εμμηνορρυσίας για τον αποκλεισμό της πρώιμης ωοθηκικής ανεπάρκειας.

Αντιμυλλέριος ορμόνη – AMH

Ένας ακόμα δείκτης, ο οποίος έχει προταθεί για τη διάγνωση του PCOS είναι η αντιμυλλέριος ορμόνη (AMH - Anti-Müllerian hormone). Η AMH είναι ένα πολυπεπτίδιο, μέλος της υπερικογένειας των TGF-β – transforming growth factor-β και η παραγωγή της γίνεται από

τα κοκκιώδη κύτταρα των μικρών ωοθυλακίων (<4mm). Ο αυξημένος αριθμός ωοθυλακίων που βρίσκονται σε μορφές κοιλιοτικές (antral) και προκοιλιοτικές (preantral) στις γυναίκες με PCOS, παράγουν περισσότερη AMH, γεγονός που υποδεικνύει τη συμμετοχή μιας δυσλειτουργίας των κοκκιωδών κυττάρων στην παθοφυσιολογία του συνδρόμου [59]. Τα επίπεδα της AMH στον ορό είναι σημαντικά υψηλότερα σε γυναίκες με PCOS, σε σχέση με γυναίκες που έχουν φυσιολογική ωοθυλακιορρηξία και υπάρχει σημαντική συσχέτιση των επιπέδων της AMH με τον αριθμό των μικρών ωοθυλακίων που μετρούνται με το υπερηχογράφημα [60]. Επίσης, έχει καταδειχθεί θετική συσχέτιση των επιπέδων των ανδρογόνων με το επίπεδο της AMH καθώς και μείωση του υποδοχέα της FSH και της έκφρασης της αρωματάσης. Με αυτόν τον τρόπο αναστέλλεται η περαιτέρω ανάπτυξη των ωοθυλακίων και δυσχεραίνεται η επιλογή επικρατούς ωοθυλακίου, διαδικασία που φυσιολογικά είναι απαραίτητη για την ωοθυλακιορρηξία [32]. Επίπεδα AMH>5ng/mL χρησιμοποιώντας το κιτ "ΕΙΑΜΗ/MIS" δίνουν ειδικότητα 97% και μεγαλύτερη ειδικότητα από τα παρόντα κριτήρια για την πολυκυστική μορφολογία των ωοθηκών PCOM [32].

Στο πλαίσιο της σύνταξης των διεθνών κατευθυντήριων οδηγιών για το PCOS, που υποστηρίζονται από την ESHRE, έγινε συστηματική ανασκόπηση των 29 μελετών για την διαγνωστική ακρίβεια της AMH για το PCOS αλλά και την PCOM. Η περιοχή κάτω από την ROC (receiver operating characteristic) καμπύλη στις έφηβες για το PCOS ήταν 0.5 - 0.88 και το όριο στα 25 - 44pmol/L ενώ στις ενήλικες περιοχή κάτω από την ROC καμπύλη ήταν 0.66 - 0.994 και το όριο 10-57pmol/L. Για τη διάγνωση της πολυκυστικής μορφολογίας των ωοθηκών (PCOM), στις έφηβες η περιοχή κάτω από την ROC καμπύλη ήταν 0.87 και το όριο 50pmol/L ενώ στις ενήλικες η περιοχή κάτω από την ROC καμπύλη ήταν 0.67 - 0.92 και το όριο 20 - 30pmol/L [10].

Ωστόσο, οι οδηγίες καταλήγουν πως ο καθορισμός ενός ορίου της AMH για τη διάγνωση του PCOS και της PCOM παρουσιάζει προκλήσεις λόγω της ετερογένειας των μελετών και των μεθόδων μέτρησης της AMH, των ασθενών και των φαινοτύπων του PCOS. Συμπερασματικά, η AMH δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί ακόμα ως κριτήριο αλλά η καλύτερη στάθμιση σε μεγάλους πληθυσμούς και τυποποίηση των μεθόδων μέτρησης, θα βελτιώσει την ακρίβεια της.

Αντίσταση στην ινσουλίνη

Η αντίσταση στην ινσουλίνη δεν είναι ούτε αναγκαία, ούτε ικανή συνθήκη για τη διάγνωση του PCOS. Ωστόσο αποτελεί κοινή υπόθεση πολλών ειδικών πως οι περισσότερες οι γυναίκες με PCOS παρουσιάζουν αντίσταση στην ινσουλίνη [9]. Ωστόσο ένα 20-25 % των γυναικών με PCOS δεν παρουσιάζουν αντίσταση στην ινσουλίνη [32]. Ο επιπολασμός της αντίστασης στην ινσουλίνη είναι μεγαλύτερος στις παχύσαρκες σε σχέση με τις μη παχύσαρκες ασθενείς με PCOS [9].

Η αντίσταση στην ινσουλίνη είναι η κατάσταση στην οποία η ινσουλίνη (είτε η ενδογενής είτε η χορηγούμενη) έχει μικρότερη δράση από την αναμενόμενη στο λιπώδη ιστό, στον μυ και στο ήπαρ [61]. Παρόλο που η ινσουλίνη κυκλοφορεί σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στην κυκλοφορία δεν επαρκεί για να επιτύχει τη μεταβολική της δράση στα όργανα στόχους. Στο μυ, η μειωμένη χρήση της γλυκόζης και στο ήπαρ η αυξημένη γλυκονεογένεση, οδηγεί σε αύξηση της γλυκόζης αίματος και αντιρροπιστικά σε αύξηση της ινσουλίνης (εφόσον υπάρχει εφεδρεία του παγκρέατος).

Όπως αναφέρεται και παρακάτω, η αντίσταση στην ινσουλίνη και η συνοδός υπερινσουλιναιμία συμμετέχουν στην παθοφυσιολογία του συνδρόμου ενισχύοντας την

δράση της LH στην αύξηση της παραγωγής των ανδρογόνων από τα κύτταρα της θήκης και μειώνοντας την παραγωγή της SHBG στο ήπαρ [54,62].

Το φαινοτυπικό στοιχείο της υπερινσουλιαιμίας είναι η μελανίζουσα ακάνθωση. Η μελανίζουσα ακάνθωση χαρακτηρίζεται από δερματικές περιοχές υπερχρωματισμένες με υφή βελούδου που εμφανίζονται κυρίως στις πτυχές του δέρματος (μασχάλες, αυχένιας, μηροβουβωνικές πτυχές).

Το «χρυσό πρότυπο» εξέτασης για την εκτίμηση της αντίστασης στην ινσουλίνη είναι η μέθοδος του υπερινσουλιαιμικού ευγλυκαιμικού clamp, που δημοσιεύτηκε από τον DeFronzo το 1979 [63]. Παρόλα αυτά, η μέθοδος αυτή είναι ιδιαίτερα απαιτητική και χρησιμοποιείται σπάνια στην κλινική πράξη. Τα τελευταία 40 χρόνια έχουν ερευνηθεί και προταθεί πολλοί, ευκολότερα υπολογιζόμενοι και λιγότερο κοστοβόροι δείκτες για χρήση στην καθημερινή κλινική πράξη. Οι δείκτες αυτοί προσπαθούν να υπολογίσουν με όσο το δυνατόν μεγαλύτερη ακρίβεια την ινσουλινοαντίσταση ή την αντίστροφη μεταβλητή της, δηλαδή την ευαισθησία στην ινσουλίνη. Κάποιοι από αυτούς βασίζονται στην ινσουλίνη και τη γλυκόζη ορού νηστείας και κάποιοι σε τιμές που προκύπτουν κατά την δοκιμασία ανοχής της γλυκόζης (OGTT - Oral glucose tolerance test). Η OGTT πραγματοποιείται με τη λήψη 1γρ γλυκόζης ανά χιλιόγραμμο σωματικού βάρους (μέγιστο τα 75γρ) από το στόμα σε διάστημα 5 λεπτών ενώ στη συνέχεια μετρούνται οι συγκεντρώσεις της γλυκόζης και της ινσουλίνης σε χρόνους 0', 30', 60', 90', 120'.

Μια από τις μεθόδους που έχουν περιγραφεί κατά καιρούς αυτές που χρησιμοποιούνται συχνότερα στην κλινική πράξη ή σε επιδημιολογικές μελέτες είναι το μοντέλο προσδιορισμού της ομοιόστασης (HOMA-IR - Homeostasis model assessment Insulin Resistance index) που περιεγράφηκε από τον Mathews το 1985 [64]. Ο δείκτης HOMA-IR

συμπεριλαμβάνει τη βασική τιμή της ινσουλίνης, τη συγκέντρωση του σακχάρου νηστείας και μια μαθηματική σταθερά, ως εξής:

$$\text{HOMA-IR} = \text{γλυκόζη (mg/dl)} \times \text{ινσουλίνη (}\mu\text{U/ml)} / 405$$

Όσο μεγαλύτερη η τιμή του HOMA-IR τόσο πιο έντονη η ινσουλινοαντίσταση, ωστόσο δεν έχει καθοριστεί ένα συγκεκριμένο, καθολικά αποδεκτό, αριθμητικό όριο πάνω από το οποίο θα διαγιγνώσκεται η αντίσταση στην ινσουλίνη [65]. Για τον εφηβικό πληθυσμό έχει προταθεί σε μεταανάλυση το όριο >2,5 και για τα 2 φύλα για τη διάγνωση της ινσουλινοαντίστασης [66]. Για τον συγκεκριμένο δείκτη έχει γίνει προσπάθεια να σταθμιστεί και για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου (MetS), με το όριο να κυμαίνεται για παιδιά και εφήβους μεταξύ 2,3 και 3,59 [67].

Η αντίσταση στην ινσουλίνη είναι ίσως ο σημαντικότερος παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και καρδιαγγειακής νόσου. Έχει φανεί πως όταν διαταραχθεί η τιμή της γλυκόζης νηστείας, έχει ξεκινήσει ήδη η βλάβη στα β κύτταρα του παγκρέατος [68].

Ο δείκτης Quantitative insulin sensitivity check index (QUICKI) χρησιμοποιείται και αυτός με καλή αναπαραγωγικότητα και αξιοπιστία και παρουσιάζει ισχυρή συσχέτιση με την ευαισθησία στην ινσουλίνη [69]. Προσδιορίζεται από τον τύπο των Katz et al. :

$$\text{QUICKI} = 1 / [\log(\text{ινσουλίνη νηστείας σε } \mu\text{U/ml)} + \log(\text{γλυκόζη νηστείας σε mg/dl})]$$

Όσο μειώνονται η συγκεντρώσεις της ινσουλίνης τόσο αυξάνεται η τιμή της QUICKI. Ωστόσο, χρήση του δείκτη σε εφηβικό πληθυσμό στη βιβλιογραφία δεν είναι εκτενής [70].

Ο δείκτης Matsuda είναι και αυτός δείκτης της αντίστασης στην ινσουλίνη και συμπεριλαμβάνει την ταυτόχρονη εκτίμηση των επιπέδων ινσουλίνης και γλυκόζης κατά τη

διάρκεια της OGTT με πέντε μετρήσεις στα 0, 30, 60, 90 και 120 λεπτά [71]. Αντιπροσωπεύει τη μεικτή ηπατική αλλά και των περιφερικών ιστών ευαισθησία στην ινσουλίνη τόσο κατά τη νηστεία όσο και μετά την πρόσληψη γλυκόζης. Παρουσιάζει ισχυρή συσχέτιση με τη μέθοδο του υπερινσουλιναϊμικού ευγλυκαιμικού clamp ($r=0,73$, $P<0,0001$) και σε κάποιες μελέτες παρουσιάζεται πως υπερτερεί του HOMA-IR στην ανίχνευση της ινσουλινοαντίστασης [72,73].

Άλλοι δείκτες που έχουν χρησιμοποιηθεί στη βιβλιογραφία για την εκτίμηση της ινσουλινοαντίστασης είναι μεμονωμένη η τιμή της ινσουλίνης νηστείας καθώς και ο λόγος γλυκόζης νηστείας/ινσουλίνη νηστείας. Στις καυκάσιες γυναίκες έχει προταθεί για την ανίχνευση της αντίστασης στην ινσουλίνη το όριο >20 $\mu\text{U}/\text{mL}$ για την ινσουλίνη νηστείας και η τιμή $<7,2$ για τον λόγο γλυκόζη/ινσουλίνη νηστείας [74].

Ιδιαιτερότητες του Συνδρόμου Πολυκυστικών Ωοθηκών στην Εφηβεία

Ο Παγκόσμιος οργανισμός υγείας (World health organization - WHO) ορίζει τους εφήβους, ως την ηλικιακή ομάδα 10 έως 19 ετών. Η μετάβαση από την παιδική ηλικία στην ενηλικίωση περιλαμβάνει ριζικές φυσικές, ψυχολογικές και κοινωνικές αλλαγές, οι οποίες συμβαίνουν την ίδια χρονική περίοδο.

Ωστόσο, δεν είναι μόνο οι αναπτυξιολογικές και ψυχοκοινωνικές ιδιαιτερότητες της εφηβείας που μας αναγκάζουν να διαχωρίσουμε τις έφηβες από τις ενήλικες ασθενείς. Η φυσιολογία της ήβης και της εφηβείας προσομοιάζει σε πολλά σημεία το PCOS.

Είναι σύνηθες, οι έφηβες με αναζητούν ιατρική βοήθεια όταν η εμμηνορρυσία είναι απύσασ για μεγάλα χρονικά διαστήματα ή όταν εμφανιστούν σημεία κλινικού υπερανδρογονισμού όπως ο δαυτριχισμός ή η ακμή. Αυτές οι δερματικές εκδηλώσεις αποτελούν αιτία ανησυχίας στην έφηβη, η οποία αναζητά συνήθως σε αυτή την περίοδο την ομοιότητα με τους συνομηλίκους.

Η διάγνωση του PCOS στην αρχή της εφηβείας παρουσιάζει προκλήσεις και θα πρέπει να δίνεται ιδιαίτερη προσοχή προτού μία έφηβη χαρακτηριστεί πάσχουσα από PCOS. Η επιμονή των συμπτωμάτων άνω των δύο ετών αποτελεί σημαντικό στοιχείο του ορισμού του συνδρόμου στην εφηβεία. Προτείνεται προτού οριστικοποιηθεί η διάγνωση να χαρακτηρίζονται ως «σε κίνδυνο για PCOS» (at risk). Ορίζοντας μια «προσωρινή» διάγνωση ελαχιστοποιείται ο κίνδυνος να θέσουμε στην έφηβη μια «ταμπέλα» ενός χρόνιου συνδρόμου με τις ανάλογες ψυχολογικές επιπτώσεις, όπως θα δούμε παρακάτω αλλά και να την υποβάλουμε σε αχρείαστες θεραπευτικές παρεμβάσεις [75]. Επιπλέον, επιτροπές

ειδικών συστήνουν τη συχνή επαναξιολόγηση της εργαστηριακής και κλινικής κατάστασης της ασθενούς, επαναπροσδιορίζοντας εάν χρειαστεί και τη διάγνωση [76,77].

Παράγοντες κινδύνου ή σημεία που προεφηβικά, στην εμβρυϊκή ή παιδική ηλικία, που μπορεί να προηγηθούν της εμφάνισης του PCOS είναι η πρόωμη αδρεναρχή, η ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης, το χαμηλό βάρος γέννησης (<2500 γραμμάρια) και η υπερβολική ανάκτηση βάρους μετά την γέννηση [78–80]. Επίσης, χρήσιμο στοιχείο κατά τη λήψη του ιστορικού είναι εάν η μητέρα είχε και αυτή ιστορικό PCOS [81].

Οι πρώτες προσπάθειες για θέσπιση κριτηρίων και κατευθυντήριων οδηγιών για το PCOS δεν διαχώριζαν σαφώς τον εφηβικό πληθυσμό από τις ενήλικες γυναίκες [7,9,36]. Ειδικά τα κριτήρια του Rotterdam, διεύρυναν ιδιαίτερα τον πληθυσμό που πάσχει από το σύνδρομο δημιουργώντας ετερογενείς φαινοτύπους, μέσα στον ορισμό των οποίων έμπαιναν ευκολότερα οι έφηβες.

Η Pediatric Endocrine Society προσκάλεσε αντιπροσώπους από την Androgen Excess-PCOS Society και από διεθνείς Εταιρείες Παιδιατρικής και Εφηβιατρικής με σκοπό τον ορισμό των επαρκών κριτηρίων για τη διάγνωση του PCOS στις έφηβες. Αυτές οι κατευθυντήριες γραμμές κλινικής πρακτικής αναπτύχθηκαν με συστηματικό τρόπο από ιατρούς συναφών με το αντικείμενο ειδικοτήτων και δημοσιεύτηκαν το 2015. Το εργαλείο αξιολόγησης AGREE χρησιμοποιήθηκε για να εκτιμήσει την ποιότητα της κάθε βιβλιογραφικής αναφοράς και αντανάκλα την τρέχουσα γνώση στο εκάστοτε σημείο [82].

Το 2017 δημοσιεύτηκε η συνεργασία πολλαπλών εταιριών, μεταξύ των οποίων η Pediatric Endocrine Society, η European Society of Paediatric Endocrinology και η Androgen Excess and PCOS Society, σχετικά με τη παθοφυσιολογία, τη διάγνωση και τη θεραπεία του PCOS στην εφηβεία. Όσον αφορά τη διάγνωση του συνδρόμου στην εφηβική ηλικία, καταλήγει πως τα

απαιτούμενα κριτήρια είναι οι διαταραχές εμμηνορρυσίας ή η αραιομηνόρροια και στοιχεία κλινικού ή βιοχημικού υπερανδρογονισμού ενώ η πολυκυστική μορφολογία των ωοθηκών και η ύπαρξη ακμής δεν είναι απαραίτητα για τη διάγνωση [83].

Το 2018 δημοσιεύτηκαν οι διεθνείς τεκμηριωμένες κατευθυντήριες γραμμές καλής πρακτικής για το PCOS από το Australian Centre for Research Excellence in PCOS, που χρηματοδοτήθηκαν από το National Health and Medical Research Council (NHMRC) της Αυστραλίας, με της συνεργασία της European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) και την American Society for Reproductive Medicine (ASRM), οι οποίες αναγνωρίζουν σε αρκετά σημεία τη διαφορετικότητα των εφήβων και στη διάγνωση αλλά και τη θεραπεία του Συνδρόμου. Ειδικότερα, περιορίζει τη χρήση του υπερηχογραφικού κριτηρίου μετά το 8^ο έτος από την εμμηναρχή και σε περιπτώσεις μη ξεκάθαρης διάγνωσης χαρακτηρίζονται ως έφηβες «σε κίνδυνο» για ανάπτυξη PCOS (at-risk) και επανελέγχονται σε μετέπειτα γυναικολογικά έτη [10].

Στον παρακάτω πίνακα συνοψίζονται οι ιδιαιτερότητες στον ορισμό του PCOS έτσι όπως αυτές έχουν προταθεί κατά καιρούς από ομάδες επιστημόνων, ειδικών στον εφηβικό πληθυσμό.

Πίνακας 2: Προτάσεις για τη διάγνωση του PCOS στην εφηβεία

2013 ENDOCRINE SOCIETY [84]	Παρουσία και των δύο: 1. Κλινικός ή/και βιοχημικός υπερανδρογονισμός a. Μεμονωμένη ακμή δεν στοιχείο υπερανδρογονισμού b. Η αλωπεκία πρέπει να χρησιμοποιείται με προσοχή στη διάγνωση 2. Εμμένουσα αραιομηνόρροια a. Δεν ορίζεται σαφώς η «εμμένουσα» άλλα διαταραχές εμμηνορρυσίας πάνω από 2 έτη είναι αξιοσημείωτη
2015 PEDIATRIC ENDOCRINE	Παρουσία και των δύο: 1. Κλινικός ή/και βιοχημικός a. Μέτριος προς έντονος δασυτριχισμός είναι στοιχείο υπερανδρογονισμού

SOCIETIES
[76]

- b. Εμμένουσα ακμή μη ανταποκρινόμενη στη θεραπεία υποδηλώνει υπερανδρογονισμό
 - c. Εμμένοντα αυξημένα επίπεδα ολικής τεστοστερόνης ορού ή/και ελεύθερης τεστοστερόνης παρέχει την πιο ξεκάθαρη δήλωση υπερανδρογονισμού
2. Ωοθηκική δυσλειτουργία που εκδηλώνεται ως
- a. Διαδοχικοί κύκλοι >90ημερών ακόμα και το 1^ο έτος από την εμμηναρχή
 - b. Εμμένοντα μεσοδιαστήματα <21ημέρες ή >45 ημέρες, 2 ή περισσότερα έτη από την εμμηναρχή
 - c. Έλλειψη εμμηνορρυσίας ως τα 15 έτη ή 2-3 έτη από τη θηλαρχή.

Προτείνεται αναβολή της διαγνωστικής εκτίμησης της πολυκυστικής ηχομορφολογίας μέχρι να υπάρχουν καλύτερης ποιότητας δεδομένα.

2017
PEDIATRIC
ENDOCRINE
SOCIETIES
[83]

Απαιτούνται:

- 1. Διαταραχές εμμηνορρυσίας/ αραιομηνόρροια
- 2. Στοιχεία κλινικού ή/και βιοχημικού υπερανδρογονισμού

Προαιρετικά:

- 1. Πολυκυστική μορφολογία ωοθηκών

Προτείνεται γενικά η διάγνωση να γίνει δύο έτη μετά την εμμηναρχή

Πηγή: Sanfilippo's Textbook of Pediatric and Adolescent Gynecology 2nd ed. [85]

Στη συνέχεια αναλύονται οι συνιστώσες του PCOS και πως διαφοροποιούνται στην εφηβική ηλικία.

Ανωθυλακιορρηξία και διαταραχές εμμηνορρυσίας

Η διαταραχή της ωθυλακιορρηξίας είναι σημαντικό διαγνωστικό σημείο του PCOS και παρουσιάζεται συνήθως με τις διαταραχές της εμμηνορρυσίας. Ωστόσο, οι διαταραχές εμμηνορρυσίας όπως και άλλα στοιχεία του PCOS αλληλοεπικαλύπτονται με στοιχεία που παρατηρούνται φυσιολογικά κατά τη μετάβαση της εφηβείας και είναι σημαντικό να οριστεί ποια στοιχεία και σε ποιες έφηβες μας κατευθύνουν πιθανότερα στο PCOS. Σύμφωνα με τον Rosenfield περίπου οι μισές διαταραχές εμμηνορρυσίας οφείλονται στην

νευροενδοκρινολογική ανωριμότητα, ενώ οι άλλες μισές σε αυξημένα ανδρογόνα. Η ανωριμότητα συνήθως εκδηλώνεται με κύκλους χωρίς ωχρινική φάση ή με βραχεία/ελαττωματική ωχρινική φάση και συνήθως υποχωρούν αυτόματα με την πάροδο των ετών. Ωστόσο εάν τα συμπτώματα επιμένουν, πρέπει να εξετασθούν και άλλες διαγνώσεις όπως υπογοναδισμός και άλλες διαταραχές που επηρεάζουν δευτερογενώς τον άξονα υποθάλαμου – υπόφυσης – ωοθηκών [86].

Ξεκινώντας μια ιστορική αναδρομή, στα αναθεωρημένα κριτήρια του Rotterdam, το 2003, δε γίνεται ιδιαίτερη μνεία στις διαταραχές της εμμηνορρυσίας, και παρόλο που αποτελούν στοιχείο της ανωοθυλακιορρηξίας – αραιοωοθυλακιορρηξίας δεν αναφέρονται ονομαστικά ως διαγνωστικό κριτήριο PCOS. Δεν διαφοροποιούνται σε κανένα σημείο του κειμένου οι έφηβες από τις ενήλικες ασθενείς [36].

Από την AE-PCOS Society το 2009, σημειώνεται μόνο πως οι διαταραχές εμμηνορρυσίας αλλάζουν (ελαττώνονται) με την πάροδο της ηλικίας [9].

Ωστόσο, μεμονωμένα ερευνητές-ειδικοί στο PCOS αναφέρουν επισταμένως στις μελέτες τους πως για την ασφαλή διάγνωση του PCOS πρέπει να δικαιολογείται η ανωοθυλακιορρηξία τα πρώτα 1-3 έτη από την εμμηναρχή [75,87]. Είναι γνωστό από δημοσιεύσεις της δεκαετίας του '80 πως από το 1^ο έως το 5^ο γυναικολογικό έτος το 40-50% των κοριτσιών έχουν ανωοθυλακιορρηκτικούς κύκλους [88]. Επιπρόσθετα, κάποιες έφηβες, όπως και ενήλικες γυναίκες έχουν χρόνια ανωοθυλακιορρηξία παρά την τακτική εμμηνορρυσία. Οι ωοθυλακιορρηκτικοί κύκλοι φαίνεται πως αυξάνονται με την πάροδο των γυναικολογικών ετών. Η αιτία του μεγαλύτερου μεσοδιαστήματος μεταξύ της αιμόρροιας είναι είτε η ανεπαρκής ανάπτυξη των ωοθυλακίων είτε η ολοκληρωτική ανωοθυλακιορρηξία [89]. Από το 23-35% κατά τη διάρκεια του πρώτου έτους από την εμμηναρχή φτάνουν το 63-

65% το 5^ο έτος και στο 70-80% ως το τέλος της πρώτης 10ετίας από την εμμηναρχή [88,90,91]. Για τις έφηβες που παρουσίασαν καθυστερημένη εμμηναρχή έχει αναφερθεί και καθυστέρηση στην ομαλοποίηση της εμμηνορρυσίας, που μπορεί να φτάσει τα 12 έτη από την εμμηναρχή [92]. Η 95^η εκατοστιαία θέση της διάρκειας ενός εμμηνορρυσιακού κύκλου στα πρώτα γυναικολογικά έτη κυμαίνεται από 64 ημέρες, σε μελέτη του 1967, έως 90 ημέρες σε πρόσφατο Committee Opinion του American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) [93,94]. Ομάδα εργασίας του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας μελέτησε και δημοσίευσε το 1986 δεδομένα μιας πολυκεντρικής μελέτης σχετικά με τα μοτίβα εμμηνορρυσίας σε 670 έφηβες 11-15 ετών, κατά τα 2 πρώτα γυναικολογικά τους έτη. Η μέση διάρκεια του πρώτου κύκλου ήταν οι 34 ημέρες, με το 38,3% των επόμενων κύκλων να είναι άνω των 40 ημερών. Στη μελέτη αυτή η «κανονικότητα» ορίστηκε ως 3 διαδοχικοί κύκλοι με μεταβλητότητα μεταξύ τους μικρότερη των 10ημερών και διάρκεια ανάμεσα στις 20-40 ημέρες. Μόνο το 19% των κοριτσιών επέτυχαν την κανονικότητα αμέσως μετά την εμμηναρχή, ενώ το 67% των κοριτσιών την είχε πετύχει έως το τέλος της διετίας παρακολούθησης της μελέτης [95].

Πίνακας 3: Διάρκεια εμμηνορρυσιακού κύκλου κατά τα πρώτα γυναικολογικά έτη

	5 ^η ε.θ.	95 ^η ε.θ.
1 ^ο γυναικολογικό έτος	18,3 ημέρες	83,1 ημέρες
2 ^ο γυναικολογικό έτος	20,2 ημέρες	53,5 ημέρες
3 ^ο γυναικολογικό έτος	20,6 ημέρες	43,6 ημέρες

Πηγή: Treloar A. et al. [93]

Είναι αξιοσημείωτο πως το 50% από τις αραιομηνορροϊκές έφηβες στην ηλικία των 15 ετών, παραμένουν με αραιομηνόρροια ως τα 18έτη χωρίς τα ανδρογόνα, η LH, η πολυκυστική μορφολογία να έχουν αναδειχθεί ως προγνωστικοί παράγοντες αυτής της πορείας [96].

Έχει προταθεί η αραιομηνόρροια/αμηνόρροια που επιμένει δύο χρόνια μετά την εμμηναρχή να χρησιμοποιείται ως κριτήριο για τη διάγνωση του PCOS στην όψιμη εφηβεία, ωστόσο δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται ως μεμονωμένο κριτήριο [75,97]. Από κάποιους ερευνητές προτείνεται το ένα έτος μετά την εμμηναρχή καθώς ήδη από το 1^ο έτος οι περισσότεροι κύκλοι κυμαίνονται από 21-45 ημέρες και είναι στατιστικά σπάνιο για τις γυναίκες να παραμείνουν χωρίς εμμηνορρυσία για πάνω από 90 ημέρες, ανεξάρτητα το γυναικολογικό έτος στο οποίο βρίσκονται [98].

Στο άλλο άκρο, το ανησυχητικό σύμπτωμα που μπορεί να οδηγήσει την έφηβη να αναζητήσει ιατρική βοήθεια μπορεί να είναι η ανώμαλη αιμορραγία από τη μήτρα (abnormal uterine bleeding - AUB). Έχει καταδειχθεί πως οι έφηβες με AUB διαγιγνώσκονται συχνότερα με PCOS [99].

Το 2015, δημοσιεύτηκαν οι κατευθυντήριες οδηγίες του Pediatric Endocrine Society για το PCOS στην εφηβεία. Οι προτάσεις της σχετικά με τα τεκμήρια αραιοωοθυλακιορρηξίας (oligoovulation) ή ανωοθυλακιορρηξίας είναι:

- Μεσοδιαστήματα εμμηνορρυσίας μικρότερα των 20 και μεγαλύτερα των 45 ημερών 2 ή παραπάνω χρόνια από την εμμηναρχή είναι σημείο αραιοωοθυλακιορρηξίας ή ανωοθυλακιορρηξίας (επίπεδο τεκμηρίωσης B)
- Συναπτά μεσοδιαστήματα εμμηνορρυσίας μεγαλύτερα των 90 ημερών είναι σπάνια και χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης ανεξαρτήτως των ετών που έχουν παρέλθει από την εμμηναρχή (επίπεδο τεκμηρίωσης B)
- Πρωτοπαθής αμηνόρροια στα 15 έτη ή 2-3 χρόνια μετά την θηλαρχή ανεξαρτήτως χρονολογικής ηλικίας είναι στατιστικά ασυνήθης, χρήζει διερεύνησης και αποκλεισμού διαφόρων διαγνώσεων, ανάμεσα τις οποίες και το PCOS [76].

Οι διεθνείς τεκμηριωμένες κατευθυντήριες γραμμές καλής πρακτικής για το PCOS από το Australian Centre for Research Excellence in PCOS, που δημοσιεύτηκαν το 2018, αναφέρουν τις παρακάτω συστάσεις σχετικά με τους άτακτους κύκλους και την ωοθυλακική δυσλειτουργία στην εφηβεία.

- Άτακτοι (ακανόνιστοι) κύκλοι ορίζονται ως
 - Φυσιολογικοί το πρώτο έτος από την εμμηναρχή και στοιχείο της μετάβασης της ήβης
 - Μεταξύ 1^{ου} και 3^{ου} έτους από την εμμηναρχή: <21 ή >45 ημέρες
 - Μετά το 3^ο έτος από την εμμηναρχή: <21 και >35 ημέρες ή <8 κύκλοι ανά έτος
 - Μετά τον 1^ο χρόνο από την εμμηναρχή: >90 ημέρες σε κάποιον κύκλο
 - Πρωτοπαθής αμηνόρροια στην ηλικία των 15 ετών ή >3 έτη από τη θηλαρχή.

Όταν υπάρχουν ακανόνιστοι εμμηνορροϊκοί κύκλοι, θα πρέπει να γίνει διερεύνηση και να αξιολογηθεί η διάγνωση του PCOS σύμφωνα με τις οδηγίες.

- Σε μια έφηβη με ακανόνιστους εμμηνορρυσιακούς κύκλους η αξία αλλά και η ιδανική χρονική στιγμή για τη διάγνωση του PCOS πρέπει να συζητηθεί με την ασθενή λαμβάνοντας υπόψιν τις διαγνωστικές προκλήσεις σε αυτό το στάδιο της ζωής αλλά και ψυχοκοινωνικούς και πολιτισμικούς παράγοντες.
- Για τις έφηβες που παρουσιάζουν χαρακτηριστικά του PCOS αλλά δεν πληρούν τα διαγνωστικά κριτήρια, θα μπορούσαν να θεωρηθούν «αυξημένου κινδύνου» και να προταθεί επανεκτίμηση κατά ή πριν την πλήρη «αναπαραγωγική ωρίμανση», 8 χρόνια μετά την εμμηναρχή. Αυτό περιλαμβάνει και εκείνες που είχαν χαρακτηριστικά του PCOS πριν από την έναρξη αντισυλληπτικών δισκίων, εκείνες με επίμονα χαρακτηριστικά και εκείνες με σημαντική αύξηση βάρους στην εφηβεία.

- Ωοθυλακική δυσλειτουργία μπορεί να συμβαίνει ακόμα και με τακτικούς κύκλους και εάν η ωοθυλακιορρηξία πρέπει να επιβεβαιωθεί μπορεί να μετρηθεί η προγεστερόνη ορού [10].

Αναγνωρίζεται ότι αυτές οι συστάσεις θα αλλάξουν την κοινή πρακτική και παρεκκλίνουν από τις προηγούμενες οδηγίες που όριζαν > 45 ημέρες για όλες τις εφήβους. Παρέχονται πιο συγκεκριμένα όρια, προσαρμοσμένα στην ωριμότητα του αναπαραγωγικού συστήματος.

Κλινικός και εργαστηριακός υπερανδρογονισμός

Από τα σημεία του **κλινικού υπερανδρογονισμού**, η αλωπεκία είναι εξαιρετικά σπάνια στην εφηβεία ενώ η φαγεσωρική ακμή είναι ιδιαίτερα συχνή [100,101]. Παρόλα αυτά, σοβαρή φαγεσωρική ακμή (με πάνω από 10 δερματικές βλάβες) στην αρχή της εφηβείας ή σοβαρή φλεγμονώδης ακμή απαντάται σε <5% [101].

Σχετικά με τον δασυτριχισμό, τα βιβλιογραφικά δεδομένα που έχουμε από έφηβες δεν μπορούν να δώσουν σαφή εικόνα καθώς ο διαχωρισμός του φυσιολογικού από τον παθολογικό είναι συγκεχυμένος, ειδικά πριν την ολοκλήρωση της ήβης. Είναι γνωστό από την κλινική πράξη ωστόσο, πως σημαντική ψυχολογική επιβάρυνση μπορεί να προκαλέσει ακόμα και ο ήπιος δασυτριχισμός στην ηλικία αυτή, λόγω της μεγάλης ευαισθησίας που υπάρχει για την εικόνα του σώματος. Σειρές ασθενών έχουν δείξει πως ακόμα και μία στις τέσσερις έφηβες μπορεί να έχει οριακά Ferriman Gallway score (FG score) .

Οι συστάσεις της Pediatric Endocrine Society, 2015 για τα κριτήρια του κλινικού υπερανδρογονισμού σε ένα έφηβο κορίτσι είναι τα εξής:

- Μεμονωμένος ήπιος δασυτριχισμός δεν πρέπει να θεωρείται τεκμήριο υπερανδρογονισμού στα πρώτα γυναικολογικά έτη, καθώς μπορεί να είναι φυσιολογικό στοιχείο της ανάπτυξης (Επίπεδο C)
- Μέτριος προς σοβαρός δασυτριχισμός αποτελεί κλινικό κριτήριο υπερανδρογονισμού (Επίπεδο B)
- Σε έφηβες με ακμή, η οποία είναι επίμονη και δεν ανταποκρίνεται σε τοπική θεραπεία πρέπει να ελέγχεται η παρουσία υπερανδρογοναιμίας πριν χορηγηθούν άλλες θεραπείες (Επίπεδο C) [76].

Όσον αφορά τον **εργαστηριακό υπερανδρογονισμό**, η διάγνωσή του παρουσιάζει τις ίδιες δυσκολίες και στην εφηβεία. Οι κατευθυντήριες οδηγίες του Pediatric Endocrine Society είναι εξής

- Η υπερανδρογοναιμία πρέπει να ορίζεται βάσει λεπτομερών χαρακτηριστικών της μεθόδου μέτρησης της τεστοστερόνης (Επίπεδο A)
- Εμμένοντα υψηλά επίπεδα τεστοστερόνης και ελεύθερης τεστοστερόνης σε ένα αξιόπιστο εργαστήριο, είναι το καλύτερο τεκμήριο υπερανδρογοναιμίας σε μία έφηβη με σημεία του PCOS (Επίπεδο B)
- Μια μεμονωμένη μέτρηση ανδρογόνου πάνω από δύο σταθερές αποκλίσεις δεν πρέπει να θεωρείται σημείο υπερανδρογοναιμίας σε μία κατά τα άλλα ασυμπτωματική έφηβη (επίπεδο C) [76].

Οι παραπάνω συστάσεις προέκυψαν μετά από εκτενή προβληματισμό σχετικά με την ακρίβεια των μεθόδων μέτρησης της τεστοστερόνης (ολικής και ελεύθερης), την ημερήσια διακύμανση, τα στάδια της ήβης, τη φάση του κύκλου και την τιμή της SHBG. Συγκεκριμένα,

όσον αφορά την ακρίβεια των μεθόδων μέτρησης διερωτάται κανείς για τα εγγενή προβλήματα των μεθόδων μέτρησης, δηλαδή:

- Χαμηλή ευαισθησία στις χαμηλές συγκεντρώσεις που παρατηρούνται σε παιδιά και έφηβες γυναίκες
- Ομοιότητα με άλλα στεροειδή
- Τη σύνδεση με την SHBG και με άλλες πρωτεΐνες του ορού
- Μη τυποποιημένες φυσιολογικές τιμές
- Τεχνικά προβλήματα των μεθόδων μέτρησης.

Τονίζεται η χαμηλή επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων και η μεγάλη διακύμανση των τιμών ανάμεσα στις διάφορες μεθόδους, ακόμα και αυτές που χρησιμοποιούν την ίδια τεχνολογία πχ χρωματογραφίας - φασματομετρίας μάζας [62]. Τα επίπεδα της τεστοστερόνης είναι γνωστό πως αυξάνονται κατά την εφηβεία για να φτάσουν στο μέγιστο, που προσεγγίζει τα επίπεδα των ενηλίκων, μέσα σε λίγα χρόνια από την εμμηναρχή [102]. Ωστόσο, γνωρίζουμε επίσης, πως τα επίπεδα τεστοστερόνης αυξάνονται ανάλογα με τη διάρκεια των ανωθυλακιωρρηκτικών κύκλων της εφηβείας. Έτσι, υπάρχει η θεωρία πως η ήπια, παροδική υπερανδρογοναιμία είναι φυσιολογικό φαινόμενο περί την εμμηναρχή [103].

Παρόλο που υπάρχουν σειρές ασθενών, στις οποίες η υπερανδρογοναιμία επέμεινε στην επανεξέτασή τους δύο και πέντε έτη μετά την αρχική εξέταση στην εφηβεία, δεν υπάρχουν επαρκή επιστημονικά δεδομένα που να καθορίζουν το διάστημα της υπερανδρογοναιμίας που απαιτείται για να προβλέψουμε την επιμονή της και την ανάπτυξη PCOS με την ενηλικίωση [104].

Υπερηχογραφικά ευρήματα

Στις έφηβες, τα κριτήρια της ωοθυλακιορρηξίας πρέπει να είναι κατάλληλα για την ηλικία και το στάδιο της ήβης που βρίσκονται. Κατά πολλούς ερευνητές αυτό αποκλείει τη χρήση του υπερηχογραφικού ευρήματος της πολυκυστικής μορφολογίας των ωοθηκών σε αυτή την ηλικία [76,77]. Η πολυκυστική μορφολογία των ωοθηκών, όπως αυτή ορίζεται πλέον από την Androgen Excess-PCOS Taskforce, ως αριθμό ωοθυλακίων σε κάθε ωοθήκη (follicle number per ovary - FNPO) >12 διαμέτρου $<10\text{mm}$, δεν είναι σπάνια στην εφηβεία [41]. Απαντάται στη βιβλιογραφία σε ποσοστό 40%, 35% και 33,3% τον 3^ο, τον 4^ο και τον 5^ο χρόνο αντίστοιχα μετά την εμμηνарχή. Επιπλέον, στην ίδια μελέτη δεν αναδείχθηκε συσχέτιση της πολυκυστικής μορφολογίας στην εφηβεία με διαταραχή της ωοθυλακιορρηξίας, εμμηνορρυσίας ή μεταβολισμού [105]. Επίσης, σημαντικό συγχυτικό παράγοντα αποτελεί και ο χαρακτηρισμός μιας ωοθήκης ως πολυθυλακιώδους (multifollicular pattern). Η πολυθυλακιώδης ωοθήκη (multifollicular ovary - MFO) περιέχει ≥ 6 ελαφρώς μεγαλύτερα ωοθυλάκια (4-10 mm), τα οποία κατανέμονται μέσα στην ωοθήκη χωρίς αύξηση του στρώματος, δε συνδέονται με υπερανδρογοναιμία και αποτελούν φυσιολογικό εύρημα [106]. Ένα άλλο στοιχείο που περιορίζει τη χρήση του υπερηχογραφήματος στην εφηβεία είναι η οδός. Το διακοιλιακό υπερηχογράφημα δεν έχει την ευκρίνεια του διακολπικού υπερηχογραφήματος που απαιτείται από τις περισσότερες κατευθυντήριες οδηγίες. Η post hoc ανάλυση των FNPO με ηχοβολείς διαφορετικών συχνοτήτων ανέδειξε στατιστικά σημαντική βελτίωση στην αναγνώριση ωοθυλακίων όταν η συχνότητα του ηχοβολέα ήταν $\geq 8\text{MHz}$ ($P < 0,001$) [41]. Βάσει του ίδιου Androgen Excess-PCOS Taskforce, η διακοιλιακή οδός δεν είναι αξιόπιστη για την ακριβή μέτρηση των ωοθυλακίων, αλλά μόνο όταν αυτή είναι

διαθέσιμη επιτρέπει μια αξιόπιστη καταγραφή του όγκου των ωοθηκών. Για την μέτρηση του όγκου των ωοθηκών χρησιμοποιείται το κατώφλι των 10cc, καθώς αποτελεί την 95^η εκατοστιαία θέση μιας κοορτής περισσότερων από 1000 υγιών ενήλικων γυναικών [41]. Ωστόσο, επειδή οι ωοθήκες έχουν το μέγιστο όγκο τους στην εφηβεία (μέγιστος όγκος 1,25-3,8 έτη από την εμμηναρχή) και μειώνονται σε μέγεθος με την πάροδο του χρόνου, έχουν προταθεί από ερευνητές και μεγαλύτερα όρια για τις έφηβες [75,107]. Στο κοινό consensus της Pediatric Endocrine Society και της Androgen Excess-PCOS Society, προτείνεται το όριο των >12 cm³ για τις έφηβες (AGREE criteria: Level B) [76].

Η παθοφυσιολογία του PCOS

Η σύγχρονη επιστημονική κοινότητα αντιμετωπίζει το PCOS ως μία σύνθετη διαταραχή, παρόμοια την καρδιαγγειακή νόσο και το διαβήτη τύπου 2, ενώ πληθώρα γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων αλληλοεπιδρούν και συνεισφέρουν στην παθοφυσιολογία του συνδρόμου [9,32].

Το **διαταραγμένο πρότυπο έκκρισης και απελευθέρωσης της GnRH** αποτελεί ένα σημαντικό στοιχείο στο PCOS. Αυτή με τη σειρά της οδηγεί σε αύξηση στη συχνότητα της LH και η μείωση της FSH [32]. Η προγεστερόνη είναι ο κύριος ρυθμιστής της συχνότητας του παλμού της GnRH με αρνητική ανατροφοδότηση. Στο PCOS φαίνεται η «γεννήτρια» του παλμού της GnRH είναι λιγότερο ευαίσθητη στην αρνητική ανατροφοδότηση της προγεστερόνης [108]. Η αιτία αυτής της αντίστασης είναι πιθανώς η υπερανδρογοναιμία, καθώς η θεραπεία με αντιανδρογόνα επαναφέρει μερικώς τη φυσιολογική ανατροφοδότηση [109].

Η αυξημένη συχνότητα τη LH διεγείρει τα κύτταρα της θήκης και οδηγεί σε αυξημένη **παραγωγή ωοθηκικών ανδρογόνων**. Συγκεκριμένα, όπως έχει φανεί από μελέτες χορήγησης GnRH αναλόγων, τα ανδρογόνα που αυξάνονται είναι η τεστοστερόνη, η ανδροστενεδιόνη και η 17-OH-προγεστερόνη. Η μείωση της FSH, που προκύπτει και από άλλες αιτίες όπως τη διαταραχή της ανατροφοδότησης από την οιστραδιόλη και την ινχιμπίνη των μικρών ωοθυλακίων, είναι αυτή που οδηγεί στη διαταραχή στη επιλογή και την ανάπτυξη επικρατούς ωοθυλακίου σε κάθε κύκλο και συνοδό ωοθυλακιορρηξία [110–112]. Γενικά, στις γυναίκες με PCOS παρατηρείται ένα σχετικά σταθερό ορμονικό περιβάλλον καθώς δεν υπάρχουν οι καθημερινές φυσιολογικές ορμονικές μεταβολές των γοναδοτροπινών, των οιστρογόνων, των ανδρογόνων και της προγεστερόνης [113]. Το περιβάλλον υπερανδρογοναιμίας αλλά και αυξημένων ανδρογόνων στο μικροπεριβάλλον

της ωθητικής συνεισφέρει αλλά και διαιωνίζεται από την **αντίσταση στην ινσουλίνη** και τη συνοδό υπερινσουλιναίμια. Συνεπώς, η δεύτερη συνιστώσα στην παθοφυσιολογία του συνδρόμου είναι η αντίσταση στην ινσουλίνη.

Η σημασία της αντίστασης στην ινσουλίνη και της δράσης της ινσουλίνης στην παθοφυσιολογία του PCOS προτάθηκε πρώτη φορά σε μια δημοσίευση του 1980 λόγω των συσχετίσεων που βρέθηκαν μεταξύ των ανδρογόνων και της τιμής της ινσουλίνης τόσο σε νηστεία όσο και μετά από φόρτιση με γλυκόζη [114]. Η αντίσταση στην ινσουλίνη είναι η κατάσταση στην οποία η ινσουλίνη (είτε η ενδογενής είτε η χορηγούμενη) έχει μικρότερη δράση από την αναμενόμενη στο λιπώδη ιστό, στον μυ και στο ήπαρ [61]. Παρόλο που η ινσουλίνη κυκλοφορεί σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στην κυκλοφορία δεν επαρκεί για να επιτύχει τη μεταβολική της δράση στα όργανα στόχους. Στον μυ, η μειωμένη χρήση της γλυκόζης και στο ήπαρ η αυξημένη γλυκονεογένεση, οδηγούν σε αύξηση της γλυκόζης αίματος και αντιρροπιστικά σε αύξηση της ινσουλίνης (εφόσον υπάρχει εφεδρεία του παγκρέατος). Στο λιπώδη ιστό η αντίσταση στην ινσουλίνη προκαλεί αυξημένη υδρόλυση των τριγλυκεριδίων που οδηγεί σε αύξηση των ελεύθερων λιπαρών οξέων στην κυκλοφορία.

Η αντίσταση στην ινσουλίνη έχει προταθεί από κάποιους ερευνητές ως κοινός παθογενετικός παράγοντας για ολόκληρη την ομάδα των παθολογιών του μεταβολικού συνδρόμου (παχυσαρκία, ΣΔ, παχυσαρκία, δυσλιπιδαιμία, υπέρταση, μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος και PCOS) [115].

Υψηλές συγκεντρώσεις ινσουλίνης μειώνουν έμμεσα την ηπατική παραγωγή SHBG, όπως κάνουν και οι υψηλές συγκεντρώσεις ανδρογόνων [62,116].

Στις γυναίκες με παχυσαρκία και PCOS, το 70-80% παρουσιάζουν αντίσταση στην ινσουλίνη ενώ στις νορμοβαρείς ασθενείς σε κάποιες μελέτες το ποσοστό φτάνει το 20-25% [9,117].

Ένα ποσοστό των γυναικών PCOS παρουσιάζουν σημαντική διαταραχή της λειτουργίας των β-κυττάρων του παγκρέατος. Είναι ενδιαφέρον πως αυτή η δυσλειτουργία είναι συχνότερη σε γυναίκες που έχουν κληρονομικό ιστορικό σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 (ΣΔ2) σε συγγενή πρώτου βαθμού. Η παρατήρηση αυτή υποστηρίζει την ύπαρξη γενετικού υποβάθρου που συνδέει τις δύο διαταραχές [117].

Δεν είναι απόλυτα ξεκάθαρο τι προκαλεί την έναρξη της αντίστασης στην ινσουλίνη στις γυναίκες με PCOS. **Η σχέση μεταξύ υπερανδρογοναιμίας και αντίστασης στην ινσουλίνη φαίνεται να είναι αμφίδρομη**, δημιουργώντας έναν φαύλο κύκλο: η ινσουλίνη ενισχύει την δράση της LH, δρώντας συνεργικά και αυξάνοντας την παραγωγή των ανδρογόνων στην ωθήκη. Τα ανδρογόνα και η υπερινσουλιναμία ελαττώνουν με τη σειρά τους την παραγωγή της SHBG επιτείνοντας την υπερανδρογοναιμία, η οποία με τη σειρά της επιδεινώνει την αντίσταση των ιστών στην ινσουλίνη [32]. Βέβαια η αντίσταση στην ινσουλίνη φαίνεται να είναι η αιτία, και όχι το αποτέλεσμα, του υπερανδρογονισμού στο PCOS [32].

Καταστέλλοντας με GnRH ανάλογα την ωθητική παραγωγή ανδρογόνων σε γυναίκες με PCOS, σημειώθηκε σε κάποιες μελέτες βελτίωση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη [118]. Το ίδιο αποτέλεσμα παρατηρήθηκε και με τη χρήση αντιανδρογόνων χωρίς όμως τα αποτελέσματα των ερευνών να είναι ομόφωνα σχετικά με το αποτέλεσμα της καταστολής [119,120]. Παρόμοια αποτελέσματα, δηλαδή παράλληλη με τη μείωση των ανδρογόνων βελτίωση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη, παρατηρήθηκαν στις γυναίκες που υποβλήθηκαν σε λαπαροσκοπικό drilling ωθηκών, πιθανώς μέσω βελτίωσης των μονοπατιών σηματοδότησης του υποδοχέα της ινσουλίνης [121].

Ο Rosenfield το 2016 δημοσίευσε τη θεωρία του για το ενοποιημένο μοντέλο του PCOS. Εισάγει την έννοια του **λειτουργικού ωθητικού υπερανδρογονισμού** (FOH – functional

ovarian hyperandrogenism) σαν κοινό παρονομαστή στην συντριπτική πλειοψηφία των ασθενών με PCOS, ενώ χαρακτηρίζει την ινσουλινοαντίσταση ως μη απαραίτητο αλλά επιβαρυντικό στοιχείο του συνδρόμου.

Συγκεκριμένα αναφέρει πως ο υπερανδρογονισμός οφείλεται στα 2/3 των περιπτώσεων PCOS σε αυξημένη παραγωγή ανδρογόνων από την ωθήκη. Τα παραγόμενα ανδρογόνα που μπαίνουν στην κυκλοφορία δρουν στον τριχοσηγηματογόνο θύλακα προκαλώντας τις δερματικές εκδηλώσεις του συνδρόμου, ακμή και δασυτριχισμό, ενώ στο μικροπεριβάλλον της ωθήκης η περίσσεια ανδρογόνων προκαλεί δυσλειτουργία των κοκκιωδών κυττάρων που εκδηλώνεται ως ωθυλακιορρηξία και πολυκυστική μορφολογία των ωθηκών [122,123].

Η παραγωγή των στεροειδών ορμονών εντός της ωθήκης είναι φυσιολογικά αυστηρά ρυθμισμένη. Ενώ τα ανδρογόνα είναι απαραίτητα για την φυσιολογική λειτουργία της, η περίσσεια τους διαταράσσει την ανάπτυξη των ωθυλακίων και την εξέλιξη προς την ωθυλακιορρηξία. Στη φυσιολογική ωθήκη η απάντηση στην LH ρυθμίζεται από τοπικά συστήματα θετικής και αρνητικής ανατροφοδότησης. Στα συστήματα αυτά συμμετέχουν η οιστραδιόλη, η ινχιμπίνη, η ινσουλίνη, προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες και φυσικά τα ανδρογόνα μέσω του κυτοχρώματος P450c17. Στο PCOS, η αρνητική ανατροφοδότηση της LH είναι διαταραγμένη καθιστώντας την ωθήκη υπερ-ευαίσθητη στην LH [124]. Αυτή η υπόθεση έχει αποδειχθεί και με *in vitro* πειράματα, όπου ακόμα και σε μακροχρόνιες καλλιέργειες κυττάρων θήκης διατηρούν αυτόν τον φαινότυπο στη στεροειδογένεση. Η περίσσεια ανδρογόνων οδηγεί στην διέγερση υπέρμετρου αριθμού ωθυλακίων ταυτόχρονα, που οδηγεί σε αύξηση των κοκκιωδών κυττάρων και τελικά σε αύξηση της AMH. Τελικά τα κοκκιώδη αυτά κύτταρα ωχρινοποιούνται πρόωρα λόγω της ασυνέργειας της LH

και της FSH, εμποδίζοντας την ωρίμανση ενός κυρίαρχου ωοθυλακίου και αποκλείοντας τελικά την ωοθυλακιορρηξία.

Στο ενοποιημένο μοντέλο που περιγράφεται από τον Rosenfield, η αντίσταση στην ινσουλίνη δεν αποτελεί αιτιολογικό παράγοντα του συνδρόμου, καθώς εμφανίζεται μόνο στα μισά περιστατικά με PCOS. Σε αυτές που εμφανίζεται, φαίνεται πως ο βαθμός της ινσουλινοαντίστασης είναι σχετικός με το βαθμό της υπερβαρότητας ή της παχυσαρκίας αλλά εμφανίζεται και σε νορμοβαρείς ασθενείς [125][102]. Η ινσουλίνη δρα επιβαρυντικά στην ωοθήκη μέσω του υποδοχέα της LH. Αυξάνει την παραγωγή των ανδρογόνων στα κύτταρα της θήκης αναστέλλοντας την απευαισθητοποίηση του υποδοχέα της LH αλλά και πιο άμεσα με τον μεταγραφικό παράγοντα KLF15 [126].

Είναι εντυπωσιακό πως η ινσουλινοαντίσταση δεν αφορά όλους τους ιστούς αλλά είναι επιλεκτική [122]. Ενώ ο σκελετικός μυς εμφανίζει αντίσταση στην ινσουλίνη, η δράση της αντιρροπιστικής υπερινσουλιναϊμίας στην ωοθήκη είναι υπέρμετρη, καθώς στα κοκκιώδη κύτταρα γυναικών με PCOS ενισχύεται το ενδοκυττάριο μονοπάτι MAPK της ινσουλίνης που σχετίζεται με τη μιτογόνο δράση της.

Η υπερινσουλιναϊμία που επιμένει από την εφηβική ηλικία ως και την ενήλικη ζωή μπορεί να προκαλέσει αλλαγές στην σύσταση του σώματος, με κατανομή του λίπους πιο κεφαλικά, γεγονός που προκαλεί επιπλέον αντίσταση στην ινσουλίνη στις νεαρές ενήλικες [87,127]. Η συσσώρευση σπλαχνικού λίπους, η δυσλειτουργία των β κυττάρων του παγκρέατος, η υπερλιπιδαιμία και ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 είναι οι κύρια φαινοτυπικά στοιχεία του PCOS που παρατηρήθηκαν σε θηλυκούς ρέζους πιθήκους που αρρενοποιήθηκαν προγεννητικά [128].

Η προέλευση του PCOS

Η σύμπραξη συγγενών και περιβαλλοντικών αλληλεπιδράσεων μιμούνται ένα αυτοσωμικό επικρατή τρόπο κληρονομικότητας με ποικίλη διεισδυτικότητα. Βάσει μελέτης σε 1332 ομοζυγωτικούς και 1873 διζυγωτικούς διδύμους, η κληρονομικότητα υπολογίζεται άνω του 70% [129]. Αντίστοιχα, οι κόρες ασθενών με PCOS έχουν σχεδόν πενταπλάσιο κίνδυνο να εμφανίσουν και οι ίδιες PCOS στην εφηβεία σε σχέση με τις κόρες των υγιών μαρτύρων [81]. Μελέτες έχουν γίνει και σε άνδρες, πρώτου βαθμού συγγενείς γυναικών με PCOS, και συγκεκριμένα αδερφούς και υιούς, ανέδειξαν μικρή αύξηση των επιπέδων των επινεφριδιακών στεροειδών ορμονών καθώς και της LH [130,131]. Επίσης, έχει αναδειχθεί και μεγαλύτερη επίπτωση του μεταβολικού συνδρόμου και παχυσαρκίας σε πατέρες και μητέρες εφήβων με PCOS. Ειδικά στους πατέρες των ασθενών αυτών, η επίπτωση της υπερβαρότητας ή παχυσαρκίας ήταν 94% ενώ το 79% διεγνώσθησαν με μεταβολικό σύνδρομο [132].

Μελέτες συσχέτισης ολόκληρου του γονιδιώματος (Genome-wide association studies – GWAS) μεγάλης κλίμακας αναγνώρισαν 13 περιοχές του γονιδιώματος που είναι κοινές στις ασθενείς με PCOS ανεξαρτήτως των κριτηρίων που θα χρησιμοποιηθούν για τη διάγνωση του συνδρόμου. Η ανάλυση του βαθμού της ανισορροπίας σύνδεσης (linkage disequilibrium) ανέδειξε συσχετίσεις με την παχυσαρκία, την ινσουλίνη νηστείας, τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, τα επίπεδα των λιπιδίων και την καρδιαγγειακή νόσο, αναδεικνύοντας κοινή γενετική αρχιτεκτονική μεταξύ των μεταβολικών αυτών χαρακτηριστικών και του PCOS [133].

Αναπτυξιακή πλαστικότητα στην εμβρυϊκή ζωή και PCOS

Η υπόθεση του Barker ενοχοποιεί το ενδομήτριο περιβάλλον του εμβρύου για μια μεγάλη ομάδα μεταβολικών νόσων όπως η υπέρταση, ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2, η παχυσαρκία και η καρδιαγγειακή νόσος [134]. Φαίνεται πως η αναπτυξιακή πλαστικότητα κατά την ενδομήτριο ζωή προγραμματίζει την έκφραση των γονιδίων σε κύσεις με έλλειψη ενέργειας λόγω υποθρεψίας της μητέρας ή πλακουντιακής ανεπάρκειας, ώστε να λειτουργούν σε αυτό το πτωχό περιβάλλον. Αυτό οδηγεί τα μικρά για την ηλικία κύησης νεογνά κατά τη γέννηση να μην μπορούν να ανταποκριθούν σωστά στο μεταγεννητικό περιβάλλον περίσσειας ενέργειας και γίνονται επηρεασμένοι μεταβολικά ενήλικες [135]. Κάποιες επιδημιολογικές μελέτες έχουν επιβεβαιώσει την υπόθεση αυτή που συσχετίζει το χαμηλό βάρος γέννησης με πρώιμη ήβη και PCOS στην εφηβεία, ωστόσο τα δεδομένα στη βιβλιογραφία είναι αντικρουόμενα [136,137].

Εκτός όμως από την έλλειψη ή περίσσεια ενέργειας, υπάρχει και η θεωρία παθογένεσης του PCOS λόγω περίσσειας ανδρογόνων κατά την ενδομήτριο ζωή. Είναι άλλωστε γνωστό πως απόγονοι ασθενών με συγγενή υπερπλασία επινεφριδίων και αρρενοποιητικούς όγκους παρουσιάζουν μεγαλύτερο επιπολασμό PCOS [138]. Οι αρχικές μελέτες έγιναν σε θηλυκό πρόβατο και πίθηκο, στα οποία χορηγήθηκε τεστοστερόνη προγεννητικά και ανέπτυξαν έναν ομοιάζοντα με το PCOS (PCOS-like) φαινότυπο, που χαρακτηρίζεται από υπερέκκριση LH λόγω διαταραχή στο σύστημα ανατροφοδότησης του υποθαλάμου, λειτουργικό υπερανδρογονισμό, διαταραχή ωοθυλακιορρηξίας, πολυκυστικές ωοθήκες και διαταραγμένη ομοιόσταση γλυκόζης – ινσουλίνης [139]. Αυτή η παρατήρηση ωστόσο έρχεται σε αντίθεση με την κοινή γνώση πως η πλακουντιακή αρωματάση προστατεύει το έμβρυο από τα κυκλοφορούντα ανδρογόνα της μητέρας, καθώς και με την παρατήρηση πως

αρρενοποίηση δεν παρατηρείται στις δίδυμες κυήσεις όπου το ενδομήτριο περιβάλλον μοιράζονται ένα άρρεν και ένα θήλυ έμβρυο [87]. Η ενδομήτρια χορήγηση τεστοστερόνης οδήγησε επίσης σε υπογονιμότητα των απογόνων λόγω διαταραχής στην ανάπτυξη των πρωτογενών ωοθυλακίων. Ωστόσο, δεν μπορεί ακόμα να ξεκαθαριστεί αν το PCOS οφείλεται σε πρωτογενή βλάβη σε κάποιο στοιχείο του συστήματος υποθάλαμος – υπόφυση – ωθήκη ή δευτερογενή λόγω της διαταραχής που επιτελείται στην ομοιόσταση της ινσουλίνης από την αντιρροπιστική αύξηση του βάρους μετά τη γέννηση ενός ελλειποβαρούς νεογνού ή είναι αθροιστικό αποτέλεσμα αυτών [139].

Μεταβολικό σύνδρομο και καρδιαγγειακός κίνδυνος

Το υπέρμετρο σωματικό λίπος, ιδιαίτερα το σπλαχνικό λίπος συνεισφέρει στην ανάπτυξη ενός περίπλοκου συνονθυλεύματος σοβαρών κλινικών καταστάσεων με μειωμένη ανοχή στη γλυκόζη, αντίσταση στην ινσουλίνη, δυσλιπιδαιμία, αρτηριακή υπέρταση, δυσλειτουργία του αγγειακού ενδοθηλίου και διαταραγμένη ινωδόλυση [140,141]. Αυτές οι οντότητες αποτελούν πλέον στοιχεία του Μεταβολικού συνδρόμου (MetS). Είναι δηλαδή μια ομαδοποίηση μεταβολικών παραγόντων κινδύνου για ΣΔ2 και αθηροσκληρωτική καρδιαγγειακή νόσο.

Η διάγνωση του Μεταβολικού Συνδρόμου στην εφηβεία

Μελέτες εκτιμούν πως περίπου το 10% των παιδιών στις ΗΠΑ έχουν μεταβολικό σύνδρομο, όπως αυτό ορίζεται από την τροποποίηση των κριτηρίων των ενηλίκων [142,143]. Ωστόσο, επειδή η εφηβεία σχετίζεται με αλλαγές σε αρκετά από τα χαρακτηριστικά του μεταβολικού συνδρόμου, υπάρχει σημαντική αστάθεια στη διάγνωση. Σε μια μελέτη, περίπου οι μισοί από τους εφήβους που ταξινομήθηκαν αρχικά ως με μεταβολικό σύνδρομο έχασαν τη διάγνωση κατά τη διάρκεια μιας τριετούς περιόδου παρατήρησης, ενώ άλλοι απέκτησαν τη διάγνωση [144].

Δεν υπάρχει συμφωνία στη βιβλιογραφία και για τον ορισμό του MetS στα παιδιά και στους εφήβους [145]. Ο ορισμός της International Diabetes Federation (IDF) για το μεταβολικό σύνδρομο σε παιδιά και εφήβους ηλικίας 10 έως 16 ετών είναι παρόμοιος με αυτόν που χρησιμοποιείται από το IDF για ενήλικες, εκτός από το ότι χρησιμοποιεί συγκεκριμένα εθνικά εκατοστημόρια περιφέρειας μέσης και ένα μοναδικό κατώφλι για την HDL αντί για

διαφορετικά για το κάθε φύλο. Στους εφήβους 16 ετών και άνω, μπορούν να χρησιμοποιηθούν τα κριτήρια ενηλίκων. Για παιδιά ηλικίας κάτω των 10 ετών, το μεταβολικό σύνδρομο δεν μπορεί να διαγνωστεί, αλλά συνιστάται επαγρύπνηση εάν η περίμετρος της μέσης είναι ≥ 90 εκατοστημόριο [146].

Πίνακας 4: Το consensus της IDF για τη διάγνωση του MetS σε παιδιά και εφήβους

Age group (years)	Obesity* (WC)	Triglycerides	HDL-C	Blood pressure	Glucose (mmol/L) or known T2DM
6–<10	$\geq 90^{\text{th}}$ percentile	Metabolic syndrome cannot be diagnosed, but further measurements should be made if there is a family history of metabolic syndrome, T2DM, dyslipidemia, cardiovascular disease, hypertension and/or obesity.			
10–<16 Metabolic syndrome	$\geq 90^{\text{th}}$ percentile or adult cut-off if lower	≥ 1.7 mmol/L (≥ 150 mg/dL)	< 1.03 mmol/L (< 40 mg/dL)	Systolic ≥ 130 / diastolic ≥ 85 mm Hg	≥ 5.6 mmol/L (100 mg/dL) (If ≥ 5.6 mmol/L [or known T2DM] recommend an OGTT)
16+ Metabolic syndrome	Use existing IDF criteria for adults, ie: Central obesity (defined as waist circumference ≥ 94 cm for European men and ≥ 80 cm for European women, with ethnicity specific values for other groups*) plus any two of the following four factors: <ul style="list-style-type: none"> • raised triglycerides: ≥ 1.7mmol/L • reduced HDL-cholesterol: < 1.03mmol/L (< 40 mg/dL) in males and < 1.29mmol/L (< 50 mg/dL) in females, or specific treatment for these lipid abnormalities • raised blood pressure: systolic Bp ≥ 130 or diastolic Bp ≥ 85mm Hg, or treatment of previously diagnosed hypertension • impaired fasting glycaemia (IFG): fasting plasma glucose (FPG) ≥ 5.6 mmol/L (≥ 100 mg/dL), or previously diagnosed type 2 diabetes 				

WC: waist circumference; HDL-C: high-density lipoprotein cholesterol; T2DM: type 2 diabetes mellitus; OGTT: oral glucose tolerance test.

*The IDF Consensus group recognises that there are ethnic, gender and age differences but research is still needed on outcomes to establish risk.

Πηγή: Zimmet et al.[146]

Ολοένα και μεγαλύτερη ανησυχία υπάρχει στη βιβλιογραφία για τις μακροπρόθεσμες επιπτώσεις στην υγεία του παιδικού και εφηβικού MetS και πιστεύουν ότι μπορεί να σχετίζεται με πρόωμη καρδιαγγειακή νόσο στην ενήλικη ζωή. Τα καρδιαγγειακά καταληκτικά σημεία (endpoints) είναι δύσκολο να στοχοθετηθούν λόγω της μεγάλης λανθάνουσας περιόδου μεταξύ της έναρξης της αθηροσκλήρωσης και του πρώτου καρδιαγγειακού

συμβάντος. Ωστόσο, υπάρχουν νεκροτομικά στοιχεία ότι η αθηροσκλήρωση ξεκινά στην παιδική ηλικία [147].

Μεταβολικό Σύνδρομο και καρδιαγγειακός κίνδυνος σε γυναίκες με PCOS

Μελέτες του MetS σε ενήλικες γυναίκες με PCOS έχουν αναδείξει σχεδόν διπλάσιο επιπολασμό σε σχέση με το γενικό πληθυσμό, ακόμα και μετά τον έλεγχο για την αυξημένη συχνότητα παχυσαρκίας ανάμεσα σε αυτές τις γυναίκες [148]. Τα αποτελέσματα αυτά επεκτείνονται και στον εφηβικό πληθυσμό, όπου έχει αποδειχθεί πως οι έφηβες με PCOS έχουν αυξημένη συχνότητα MetS σε σχέση με τις υγιείς συνομήλικες, 35% προς 5% [149].

Οι πιθανότητες να εμφανίζει μια έφηβη MetS ήταν 3,8 φορές υψηλότερες για κάθε τεταρτημόριο αύξηση της βιοδιαθέσιμης τεστοστερόνης σε κορίτσια με PCOS μετά από προσαρμογή για αντίσταση στην ινσουλίνη και δείκτη μάζας σώματος (body mass index - BMI) [odds ratio (OR), 3,8, 95%, confidence interval (CI) 1,4–10,2, P= 0,008] [149]. Το ίδιο αποτέλεσμα της επιβαρυντικής σχέσης της τεστοστερόνης υποστηρίζεται και από άλλες μελέτες [150–152].

Μετά από την συστηματική αναθεώρηση και μετανάλυση σχετικών μελετών από ομάδες εργασίας κατά την συγγραφή των τελευταίων Κατευθυντήριων Οδηγιών για το PCOS, παραμένει ασαφές εάν οι γυναίκες με PCOS έχουν υψηλότερο κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου γιατί τα δεδομένα παραμένουν περιορισμένα και οι γυναίκες έχουν γενικά μελετηθεί σε σχετικά νεαρή ηλικία [10].

Προσπάθεια συστηματικής εκτίμησης του καρδιαγγειακού κινδύνου είχε γίνει και από της AE-PCOS Society το 2010, όπου ενδεικτικά αναφέρεται πως ενώ σε μεγάλες προοπτικές

μελέτες δε βρέθηκε αυξημένος επίπτωση θανατηφόρου ή μη καρδιαγγειακής νόσου στις γυναίκες με PCOS, ανεδείχθη υψηλότερος ο κίνδυνος αυτών για μη θανατηφόρα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια.

Ως εκ τούτου, οι κατευθυντήριες γραμμές δίνουν έμφαση στην συσσώρευση των παραγόντων κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου, αντί να κάνουν συστάσεις σχετικά με τον κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου. Η αξιολόγηση του κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου στο PCOS πρέπει να περιλαμβάνει την αξιολόγηση των καθιερωμένων παραγόντων κινδύνου, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που αυξάνονται ειδικά στο PCOS: βάρος, BMI, περίμετρος μέσης, προφίλ λιπιδίων, αρτηριακή πίεση, επίπεδα γλυκόζης καθώς και για μειωμένη φυσική δραστηριότητα. Η παρουσία του PCOS ως ανεξάρτητου παράγοντα κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου δεν έχει ακόμη επιβεβαιωθεί για να προσδιοριστεί εάν αυτοί οι αυξημένοι παράγοντες κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου καταλήγουν στον αναμενόμενο κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου μακροπρόθεσμα. Ωστόσο, με την παρουσία καθιερωμένων παραγόντων κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου και ανεπαρκών διαχρονικών δεδομένων καρδιαγγειακής νόσου, κρίθηκε ότι οι γυναίκες με PCOS απαιτούν στοχευμένο έλεγχο [10].

Δείκτες καρδιαγγειακού κινδύνου και μεταβολικού προφίλ

Η τιμή του BMI δεν επαρκεί καθώς δε δίνει στοιχεία για την κατανομή του σωματικού λίπους. Η κατανομή του λιπώδους ιστού, παρά η τιμή του BMI, είναι καθοριστικός παράγοντας. Είναι γνωστό πως στον ενήλικο αλλά και στο εφηβικό πληθυσμό, η κεντρικού τύπου παχυσαρκία αυξάνει τον κίνδυνο για μεταβολικές και καρδιαγγειακές επιπλοκές [153,154].

Κοιλιακή παχυσαρκία – περίμετρος μέσης

Ένας από τους δείκτες που χρησιμοποιείται είναι ο λόγος της περιμέτρου μέσης προς την περίμετρο γοφών (waist to hip ratio - **WHR**), χωρίς ωστόσο να υπάρχει συγκεκριμένο όριο για τις έφηβες στη βιβλιογραφία όπως υπάρχει αντίστοιχα στους ενήλικες. Έχει βρεθεί θετική συσχέτιση μεταξύ της κεντρικής κατανομής του λιπώδους ιστού και των τριγλυκεριδίων, της συστολικής αρτηριακής πίεσης (ΣΑΠ), της μάζας της αριστερής καρδιακής κοιλίας και αρνητική συσχέτιση με την λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας (HDL) στον παιδικό αλλά και τον εφηβικό πληθυσμό [155].

Λόγος περιμέτρου μέσης προς το ύψος

Ο λόγος περιμέτρου μέσης προς το ύψος (waist to height ratio - **WHtR**) είναι μια εύκολη και φτηνή παράμετρος ενδεικτική του μεταβολικού φαινοτύπου. Έχει φανεί πως υπερτερεί των BMI και της περιμέτρου μέσης. Συγκεκριμένα, δεδομένα μετααναλύσεων έχουν καταδείξει πως το WHtR προβλέπει καλύτερα από την περίμετρο μέσης τον σακχαρώδη διαβήτη, τον καρδιαγγειακό κίνδυνο και τη θνησιμότητα από όλες τις αιτίες. Το κατώφλι που συστήνεται είναι το 0,5 [72]. Η ανάλυση των δεδομένων από την NHANES II υποδεικνύουν πως ο WHtR είναι καλύτερος δείκτης της ολικής χοληστερόλης, της αυξημένης λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (LDL) και των τριγλυκεριδίων (TG) από το BMI στο ηλικιακό φάσμα 4-17 ετών [156]. Για τον δείκτη αυτό έχουν δημοσιευτεί στοιχεία αναφοράς για τον Ελληνικό εφηβικό πληθυσμό [157].

Πάχος έσω-μέσου χιτώνα καρωτιδικής αρτηρίας

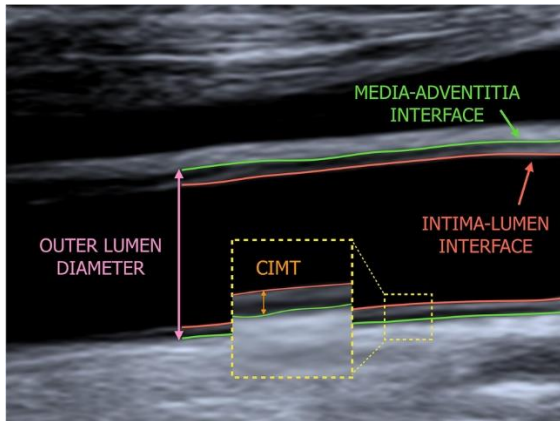
Από μελέτες αυτοψίας σε εφήβους και νεαρούς ενήλικες, έχει αποδειχθεί ότι η αθηροσκλήρωση είναι παρούσα νωρίς στη ζωή και προηγείται των κλινικά εκδηλωμένων καρδιαγγειακών συμβάντων. Ως εκ τούτου, η μη επεμβατική αρτηριακή απεικόνιση έχει τη

δυνατότητα να παρέχει πληροφορίες για τη δομή του αρτηριακού τοιχώματος σε άτομα όλων των ηλικιακών ομάδων ως μια συνεχής μεταβλητή για την περιγραφή όλων των σταδίων εξέλιξης και ύφεσης της αθηροσκλήρωσης [158,159].

Το πάχος του έσω - μέσου της καρωτιδικής αρτηρίας (carotid intima media thickness - CIMT) συνδέεται με την αθηροσκληρωτική διαδικασία λόγω της συσχέτισής του με γνωστούς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου[159–163].

Το CIMT μπορεί να μετρηθεί με υπερηχογράφημα ή με μαγνητική τομογραφία. Στην πλειοψηφία των περιπτώσεων χρησιμοποιείται το B-mode του υπερήχου. Είναι μια εξέταση με καλή ακρίβεια και επαναληψιμότητα, φτηνή, ασφαλής και μη επεμβατική.

Βάσει του consensus της Αμερικανικής Εταιρεία Υπερηχοκαρδιογραφίας που δημοσιεύτηκε το 2008, θα πρέπει να χρησιμοποιείται συσκευή υπερήχων μεγάλης ακρίβειας με ηχοβολέα συχνότητας τουλάχιστον 7MHz. Το τυπικό βάθος σάρωσης θα πρέπει να είναι τα 4 εκατοστά, ωστόσο, αυξημένο βάθος μπορεί να χρειαστεί σε κάποιους ασθενείς. Το τυπικό μέγεθος pixel κατά την απεικόνιση σε βάθος 4 cm είναι περίπου 0,11 mm. Επειδή οι μετρήσεις CIMT είναι εξαιρετικά μικρές, οι διαφορές 1 ψηφιακού pixel μπορούν να ταξινομήσουν τους ασθενείς σε διαφορετικές κατηγορίες κινδύνου, επομένως είναι κρίσιμο να υπάρχει ιδιαίτερη προσοχή στα όργανα και τα τυποποιημένα πρωτόκολλα απεικόνισης και ανάγνωσης. Θα πρέπει να αποφεύγεται η λειτουργία της εστίασης, εκτός από πολύ σταθμισμένα πρωτόκολλα που διατηρούνται τα ανατομικά ορόσημα. Προτιμάται η B-mode υπερηχογραφία καθώς δίνει τη δυνατότητα πολλαπλών μετρήσεων από ένα τμήμα της αρτηρίας τουλάχιστον 1cm, καθώς η πάχυνση του τοιχώματος συνήθως δεν είναι ομοιόμορφη και μπορεί να χαθεί με τη χρήση του M-mode [164].



Εικόνα 2: Παράδειγμα μέτρησης CIMT στην κοινή καρωτίδα
Πηγή Fernandez Alvarez et al.[165]

Τυπικά, η φυσιολογική κοινή καρωτίδα CIMT στην ηλικία των 10 είναι περίπου 0,4 έως 0,5 mm, ενώ από την πέμπτη δεκαετία της ζωής και μετά αυτό εξελίσσεται σε 0,7 έως 0,8 mm ή περισσότερο. Είναι καλά αποδεδειγμένο ότι η CIMT αυξάνεται με την προχωρημένη ηλικία, ακόμη και απουσία έκδηλης ή λανθάνουσας αθηροσκλήρωσης, ως αποτέλεσμα πάχυνσης τόσο της intima όσο και της media στιβάδας. Στους ανθρώπους, το CIMT αυξάνεται σχεδόν 3 φορές μεταξύ των ηλικιών 20 και 90 ετών [166].

Πληθώρα προοπτικών μελετών με πολλούς συμμετέχοντες έχουν αποδείξει τη σχέση του CIMT και του καρδιαγγειακού κινδύνου, και συγκεκριμένα του εμφράγματος μυοκαρδίου, του εγκεφαλικού επεισοδίου, του θανάτου από στεφανιαία νόσο ή το συνδυασμό αυτών [164]. Η σχέση μεταξύ της αύξησης του CIMT και των περιστατικών καρδιαγγειακής νόσου έχει καθιερωθεί σε ένα ευρύ φάσμα ηλικιών. Ωστόσο, τα ισχυρότερα δεδομένα αφορούν άτομα μεταξύ 42 και 74 ετών, επειδή αρκετές μελέτες ατόμων σε αυτό το ηλικιακό εύρος δείχνουν παρόμοια αποτελέσματα. Για τους νεότερους ενήλικες (18-42 ετών), έχουν αποδειχθεί σταθερές, ισχυρές σχέσεις μεταξύ της αυξανόμενης επιβάρυνσης των παραγόντων κινδύνου, των αναδυόμενων παραγόντων κινδύνου και του CIMT [161,167–169].

Μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος

Η μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος (Non-alcoholic fatty liver disease - NAFLD) είναι η συχνότερη χρόνια ηπατική νόσος στον δυτικό κόσμο, επιβαρύνοντας το 17-46% των ενηλίκων [170,171]. Στα παχύσαρκα παιδιά ο επιπολασμός της νόσου αγγίζει το 29-38% [172].

Ορίζεται ως συσσώρευση λίπους σε >5% των ηπατοκυττάρων, εφόσον έχει αποκλειστεί η κατάχρηση αιθυλικής αλκοόλης και άλλες αιτίες ηπατικής στεάτωσης [173]. Ο ορισμός κατάχρησης αιθυλικής αλκοόλης διαφέρει στις κατευθυντήριες οδηγίες που έχουν αναπτυχθεί για τη NAFLD. Στις οδηγίες των European Association for the Study of the Liver (EASL), European Association for the Study of Diabetes (EASD) and European Association for the Study of Obesity (EASO) που δημοσιεύτηκαν το 2016, αναφέρεται το όριο των 20gr ημερησίως για τις γυναίκες και 30gr για τους άνδρες [171].

Βάσει των οδηγιών της Expert Committee on NAFLD (ECON) και της North American Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (NASPGHAN), στα παιδιά και τους εφήβους <18 ετών, η NAFLD ορίζεται ως χρόνια ηπατική στεάτωση η οποία δεν είναι δευτεροπαθής λόγω γενετικών ή μεταβολικών διαταραχών, λοιμώξεων, στεατογόνων φαρμάκων, υποσιτισμού ή κατάχρησης αιθυλικής αλκοόλης. Αναφέρεται επίσης στον ορισμό ότι συσχετίζεται με αντίσταση στην ινσουλίνη, κεντρική ή γενικευμένη παχυσαρκία, και δυσλιπιδαιμία με υψηλά τριγλυκερίδια και μειωμένη HDL.

Περιλαμβάνει δύο ιστολογικές οντότητες του ήπατος που έχουν διαφορετική πρόγνωση:

- Την απλή μη αλκοολική στεάτωση (Nonalcoholic fatty liver - NAFL): συσσώρευση λιπιδίων στο ηπατικό παρέγχυμα

- Τη μη αλκοολική στεατοηπατίδα (Nonalcoholic steatohepatitis - NASH): ευρύ φάσμα ιστολογικών εικόνων που εμπεριέχει την φλεγμονή, την ίνωση και μπορεί να καταλήξει σε ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα.

Η απλή στεάτωση, όσον αφορά το ίδιο το ήπαρ αποτελεί μια σχετικά καλοήθη κατάσταση, χωρίς συνήθως κλινικές εκδηλώσεις. Συνήθως η διάγνωσή της στην καθημερινή κλινική πράξη γίνεται με τα εμμένοντα αυξημένα επίπεδα των τρανσαμινασών ορού SGOT (οξαλοξική τρανσαμινάση ή AST) και SGPT (πυροσταφυλική τρανσαμινάση ή ALT) ή την ανάδειξη λιπώδους ήπατος στο υπερηχογράφημα άνω κοιλίας.

Η NAFLD θεωρείται η ηπατική εκδήλωση του μεταβολικού συνδρόμου και είναι μία από τις συχνότερες χρόνιες ηπατικές νόσους του δυτικού κόσμου. Αν και η πιο κοινή εξήγηση για τον αυξημένο επιπολασμό της NAFLD είναι η σύγχρονη αύξηση του επιπολασμού της παχυσαρκίας, φαίνεται πως ο κίνδυνος για την ανάπτυξη NAFLD δεν περιορίζεται στους υπέρβαρους και παχύσαρκους ανθρώπους [140].

Η αντίσταση στην ινσουλίνη είναι ο κύριος συνδετικός κρίκος της NAFLD με το MetS, ως τόσο όπως θα αναλυθεί παρακάτω και άλλοι παράγοντες όπως το σπλαχνικό λίπος και η υπερανδρογοναιμία έχουν συνδεθεί με αυτή την παθολογία είτε άμεσα είτε έμμεσα [174,175].

Επί του παρόντος, και παρά τον αυξημένο επιπολασμό της νόσου, καμία από τις κατευθυντήριες οδηγίες που έχουν δημοσιευτεί δεν προτείνει το καθολικό screening του γενικού πληθυσμού, ωστόσο δίνουν έμφαση στην έγκαιρη αναγνώριση της NAFLD στους ασθενείς με παράγοντες κινδύνου, όπως ο ΣΔ2, το MetS και η υπερτρανσαμινασαιμία [176].

Για την αρχική διάγνωση της NAFLD προτείνεται από όλες τις οδηγίες η χρήση μη επεμβατικών μεθόδων έναντι της βιοψίας ήπατος. Από την πλειοψηφία προτείνονται τα ηπατικά ένζυμα και το υπερηχογράφημα.

Η βιοψία ήπατος ωστόσο, είναι το μόνο διαγνωστικό εργαλείο που μπορεί να εκτιμήσει και να διαφοροδιαγνώσει αξιόπιστα την ηπατική στεάτωση, τη NASH και την ίνωση. Επιπλέον, μπορεί να ανιχνεύσει και άλλες υποβόσκουσες ηπατικές νόσους που μπορεί να διέλαθαν και να μιμούνταν την NAFLD [177,178]. Για αυτό τον λόγο προτείνεται από την American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD), στην περίπτωση που δεν μπορεί να αποκλειστεί αλλιώς άλλη αιτιολογία ηπατικής νόσου [179].

Συμπερασματικά, τα ασαφή κριτήρια παραπομπής για βιοψίας, ρίχνουν το βάρος της απόφασης στον θεράποντα ηπατολόγο και όλο και περισσότεροι βιοδείκτες σοβαρότητας της ηπατικής νόσου αναδύονται στη βιβλιογραφία [177].

Παρόλο το αυξημένο ενδιαφέρον για τη νόσο τα τελευταία έτη, η διάγνωση της NAFLD οδηγεί σε υποβέλτιστη παρακολούθηση του ασθενούς [180]. Αυτό το συμπέρασμα, επισημαίνει την ανάγκη υιοθέτησης μιας πιο συστηματικής προσέγγισης προς στη νόσο, ούτως ώστε να αποφεύγεται η μετάβαση στα πιο προχωρημένα στάδια της νόσου [177].

Επιδημιολογικές μελέτες σε ενήλικες, έχουν δείξει πως η NAFLD σχετίζεται με αυξημένη θνητότητα και σε σχέση με αντίστοιχους πληθυσμούς ελέγχου, λόγω καρδιαγγειακής νόσου, κίρρωσης και ηπατοκυτταρικού καρκινώματος [181]. Η παιδιατρική NAFLD μπορεί να είναι πιο σοβαρή σε σχέση με αυτή των ενηλίκων και ίσως πιο επιθετική, ωστόσο τα στοιχεία είναι περιορισμένα για τη μακροπρόθεσμη νοσηρότητα ή/και θνητότητα των παιδιατρικών ασθενών [172,182].

Μη επεμβατικές μέθοδοι διάγνωσης της NAFLD

Υπερηχογράφημα ήπατος

Το υπερηχογράφημα ήπατος είναι η συχνότερα χρησιμοποιούμενη απεικονιστική εξέταση για τη διάγνωση της ηπατικής στεάτωσης [172]. Χρησιμοποιεί χαρακτήρες όπως η ηχογένεια και ηχοδομή του οργάνου σε σχέση με γειτονικά όργανα, τη φωτεινότητα του παρεγχύματος και παρουσία και ευκρίνεια διαφραγμάτων και αγγείων εντός του. Ωστόσο δεν μπορεί να διαφοροδιαγνώσει την απλή στεάτωση από την στεατοηπατίτιδα [183]. Η εικόνα που παρουσιάζεται με την υπερηχογραφία είναι συνήθως ένα υπερηχογενές και «φωτεινό» ήπαρ λόγω της διάχυτη λιπώδους διήθησης.

Από μετα-αναλύσεις έχει υπολογιστεί πως η ευαισθησία, η ειδικότητα της υπερηχογραφίας για την ανίχνευση μέτριας και σοβαρής ηπατικής νόσου σχέση με τη βιοψία ήπατος (gold standard) είναι 84.8% (95% CI: 79.5-88.9), 93.6% (87.2-97.0) αντίστοιχα [184]. Δυσκολίες υπάρχουν και στους παχύσαρκους ασθενείς [185]. Στην οδηγία του Ηνωμένου Βασιλείου (NICE guidance) υπογραμμίζεται πως η υπερηχογραφία μπορεί αξιόπιστα να ανιχνεύσει την ηπατική στεάτωση, όταν ιστολογικά το λίπος είναι >30%, όριο που είναι πολύ μεγαλύτερο από το 5% που χρησιμοποιείται στον ορισμό της νόσου [186]. Στον παιδιατρικό πληθυσμό η θετική προγνωστική αξία της εξέτασης έχει υπολογιστεί στο 47–62% [187].

Ελαστογραφία ήπατος

Η ελαστογραφία (Fibroscan®) είναι ένας ακόμα μη επεμβατικός τρόπος εκτίμησης και παρακολούθησης των ηπατικών νόσων, κυρίως της ίνωσης του ήπατος. Χρησιμοποιώντας

την τεχνολογία των υπερήχων μεταδίδει ένα πολλαπλασιαζόμενο ελαστικό κύμα στον ιστό, τον διεγείρει μηχανικά, και επιστρέφοντας αυτό δίνει πληροφορίες για τη σκληρότητα του ιστού. Τα αποτελέσματα της εξέτασης εκφράζονται σε kilopascal (kPa), κυμαίνονται από 2,5 ως 75 kPa, δίνεται η διάμεση τιμή των 10 μετρήσεων που αντανακλά την κατανομή των μετρήσεων και το ενδοτεταρτημοριακό εύρος. Οι ελληνικές κατευθυντήριες οδηγίες για την NAFLD προτείνουν τη χρήση του ορίου των 8kPa στην κλινική πράξη για τον αποκλεισμό της προχωρημένης ίνωσης ή κίρρωσης [188]. Κυρίως χρησιμοποιείται για την διάγνωση και την ποσοτικοποίηση της ίνωσης του ήπατος ωστόσο πλέον υπάρχουν μελέτες που αναγνωρίζουν και τη χρήση του στην διάγνωση της ηπατικής στεάτωσης με την παράμετρο ελεγχόμενης απόσβεσης (controlled attenuation parameter - CAP) [189]. Σε σύγκριση με το απλό υπερηχογράφημα, το CAP φαίνεται να πλεονεκτεί στην ανίχνευση και βαθμολόγηση της στεάτωσης, αλλά να υπολείπεται έναντι της MRI [188].

Αξονική τομογραφία, Μαγνητική Τομογραφία, Μαγνητική Φασματοσκοπία

Τόσο η αξονική τομογραφία (computed tomography - CT) όσο και η μαγνητική τομογραφία (magnetic resonance imaging - MRI) είναι ικανές να ανιχνεύσουν την ηπατική στεάτωση ωστόσο, τα αποτελέσματα που δίνουν είναι ποιοτικά και όχι ποσοτικά και δεν μπορούν να διαγνώσουν τη φλεγμονή ή την ίνωση του ηπατικού παρεγχύματος. Η CT παρουσιάζει χαμηλή ευαισθησία και η MRI χαμηλή ειδικότητα [190,191]. Η μαγνητική φασματοσκοπία μπορεί να παράγει και ποσοτικά αποτελέσματα με ικανοποιητική επαναληψιμότητα αλλά δεν είναι ευρέως διαθέσιμη [192].

SGPT

Η μελέτη SAFETY (Screening ALT for Elevation in Today's Youth), που δημοσιεύτηκε στο *Gastroenterology* το 2010, προσπάθησε να αναπτύξει ειδικά για την ηλικία και το φύλο παιδιατρικά όρια για την SGPT. Το 95^ο εκατοστημόριο των επιπέδων της SGPT σε νορμοβαρή, μεταβολικά υγιή και χωρίς ηπατική νόσο κορίτσια που συμμετείχαν στη δεκαετή μελέτη ήταν 22,1 U/L [193]. Το όριο αυτό έχει ευαισθησία 91% (95% CI 0.83–0.99) για την ανίχνευση NAFLD (ή οποιαδήποτε άλλη χρόνια ηπατοπάθεια). Αυτή είναι μια σημαντική βελτίωση από την ευαισθησία του προηγούμενου ορίου της SGPT, το οποίο ήταν 40 U/L, του οποίου η ευαισθησία ανερχόταν μόνο στο 36%.

Η Expert Committee on NAFLD (ECON) και η North American Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (NASPGHAN), στις κατευθυντήριες οδηγίες κλινικής πρακτικής που δημοσίευσε το 2017, η μέτρηση της SGPT θεωρείται η καλύτερη δοκιμασία screening για την NAFLD στα παιδιά παρά τις σημαντικές της αδυναμίες (Strength – 1, Evidence – B) και χρησιμοποιεί το διπλάσιο ανώτατο όριο της SAFETY study, δηλαδή το 44 U/L σε κορίτσια > 10 ετών και όχι το ανώτατο φυσιολογικό όριο του κάθε εργαστηρίου. (Strength – 1, Evidence – A). Επιπρόσθετα αναφέρει, εμμένοντα (άνω των 3 μηνών) υψηλά επίπεδα SGPT πρέπει να εγείρουν την υποψία NAFLD ή άλλων αιτιών χρόνιας ηπατίτιδας (Strength 1, Evidence – C). Επίπεδα SGPT>80 U/L απαιτούν άμεση διερεύνηση καθώς η πιθανότητα σοβαρής ηπατικής νόσου είναι μεγαλύτερη (Strength - 2, Evidence – C) [172].

Ορολογικοί δείκτες ηπατικής στεάτωσης και ίνωσης

Διάφοροι ορολογικοί δείκτες έχουν προταθεί για τη διάγνωση της NAFLD ωστόσο, η ποσοτικοποίηση της ηπατικής βλάβης με αυτούς είναι αμφίβολη [188]. Χρήση τους γίνεται κυρίως σε επιδημιολογικές μελέτες. Κάποιοι από αυτούς χρησιμοποιούνε συχνά χρησιμοποιούμενες βιοχημικές παραμέτρους ενώ άλλοι εξειδικευμένες πρωτεΐνες, που δε μετρούνται συνήθως στην κλινική πράξη. Παρέχουν έναν εύκολο, γρήγορο, φτηνό και μη επεμβατικό τρόπο αδρής εκτίμησης της ηπατικής βλάβης ωστόσο έχουν το μειονέκτημα ότι κατά τον έλεγχο του γενικού πληθυσμού, το μεγαλύτερο ποσοστό αυτού θα εμπίπτει στην γκριζα ζώνη τους. Οι Ελληνικές κατευθυντήριες οδηγίες συστήνουν τη χρήση των ορίων Fibrosis-4 index (FIB-4) < 1.30 και NAFLD fibrosis score (NFS) < -1.455 για τον αποκλεισμό της προχωρημένης ίνωσης ή κίρρωσης [188].

Το **Fatty Liver Index** (FLI) επινοήθηκε από τον Bedogni et al. και χρησιμοποιεί τα τριγλυκερίδια, το BMI, τη γ-γλουταμυλτρανσφεράσης (γGT) και την περίμετρο μέσης του ασθενούς και έχει σταθμιστεί απέναντι στο υπερηχογράφημα. Τιμή < 30 αποκλείει την ηπατική στεάτωση ενώ FLI ≥ 60 θέτει τη διάγνωση. Η ευαισθησία του FLI έναντι του HRI (ηπατονεφρικός δείκτης στο υπερηχογράφημα) είναι 56,3%, η ειδικότητα 86,5%, η θετική προγνωστική αξία (positive predictive value - PPV) 57%, και η αρνητική προγνωστική αξία (negative predictive value – NPV) 86,1% [194].

Το **Liver fat score** (LFS) που δημοσιεύτηκε από την ερευνητική ομάδα της Kotronen το 2009, βασίστηκε στις παραμέτρους: SGOT, SGPT, ινσουλίνη, ύπαρξη ή απουσία MetS και ύπαρξη ή απουσία ΣΔ2. Το cut-off του -0.640 προέβλεψε την NAFLD με ευαισθησία 84% και ειδικότητα 69%. Το χαμηλότερο cut-off -1.413 έδωσε ευαισθησία 95% και ειδικότητα of 56% ενώ το υψηλότερο cut-off του 1.257 έδωσε ευαισθησία 59% και ειδικότητα 94% [195].

Το 2010 δημοσιεύτηκε από τον Bedogni και συνεργάτες πως το **Lipid accumulation product** (LAP) ως δείκτης ηπατικής στεάτωσης. Υπολογίζεται με την περίμετρο μέσης και την τιμή των τριγλυκεριδίων ορού [196]. Για τα παχύσαρκα παιδιά (ως 18 έτη) προτάθηκε βάσει στατιστικής ανάλυσης το όριο του 42,7 με ευαισθησία 53.7% και ειδικότητα 84.6% [197].

Ο λόγος **ALT/τριγλυκερίδια ορού**, στο όριο των 7, μπορεί να ανιχνεύσει την NAFLD με τη μέγιστη ευαισθησία 84% και ειδικότητα 91%. Για αυτό το cut-off η θετική προγνωστική αξία είναι 91,8% και η αρνητική 84,3% [198].

Ο **Hepatic steatosis index (HSI)** βασίζεται στις τιμές των τρανσαμινασών του ορού, στο BMI, στην ύπαρξη σακχαρώδους διαβήτη και στο φύλο του ασθενούς. Τιμές <30 αποκλείουν την NAFLD και τιμές >36 την ανιχνεύουν με ευαισθησία 93,1% και ειδικότητα 92,4% [199].

Τέλος οι **Tomizawa et al.** δημοσίευσαν το 2014 πως ταυτόχρονες τιμές ALT>19 IU/l και τριγλυκεριδίων >101 mg/dl μπορούν να διαγνώσουν την NAFLD με ευαισθησία 67,5%, ειδικότητα 80,9%, θετική προγνωστική αξία 75% και αρνητική προγνωστική αξία 74,5%, με μεγαλύτερη δηλαδή ακρίβεια από κάθε παράμετρο ξεχωριστά [200].

Ο δείκτης **PCOS hepatic steatosis index (PCOS-HS)**, δημιουργήθηκε ειδικά για τον πληθυσμό των εφήβων με PCOS. Περιλαμβάνει το εκατοστημόριο του BMI, την περίμετρο μέσης, την τιμή της ALT και της SHBG. Χρησιμοποιώντας το cut off του 0,44 για την πρόβλεψη του PCOS με ευαισθησία 82%, ειδικότητα 69%, αρνητική προγνωστική αξία 78% και θετική προγνωστική αξία 74%. Τιμές <0,15 αποκλείουν την ηπατική στεάτωση με ευαισθησία 91% και ειδικότητα 70% [201].

Το **Visceral adiposity index (VAI)** δημιουργήθηκε αρχικά από τους Amato et al. το 2010 για την εκτίμηση του καρδιαγγειακού κινδύνου. Χρησιμοποιεί τις μετρήσεις της περιμέτρου

μέσης, των τριγλυκεριδίων του ορού, της HDL και του BMI. Έχει διαφορετικά όρια για ανά ηλικιακή ομάδα, υπολογίζεται διαφορετικά στα δύο φύλα και επινοήθηκε για την εκτίμηση «δυσλειτουργικού» λιπώδους ιστού. Έχει χρησιμοποιηθεί σε δείγματα με NAFLD για την ανάδειξη των περιπτώσεων που έχουν πρόοδο της νόσου, χειρότερη πρόγνωση και καρδιαγγειακό κίνδυνο. Τιμές ≤ 2.52 δηλώνουν απουσία δυσλειτουργίας του λιπώδους ιστού, 2.53–2.58 ήπια δυσλειτουργία, 2.59–2.73 μετρίου βαθμού, και > 2.73 σοβαρού βαθμού δυσλειτουργία [202,203].

Όσον αφορά την ηπατική ίνωση, από τους πιο συχνά χρησιμοποιούμενους δείκτες είναι το σκορ **Fibrosis-4 index** (FIB-4). Αρχικά επινοήθηκε για την εκτίμηση της ηπατικής ίνωσης λιπώδους αιτιολογίας [204]. Βασίζεται στις τιμές της ηλικίας, των τρανσαμινασών του ορού και των αιμοπεταλίων. Τα ίδια όρια, δηλαδή $< 1,45$ για τον αποκλεισμό και $> 3,25$ για τη διάγνωση της ηπατικής ίνωσης έχουν χρησιμοποιηθεί με μεγάλη ακρίβεια και σε δείγμα NAFLD, μειώνοντας 58% την ανάγκη για βιοψίες ήπατος [205].

Το **NAFLD fibrosis score (NFS)** βασίζεται στις τιμές της ηλικίας του BMI, των τρανσαμινασών ορού, της αλβουμίνης, τον αριθμό των αιμοπεταλίων και την ύπαρξη η όχι σακχαρώδη διαβήτη. Το χαμηλό όριο του $< -1,455$ φαίνεται πως αποκλείει την σοβαρή ίνωση με ευαισθησία 77% και το υψηλό όριο του $> 0,676$ την ανιχνεύει με ειδικότητα 96% [206].

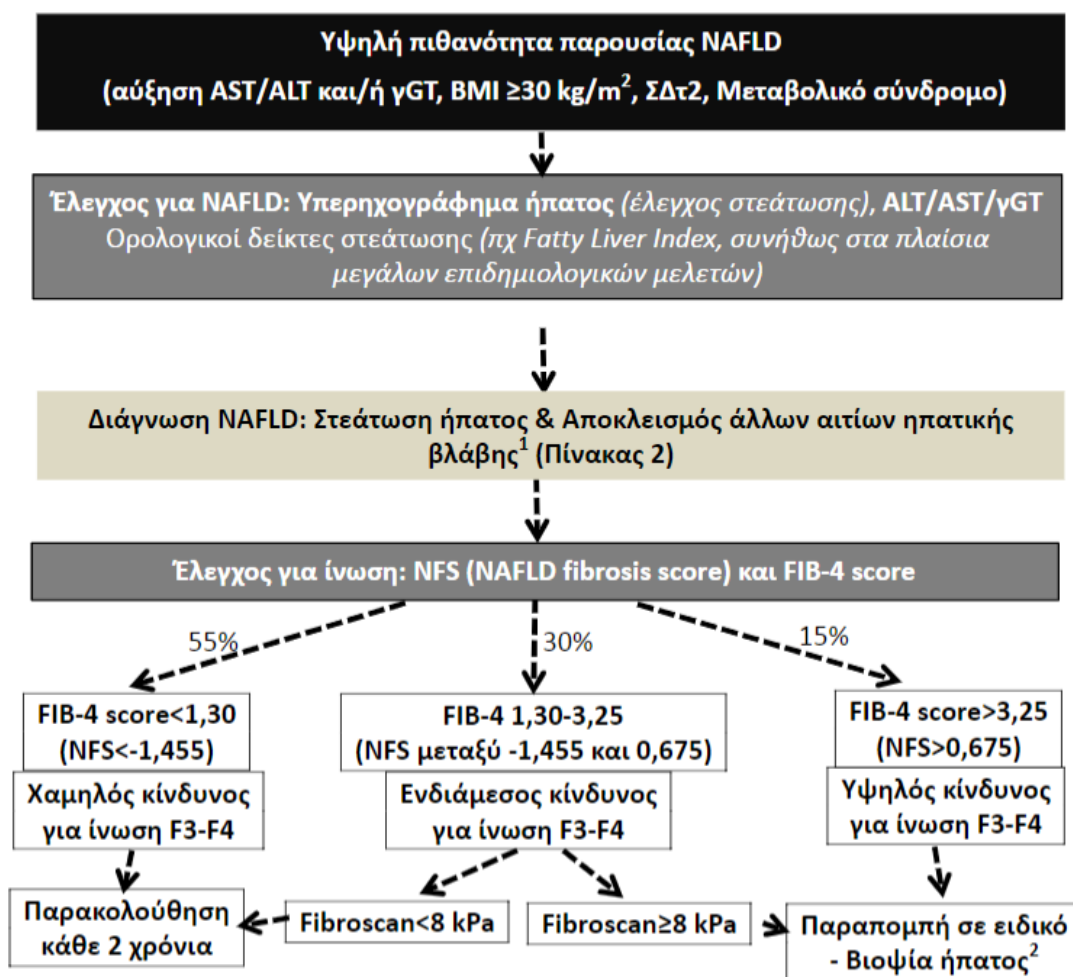
Η σχέση $AST > ALT$, δηλαδή ο λόγος **$AST/ALT > 1$** έχει προταθεί από την ομάδα του Angulo et al. για την παρακολούθηση της ηπατικής βλάβης σε ασθενείς με NAFLD, λόγω της χειρότερης κάθαρσης της AST από τα ηπατικά κύτταρα με την πρόοδο της ηπατικής ίνωσης [207]. Ανήκει και στις προτάσεις της NASPGHAN για την υποψία ίνωσης σε παιδιατρικούς ασθενείς και την παραπομπή τους προς βιοψία ήπατος [172].

Το **BARD score** χρησιμοποιεί το BMI, τις τιμές των τρανσαμινασών ορού και την ύπαρξη ΣΔ2. Ασθενής με score ≥ 2 είναι 17 φορές πιο πιθανό να έχει προχωρημένη ίνωση, σχέση με κάποιον που έχει μικρότερη τιμή [208].

Το **AST to Platelet Ratio Index (APRI)** χρησιμοποιεί την τιμή της AST και τον αριθμό των αιμοπεταλίων. Στο cut-off του 0.98 έχει για την διάγνωση της προχωρημένης ίνωσης ευαισθησία 75% και ειδικότητα 86% [209].

Το **BAAT score** συνδυάζει την ηλικία, το BMI, και τις τιμές των τριγλυκεριδίων ορού και της ALT. Τιμές στο score αυτό 0 ή 1 αποκλείουν την ηπατική ίνωση με 100% αρνητική προγνωστική αξία, ενώ τιμή 4 προβλέπει την ίνωση με 100% θετική προγνωστική αξία [210].

Ακολουθεί ο αλγόριθμος για τη διάγνωση της NAFLD που προτείνεται στις κατευθυντήριες οδηγίες της Ελληνικής Εταιρείας Μελέτης του Ήπατος σε συνεργασία με την Ελληνική Διαβητολογική Εταιρεία και την Ελληνική Ιατρική Εταιρεία Παχυσαρκίας.



Εικόνα 3: Αλγόριθμος διάγνωσης NAFLD

Πηγή: Κατευθυντήριες Οδηγίες της Ελληνικής Εταιρείας Μελέτης Ήπατος σε συνεργασία με την Ελληνική Διαβητολογική Εταιρεία και την Ελληνική Ιατρική Εταιρεία Παχυσαρκίας για τη Διάγνωση και Αντιμετώπιση της Μη Αλκοολικής Λιπώδους Νόσου του Ήπατος. [188]

¹NAFLD μπορεί να συνυπάρχει με άλλα αίτια χρόνιας ηπατοπάθειας—επί σχετικής υποψίας συστήνεται εκτίμηση από ειδικό ιατρό και πιθανή βιοψία ήπατος. Εάν δεν τεκμηριωθεί στεάτωση ήπατος σε ασθενείς με υψηλή πιθανότητα NAFLD (παχυσαρκία, ΣΔ2, μεταβολικό σύνδρομο), συστήνεται παρακολούθηση κάθε 3-5 έτη με υπερηχογράφημα ήπατος και ηπατικά ένζυμα (ALT/AST, γGT) καθώς και ενδεδειγμένος έλεγχος προς αποκλεισμό άλλης ηπατοπάθειας ή κοιλιοκάκης.

²Παχυσαρκία, ΣΔ2, ηλικία >50 ετών και σημαντικές αυξήσεις των ηπατικών ενζύμων (>3-5 πολλαπλάσιες των ανώτερων φυσιολογικών τιμών) ενισχύουν την ένδειξη για βιοψία ήπατος

Θεραπευτική προσέγγιση ασθενών με λιπώδη νόσο του ήπατος

Ο κύριος στόχος κατά την αντιμετώπιση ασθενών με NAFLD είναι η πρόληψη της προόδου της νόσου προς την κίρρωση και το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα [188]. Δευτερεύων στόχος είναι η βελτίωση του μεταβολικού προφίλ και η μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου γενικά, που αποτελεί το κύριο αίτιο θνησιμότητας σε αυτούς τους ασθενείς [181]. Οι ελληνικές κατευθυντήριες οδηγίες προτείνουν για τους ασθενείς με απλή στεάτωση έως ήπια ίνωση, απώλεια βάρους και αντιμετώπιση του καρδιαγγειακού κινδύνου (με αλλαγή τρόπου ζωής, δίαιτα, άσκηση και ίσως φαρμακευτική θεραπεία) ενώ για τους ασθενείς με σημαντική ίνωση προτείνεται φαρμακευτική θεραπεία για την ηπατική νόσο.

Η βιταμίνη E σε υψηλές συγκεντρώσεις (800IU ημερησίως) τη στεατοηπατίτιδα σε μη διαβητικούς ασθενείς αλλά όχι την ίνωση σύμφωνα με τυχαιοποιημένη μελέτη, αυξάνει ωστόσο την πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου του προστάτη και αιμορραγικών αγγειακών επεισοδίων [188,211].

Η λιραγλουτίδη είναι ένα αντιδιαβητικό σκεύασμα που δρα ως αγωνιστής του GLP-1. Σε μια κλινική τυχαιοποιημένη μελέτη βελτίωσε και τη στεατοηπατίτιδα και την ίνωση [212]. Ως ανεπιθύμητη ενέργεια αναφέρονται οι γαστρεντερικές διαταραχές ενώ έχει θετική επίδραση στην απώλεια βάρους.

Ένα άλλο αντιδιαβητικό φάρμακο, η πιογλιταζόνη είναι αγωνιστής του PPAR-γ. Έχουν γίνει τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες που ανέδειξαν βελτίωση της NASH αλλά όχι της ίνωσης [211,213]. Σχετίζεται με περιφερικά οιδήματα, αυξημένο κίνδυνο οστικών καταγμάτων και μικρή αύξηση του κινδύνου καρδιακής ανεπάρκειας.

Τέλος, αισιόδοξα είναι τα αποτελέσματα της φάσης 3 κλινικής μελέτης για το obeticholic acid στη βελτίωση της ίνωσης σε ασθενείς με NASH [179].

Στις οδηγίες της NASPGHAN για τους παιδιατρικούς ασθενείς προτείνεται η βελτίωση της διαίτας και η αύξηση της φυσικής δραστηριότητας, με ταυτόχρονη μείωση της χρήσης οθονών. Αναφέρει, επίσης πως μέχρι στιγμής δεν υπάρχουν διαθέσιμα φάρμακα ή συμπληρώματα, που να είναι αποδεδειγμένο ότι βοηθούν την πλειοψηφία των ασθενών με NAFLD (Strength - 2, Evidence – C).

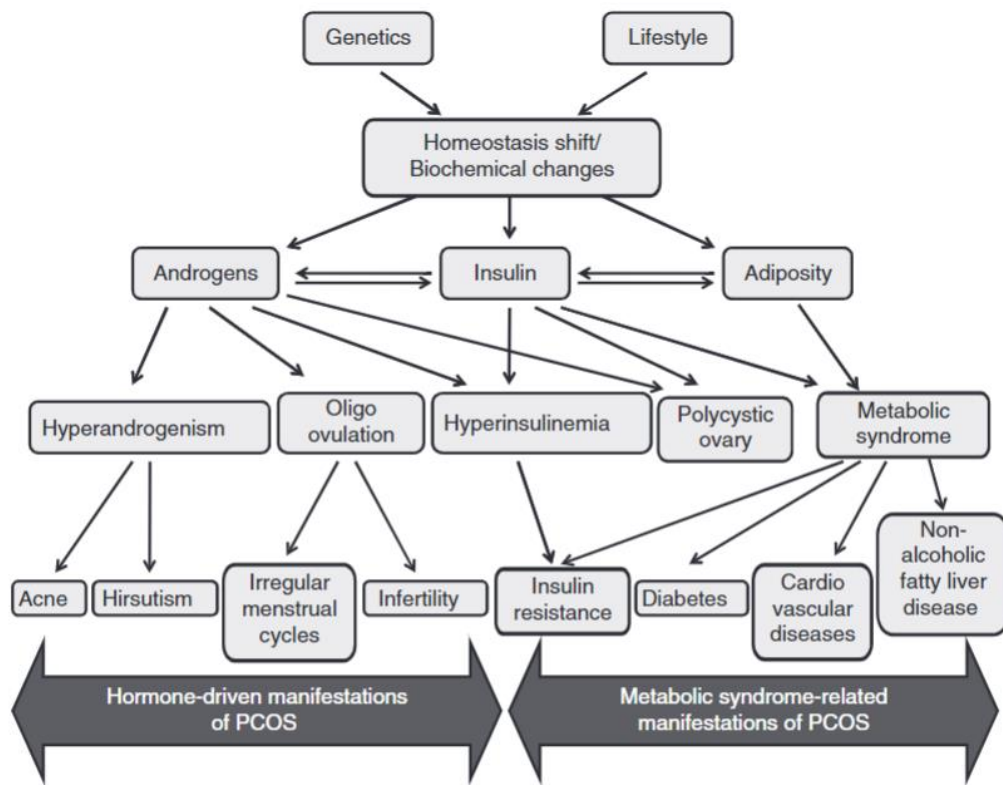
Όσον αφορά τον καρδιαγγειακό κίνδυνο των παιδιών αυτών, συστήνεται να γίνεται έλεγχος αυτών για δυσλιπιδαιμία περιοδικά καθώς και μετρήσεις αρτηριακής πίεσης. Επίσης πρέπει να ελέγχονται κατά τη διάγνωση και ετησίως με γλυκόζη νηστείας ή γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη. Παρακολούθηση (follow up) για την ηπατική νόσο προτείνεται ετήσια ώστε να ελέγχεται η πρόοδος της νόσου και η πιθανή ανάγκη θεραπείας [172].

Σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών και λιπώδης νόσος του ήπατος

Η πρώτη παρουσίαση περιστατικού στη βιβλιογραφία που συσχετίζει το PCOS με τη μη αλκοολική λιπώδη νόσο ήπατος (NAFLD – non-alcoholic fatty liver disease) δημοσιεύτηκε το 2005 από την Brown και τους συνεργάτες της. Παρουσιάζει μια 24χρονη γυναίκα με PCOS, η οποία υποβλήθηκε σε βιοψία ήπατος λόγω αυξημένων τρανσαμινασών και διαγνώσθηκε με σοβαρή στεατοηπατίτιδα. Με απώλεια βάρους, όμως, η εικόνα της βελτιώθηκε σημαντικά [214]. Αν και η αντίσταση στην ινσουλίνη φαίνεται πως είναι αναπόσπαστο στοιχείο των παθογενετικών μηχανισμών και της NAFLD και του PCOS, μόνο τα τελευταία χρόνια ξεκίνησαν να συσσωρεύονται πληροφορίες στη βιβλιογραφία σχετικά με τον επιπολασμό της NAFLD στις γυναίκες με PCOS [215]. Το βασικό ερώτημα είναι εάν η NAFLD σχετίζεται με το PCOS επειδή έχουν πολλούς κοινούς παράγοντες κινδύνου ή το ίδιο το PCOS είναι επιβαρυντικός παράγοντας για την ανάπτυξη NAFLD [175].

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, παρόλο που η αντίσταση στην ινσουλίνη συνδέεται κυρίως με την παχυσαρκία, έχει καταδειχθεί πως και οι παχύσαρκες και οι νορμοβαρείς ασθενείς με PCOS μπορεί να την εμφανίσουν [216]. Έχει αποδειχθεί πως στις νορμοβαρείς που εμφανίζουν ινσουλινοαντίσταση η αποθήκευση ενέργειας μετατοπίζεται από το γλυκογόνο του σκελετικού μυ προς την ηπατική λιπογένεση τριγλυκεριδίων [217]. Αυτό οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή λίπους στο ήπαρ, άρα και ηπατική στεάτωση λόγω «υπερβολικού υποστρώματος». Βάσει των ανωτέρω ευρημάτων φαίνεται πως οι γυναίκες με PCOS έχουν αυξημένο κίνδυνο να εμφανίσουν NAFLD [140]. Θεωρώντας πως η ινσουλινοαντίσταση έχει ένα εγγενές κομμάτι, η παχυσαρκία και ειδικά το υπερβολικό σπλαχνικό λίπος φαίνεται πως είναι της σοβαρός περιβαλλοντικός παράγοντας για NAFLD. Στις κοορτές παχύσαρκων ατόμων η διάγνωση της NAFLD φτάνει το 60-90%, ανάλογα με τα κριτήρια που θα

χρησιμοποιηθούν [218]. Αντίστοιχα η παχυσαρκία παίζει ρόλο και στην παθοφυσιολογία του PCOS συνδρόμου ή στη εμφάνιση PCOS-like στοιχείων σε γυναίκες που δε θα τα εμφάνιζαν εάν ήταν νορμοβαρείς.



Εικόνα 4: Αλληλεπίδραση μεταξύ των φαινοτυπικών και μεταβολικών στοιχείων του PCOS
 Πηγή: Baranova et al. [140]

Γενετικές συσχετίσεις PCOS – NAFLD και βιολογικοί μηχανισμοί

Στη συστηματική ανασκόπηση του Baranova et al. γίνεται επισταμένη προσπάθεια ανεύρεσης σύνδεσης μεταξύ των γενετικών τύπων του PCOS και της NAFLD [140]. Συγκεκριμένα, όσον αφορά τα ένζυμα των μονοπατιών της στεροειδογένεσης, το γονίδιο του κυτοχρώματος *CYP11A* και του μεταγραφικού παράγοντα *GATA-6* συμμετέχουν και σε ενδοκρινείς μηχανισμούς εντός των νησιδίων του παγκρέατος και επηρεάζονται κατά τη

χορήγηση της αντιλιπιδικής αγωγής με φενοφιμπράτη [219,220]. Επίσης, στις παχύσαρκες ασθενείς με PCOS που παρουσιάζουν μεταγραφική και μετα-μεταφραστική υπερδραστηριότητα του *CYP17*, το odds ratio για εμφάνιση αντίστασης στην ινσουλίνη είναι επιβαρυσμένο, 9.1 (CI 3.0-27,4, P<0,001). [221] Τέλος, η δραστηριότητα της 5-α-αναγωγάσης, η οποία είναι αυξημένη στο ήπαρ, στο δέρμα και στα ωοθυλάκια στο PCOS, φαίνεται πως είναι ευαίσθητη στο αντιδιαβητικό φάρμακο πιογλιταζόνη και στην απώλεια βάρους ενώ υψηλότερη απέκκριση μεταβολιτών του ενζύμου στα ούρα έχουν συνδεθεί με δείκτες παχυσαρκίας και συσσώρευσης λίπους στο ήπαρ [222–224]. Όσον αφορά τα μονοπάτια σηματοδότησης των ανδρογόνων, έχουν ερευνηθεί η SHBG και το γονίδιο *small glutamine-rich tetracopeptide repeat containing protein-α (SGTA)*, το προϊόν του οποίου συνδέεται με τον υποδοχέα των ανδρογόνων και τον περιορίζει στο κυτταρόπλασμα [225]. Για τη SHBG γνωρίζουμε εδώ και χρόνια πως τα επίπεδά της είναι αντιστρόφως ανάλογα των επιπέδων της ινσουλίνης και χρησιμοποιείται ως δείκτης – υποκατάστατο της ινσουλινοαντίστασης. Στις γυναίκες με PCOS, τα επίπεδα της SHBG είναι χαμηλότερα σε σχέση με τις υγιείς μάρτυρες, ενώ είναι επίσης μειωμένα και στους ασθενείς με ηπατική στεάτωση [226]. Όσον αφορά το *SGTA* φαίνεται πως αυξάνει τον κίνδυνο για PCOS μέσω προώθησης της απόπτωσης και με παρόμοιο μηχανισμό τον κίνδυνο για NAFLD [227].

Ένα γονίδιο που έχει συνδεθεί στις μελέτες συσχέτισης ολόκληρου του γονιδιώματος (GWAS) με την παχυσαρκία είναι το *fat mass and obesity associated gene (FTO)*. Παραλλαγές εντός του *FTO* γονιδίου επηρεάζουν τόσο την υπερανδρογοναιμία όσο και τη διαταραχή της ανοχής στη γλυκόζη, που είναι κοινές παράμετροι του PCOS [228]. Επίσης, το *FTO* συμμετέχει και στην ινσουλινοαντίσταση στον σκελετικό μυ, που όπως προαναφέρθηκε είναι συνδεδεμένος κρίκος του PCOS και της ηπατικής στεάτωσης [140].

Αλλαγές σε γονίδια, των οποίων οι πρωτεΐνες συμμετέχουν στον μιτοχονδριακό οξειδωτικό μεταβολισμό, σχετίζονται με την αντίσταση στην ινσουλίνη. Από αυτά η 12/15 λιποξυγενάση ALOX15, συμμετέχει στον μεταβολισμό των λιπιδίων και έχει βρεθεί σε αυξο-ρύθμιση στο επιπλοϊκό λίπος. Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα οξειδώνονται από την λιποξυγενάση και γίνονται λευκοτριένια, τα οποία προωθούν την φλεγμονή [229]. Η ίδια λιποξυγενάση φαίνεται πως αυξάνει την αντίσταση στην ινσουλίνη. Το γονίδιο *FEM1A* εκφράζεται ισχυρά στον ανθρώπινο σκελετικό και καρδιακό μυ, στον εγκέφαλο, στο ήπαρ και στις ωθήκες, εντός των μιτοχονδρίων και είναι πιθανό να συνεισφέρει στα υπερανδρογονικά στοιχεία του PCOS, καθώς έχει φυλο-καθοριστικό χαρακτήρα και σε μικρότερους οργανισμούς. Αντίστοιχα, πολυμορφισμοί του *FEM1B* έχουν συνδεθεί και με μειωμένη πιθανότητα για PCOS και για μειωμένη αντίσταση στην ινσουλίνη [230].

Όσον αφορά τους μεσολαβητές φλεγμονής όπως η hs-CRP, η ιντερλευκίνη 6 (IL-6) και ιντερλευκίνη 18 (IL-8), είναι γνωστό πως τα επίπεδά τους είναι αυξημένα στο PCOS, κατάσταση που καθιστά τις γυναίκες αυτές ευάλωτες στην NAFLD [231,232]. Συγκεκριμένα οι hs-CRP και η IL-6 θεωρούνται σημαντικοί δείκτες της NASH και της σοβαρότητας της ηπατικής ίνωσης [233].

Η αντιπονεκτίνη, είναι μια ορμόνη που εκκρίνεται από τα λιποκύτταρα και είναι η μόνη αντιποκίνη που μειο-ρυθμίζεται στην παχυσαρκία. Στις παχύσαρκες ασθενείς με PCOS έχει φανεί πως μειώνεται περισσότερο απ' ότι στις μάρτυρες με παρόμοιο βάρος. Εξίσου μειώνεται η υψηλού μοριακού βάρους ηπαρίνη που συνδέεται ισχυρότερα με την ευαισθησία στην ινσουλίνη. Άρα η αντιπονεκτίνη μπορεί να είναι συνδεδεμένος κρίκος μεταξύ του PCOS και των μεταβολικών του επιπλοκών όπως η NAFLD [234,235].

Μέσα στο μονοπάτι σηματοδότησης της ίδια της ινσουλίνης, πολυμορφισμοί του υποδοχέα της και των πρωτεϊνών του υποστρώματος ελέγχουν τον ηπατικό μεταβολισμό, τη συσσώρευση λιπιδίων στο ήπαρ και σχετίζονται με προδιάθεση για PCOS [236,237]. Επίσης, η πρωτεΐνη AKT2 που συμμετέχει στο μονοπάτι σηματοδότησης της ινσουλίνης φαίνεται να έχει ρόλο στο PCOS, καθώς η υπερέκφρασή της μειώνει το ρυθμό απόπτωσης σε διάφορους ιστούς, συμπεριλαμβανομένων και των ωοθηκών και οδηγεί σε ανώμαλη ανάπτυξη των ωοθυλακίων και πολυκυστική μορφολογία των ωοθηκών [238,239].

Αυξημένα επίπεδα ανδρογόνων προάγουν τη συσσώρευση λίπους σπλαχνικού λίπους αναστέλλοντας την πρωτεϊνική κινάση που ενεργοποιείται από την AMP (μονοφωσφορική αδενοσίνη), η οποία είναι σημαντικός αναστολέας της λιπογένεσης στον λιπώδη ιστό [240].

Τέλος, τα ανδρογόνα μπορούν να καταστείλουν την μεταγραφή του γονιδίου του υποδοχέα της LDL, παρατείνοντας έτσι την ζωή της VLDL (πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη) και της LDL. Έτσι, τα λιπίδια συσσωρεύονται στο ήπαρ και οι υπερανδρογονικές γυναίκες με PCOS αποκτούν προδιάθεση να αναπτύξουν και NAFLD [241].

Ηπατοκίνες

Τα τελευταία έτη δίνεται όλο και μεγαλύτερη προσοχή στις οργανοκίνες, πρωτεΐνες που έχουν τόσο αυτοκρινή/παρακρινή όσο και ενδοκρινή δράση. Αυτή η μορφή επικοινωνίας μεταξύ των ιστών αναγνωρίζεται πλέον ως ένας σημαντικός τρόπος με τον οποίο οι ιστοί μεταφέρουν την πληροφορία της μεταβολικής τους κατάστασης και των ενεργειακών τους απαιτήσεων [242]. Οι πρώτες που ανακαλύφθηκαν ήταν ο παράγοντας D (adipsin) και η λεπτίνη που εκκρίνονται από τα λιποκύτταρα. Οι σκελετικοί μύες εκκρίνουν την ιρισίνη και το κεντρικό νευρικό σύστημα τον brain-derived neurotrophic factor (BDNF). Οι αντίστοιχες ορμόνες που παράγονται από τα ηπατοκύτταρα ονομάζονται ηπατοκίνες, είναι άνω των πεντακοσίων και φαίνεται πως επηρεάζουν διάφορες μεταβολικές διαδικασίες μέσω της δράσης τους [242].

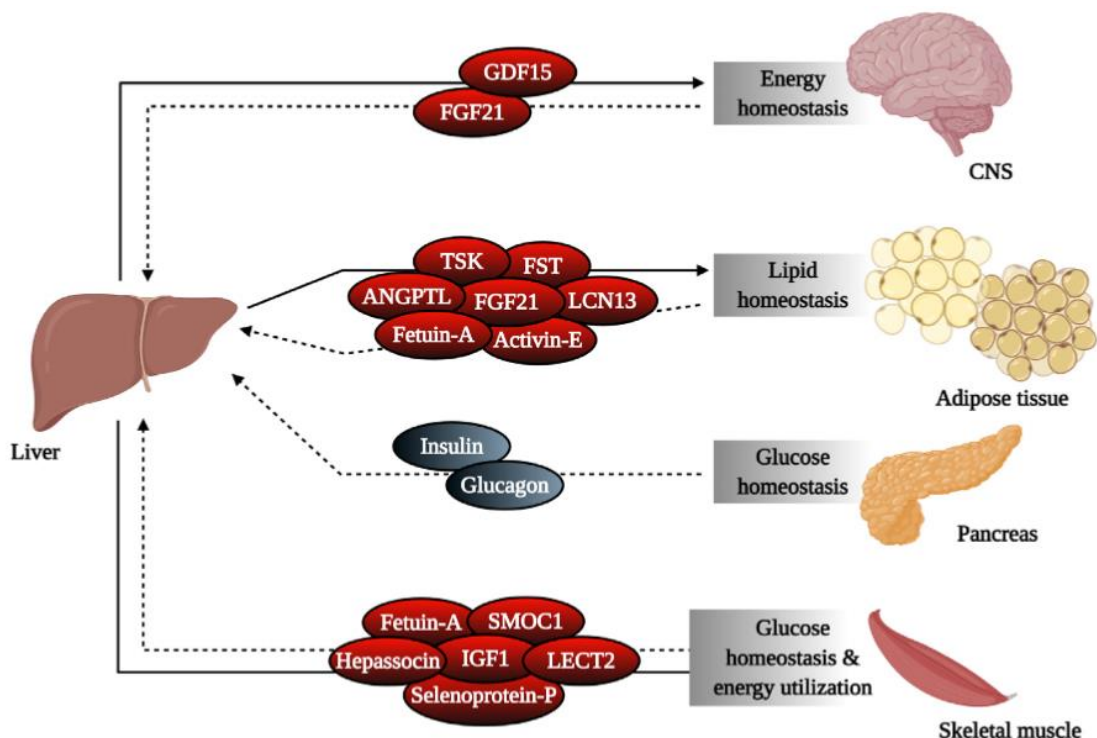
Το ήπαρ αντιλαμβάνεται και απαντά στην υπερεπάρκεια θρεπτικών συστατικών και στο έλλειμμά τους εκκρίνοντας ηπατοκίνες, οι οποίες σηματοδοτούν την κατάσταση ενέργειας και βοηθούν στη ρύθμιση της διαθεσιμότητας των συστατικών στους διάφορους περιφερικούς ιστούς και στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ) [243].

Το ήπαρ επικοινωνεί με τα άλλα όργανα, συμπεριλαμβανομένου του ΚΝΣ, του λιπώδους ιστού, και του σκελετικού μυ, παράγοντας ηπατοκίνες, οι οποίες είναι απαραίτητες για τη μετάδοση πληροφοριών σχετικών με τη μεταβολική κατάσταση του ήπατος. Κάποιοι από αυτούς τους παράγοντες κυμαίνονται δυναμικά με τις φυσιολογικές καταστάσεις (γεύμα, νηστεία κτλ.), δηλώνοντας τον σημαντικό ρόλο του στη μεταβολική ομοιοστασία, ενώ άλλες θεωρούνται βιοδείκτες μεταβολικής δυσλειτουργίας.

Η ρύθμιση της ενεργειακής ομοιόστασης ολόκληρου του σώματος από το ήπαρ είναι μια σύνθετη διαδικασία που περιλαμβάνει επικοινωνία με ιστούς μέσω της παραγωγής

ηπατοκινών και αλλαγές στον ηπατικό μεταβολισμό ως απάντηση στις μεταβολικές ενδείξεις και στα υποστρώματα. Το ήπαρ ανταποκρίνεται στην εισροή και ζήτηση ενέργειας εκκρίνοντας ηπατοκίνες που δρουν σε διάφορους ιστούς για να διευκολύνουν τη χρήση ή την αποθήκευση ενέργειας. Αυτές οι ηπατοκίνες μπορούν να δράσουν μεμονωμένα ή σε συνδυασμό με άλλους παράγοντες για να συντονίσουν τις συστηματικές μεταβολικές διεργασίες. Οι συγκεντρώσεις και οι επιδράσεις τους μεταβάλλονται ανταποκρινόμενες σε μεταβολικούς στρεσογόνους παράγοντες και η απορρύθμιση στη σηματοδότησή τους μπορεί να οδηγήσει σε παθολογίες όπως η παχυσαρκία, ο διαβήτης τύπου 2 και η NAFLD [243].

Στη NALFD τα επίπεδα των ηπατοκινών εμφανίζονται αλλαγμένα, όπως θα αναλυθεί στη συνέχεια, για κάθε ηπατοκίνη ξεχωριστά [243].



Εικόνα 5: Ηπατική παραγωγή που ρυθμίζει τα θρεπτικά συστατικά και το ομοιοστασία της ενέργειας
 Πηγή: Jensen-Cody et al. [243]

Στη συνέχεια παρατίθενται συνοπτικά αλλά και αναλυτικά οι σημαντικότερες από τις ηπατοκίνες που έχουν ανακαλυφθεί:

Πίνακας 5: Οι ηπατοκίνες που συνδέουν την ηπατική στεάτωση με διαταραγμένο μεταβολικό έλεγχο

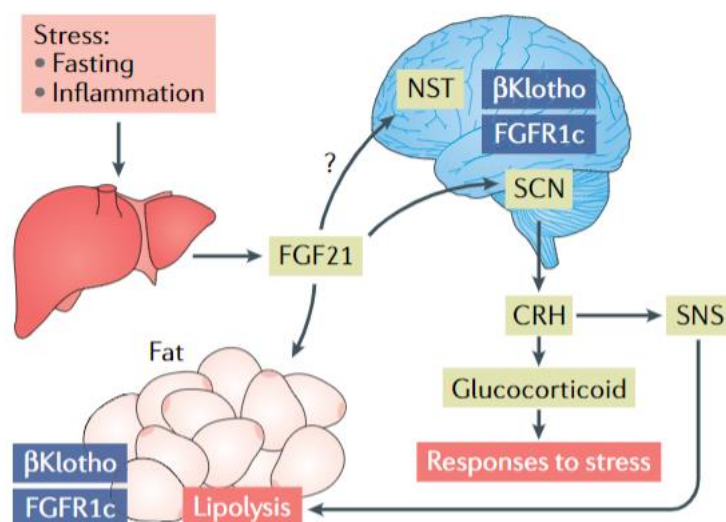
Adropin	Βελτιώνει την αντίσταση στην ινσουλίνη, την ηπατική στεάτωση και τη μεταβολική ευελιξία. Μειώνει τον λιπώδη ιστό. Χαμηλά επίπεδα adropin συνδέονται με παχυσαρκία, PCOS, ηπατική στεάτωση, ινσουλινοαντίσταση και καρδιαγγειακό κίνδυνο.
ANGPTL4 (angiopoietin-like protein 4)	Μειώνει τον λιπώδη ιστό και αυξάνει τα επίπεδα των λιπιδίων στον ορό και προκαλεί ηπατική στεάτωση. Ο ρόλος της στη ρύθμιση του μεταβολισμού της γλυκόζης είναι διφορούμενος ακόμη.
SHBG	Παρουσιάζει αρνητική συσχέτιση με την ηπατική στεάτωση, τον καρδιομεταβολικό κίνδυνο και την αντίσταση στην ινσουλίνη. Προβλεπτικός δείκτης για τον κίνδυνο ΣΔ2.
Fetuin A	Προκαλεί αντίσταση στην ινσουλίνη. Διεγείρει την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών από τα λιποκύτταρα και τα μακροφάγα.
Fetuin B	Προκαλεί διαταραχή ανοχής στη γλυκόζη μειώνοντας την αποτελεσματικότητά της. Είναι αυξημένη σε ασθενείς με ΣΔ2 και NAFLD.
FGF21 (fibroblast growth factor 21)	Εξωγενής χορήγηση αντιστρέφει την ηπατική στεάτωση και αυξάνει την ενεργειακή δαπάνη. Βελτιώνει την ευαισθησία της ινσουλίνης, την ανοχή στη γλυκόζη και τη λειτουργία των β

	κυττάρων. Είναι αυξημένη σε ασθενείς με παχυσαρκία ΣΔ2 και NAFLD.
Hepassocin	Προκαλεί αντίσταση στην ινσουλίνη και αυξάνει την ηπατική στεάτωση. Είναι αυξημένη σε προδιαβήτη, ΣΔ2 και NAFLD και σχετίζεται με διαταραχή των επιπέδων της γλυκόζης νηστείας, της ανοχής στη γλυκόζη και με ινσουλινοαντίσταση.
LECT 2 (leukocyte cell-derived chemotaxin 2)	Διαταράσσει τη σηματοδότηση της ινσουλίνης σε καλλιεργημένα μυοϊνίδια και προκαλεί την έκφραση προφλεγμονωδών κυτταροκινών. Τα Lect2 (-) χοιρίδια έχουν βελτιωμένη ευαισθησία στην ινσουλίνη στην περιφέρεια. Συσχετίζεται με παχυσαρκία, λιπώδη νόσο του ήπατος και αντίσταση στην ινσουλίνη σε ποντίκια και ανθρώπους.
RBP4 (retinol-binding protein)	Προκαλεί φλεγμονή και αντίσταση στην ινσουλίνη. Αποτελεί βιοδείκτη για ΣΔ2, λιπώδες ήπαρ, μεταβολικό σύνδρομο και καρδιαγγειακή νόσο.
Selenoprotein P	Διαταράσσει τη σηματοδότηση της ινσουλίνης και την ομοιόσταση της γλυκόζης στα κύτταρα. Βιοδείκτης για ΣΔ2, παχυσαρκία, NAFLD και καρδιαγγειακή νόσο.

Πηγή : Meex et al. [242]

Fibroblast Growth Factor 21 (FGF21)

Ο αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών 21 (FGF21 – Fibroblast Growth Factor 21) ανήκει στην οικογένεια των Fibroblast Growth Factors (FGFs). Η οικογένεια των FGF έχει 22 μέλη (FGF1-FGF14 και FGF16-FGF23) και χωρίζεται σε 7 υπο-ομάδες βάσει της φυλογενετικής τους ομοιότητας [244]. Η δράση των FGF γίνεται μέσω 4 υποδοχέων τυροσινικής κινάσης που λέγονται FGF υποδοχείς (FGFRs- Fibroblast Growth Factor Receptors). Οι πρώτοι FGF που ανακαλύφθηκαν, λειτουργούν σαν αυξητικοί παράγοντες αυτοκρινώς ή παρακρινώς. Ωστόσο, η υποομάδα του FGF19, περιλαμβάνει τους FGF19, FGF21, FGF23, κυκλοφορούν στο αίμα, έχουν δράση σε διάφορους ιστούς σχετική με τον μεταβολισμό και θεωρούνται ενδοκρινείς FGFs. Η παρακρινής ή ενδοκρινής λειτουργία εξαρτάται από το αν ο FGF έχει περιοχές σύνδεσης της ηπαρίνης, με τις οποίες συνδέεται με τις πρωτεογλυκάνες της εξωκυττάριας ουσίας και καθλώνεται στη συγκεκριμένη περιοχή. Ο FGF21 στερείται αυτών των περιοχών σύνδεσης οπότε διαχέεται και μπαίνει στη συστηματική κυκλοφορία [245,246]. Η σύνδεση των πρωτεϊνών της οικογένειας FGF19 με τους υποδοχείς FGFRs γίνεται κυρίως μέσω της δημιουργίας συμπλεγμάτων με τις πρωτεΐνες klotho (αKlotho και βKlotho).



Εικόνα 6: Ο ενδοκρινικός άξονας του συμπλόκου FGF21 – βklotho
Πηγή: Kuro-o et al. [246]

Οι πρωτεΐνες klotho έχουν ρόλο συν-υποδοχέα ενώ το πρότυπο έκφρασής τους μαζί με αυτό των FGFRs καθορίζει τον ιστό δράσης του κάθε FGF. Με αυτόν το τρόπο, σε περιόδους νηστείας, το ήπαρ παράγει τον FGF21, ως «ορμόνη νηστείας» προκαλώντας μεταβολική απάντηση και ενεργοποιώντας το μονοπάτι του stress. Τα επίπεδα του FGF21 φαίνεται πως συσχετίζονται με τον βαθμό της ηπατικής στεάτωσης ακόμα και σε παιδιατρικούς πληθυσμούς [247]. Εμφανίζουν επίσης θετική συσχέτιση με το επίπεδο των τριγλυκεριδίων, της ινσουλίνης και της ινσουλινοαντίστασης αφού αρθούν οι συγχυτικοί παράγοντες της ηλικίας και του BMI [248,249]. Ωστόσο, η εξωγενής χορήγησή του έχει δείξει αντίστροφα αποτελέσματα αντιστρέφοντας την ηπατική στεάτωση, μετατρέποντας τον λευκό λιπώδη ιστό σε φαιό, καταστέλλοντας τη λιπόλυση, αυξάνοντας την ενεργειακή δαπάνη, βελτιώνοντας την ευαισθησία της ινσουλίνης, αποκαθιστώντας την ανοχή γλυκόζης, βοηθώντας τη λειτουργία και την επιβίωση των β κύτταρων [250–252].

Δύο υποθέσεις έχουν αναπτυχθεί για να εξηγήσουν αυτές τις αντικρουόμενες παρατηρήσεις, ότι δηλαδή ο FGF21 παρατηρείται αυξημένος στην παχυσαρκία και στον ΣΔ2, ενώ η εξωγενής χορήγησή του έχει ευνοϊκή δράση. Η πρώτη είναι πως στην παχυσαρκία και στον ΣΔ2 δημιουργείται μια συνθήκη αντίστασης στον FGF21 και η δεύτερη πως τα επίπεδα του FGF21 αυξάνονται αντιρροπιστικά σε μια προσπάθεια βελτίωσης των μεταβολικών συνθηκών [242].

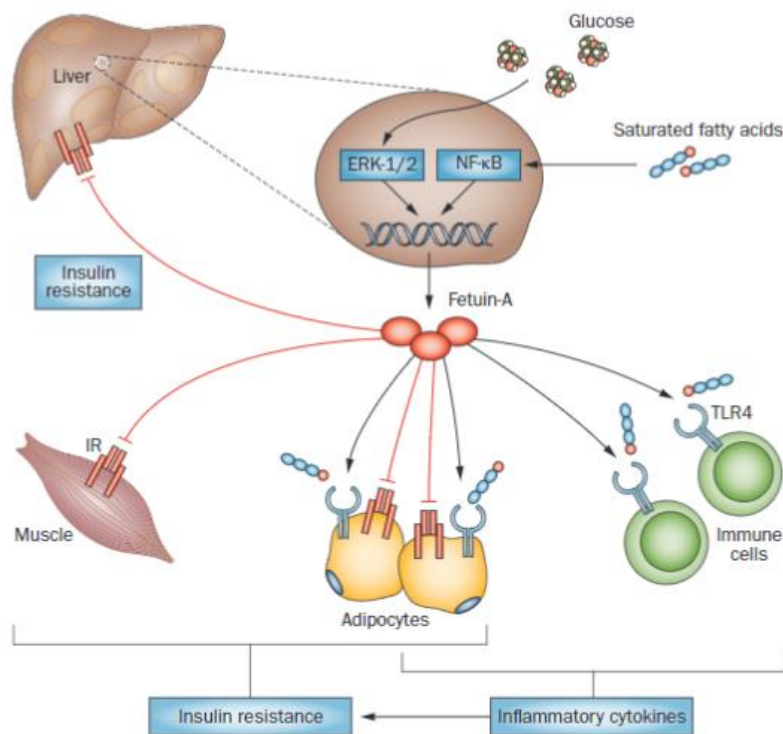
Fetuin A

Η Fetuin A, που είναι γνωστή και ως α2-Heremans-Schmid glycoprotein είναι μεγέθους 64kDa και παράγεται κυρίως από το ήπαρ. Άλλες πηγές της fetuin A είναι ο πλακούντας και η γλώσσα [253]. Ανακαλύφθηκε το 1944 από τον Pedersen στα βοοειδή, ενώ στον άνθρωπο το

γονιδίο της εδράζεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 3 (3q27). Το 1989 αναγνωρίστηκε ως αναστολέας της τυροσινικής κινάσης της ινσουλίνης στο ήπαρ και τον σκελετικό μυ [254]. Το 2005 πρωτοδημοσιεύτηκε από τους Siddiq et al. το γονίδιο της fetuin A ως γενετικός τόπος ευπάθειας (susceptibility locus) για τον ΣΔ2 και το μεταβολικό σύνδρομο, ενώ όταν το ίδιο γονίδιο *Ashg* λείπει από τα πειραματόζωα, φαίνεται πως έχουν βελτιωμένη σηματοδότηση της ινσουλίνης [64,255]. Η ηπατοκίνη αυτή φαίνεται πως έχει ποικίλες δράσεις στη ρύθμιση του οστικού μεταβολισμού, στη μετανάστευση των κερατινοκυττάρων, στον έλεγχο της πρωτεϊνολυτικής δραστηριότητας [256]. Επίσης, έχει αναφερθεί ως βιοδείκτης για νευροεκφυλιστικές νόσους, αντίσταση στην ινσουλίνη, καρδιαγγειακό κίνδυνο, ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και υποκλινική αθηροσκλήρωση [257–260].

Αυξημένα επίπεδα γλυκόζης, μέσω ενεργοποίησης των σηματοδοτικών μονοπατιών του ERK1/2, και υψηλά επίπεδα κορεσμένων λιπαρών οξέων, μέσω ενεργοποίησης του NF-κB, επάγουν την ηπατική παραγωγή της ηπατοκίνης αυτής [258]. Τα ηπατοκύτταρα εκκρίνουν τη fetuin A στην κυκλοφορία και η γλυκοπρωτεΐνη συνδέεται με τον υποδοχέα της ινσουλίνης στους ιστούς, εμποδίζοντας το σήμα της ινσουλίνης, προκαλώντας έτσι αντίσταση στην ινσουλίνη. Επίσης, δρα σαν αντάπτορας για τα κορεσμένα λιπαρά οξέα, τα οποία ενεργοποιούν τους toll-like receptors 4 (TLR4) και ενεργοποιούν το μονοπάτι της φλεγμονής και ινσουλινοαντίστασης [261,262].

Η fetuin A έχει βρεθεί αυξημένη τόσο σε επίπεδο mRNA στην κυκλοφορία των ποντικών με λιπώδες ήπαρ, όσο και στα επίπεδα του ορού σε ανθρώπους με λιπώδες ήπαρ ανεξαρτήτως συνολικού λιπώδους ιστού [258,263,264].



Εικόνα 7: Αίτια και μεταβολικές επιπτώσεις της αυξημένης παραγωγής fetuin A
 Πηγή: Stefan et al. [258]

Συμπερασματικά, βασιζόμενοι τόσο σε in vitro όσο και σε in vivo δεδομένα, έχει αποδειχθεί πως η fetuin A είναι μια σημαντική ηπατοκίνη που συνδέει τη NAFLD με άλλες μεταβολικές νόσους στον άνθρωπο [258].

Selenoprotein P

Η selenoprotein P είναι μια γλυκοπρωτεΐνη 60kDa, κωδικοποιείται από το γονίδιο *SEPP1* στο 5q31, παράγεται κυρίως από το ήπαρ και είναι πρωτεΐνη-μεταφορέας του σεληνίου στους όρχεις και στον εγκέφαλο.

Η selenoprotein P ανακαλύφθηκε το 1973 [265]. Οι πρώτες μελέτες που δημοσιεύτηκαν τόνιζαν την προστατευτική της δράση απέναντι στην υπεροξειδωση των λιπιδίων [266–268].

Ωστόσο, επόμενες μελέτες ανέδειξαν αντίθετο ρόλο της selenoprotein P. Σε μελέτη 100 ασθενών που παρουσίαζαν διάφορα στάδια ανοχής γλυκόζης, οι συγκεντρώσεις της selenoprotein P βρέθηκαν υψηλότερες στους ασθενείς με προδιαβήτη και ΣΔ2 σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες και με θετική συσχέτιση με παράγοντες φλεγμονής και καρδιαγγειακού κινδύνου [269]. Η selenoprotein P αυξορυθμίζεται στο ήπαρ των ασθενών με ΣΔ2 και ινσουλινοαντίσταση [258].

Οι Choi et al. δημοσίευσαν το 2013 αυξημένα επίπεδα selenoprotein P στους ασθενείς με NAFLD και συγκεκριμένα πως οι ασθενείς με τις ανώτερες τιμές selenoprotein P είχαν odds ratio 7.48 για εμφάνιση NAFLD σε σχέση με αυτούς με τα χαμηλότερα επίπεδα. Παράλληλα παρουσιάστηκε αρνητική συσχέτιση των επιπέδων της ηπατοκίνης αυτής με τις τιμές του liver attenuation index (διαφορά της σπληνικής από την ηπατική εξασθένηση στην CT) και θετική συσχέτιση με τη hs-CRP, προτείνοντάς την ως βιοδείκτη της λιπώδους διήθησης [270].

Η γλυκόζη και το παλμιτικό αυξορυθμίζουν (upregulate) την έκφραση του *SEPP1* ενώ η ινσουλίνη τη μειορυθμίζει (downregulate) σε καλλιεργημένα ηπατοκύτταρα. Σε in vitro μελέτες και σε πειραματόζωα η χορήγηση της selenoprotein P προκαλεί αντίσταση στην ινσουλίνη, ενώ έλλειψή της βελτιώνει την ευαισθησία στην ινσουλίνη [271]. Γι' αυτό τον λόγο έχει προταθεί ως πιθανός στόχος στην έρευνα των αντιδιαβητικών φαρμάκων.

Επίσης, αποτελεί μέσο επικοινωνίας με το σύστημα των αντιποκινών, καθώς ποντίκια με έλλειψη του γονιδίου της εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα αντιπονεκτίνης [272].

Sex hormone binding protein (SHBG)

Η SHBG παράγεται κυρίως από το ήπαρ, απελευθερώνεται στην κυκλοφορία όπου συνδέεται με τις ορμόνες του φύλου και καθορίζει τη βιοδιαθεσιμότητά τους [273]. Ο γενετικός τόπος του γονιδίου της βρίσκεται στο 17p13.1 [274]. Ενώ αρχικά ήταν άγνωστος ο ρόλος της στα μεταβολικά νοσήματα πλέον θεωρείται πως έχει σημαντικό ρόλο στον ανθρώπινο μεταβολισμό [258].

Το 2009 δημοσιεύτηκε στο NJEM μια μελέτη μεντελιανής τυχαιοποίησης (Mendelian randomization analysis) από τους Ding et al. που ανέδειξε τα χαμηλά επίπεδα SHBG ως σημαντικό προβλεπτικό παράγοντα κινδύνου για ΣΔ2 τόσο σε άνδρες όσο και σε γυναίκες [275]. Ακολούθησε το 2010 η δημοσίευση παρόμοιας μελέτης από τους Perry et al. υποστηρίζοντας το ίδιο συμπέρασμα [276].

Μόρια που προκαλούν ηπατική λιπογένεση (γλυκόζη, φρουκτόζη) καθώς και προφλεγμονώδεις παράγοντες (tumor necrosis factor - TNF, ιντερλευκίνη - IL-1β) φαίνεται πως μειορρυθμίζουν την έκφραση της SHBG στα ηπατοκύτταρα [277,278]. Η σύνδεση της SHBG με το λιπώδες ήπαρ έχει επιβεβαιωθεί με μελέτες σε ζώα αλλά και στον άνθρωπο [279–281]. Ενώ παραδοσιακά θεωρούνταν πως το αυξημένο BMI και η συνοδός υπερινσουλιναμία προκαλούσαν τη μείωση των επιπέδων της SHBG, πλέον φαίνεται πως αυτό τον ρόλο τον έχει το λιπώδες ήπαρ [282]. Από τους ίδιους ερευνητές προτείνεται η υπόθεση της ρύθμισης της έκφρασης της SHBG από την αντιγονεκτίνη και τις προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες TNF και IL-1β, και τις θυρεοειδικές ορμόνες μέσω της nuclear factor 4α (HNF-4α) protein και από διατροφικούς παράγοντες όπως οι υδατάνθρακες και το ελαιόλαδο [282].

Οι Peter et al. παρουσιάζουν μια υπόθεση αιτίου – αιτιατού της SHBG και των μεταβολικών νοσημάτων. Συνθήκες άθροισης λίπους στα ηπατοκύτταρα καθώς και ο μονονουκλεοτιδικός πολυμορφισμός (SNP) rs1799941 ρυθμίζουν άμεσα τα επίπεδα της SHBG. Η SHBG μάλλον επηρεάζει άμεσα την ηπατική παραγωγή γλυκόζης καθώς αυτές οι δύο συσχετίζονται και ανεξάρτητα του λιπώδους ήπατος. Αυτή η υπόθεση μπορεί να εξηγήσει τη συσχέτιση των γενετικών παραλλαγών της SHBG με τον ΣΔ2 [280].

Ειδικό Μέρος

Σκοπός

Το μεταβολικό σύνδρομο και οι συνιστώσες του αποτελούν ένα ευρύ πεδίο έρευνας το οποίο, επί του παρόντος, επιστήμονες διαφόρων ειδικοτήτων προσπαθούν να διαλευκάνουν. Η συμμετοχή του ήπατος στο μεταβολικό σύνδρομο εκφράζεται ως μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος (NAFLD). Αντίστοιχα με την αθηρωμάτωση στα αγγεία και την ινσουλινοαντίσταση στον σκελετικό μυ, η περίσσεια ενέργειας αποθηκεύεται «έκτοπα» οδηγώντας σε δυσλειτουργία του ηπατικού ιστού. Ο συνδυασμός της έκτοπης εναπόθεσης λίπους στο ήπαρ με την ενεργοποίηση των μακροφάγων, γενετικούς παράγοντες και παθολογικό μικροβίωμα, οδηγούν στην κλινική εικόνα της νόσου. Η σύνδεση της NAFLD τόσο με την καρδιαγγειακή νόσο (ως παράγοντας κινδύνου), όσο και με την εξέλιξη σε κίρρωση και πιθανώς ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα, καθιστά αναγκαία την ευαισθητοποίηση των επαγγελματιών υγείας για την πρόληψη, την έγκαιρη διάγνωσή της και την υποστοροφή της, εάν είναι εφικτό [283].

Η συσχέτιση του Συνδρόμου Πολυκυστικών Ωοθηκών (PCOS) με ένα δυσμενές μεταβολικό προφίλ είναι πλέον γνωστή, ενώ ενδεικτική είναι η σχέση του συνδρόμου με τη νοσηρότητα και θνητότητα από καρδιαγγειακή νόσο [284]. Βασικό πρόβλημα είναι ότι τα δεδομένα που υπάρχουν για την εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβάντων κατά την αναπαραγωγική ηλικία είναι περιορισμένα ενώ διαφαίνεται μια μικρή αύξηση των σοβαρών καρδιαγγειακών συμβάντων στις γυναίκες που είχαν PCOS κατά αναπαραγωγικά τους έτη [285]. Αυτή η μικρή, συνολική αύξηση της συχνότητας της καρδιαγγειακής νόσου στις γυναίκες με κλασικό PCOS μεσολαβείται από το αυξημένο σωματικό βάρος, την αυξημένη κοιλιακή παχυσαρκία, την ινσουλινοαντίσταση και τον υπερανδρογονισμό [284].

Στη βιβλιογραφία, αυξανόμενο είναι και το ενδιαφέρον για τη σχέση του PCOS με τη NAFLD. Η πλειοψηφία των μελετών περιλαμβάνουν μόνο ενήλικες ασθενείς, ενώ λίγες είναι οι μελέτες που έχουν μεικτό πληθυσμό εφήβων και ενηλίκων ασθενών με PCOS.

Πρωταρχικός σκοπός της έρευνας ήταν να μελετήσει εάν οι έφηβες με PCOS είχαν ήδη αναπτύξει λιπώδη στεάτωση ή και το υπόλοιπο φάσμα της NAFLD συγκριτικά με υγιείς μάρτυρες. Δευτερεύων στόχος ήταν ο προσδιορισμός τυχόν διαφορών, ανάμεσα σε έφηβες με PCOS με ηπατική στεάτωση ή χωρίς, συγκριτικά με υγιείς μάρτυρες, στις κυκλοφορούσες ηπατοκίνες, που είναι οργανοκίνες παραγόμενες από το ήπαρ και φαίνεται να συνδέονται με τη μετάδοση μεταβολικών πληροφοριών από το ήπαρ στην περιφέρεια.

Υλικό – Μέθοδος

Δείγμα

Το δείγμα της παρούσας μελέτης συλλέχθηκε από το Ειδικό Κέντρο Εφηβικής Ιατρικής (Ε.Κ.Ε.Ι.) και Έδρα UNESCO για την Εφηβική Υγεία και Ιατρική, της Α΄ Παιδιατρικής Κλινικής ΕΚΠΑ στο νοσοκομείο Παιδών «Η Αγία Σοφία» και από το Τμήμα Παιδικής και Εφηβικής Γυναικολογίας της Β΄ Μαιευτικής και Γυναικολογικής Κλινικής του ΕΚΠΑ στο νοσοκομείο «Αρεταίειο». Το πρωτόκολλο εγκρίθηκε από τις Επιτροπές βιοηθικής και δεοντολογίας των δύο νοσοκομείων (αριθμοί πρωτοκόλλου: 29661/23-12-16 και 61/19-06-18).

Κριτήρια ένταξης

Κριτήρια ένταξης στη μελέτη ήταν οι έφηβες να έχουν ηλικία 13-21 ετών και να έχουν παρέλθει τουλάχιστον 2 έτη από την εμμηναρχή τους. Ως μάρτυρες επιλέχθηκαν έφηβες που

επισκέφθηκαν το Ε.Κ.Ε.Ι. για προληπτικό έλεγχο ή συμβουλευτική. Στο πρώτο ραντεβού οι έφηβες και οι γονείς/κηδεμόνες τους ενημερώθηκαν για το ερευνητικό πρωτόκολλο, τη διαδικασία και τους στόχους και υπέγραψαν συγκατάθεση.

Οι έφηβες που συμπεριλήφθηκαν στην ομάδα του PCOS έπρεπε να πληρούν τα κριτήρια του Rotterdam της διάγνωσης του συνδρόμου. Επιπλέον, ακολουθώντας το Consensus της Pediatric Endocrine Society και το International Consortium Update του 2017, οι έφηβες έπρεπε να έχουν εκσεσημασμένες διαταραχές εμμηνορρυσίας μετά το 2ο γυναικολογικό έτος καθώς και εμμένοντα σημεία κλινικού ή βιοχημικού υπερανδρογονισμού. Ο αυξημένος όγκος ωοθηκών δεν ήταν προαπαιτούμενος για τη διάγνωση αλλά ελήφθη υπόψη όπου υπήρχε.

Κριτήρια αποκλεισμού

- Από τη μελέτη αποκλείστηκαν έφηβες που μετά την ολοκλήρωση του ελέγχου δεν πληρούσαν πλέον τα κριτήρια του PCOS και οι διαταραχές της εμμηνορρυσίας τους αποδόθηκαν σε άλλα αίτια. Ιδιαίτερη έμφαση δόθηκε στον αποκλεισμό της υποθαλαμικής αμηνόρροιας στις έφηβες, ο οποίος επετεύχθη με επιμελή λήψη ιστορικού σχετικά με την καθημερινή άθληση, τις ακραίες διατροφικές συνήθειες και υπέρμετρο στρες.
- Αποκλείστηκαν έφηβες με διαταραχές με παρόμοια κλινική εικόνα με το PCOS, όπως:
 - Συγγενή υπερπλασία επινεφριδίων
 - Σύνδρομο Cushing
 - Ανδρογονοπαραγωγούς όγκους
 - Πρώιμη ωοθηκική ανεπάρκεια
 - Θυρεοειδικές διαταραχές

- Υπερπρολακτιναιμία
- Αποκλείστηκαν έφηβες εντός δύο ετών από την εμμηναρχή πλην περιπτώσεων πρωτοπαθούς αμηνόρροιας που πληρούσε τα κριτήρια του PCOS.
- Δεδομένου πως για τη διάγνωση του PCOS στην ομάδα των ασθενών αξιοποιήθηκαν οι συστάσεις της Pediatric Endocrine Society, αποκλείστηκαν έφηβες με εμμηνορρυσιακό κύκλο 21-44 ημερών. Αποκλείστηκαν επίσης από την ομάδα των ασθενών, έφηβες με φυσιολογικό όγκο ωοθηκών και πολυθυλακιώδη ή πολυκυστική μόνο μορφολογία ωοθηκών.
- Και στις δύο ομάδες, αποκλείστηκαν έφηβες με σοβαρά συστηματικά νοσήματα, γνωστή ηπατική παθολογία (συμπεριλαμβανομένων των ιογενών ηπατίτιδων για τις οποίες έγινε εργαστηριακός έλεγχος) ή που ελάμβαναν φαρμακευτική αγωγή με γνωστή επίδραση στην ηπατική βιοχημεία και αναφορά επικίνδυνης συμπεριφοράς κατά τη λήψη του ιστορικού HEADSSS, που υποδείκνυε συστηματική λήψη αλκοόλ ή ουσιών.

Μετρήσεις

Από κάθε συμμετέχουσα στη μελέτη ελήφθησαν λεπτομερές ιστορικό, σωματομετρικά στοιχεία, ζωτικά σημεία και έγινε κλινική εξέταση στο πρώτο ραντεβού.

Συγκεκριμένα, ερωτήθηκαν η έφηβη καθώς και ο γονέας/κηδεμόνας που τη συνόδευε για το οικογενειακό ιστορικό καθώς και το ατομικό της αναμνηστικό (συμπεριλαμβανόμενου του μαιευτικού ιστορικού, παιδικών παθήσεων και νοσηλειών, χειρουργείων, αλλεργιών και φαρμακευτικής αγωγής). Για τη διενέργεια της συνέντευξης χρησιμοποιήθηκε το πρότυπο HEADSSS για να ληφθούν πληροφορίες για την οικογένεια (Home), την εκπαίδευση (Education), τις δραστηριότητες (Activities), τις ουσίες (Drugs), την ασφάλεια (Safety), τη

σεξουαλικότητα (Sexuality) και την κατάθλιψη-αυτοκτονικό ιδεασμό (Suicide). Σημειώθηκαν η αθλητική δραστηριότητα των εφήβων, η οποία αποδόθηκε ως ώρες/εβδομάδα, καθώς και μέσω των ερωτήσεων για τα φάρμακα-ουσίες έγινε screening των εφήβων για να αποκλειστεί πιθανή υπερκατανάλωση αιθυλικής αλκοόλης που θα μπορούσε να οδηγήσει σε ηπατική νόσο [286].

Έγιναν ερωτήσεις σχετικές με το γυναικολογικό ιστορικό της εφήβου, όπως η ηλικία της εμμηναρχής, συχνότητα και ποσότητα εμμηνορρυσίας, παρουσία προεμμηνορρυσιακών συμπτωμάτων και δυσμηνόρροιας. Στην ομάδα του PCOS, περιλήφθηκαν έφηβες με εμμένοντες παθολογικής διάρκειας εμμηνορρυσιακούς κύκλους, βάσει των οδηγιών της Pediatric Endocrine Society. Ως τεκμήρια αραιωοθυλακιορρηξίας (oligoovulation) ή ανωθυλακιορρηξίας θεωρήθηκαν:

- Μεσοδιαστήματα εμμηνορρυσίας μικρότερα των 20 και μεγαλύτερα των 45 ημερών, για 2 ή παραπάνω χρόνια από την εμμηναρχή (επίπεδο τεκμηρίωσης B)
- Συναπτά μεσοδιαστήματα εμμηνορρυσίας μεγαλύτερα των 90 ημερών ανεξαρτήτως των ετών που έχουν παρέλθει από την εμμηναρχή (επίπεδο τεκμηρίωσης B)
- Πρωτοπαθής αμηνόρροια στα 15 έτη ή 2-3 χρόνια μετά την θηλαρχή ανεξαρτήτως χρονολογικής ηλικίας [76].

Σε κάθε συμμετέχουσα μετρήθηκαν ύψος και βάρος σε ζυγαριά ακριβείας, περίμετροι μέσης και γοφών και η αρτηριακή πίεση με ηλεκτρονικό πιεσόμετρο. Υπολογίστηκε ο Δείκτης Μάζας Σώματος (BMI – Body mass index) βάσει του τύπου:

$$\Delta\text{ΜΣ} = \frac{\text{βάρος (σε Kg)}}{[\text{ύψος (σε m)}]^2}$$

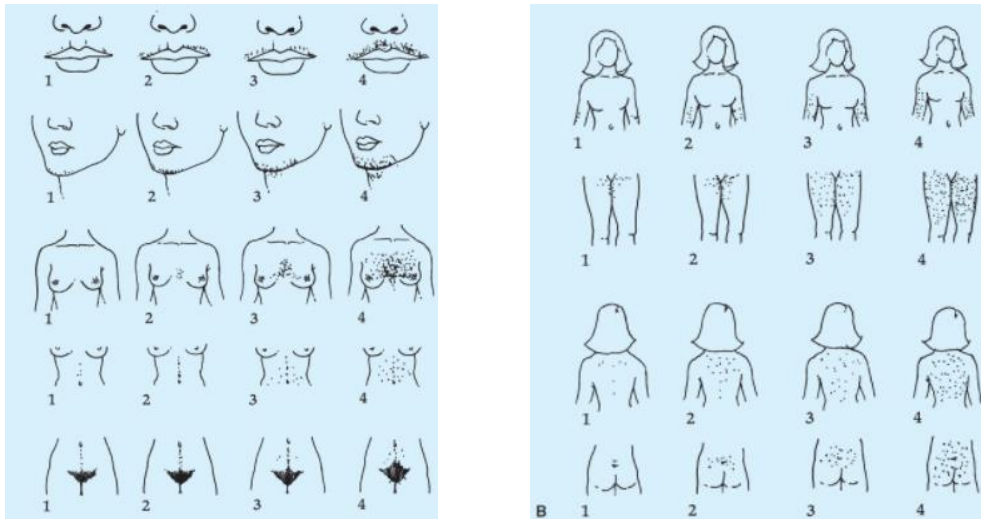
Επίσης, υπολογίστηκαν τα εκάστοτε εκατοστημόρια (percentiles) των BMI των κοριτσιών ανάλογα με την ηλικία τους βάσει υπολογιστικού φύλλου του Center of Disease Control and Prevention (CDC).

Για την περίμετρο μέσης χρησιμοποιήθηκαν ελληνικές τιμές αναφοράς [157]. Υπολογίστηκαν επίσης οι λόγοι:

- $WHR = \frac{\text{Περίμετρος μέσης (cm)}}{\text{περίμετρος γοφών (cm)}}$
- $WHtR = \frac{\text{Περίμετρος μέσης (cm)}}{\text{ύψος (cm)}}$

Έγινε κλινική εξέταση όλων των συστημάτων με εκτίμηση σταδίων ανάπτυξης εφηβικού και μαστού κατά Tanner.

Μετρήθηκε το Ferriman-Gallway score για την ποσοτική εκτίμηση του δασυτριχισμού. Στη μελέτη χρησιμοποιήθηκε το τροποποιημένο mF-G score όπως αυτό αναλύθηκε στο άρθρο των Yildiz et al, αναζητώντας παρουσία τελικών τριχών στο άνω χείλος, το γένειο, το στήθος, το άνω και το κάτω τμήμα της ράχης, το άνω και το κάτω τμήμα της κοιλιακής χώρας, και τους μηρούς [23]. Ανάλογα με την έκταση και την πυκνότητα των τελικών τριχών αποδόθηκε ο ανάλογος βαθμός, όπως απεικονίζεται στην παρακάτω εικόνα. Ο βαθμός 0 αντιστοιχεί σε απουσία τελικών τριχών στην περιοχή ενώ ο βαθμός 4 σε εκτεταμένη ανάπτυξη τριχοφυΐας ανδρικού τύπου. Ακολούθησε άθροιση των βαθμών και το άθροισμα ≥ 6 θεωρήθηκε κλινικός υπερανδρογονισμός.



Εικόνα 8: Το τροποποιημένο score Ferriman-Gallway (mF-G score)
 Πηγή: Yildiz et al. [23]

Εκτός από την επισκόπηση των περιοχών του σώματος, αναζητήθηκε από το ιστορικό εάν χρησιμοποιείται από την έφηβη κάποια μέθοδος αποτρίχωσης στην ίδιες περιοχές και η συχνότητά της.

Εκτιμήθηκε η παρουσία ή όχι ακμής στο πρόσωπο και τη ράχη με τη χρήση του Global Acne Grading System όπως αυτό δημοσιεύτηκε από τους Doshi et al. [287] Καθεμία από τις 6 περιοχές που επισκοπούνται λαμβάνει, επίσης, ένα βαθμό από το 0-4 αναλογα με τη σοβαρότερη βλάβη. Το άθροισμα όλων των περιοχών κυμαίνεται από 0-52 με τα σκορ 0-18 να υποδηλώνουν ήπια ακμή ενώ σκορ άνω των 19 να θεωρούνται υποδηλωτικά μέτριας ακμής και άνω των 31 σοβαρής ακμής [288]. Βάσει της Clinical Practice Committee Publication του 2015 μόνο η σοβαρή κυστική ακμή χρησιμοποιήθηκε στη διάγνωση του PCOS [76].

Table 2 The Global Acne Grading System (GAGS)

Location	Factor × Grade (0–4)* = Local score
I Forehead	2
II Right cheek	2
III Left cheek	2
IV Nose	1
V Chin	1
VI Chest and upper back	3

Global score =	
0	None
1–18	Mild
19–30	Moderate
31–38	Severe
>39	Very severe

*0, No lesions; 1, ≥ one comedone; 2, ≥ one papule; 3, ≥ one pustule; 4, ≥ one nodule.

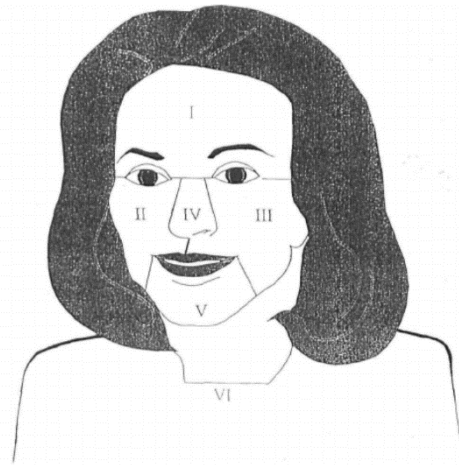


Figure 1 The six locations (I–VI) of the Global Acne Grading System (GAGS)

Εικόνα 9: The Global Acne Grading System (GAGS)
Πηγή: Doshi et al. [287]

Αναζητήθηκαν ιδιαίτερα σημεία μελανίζουσας ακάνθωσης στις δερματικές πτυχές (μασχαλιαία χώρα, αυχέννας, υπομαστικά) καθώς και κλινικά σημεία συνδρόμου Cushing (κεντρικού τύπου παχυσαρκία, πανσεληνοειδές προσωπίο, τηλεγγειακτασίες, buffalo hump, ραβδώσεις και εκχυμώσεις).

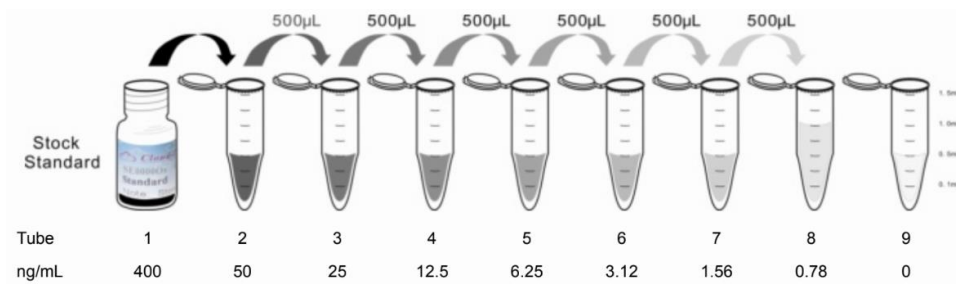
Σε επόμενο ραντεβού, σε πρωινή ώρα μετά από 8ωρη νηστεία έγινε η αιμοληψία στο Αρεταίειο Νοσοκομείο. Στις έφηβες που ήταν σε δευτεροπαθή αμηνόρροια η αιμοληψία έγινε τυχαία μέρα ενώ στις έφηβες με εμμηνορρυσιακό κύκλο έγινε 2^η έως 5^η ημέρα του κύκλου. Ο εργαστηριακός έλεγχος αίματος περιλάμβανε γενική αίματος, γλυκόζη, ουρία κρεατινίνη, οξαλοξική τρανσαμινάση (SGOT) ή ασπαρτική αμινοτρανσφεράση (AST), πυροσταφυλική τρανσαμινάση (SGPT) ή αμινοτρανσφεράση της αλανίνης (ALT), αλκαλική φωσφατάση (ALP), γ-γλουταμυλ-τρανσφεράση (γGT), ασβέστιο, φώσφορο, 25-υδροξύβιταμίνη D, οιστραδιόλη (E2), θυλακιοτρόπο ορμόνη (follicle-stimulating hormone, FSH), ωχρινοτρόπο ορμόνη (luteinizing hormone - LH), προλακτίνη (PRL), τεστοστερόνη, φυλοσυνδετική σφαιρίνη (Sex Hormone Binding Protein - SHBG), ανδροστενεδιόνη (Δ4),

θειϊκή δεϋδροεπιανδροστερόνη (DHEA-S), 17υδροξυ-προγεστερόνη (17OH-PRG), ινσουλίνη. Ο προσδιορισμός της ολικής τεστοστερόνης έγινε με τη μικροσωματιδιακή ανοσοεξέταση χημειοφωταύγειας (Chemiluminescent Microparticle Immunoassays - CMIA) της εταιρείας Abbott. Ο προσδιορισμός όλων των ορμονικών παραμέτρων έγινε στο Ορμονολογικό Εργαστήριο του Αρεταϊείου Νοσοκομείου, υπό την αιγίδα του υπευθύνου του κ. Δημήτριου Ρίζου, Αναπληρωτή Καθηγητή Κλινικής Χημείας, ενώ ο βιοχημικός έλεγχος στο Εργαστήριο Βιοπαθολογίας του ίδιου νοσοκομείου. Φυγοκεντρήθηκε επίσης, ποσότητα αίματος και ο ορός αποθηκεύτηκε σε βαθιά κατάψυξη (-80°C) μέχρι τη μέτρηση των ηπατοκινών. Μετά την ολοκλήρωση της συλλογής του δείγματος των εφήβων έγινε ενζυμο-ανοσοανάλυση των δειγμάτων (ELISA) στο Εργαστήριο Κλινικής και Μεταφραστικής Έρευνας στην Ενδοκρινολογία του Πανεπιστημίου Αθηνών, στο Χωρέμειο Ερευνητικό Εργαστήριο της Α΄ Παιδιατρικής Κλινικής του Νοσοκομείου Παίδων «Η Αγία Σοφία» (υπό την επίβλεψη της υπεύθυνης του Εργαστηρίου κ. Αιμιλίας Μάντζου) και στο εργαστήριο της Φαρμακευτικής σχολής του ΕΚΠΑ (υπό την επίβλεψη της καθηγήτριας κ. Σοφίας Μαρκαντώνη-Κυρούδη). Την ίδια ημέρα με την αιμοληψία ακολούθησε υπερηχογραφικός έλεγχος τόσο στο Τμήμα Εμβρυομητρικής Ιατρικής - Υπερήχων της Β΄ Μαιευτικής και Γυναικολογικής Κλινικής όσο και στο Α΄ Εργαστήριο Ακτινολογίας της Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ στο Αρεταϊείο Νοσοκομείο. Το υπερηχογράφημα έσω γεννητικών οργάνων έγινε από τον κ. Λέοντα Αραβαντινό, Αναπληρωτή Καθηγητή Μαιευτικής & Γυναικολογίας ενώ τα υπερηχογραφήματα ήπατος, θυρεοειδούς και καρωτίδων έγιναν από τον Καθηγητή Ακτινολογίας κ. Αριστείδη Αντωνίου και τη συνεργάτη του ακτινολόγο κα. Μαριάννα Κονιδάρη. Ο έλεγχος για ίνωση του ήπατος έγινε με τη διενέργεια ελαστογραφίας με Fibroscan® στα εξωτερικά ιατρεία της Β΄ Παθολογικής Κλινικής του ΕΚΠΑ στο Ιπποκράτειο Γ.Ν. Αθηνών από τον κ. Ντουράκη, Καθηγητή ΕΚΠΑ, Παθολόγο – Ηπατολόγο και τη συνεργάτη του κ. Ηλιάνα Μάνη.

Ανοσοενζυμική μέθοδος προσδιορισμού ηπατοκινών

Για τη μέτρηση των συγκεντρώσεων των ηπατοκινών χρησιμοποιήθηκε η ανοσοενζυμική μέθοδος ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay, ανοσοπροσρόφηση δεσμευμένου ενζύμου). Χρησιμοποιήθηκαν τα εξής εμπορικά κιτ:

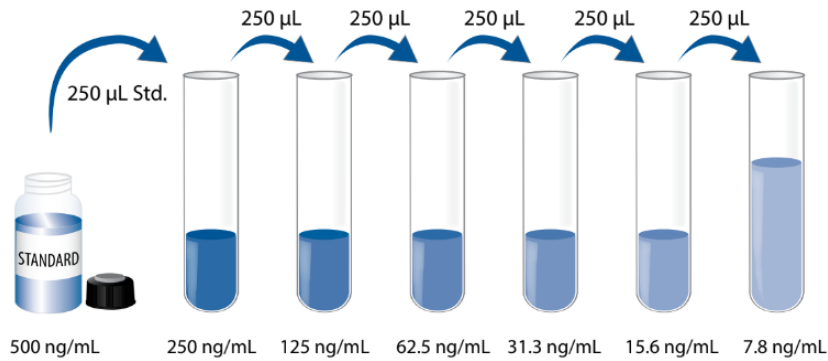
- Για τη selenoprotein P: SEB809Hu 96 Tests, Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit For Selenoprotein P1, Plasma (SEPP1) από την Cloud-Clone Corp, Houston, TX, USA. Το κιτ προσφέρει τη δυνατότητα προσδιορισμού των επιπέδων selenoprotein P. Το εύρος ανίχνευσης του κιτ είναι 0,78-50ng/mL. Η ελάχιστη ανιχνεύσιμη συγκέντρωση της SEPP1 είναι τυπικά μικρότερη από 0,33ng/mL. Όσον αφορά την ακρίβεια της μεθόδου, το intra-assay CV αναφέρεται <10%, και το inter-assay CV <12%. Βάσει των οδηγιών του κατασκευαστή έγινε αραιώση των δειγμάτων προς μέτρηση 1:1000. Κατόπιν, παρασκευάστηκαν τα διαλύματα αραιώσης όπως φαίνεται στο παρακάτω σχήμα:



Εικόνα 10: Παρασκευή διαλυμάτων αραιώσης για τη Selenoprotein P
Πηγή: φύλλο οδηγιών της Cloud-Clone Corp, Houston, TX, USA

Στη συνέχεια τοποθετήθηκαν στα πηγαδάκια (microwells) της πλάκας μικροτιτλοδότησης 100μL από τα δείγματα, τα κενά και τα διαλύματα αραιώσης και έγινε επώαση αυτών για 2 ώρες στους 37°C. Προστέθηκαν στα πηγαδάκια τα detection reagent A και B της συσκευασίας, βάσει των οδηγιών του κατασκευαστή και ακολούθησαν επώσεις και πλύσεις. Ακολούθησε το διάλυμα του υποστρώματος (TMB substrate) και η επώαση για 10-20 λεπτά. Τέλος προστέθηκαν 50 μL από το διάλυμα τερματισμού σε κάθε θέση και έγινε η μέτρηση της έντασης με το φωτόμετρο. Βάσει την καμπύλης αναφοράς προσδιορίστηκαν οι τιμές των δειγμάτων.

- Για τη Fetuin A: Quantikine® ELISA, Human Fetuin A Immunoassay, Catalog Number DFTA00 sandwich ELISA κιτ της R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, USA, σχεδιασμένο για τον προσδιορισμό των επιπέδων της ανθρώπινης fetuin A στον ορό και το πλάσμα. Ως ελάχιστη ανιχνεύσιμη συγκέντρωση αναφέρονται τα 0,62ng/mL. Όσον αφορά την ακρίβεια της μεθόδου, το intra-assay CV αναφέρεται <7,4%, και το inter-assay CV <8,4%. Σύμφωνα με τον κατασκευαστή του κιτ, δεν παρατηρείται σημαντική διασταυρούμενη αντίδραση με άλλα μόρια. Αρχικά έγινε αραιώση των δειγμάτων βάσει των οδηγιών του κατασκευαστή 1:4000 με το διάλυμα αραιώσης της συσκευασίας (calibrator diluent RDS-26) και προετοιμάστηκαν τα διαλύματα αραιώσης όπως παρουσιάζεται στο παρακάτω σχήμα του κατασκευαστή:



Εικόνα 11: Παρασκευή διαλυμάτων αραιώσης για τη Fetuin A
 Πηγή: φύλλο οδηγιών της R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, USA

Τοποθετήθηκαν 50μL δείγματος ή διαλύματος σε κάθε πηγαδάκι και επώασθησαν για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά από την έκπλυση τοποθετήθηκαν 200μL συμπλέγματος σε κάθε πηγαδάκι και ακολούθησε επώαση 2 ωρών και στην συνέχεια πλύση. Ακολούθησε η προσθήκη υποστρώματος, επώαση για 30 λεπτά με φωτοπροστασία, παύση της ενζυματικής αντίδρασης με stop solution και καταγραφή της απορρόφησης. Κατασκευάστηκε η καμπύλη αναφοράς και υπολογίστηκαν βάσει αυτής οι συγκεντρώσεις των δειγμάτων.

- Για τον FGF21: Χρησιμοποιήθηκε το Cat. No.: RD191108200R, Human FGF-21 ELISA της Biovendor – Laboratorni mecidina a.s., Brno, Czech Republic τύπου sandwich για την ποσοτική μέτρηση. Το limit of detection (LOD) του κιτ, είναι υπολογισμένο στα 7pg/ml και το όριο της μεθόδου είναι τα 1920 pg/ml, ενώ το κιτ δεν παρουσιάζει διασταυρούμενη αντιδραστικότητα με το FGF19 ή το FGF23. Όσον αφορά την ακρίβεια της μεθόδου, το intra-assay CV αναφέρεται <2,4%, και το inter-assay CV <3,5%. Στο κιτ τα διαλύματα αραιώσης ή βαθμονομητές (standards), τα διαλύματα

ελέγχου (quality controls) και τα δείγματα (μετά από διάλυση με το διάλυμα αραιώσης δειγμάτων) επώαστηκαν στα πηγαδάκια μικροτιτλοποίησης, τα οποία ήταν επικαλυμμένα με πολυκλωνικά αντισώματα έναντι του FGF-21. Μετά από επώαση 60 λεπτών και μία πλύση, προστέθηκε σημασμένο με βιοτίνη αντίσωμα για 60 λεπτά. Μετά από πλύση προστέθηκε το σύμπλεγμα στρεπταβιδίνης-HRP. Μετά από 30 λεπτά επώαση και άλλη μία πλύση, επιτράπη στο σύμπλεγμα να αντιδράσει με το διάλυμα του υποστρώματος. Έπειτα χρησιμοποιήθηκε το διάλυμα τερματισμού της αντίδρασης και μετρήθηκε εντός 5 λεπτών η απορρόφηση του τελικού διαλύματος. Σχεδιάστηκε η καμπύλη αναφοράς βάσει των τιμών των βαθμονομητών και βάσει αυτής υπολογίστηκαν οι συγκεντρώσεις των δειγμάτων.

Υπολογισμός βαθμού ινσουλινοαντίστασης, ηπατικής ίνωσης και ηπατικής στεάτωσης
Είναι σύνηθες στις κλινικές μελέτες να χρησιμοποιούνται σκορ που χρησιμοποιούν βιοχημικές παραμέτρους καθώς και πληροφορίες από το ιστορικό του ασθενούς. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν τα εξής:

- a) HOMA-IR = γλυκόζη (mg/dl) x ινσουλίνη (μU/ml) / 405 [289]
- b) QUICKI = 1/ [log(ινσουλίνη νηστείας σε μU/ml) + log(γλυκόζη νηστείας σε mg/dl)] [69]
- c) Fatty Liver index που υπολογίστηκε ως εξής: [194]

$$FLI = \left(e^{0.953 \cdot \log_e(\text{triglycerides})} + 0.139 \cdot \text{BMI} + 0.718 \cdot \log_e(\text{ggt}) + 0.053 \cdot \text{waist circumference} - 15.745 \right) / \left(1 + e^{0.953 \cdot \log_e(\text{triglycerides})} + 0.139 \cdot \text{BMI} + 0.718 \cdot \log_e(\text{ggt}) + 0.053 \cdot \text{waist circumference} - 15.745 \right) * 100$$

- d) Liver fat score που υπολογίστηκε ως εξής: [195]

$$\begin{aligned} \text{NAFLD liver fat score} = & -2.89 + 1.18 * \text{metabolic} \\ & \text{syndrome (yes = 1/no = 0)} + 0.45 * \text{type 2 diabetes} \\ & \text{(yes = 2/no = 0)} + 0.15 * \text{fS-insulin (mU/L)} \\ & + 0.04 * \text{fS-AST (U/L)} - 0.94 * \text{AST/ALT} \end{aligned}$$

e) Lipid accumulation product για τις γυναίκες = (WC [cm] - 58) × (τριγλυκερίδια [mmol/L])

f) Hepatic Steatosis Index [199]

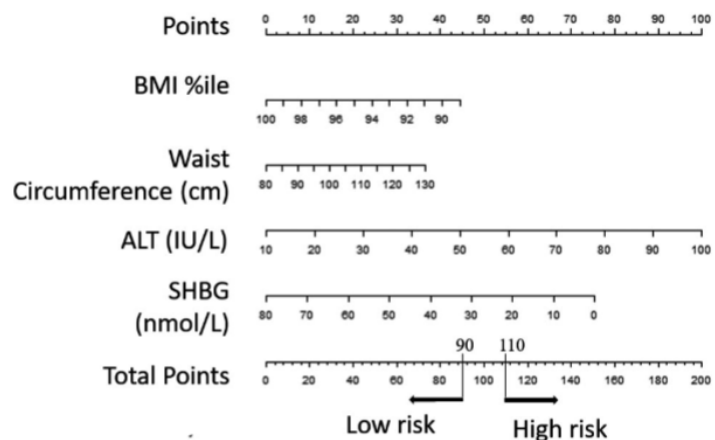
$$\begin{aligned} (\text{HSI}) = & 8 \times \text{ALT/AST ratio} \\ & + \text{BMI (+2, if DM; +2, if female)} \end{aligned}$$

g) Βάσει των Tomizawa et al. δημιουργήθηκε μια μεταβλητή που δηλώθηκε θετική στις έφηβες που συνυπήρχαν τιμές ALT >19 IU/l και TG >101 mg/d [200]

h) PCOS-HS index που υπολογίστηκε ως εξής: [201]

$$\begin{aligned} \text{PCOS-HS} = & 1/1 + (\exp (-26.01 + (-0.3761 * \text{BMI percentile} + 0.05781 * \text{waist} \\ & \text{circumference (cm)} + 0.0448 * \text{HOMA IR} + 0.00095519 * \text{HDL (mmol/L)} + \\ & 0.00005892 * \text{TG (mmol/L)} + 0.0964 * \text{ALT (IU/L)} + 0.001548 * \text{free testosterone} \\ & \text{(nmol/L)} - 0.06806 * \text{SHBG (nmol/L)})) \text{ και επιβεβαιώθηκαν με το παρακάτω} \\ & \text{νομόγραμμα.} \end{aligned}$$

FIGURE 2 Nomogram for probability calculation. Points obtained for each variables are on the first line. By drawing a line corresponding to the value of each variable to this first line allows to give the according number of points. Points from each variable are added. The total number of points (Score) corresponds to the probability of HS and determines the risk category (Table 3). ≤ 90 points, represents a low risk for NAFLD, and ≥ 110 , a high risk (Table 3)



Εικόνα 12: Νομόγραμμα για υπολογισμό του PCOS-HS
Πηγή: Carreau et al. [201]

i) FIB-4 index που υπολογίστηκε ως εξής: [204]

$$\text{FIB-4 index} = \text{ηλικία (έτη)} \times \text{AST (U/L)} / [\text{PLT}(109/\text{L}) \times \text{ALT}^{1/2} (\text{U/L})]$$

j) NFS (NAFLD fibrosis) score που υπολογίστηκε ως εξής: [206]

$$\text{NFS} = -1.6750 + 0.037 \times \text{ηλικία (έτη)} + 0.094 \times \text{BMI}(\text{kg}/\text{m}^2) + 1.13 \times \text{παθολογική τιμή γλυκόζης νηστείας}/\Sigma\Delta (\text{ναι}=1, \text{όχι}=0) + 0.99 \times \text{AST}/\text{ALT ratio} - 0.013 \times \text{αιμοπετάλια (109/l)} - 0.66 \times \text{albumin (g/dl)}$$

k) APRI index που υπολογίστηκε ως εξής: [209]

$$\text{APRI index} = (\text{AST}/\text{ανώτατο όριο AST} \times 100) / \text{αριθμός αιμοπεταλίων (x 109/l)}$$

l) BARD score που υπολογίστηκε από τις παρακάτω παραμέτρους: [208]

- i. $\text{BMI} \geq 28 = 1$ βαθμός
- ii. $\text{Λόγος AST}/\text{ALT} \geq 0,8 = 2$ βαθμοί
- iii. Παρουσία $\Sigma\Delta = 1$ βαθμός

Το σκορ κυμαίνεται από 0-4. Άτομα με υψηλό σκορ (≥ 2) είναι 17 φορές πιο πιθανό να παρουσιάζουν προχωρημένη ίνωση.

m) BAAT score που υπολογίστηκε από τις παρακάτω κατηγορικές μεταβλητές: [290]

- i. $\text{BMI} \geq 28 = 1$ βαθμός, $< 28 = 0$
- ii. $\text{Ηλικία} \geq 50 = 1$ βαθμός, $< 50 = 0$
- iii. $\text{ALT} \geq 2\text{N} = 1$ βαθμός, $< 2\text{N} = 0$
- iv. $\text{Τριγλυκερίδια ορού} \geq 1,7\text{mmol/l} = 1$, $< 1,7 = 0$

Το σκορ κυμαίνεται από 0-4, με το 0-1 υποδηλώνει απουσία ίνωσης, ενώ η τιμή 100% θετική προγνωστική αξία για ηπατική ίνωση.

Υπερηχογραφήματα

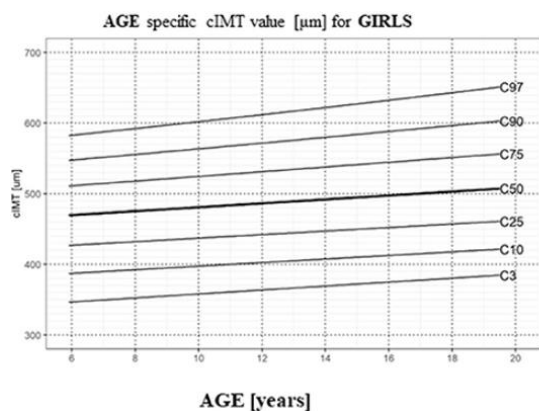
Για τα υπερηχογραφήματα χρησιμοποιήθηκε το Voluson S10, GE Healthcare. Για την πραγματοποίηση του υπερηχογραφήματος πρέπει οι έφηβες να πιούν υγρά ώστε να πληρωθεί η ουροδόχος κύστη, αλλά όχι να υπερδιαταθεί. Η πλήρωση της ουροδόχου κύστης δημιουργεί το κατάλληλο «παράθυρο» για την σάρωση των έσω γεννητικών οργάνων, και ωθεί τις εντερικές έλικες εκτός του πεδίου απεικόνισης. Αντίθετα το διακολλικό υπερηχογράφημα πραγματοποιείται με άδεια κύστη και την έφηβη σε θέση λιθοτομής. Γίνονται λήψεις τόσο σε οβελιαίο όσο και σε στεφανιαίο επίπεδο για την εξέταση της μήτρας, την μέτρηση του πάχους του ενδομητρίου και τη μορφολογία του, την εκτίμηση των ωθηκών και των παραμήτριων χώρων. Το μήκος και η προσθιοπίσθια διάμετρος της μήτρας μετρώνται σε μέση οβελιαία τομή ενώ η εγκάρσια διάμετρος σε στεφανιαία ή εγκάρσια τομή. Στην οβελιαία τομή, μετριέται και το πάχος του ενδομητρίου. Υπολογίζεται το μέγεθος της κάθε ωθήκης χρησιμοποιώντας το μαθηματικό τύπο της έλλειψης (κεφαλουραία x εγκάρσια x προσθιοπίσθια διάμετρος x 0,523). Ο αριθμός των ωθυλακίων στις ωθήκες, η κατανομή τους, η πιθανή πάχυνση του στρώματος της ωθήκης ή ο γενικός χαρακτηρισμός της μορφολογίας της ωθήκης ως πολυκυστική δεν ελήφθησαν υπόψιν. Μόνο ο αυξημένος ωθηκικός όγκος (>10cc) αξιολογήθηκε ως υπερηχογραφικό κριτήριο για τη διάγνωση του PCOS.

Διενεργήθηκε σε κάθε συμμετέχουσα υπερηχογράφημα ήπατος για την ανίχνευση λιπώδους διήθησης του οργάνου. Το λιπώδες ήπαρ απεικονίζεται περισσότερο ηχογενές σε σχέση με το δεξιό νεφρό και τον σπλήνα που είναι τα γειτονικά του όργανα και δίπλα του στο πεδίο απεικόνισης. Όταν η ηχογένεια του ήπατος είναι απλά αυξημένη είναι 1^{ου} βαθμού, όταν το ηχογενές ήπαρ «κρύβει» τα ηχογενή τοιχώματα των πυλαίων φλεβικών αγγείων είναι 2^{ου}

βαθμού και όταν η ηχογένεια του «κρύβει» το περίγραμμα του διαφράγματος είναι 3^{ου} βαθμού. Οι εικόνες του υπερηχογραφήματος ήπατος αξιολογήθηκαν από δύο ακτινολόγους ανεξάρτητα.

Επιπρόσθετα διενεργήθηκε υπερηχογράφημα θυρεοειδούς και καρωτίδων. Στο υπερηχογράφημα θυρεοειδούς αξιολογήθηκαν οι διαστάσεις του οργάνου, η ηχομορφολογία του παρεγχύματος και η παρουσία παθολογικών θυρεοειδικών όζων. Έγινε μέτρηση του πάχους του έσω – μέσου χιτώνα των καρωτίδων. Οι μετρήσεις έγιναν και στις δύο καρωτίδες, σε επιμήκη τομή, σε απόσταση 1cm από το διχασμό των καρωτίδων. Η μέτρηση έγινε στο άπω αρτηριακό τοίχωμα, όπου τα οδηγία σημεία είναι περισσότερο διακριτά. Το πάχος του έσω-μέσου χιτώνα αντιστοιχεί στην απόσταση, μετρημένη σε χιλιοστά, της πρώτης υπερηχογενούς γραμμής (όριο μεταξύ αυλού και έσω χιτώνα) και της δεύτερης υπερηχογενούς γραμμής (όριο μεταξύ μέσου και έξω χιτώνα) [291].

Οι τιμές αναφοράς που χρησιμοποιήθηκαν για την cIMT, προέρχονται από μελέτες σε παιδιά και εφήβους [292].



Εικόνα 13: Τιμές αναφοράς για τη cIMT σε παιδιά και έφηβες
Πηγή: Drole Torkar et al. [292]

Τέλος, έγινε έλεγχος για λιπώδη διήθηση ήπατος με τη χρήση ελαστογραφίας με Fibroscan®. Η αξιολόγηση της ηπατικής ίνωσης έγινε με παροδική ελαστογραφία (TE-transient elastography) FibroScan®. Η εξέταση πραγματοποιήθηκε με την έφηβη σε ύπτια θέση και τα χέρια πάνω από το κεφάλι, ζητώντας της να σταματήσει να αναπνέει για μερικά δευτερόλεπτα, κατάλληλη δηλαδή θέση για την απεικόνιση του ήπατος. Έγινε σάρωση του 7^{ου} και 8^{ου} τμήματος του ήπατος μεσοπλεύρια. Κατά τη σάρωση για τη λήψη της μέτρησης της ελαστογραφίας επιλέχθηκε σημείο μακριά από την κάψα του ήπατος, τα μεγάλα αγγεία και οποιοδήποτε μόρφωμα ή εύρημα του ήπατος, δηλαδή σημείο με καθαρό παρεγχυματικό ιστό. Τα αποτελέσματα της εξέτασης εκφράστηκαν σε kilopascals (kPa) και αντιστοιχούν στη διάμεση τιμή 10 επαναλαμβανόμενων έγκυρων μετρήσεων, βάσει των συστάσεων του κατασκευαστή. Οι τιμές ηπατικής ακαμψίας κυμαίνονται από 2,5 έως 75 kPa. Η εγκυρότητα των αποτελεσμάτων της ελαστογραφίας βασίζεται σε 2 σημαντικές παραμέτρους. Η μεταβλητότητα των έγκυρων μετρήσεων αντιστοιχεί στο ενδοτεταρτημοριακό εύρος (IQR – interquartile range), το οποίο δεν πρέπει να ξεπερνάει κατά 30% την διάμεση τιμή και το ποσοστό των επιτυχημένων μετρήσεων στις συνολικές μετρήσεις, το οποίο αντιστοιχεί στο ποσοστό επιτυχίας (SR – success rate), το οποίο πρέπει να είναι τουλάχιστον 60%. Για τη διάγνωση της ηπατικής ίνωσης χρησιμοποιήθηκαν το όριο των 7,9 kPa, που αντιστοιχούσε στην 95^η ε.θ. στους εφήβους 12-18 ετών στη μελέτη των Tokuhara et al. [293]. Οι έφηβες που ξεπέρασαν αυτά τα όρια παραπέμφθηκαν στο Ηπατολογικό Τμήμα της Β' Παθολογικής Κλινικής ΕΚΠΑ στο Ιπποκράτειο Γ.Ν. Αθηνών για περαιτέρω διερεύνηση και παρακολούθηση.

Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση έγινε με τα SPSS 26.0 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA) και R version 4.1.3. Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε στο 5% ($p < 0,05$). Στην περιγραφική στατιστική τα δεδομένα των κατηγορικών μεταβλητών παρουσιάστηκαν ως συχνότητες και τα δεδομένα των συνεχών μεταβλητών με μέτρα κεντρικής τάσης και διασποράς. Συγκεκριμένα, όταν οι τιμές παρουσίαζαν κανονική κατανομή χρησιμοποιήθηκαν η μέση τιμή (mean) και τυπική απόκλιση (standard deviation - SD), ενώ όταν η κατανομή ήταν μη κανονική η διάμεσος (median) και το ενδοτεταρτημοριακό εύρος (interquartile range – IQR). Η κανονικότητα ελέγχθηκε με το Shapiro-Wilk test. Για τις συγκρίσεις εκτελέστηκαν t-test, Mann–Whitney U test, και Chi-squared test. Για τη σύγκριση περισσότερων των δύο ομάδων χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) και ακολούθησε post hoc Tukey-Kramer test. Εφαρμόστηκαν παραμετρικές και μη αναλύσεις συσχέτισης Spearman και Pearson, τα αποτελέσματα των οποίων εκφράστηκαν με τους αντίστοιχους συντελεστές (Spearman's rho και Pearson's r). Τέλος, χρησιμοποιήθηκε μοντέλο λογιστικής παλινδρόμησης για την πρόβλεψη του αποτελέσματος (διάγνωση ή μη της NAFLD) βάσει μιας σειράς ανεξάρτητων μεταβλητών.

Αποτελέσματα

1. Περιγραφική στατιστική

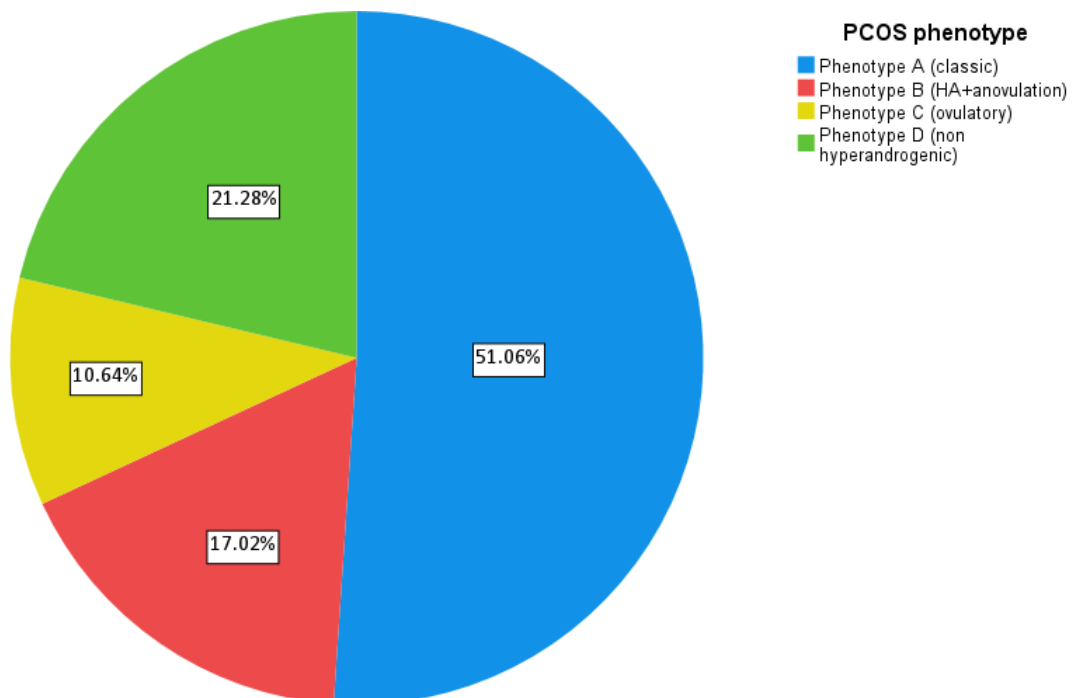
Αρχικά συναίνεσαν για τη συμμετοχή τους στη μελέτη 100 έφηβες, 50 με Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών και 50 υγιείς μάρτυρες. Στο δείγμα της μελέτης συμπεριλήφθηκαν τελικά 87 έφηβες που ολοκλήρωσαν τον κλινικοεργαστηριακό έλεγχο. Η μέση ηλικία των εφήβων του δείγματος ήταν 15,31 έτη (\pm SD=1,55 έτη) με εύρος από 12,28 έως 20,38 έτη. Η μέση ηλικία εμμηναρχής των εφήβων ήταν τα 11,83 έτη (\pm 1,20 έτη). Η μέση ενασχόληση με αθλητικές δραστηριότητες ήταν 2,83 ώρες την εβδομάδα (\pm 3,71 ώρες). Το μέσο BMI ήταν 24,44 kg/m² (\pm 4,89 kg/m²).

Πίνακας 6.1: Δημογραφικά και σωματομετρικά χαρακτηριστικά του δείγματος

<i>n=87</i>	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Ηλικία (έτη)	12,28	20,38	15,31	1,55
Ηλικία εμμηναρχής (έτη)	8,25	15,66	11,83	1,20
Άσκησης (ώρες/εβδομάδα)	0,0	20,0	2,83	3,71
BMI (kg/m ²)	16,01	39,51	24,44	4,88
Εκατοστημόριο BMI για την ηλικία	3,50	99,20	73,62	25,13
ΣΑΠ (mmHg)	95,00	142,00	114,74	9,33
ΔΑΠ (mmHg)	42,00	90,00	67,10	8,99
WC (cm)	61,00	104,00	74,66	9,35
HC (cm)	78,00	133,00	100,05	9,80
FG score	0	34	8,66	6,27
WHR	0,58	1,06	0,74	0,06
WHtR	0,36	0,62	0,46	0,06

ΣΑΠ: συστολική αρτηριακή πίεση, ΔΑΠ: διαστολική αρτηριακή πίεση, WC: περίμετρος μέσης, HC: περίμετρος γοφών, FG score: Ferriman-Gallway score, WHR: waist-to-hip ratio, WHtR: waist-to-height ratio

25 ασθενείς, δηλαδή το 53,2% των εφήβων με PCOS προσήλθαν αναφέροντας επεισόδια δευτεροπαθούς αμηνόρροιας στο πρόσφατο ιστορικό τους, ενώ οι υπόλοιπες ασθενείς παρουσίαζαν μόνο αραιομηνόρροια. Όσον αφορά τον κλινικό υπερανδρογονισμό, το 58,6% όλων των εφήβων παρουσίαζαν αυξημένο Ferriman-Gallway score (άνω του 6) και το 51,7% παρουσίαζε ακμή. Σε 2 έφηβες λόγω παρουσίας κυστικών μορφωμάτων στην ωοθήκη, χρειάστηκε επανάληψη της εξέτασης σε επόμενο κύκλο.



Γράφημα 1: Γράφημα πίτας για τους φαινότυπους του PCOS βάσει των κριτηρίων του Rotterdam

Χρησιμοποιήθηκαν τα κριτήρια του Rotterdam για την διάγνωση του συνδρόμου. Το σύνολο των 47 ασθενών με PCOS παρουσίαζαν τους φαινότυπους του συνδρόμου, όπως αυτοί έχουν οριστεί στη βιβλιογραφία. Το 51.1% (24 έφηβες) ανήκαν στον φαινότυπο A (κλασικό, με 3/3 κριτήρια), το 17% (8 έφηβες) στον φαινότυπο B (με υπερανδρογονισμό και ανωθυλακιόρρηξια χωρίς PCOM), το 10.6% (5 έφηβες) στον φαινότυπο C

(ωοθυλακιορρηκτικό, με 2/3 κριτήρια) και το 21.3% (10 έφηβες) στον φαινότυπο D (μη υπερανδρογονικό, με 2/3 κριτήρια). Το μέσο χρονικό διάστημα ανάμεσα στην εμμηναρχή και τη διάγνωση του PCOS ήταν 3,91 έτη.

Το 21,5% του συνόλου παρουσίαζε μελανίζουσα ακάνθωση δερματικών πτυχών. Μόνο 3 στις 87 έφηβες πληρούσαν τα κριτήρια για διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου στην εφηβεία, όλες στην ομάδα του PCOS.

Ο εργαστηριακός έλεγχος στο σύνολο του δείγματος παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 6.2: Βιοχημικός έλεγχος στο σύνολο του δείγματος

	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
<i>SGOT (U/l)</i>	10,00	88,00	18,57	10,17
<i>SGPT (U/l)</i>	5,00	193,00	17,43	21,04
<i>γGT (U/l)</i>	4,70	142,00	13,79	15,84
<i>ALP (U/l)</i>	43,00	300,00	89,82	42,93
<i>TC (mg/dl)</i>	93,00	237,00	148,89	25,78
<i>LDL (mg/dl)</i>	30,00	163,00	83,99	23,52
<i>HDL (mg/dl)</i>	30,00	81,40	55,84	12,47
<i>TG (mg/dl)</i>	24,90	197,00	69,43	31,53
<i>LpA (nmol/L)</i>	2,60	284,00	40,47	65,63
<i>ApoB (mg/dl)</i>	39,00	107,00	72,02	16,52
<i>ApoA1 (mg/dl)</i>	105,00	190,00	136,86	21,98
<i>Ca (mg/dl)</i>	9,10	10,30	9,67	0,27
<i>P (mg/dl)</i>	3,10	5,10	4,14	0,40
<i>PLT 10³/uL</i>	92,00	442,00	270,31	63,77
<i>VitD (ng/mL)</i>	10,90	47,00	26,42	8,13

SGOT: οξαλοξική τρανσαμινάση, *SGPT*: πυροσταφυλική τρανσαμινάση, *γGT*: γ-γλουταμυλτρανσφεράση, *ALP*: αλκαλική φωσφατάση, *TC*: ολική χοληστερόλη, *LDL*: λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας, *HDL*: λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας *TG*: τριγλυκερίδια, *LpA*: λιποπρωτεΐνη Α, *ApoB*: απολιποπρωτεΐνη Β, *ApoA*: απολιποπρωτεΐνη Α1, *Ca*: ασβέστιο, *P*: φωσφορος, *PLT*: αιμοπετάλια, *VitD*: 25-OH-vitamin D

Παράμετροι σχετικοί με τον μεταβολισμό της γλυκόζης στο σύνολο του δείγματος:

Πίνακας 6.3: Βιοχημικές παράμετροι και σκορ για τον μεταβολισμό της γλυκόζης στο σύνολο του δείγματος

	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
<i>Glu</i> (mg/dl)	69,00	108,00	85,92	7,16
<i>Ins</i> (μU/mL)	3,00	40,30	12,30	6,62
<i>QUICKI</i>	0,28	0,42	0,33	0,02
<i>HOMA-IR</i>	0,58	8,85	2,65	1,61
<i>G:I ratio</i>	2,21	26,33	8,83	4,41

Glu: γλυκόζη νηστείας, *Ins*: ινσουλίνη νηστείας, *QUICKI*: Quantitive Insulin sensitivity check index, *HOMA-IR*: Homeostasis model assessment Insulin Resistance index, *G:I ratio*: λόγος γλυκόζης προς ινσουλίνη νηστείας

Ακολουθεί πίνακας με τις υπερηχογραφικές μετρήσεις στο σύνολο του δείγματος:

Πίνακας 6.4: Υπερηχογραφικές μετρήσεις στο σύνολο του δείγματος

	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
<i>Ωοθηκικός όγκος</i> (cm ³)	2,20	21,30	8,85	4,30
<i>Πάχος ενδομητρίου</i> (mm)	2,70	10,00	5,72	1,76
<i>Μέγιστο cIMT</i> (mm)	0,03	0,08	0,05	0,009
<i>Fibroscan stiffness</i> (kPa)	3,50	17,30	6,57	2,77
<i>Fibroscan IQR</i> (kPa)	0,30	3,00	1,38	0,65

cIMT: carotid intima media thickness, *IQR*: interquartile range

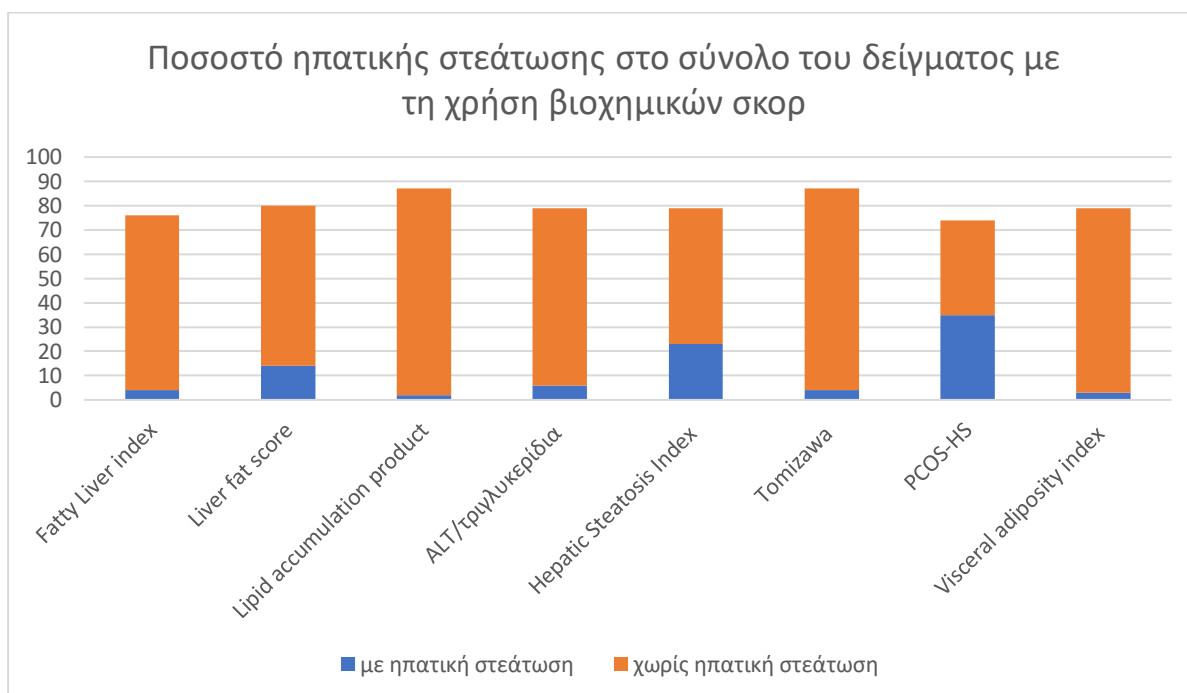
Στο σύνολο του δείγματος, το 13,8% διαγνώστηκε με ηπατική στεάτωση κατηγορίας I υπερηχογραφικά, ενώ το 74,7% δεν παρουσίαζε υπερηχογραφικά ηπατική βλάβη. Δέκα έφηβες δεν προσήλθαν/αποδέχθηκαν να υποβληθούν σε υπερηχογραφικό έλεγχο ήπατος.

Όσον αφορά την διάγνωση της ηπατικής στεάτωσης με τη χρήση βιοχημικών σκορ, οι συχνότητες φαίνονται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 6.5: Θετικότητα βιοχημικών σκορ στεάτωσης στο σύνολο του δείγματος

<i>Fatty Liver index</i> [194]	4/76 (5,2%)
<i>Liver fat score</i> [195]	14/80 (17,5%)
<i>Lipid accumulation product</i> [196,197]	2/87 (2,2%)
<i>ALT/τριγλυκερίδια</i> [198]	6/79 (7,6%)
<i>Hepatic Steatosis Index</i> [199]	23/79 (29,1%)
<i>Tomizawa et.al</i> [200]	4/87 (4,6%)
<i>PCOS-HS index</i> [201]	35/74 (47,3%)
<i>Visceral adiposity index</i> [202]	3/79 (3,8%)

ALT: πυροσταφυλική τρανσαμινάση



Γράφημα 2: Ποσοστό ηπατικής στεάτωσης στο σύνολο του δείγματος με τη χρήση βιοχημικών σκορ

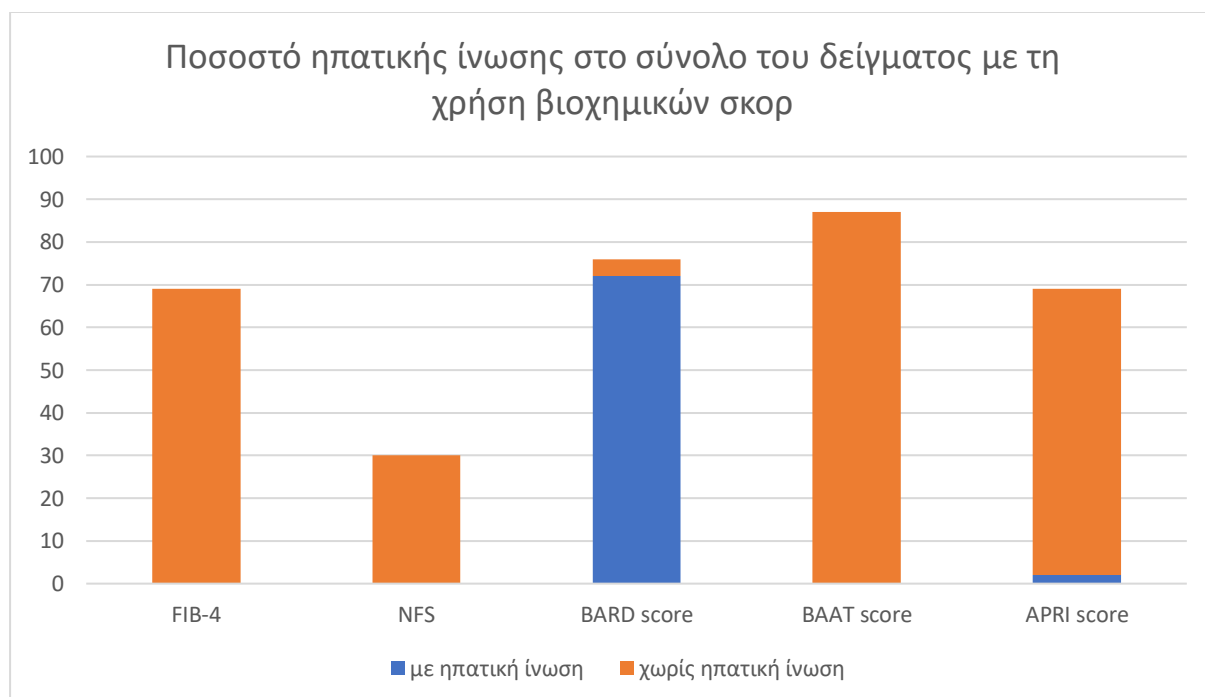
Όσον αφορά τους δείκτες ηπατικής ίνωσης από βιοχημικές παραμέτρους βρέθηκαν οι παρακάτω συχνότητες:

Πίνακας 6.6: Θετικότητα βιοχημικών σκορ ίνωσης στο σύνολο του δείγματος

FIB-4 [204,294]	0/69 (0%)
NFS [206]	0/30 (0%)
BARD score [208]	72/76 (94%)
BAAT score [210]	0/87 (0%)
APRI score [209]	2/69 (2,8%)

FIB-4: Fibrosis-4 index, NFS: NAFLD fibrosis score, APRI: AST to Platelet Ratio Index

Παρατηρήθηκε πως με τον δείκτη BARD η πλειοψηφία του δείγματος είχε θετικό σκορ, ωστόσο ήδη 2 πόντοι δίνονταν από το πηλίκο AST/ALT, το οποίο ήταν ≥ 0.8 στην πλειοψηφία του δείγματος.



Γράφημα 3: Ποσοστό ηπατικής στεάτωσης στο σύνολο του δείγματος με τη χρήση βιοχημικών σκορ

Μετρήθηκαν οι εξής ηπατοκίνες:



Από τις παραπάνω μεταβλητές κανονική κατανομή είχαν οι fetuin A και η SHBG, την οποία διατήρησαν και εντός των υποομάδων, ασθενών με PCOS και υγιών μαρτύρων.

Πίνακας 6.7 : Τιμές ηπατοκινών στο σύνολο του δείγματος

	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
<i>FGF21 (pg/mL)</i>	4,40	460,00	137,58	98,27
<i>Fetuin A (g/L)</i>	0,46	1,34	0,94	0,158
<i>Selenoprotein P (mg/ml)</i>	1,95	3,88	2,66	0,41
<i>SHBG (nmol/L)</i>	4,32	110,00	47,75	21,58

SHBG; sex hormone binding globulin, FGF21; Fibroblast growth factor

2. Σύγκριση μεταξύ των εφήβων με PCOS και των μαρτύρων

Αναζητήθηκαν διαφορές μεταξύ των 2 ομάδων (έφηβες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών και υγιείς μάρτυρες) σε όλες τις παραμέτρους που μετρήθηκαν.

Πίνακας 7.1. Δημογραφικά και σωματομετρικά χαρακτηριστικά ως προς την ομάδα

	PCOS	Μάρτυρες	p
Ηλικία (έτη) [§]	15,66 (2,49)	14,81 (2,00)	0,082
Εμμηναρχή (έτη)	11,96 ± 1,41	11,68 ± 0,91	0,281
Σωματική δραστηριότητα (ώρες/εβδομάδα) [§]	1,00 (5,00)	2,00 (4,75)	0,797
BMI (kg/m ²)	25,56 ± 5,28	23,14 ± 4,07	0,021
Εκατοστημόριο BMI ειδικό για την ηλικία [§]	87,70 (33,20)	78,85 (33,75)	0,123
ΣΑΠ (mmHg)	116,35 ± 10,44	113,00 ± 7,75	0,116
ΔΑΠ (mmHg)	67,92 ± 10,35	66,30 ± 7,45	0,442
WC (cm)	76,36 ± 10,23	72,71 ± 7,90	0,071
HC (cm)	102,54 ± 10,21	97,20 ± 8,57	0,011
WHR	0,74 ± 0,05	0,74 ± 0,06	0,704
WHtR	0,47 ± 0,07	0,46 ± 0,05	0,196
FG score [§]	12,00 (6,00)	4,00 (9,00)	<0,001

BMI: δείκτης μάζας σώματος, ΣΑΠ: συστολική αρτηριακή πίεση, ΔΑΠ: διαστολική αρτηριακή πίεση, WC: περίμετρος μέσης, HC: περίμετρος γοφών, WHR: λόγος WC προς HC, WHtR: λόγος WC προς ύψος, FG score: Ferriman-Gallway score

Οι τιμές αφορούν σε μέσο όρο (Μ.Ο.), τυπική απόκλιση (Τ.Α.), t-test και αντίστοιχο p-value.

[§]Οι τιμές αφορούν σε διάμεσο, ενδοτεταρτημοριακό εύρος, ελέγχους Mann-Whitney U και αντίστοιχο p-value.

Με έντονη γραφή σημειώνονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο ομάδες στο BMI, στην περίμετρο γοφών και στο Ferriman-Gallway score, με τις ασθενείς με PCOS να έχουν υψηλότερες τιμές από τις υγιείς μάρτυρες.

Πίνακας 7.2: Βιοχημικός έλεγχος ως προς την ομάδα

	PCOS	Μάρτυρες	p
SGOT (U/l)	17,50 (6,00)	16,00 (5,00)	0,315
SGPT (U/l)	14,00 (10,00)	13,00 (6,00)	0,011
γGT (U/l)	11,90 (8,00)	10,00 (5,00)	0,009
ALP (U/l)	74,00 (27,00)	82,00 (40,00)	0,388
TC (mg/dl)	148,50 (28,00)	146,50 (43,15)	0,657
LDL (mg/dl)	84,00 (32,50)	82,10 (34,70)	0,984
HDL (mg/dl)	53,38 ± 12,54	59,19 ± 11,76	0,039
TRG (mg/dl)	66,65 (41,00)	59,00 (32,30)	0,699
LpA (nmol/L) [§]	14,50 (40,70)	12,10 (15,25)	0,380
ApoB (mg/dL) [§]	74,60 (21,00)	55,00 (32,00)	0,308
ApoA1 (mg/dL)	135,12 ± 19,11	141,83 ± 30,29	0,533
Ca (mg/dl)	9,65 ± 0,29	9,70 ± 0,27	0,572
P (mg/dl)	4,09 ± 0,48	4,20 ± 0,33	0,363
PLT 10 ³ /uL	282,92 ± 62,22	257,36 ± 63,59	0,087
VitD (ng/mL)	26,13 ± 8,66	26,70 ± 7,76	0,790

SGOT: οξαλοξική τρανσαμινάση, SGPT: πυροσταφυλική τρανσαμινάση, γGT, γ-γλουταμυλτρανσφεράσης, ALP: αλκαλική φωσφατάση, TC: ολική χοληστερόλη: LDL: λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας, HDL: λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας TG: τριγλυκερίδια, LpA: λιποπρωτεΐνηA, ApoB: απολιποπρωτεΐνη B, ApoA: απολιποπρωτεΐνη A1, Ca: ασβέστιο, P: φωσφορος, PLT: αιμοπετάλια, VitD: 25-OH-vitamin D
Οι τιμές αφορούν σε μέσο όρο (Μ.Ο.), τυπική απόκλιση (Τ.Α.), t-test και αντίστοιχο p-value.

[§]Οι τιμές αφορούν σε διάμεσο, ενδοτεταρτημοριακό εύρος, ελέγχους Mann-Whitney U και αντίστοιχο p-value.

Με έντονη γραφή σημειώνονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Όσον αφορά τα ηπατικά ένζυμα, η γGT και η SGPT ήταν σημαντικά υψηλότερες στην ομάδα του PCOS.

Παρατίθεται ο ορμονολογικός έλεγχος στις δύο ομάδες του δείγματος, χωρίς ωστόσο οι διαφορές που παρατηρήθηκαν στην LH και την οιστραδιόλη ορού να έχουν κλινική σημασία.

Πίνακας 7.3: Ορμονολογικός έλεγχος ως προς την ομάδα

	PCOS	Μάρτυρες	p
<i>FSH</i> (mIU/mL)	4,98 ± 1,92	5,27 ± 2,28	0,540
<i>LH</i> (mIU/mL) [§]	5,91 (7,67)	2,95 (2,60)	0,002
<i>E2</i> (pg/mL) [§]	40,65 (23,55)	28,00 (22,18)	0,018
<i>PRL</i> (ng/mL) [§]	12,36 (8,70)	12,80 (8,10)	0,451
<i>TSH</i> (μIU/mL) [§]	1,55 (0,59)	1,55 (1,07)	0,814
<i>T3</i> (ng/dL) [§]	1,17 (0,16)	1,14 (0,33)	0,518
<i>fT4</i> (ng/dL) [§]	1,04 (0,37)	0,96 (0,17)	0,196
<i>PTH</i> (pg/mL)	37,93 ± 12,36	43,08 ± 21,65	0,465

FSH: Θυλακιοτρόπος ορμόνη, *LH*: Ωχρινοτρόπος ορμόνη, *E2*: Οιστραδιόλη, *PRL*: Προλακτίνη, *TSH*: Θυρεοτρόπος ορμόνη, *T3*: Τριωδοθυρονίνη, *fT4*: Ελεύθερη θυροξίνη, *PTH*: Παραθορμόνη. Οι τιμές αφορούν σε μέσο όρο (Μ.Ο.), τυπική απόκλιση (Τ.Α.), t-test και αντίστοιχο p-value.

[§]Οι τιμές αφορούν σε διάμεσο, ενδοτεταρτημοριακό εύρος, ελέγχους Mann-Whitney U και αντίστοιχο p-value.

Με έντονη γραφή σημειώνονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Πίνακας 7.4: Ανδρογόνα ως προς την ομάδα

	PCOS	Μάρτυρες	p
<i>Testosterone</i> [§] (ng/mL)	0,41 (0,22)	0,32 (0,16)	0,001
<i>FAI</i> [§]	3,53 (3,70)	1,92 (1,48)	<0,001
<i>DHEA-S</i> (μg/dL)	243,48 ± 105,54	244,67 ± 97,42	0,959
<i>17-OH-PRG</i> (ng/mL) [§]	1,57 (0,93)	1,16 (0,69)	0,031
<i>SHBG</i> (nmol/L)	40,08 ± 18,94	55,32 ± 21,49	0,002
<i>Δ4</i> (ng/dL) [§]	3,10 (1,84)	2,62 (1,86)	0,065

FAI: Free androgen index, *DHEA-S*: θειϊκή δεϋδροεπιανδροστερόνη, *17-OH-PRG*: 17υδρόξυπρογεστερόνη, *SHBG*: Sex hormone binding globulin, *Δ4*: Δ4-ανδροστενεδιόνη

Οι τιμές αφορούν σε μέσο όρο (Μ.Ο.), τυπική απόκλιση (Τ.Α.), t-test και αντίστοιχο p-value.

[§]Οι τιμές αφορούν σε διάμεσο, ενδοτεταρτημοριακό εύρος, ελέγχους Mann-Whitney U και αντίστοιχο p-value.

Με έντονη γραφή σημειώνονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Η στατιστικά σημαντικά υψηλότερη τεστοστερόνη, το υψηλότερο FAI καθώς και η χαμηλότερη SHBG ήταν αναμενόμενα αποτελέσματα για την ομάδα PCOS. Η διαφορά της

ανδροστενεδιόνης ήταν στα όρια της στατιστικής σημαντικότητας. Η μέτρηση της 17-OH-προγεστερόνης δεν έχει κλινική σημασία στο PCOS και μετρήθηκε για τον αποκλεισμό συγγενούς υπερπλασίας επινεφριδίων. Στις έφηβες με 17OH-PRG>2 ng/mL έγινε Synachten test αλλά δεν ανευρέθηκαν περιπτώσεις με συγγενή υπερπλασία επινεφριδίων.

Ακολουθεί ο πίνακας με τις μέσες τιμές γλυκόζης, ινσουλίνης και βιοχημικών σκορ εκτίμησης την ινσουλινοαντίστασης στις δύο ομάδες:

Πίνακας 7.5: Παράμετροι μεταβολισμού γλυκόζης και ινσουλινοαντίστασης ως προς την ομάδα

	PCOS	Μάρτυρες	p
<i>Glu</i> (mg/dl)	87,88 ± 7,48	83,37 ± 5,92	0,004
<i>Ins</i> (μU/mL) [§]	11,80 (7,80)	9,60 (6,50)	0,066
<i>QUICKI</i>	0,33 ± 0,02	0,35 ± 0,03	0,006
<i>HOMA-IR</i> [§]	2,45 (1,63)	1,88 (1,24)	0,015
<i>G-I ratio</i> [§]	7,37 (5,15)	8,58 (6,95)	0,090

Glu: γλυκόζη νηστείας, *Ins*: Ινσουλίνη, *QUICKI*: Quantitative Insulin Sensitivity Check Index, *HOMA-IR*: Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance, *G-I ratio*: Glucose to insulin ratio

Οι τιμές αφορούν σε μέσο όρο (M.O.), τυπική απόκλιση (T.A.), t-test και αντίστοιχο p-value.

[§]Οι τιμές αφορούν σε διάμεσο, ενδοτεταρτημοριακό εύρος, ελέγχους Mann-Whitney U και αντίστοιχο p-value.

Με έντονη γραφή σημειώνονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Οι δείκτες ινσουλινοαντίστασης QUICKI και HOMA ήταν επιδεινωμένοι στην ομάδα των PCOS, και διέφεραν σημαντικά ανάμεσα στις δύο ομάδες.

Ο επόμενος πίνακας παρουσιάζει τις διαφορές στις υπερηχογραφικές μετρήσεις ανάμεσα στις 2 ομάδες:

Πίνακας 7.6: Υπερηχογραφικές μετρήσεις ως προς την ομάδα

	PCOS	Μάρτυρες	p
Ωοθηκικός όγκος (cm ³)	11,45 ± 3,71	5,52 ± 2,22	<0,001
Πάχος ενδομητρίου (mm)	5,08 ± 2,04	5,63 ± 2,08	0,355
Μέγιστο cIMT (mm)	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,537

cIMT: carotid intima media thickness,

Οι τιμές αφορούν σε μέσο όρο (Μ.Ο.), τυπική απόκλιση (Τ.Α.), t-test και αντίστοιχο p-value.

Με έντονη γραφή σημειώνονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Όπως ήταν αναμενόμενο, οι έφηβες με PCOS παρουσίαζαν αυξημένο όγκο ωοθηκών βάσει των υπερηχογραφικών μετρήσεων. Δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά ανάμεσα του cIMT των δύο ομάδων.

Ο επόμενος πίνακας παρουσιάζει τις διαφορές στις υπερηχογραφικές μετρήσεις του ήπατος καθώς και στην εξέταση της ελαστογραφίας ανάμεσα στις 2 ομάδες:

Πίνακας 7.7: Υπερηχογραφικές μετρήσεις ως προς την ομάδα

	PCOS	Μάρτυρες	p
Υπερηχογραφική διάγνωση NAFLD [†]	10 (22,7%)	2 (6,1%)	0,046
Fibroscan stiffness	6,25 ± 1,55	6,88 ± 3,61	0,570
Fibroscan IQR	1,48 ± 0,72	1,30 ± 0,61	0,496
Διάγνωση ίνωσης με fibroscan	3/13 (23,1%)	3/14 (21,4%)	0,918

IQR: interquartile range

Οι τιμές αφορούν σε μέσο όρο (Μ.Ο.), τυπική απόκλιση (Τ.Α.), t-test και αντίστοιχο p-value.

[†]Οι τιμές αφορούν σε απόλυτες και σχετικές συχνότητες και αντίστοιχο p-value του χ² ελέγχου.

Με έντονη γραφή σημειώνονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Σχετικά με το βασικό ερώτημα την παρούσας μελέτης, σημαντικά περισσότερες έφηβες με PCOS διαγνώσθηκαν με λιπώδες ήπαρ κατά τον υπερηχογραφικό έλεγχο. Αντίθετα, κατά τον έλεγχο με ελαστογραφία δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο

ομάδες, είτε η τιμή stiffness του Fibroscan® χρησιμοποιήθηκε σαν ποσοτική, είτε ως κατηγορική μεταβλητή, με cut-off το 7,90.

Ο παρακάτω πίνακας παρουσιάζει τις τιμές των υπολογιζόμενων δεικτών ηπατικής στεάτωσης στις δύο ομάδες, υγιείς μάρτυρες και έφηβες με PCOS.

Πίνακας 7.8: Σκορ ηπατικής στεάτωσης ως προς την ομάδα (ως ποσοτικές μεταβλητές)

	PCOS	Μάρτυρες	p
<i>Liver fat score</i> [§]	-1,56 (1,32)	-2,07 (1,21)	0,019
<i>Fatty liver index</i> [§]	2,78 (22,82)	0,44 (2,82)	0,007
<i>Visceral adiposity index</i> [§]	0,92 (0,55)	0,75 (0,65)	0,239
<i>Lipid accumulation product</i>	16,62 ± 12,00	12,76 ± 8,05	0,078
<i>Hepatic Steatosis Index</i> [§]	35,46 (10,73)	30,98 (6,33)	0,004
<i>PCOS-HS index</i>	0,48 ± 0,44	0,48 ± 0,46	0,998
<i>ALT/τριγλυκερίδια</i> [§]	3,73 (2,49)	3,12 (1,67)	0,009

ALT: πυροσταφυλική τρανσαμινάση

Οι τιμές αφορούν σε μέσο όρο (M.O.), τυπική απόκλιση (T.A.), t-test και αντίστοιχο p-value.

[§]Οι τιμές αφορούν σε διάμεσο, ενδοτεταρτημοριακό εύρος, ελέγχους Mann-Whitney U και αντίστοιχο p-value.

Με έντονη γραφή σημειώνονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Πίνακας 7.9: Σκορ ηπατικής στεάτωσης ως προς την ομάδα (ως κατηγορικές μεταβλητές)

	PCOS	Μάρτυρες	p
<i>Liver fat score</i>	24.4%	8.57%	0,064
<i>Fatty liver index</i>	9.52%	0%	0,064
<i>Visceral adiposity index</i>	6.6%	0%	0,125
<i>Lipid accumulation product</i>	4.25%	0%	0,187
<i>Hepatic Steatosis Index</i>	40.9%	14.2%	0,010
<i>PCOS-HS</i>	45.2%	50%	0,684
<i>ALT/τριγλυκερίδια</i>	11.1%	2.9%	0,175

<i>Tomizawa index</i>	8.5%	0%	0.059
-----------------------	------	----	-------

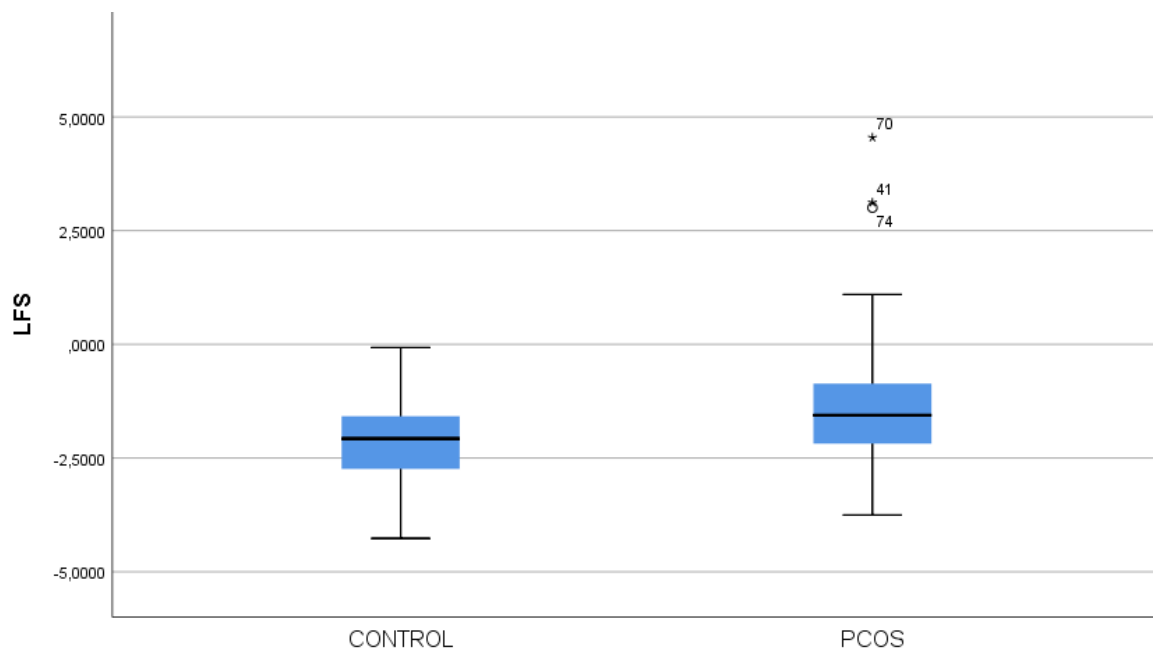
ALT: πυροσταφυλική τρανσαμινάση

Οι τιμές αφορούν σε μέσο όρο (M.O.), τυπική απόκλιση (T.A.), t-test και αντίστοιχο p-value.

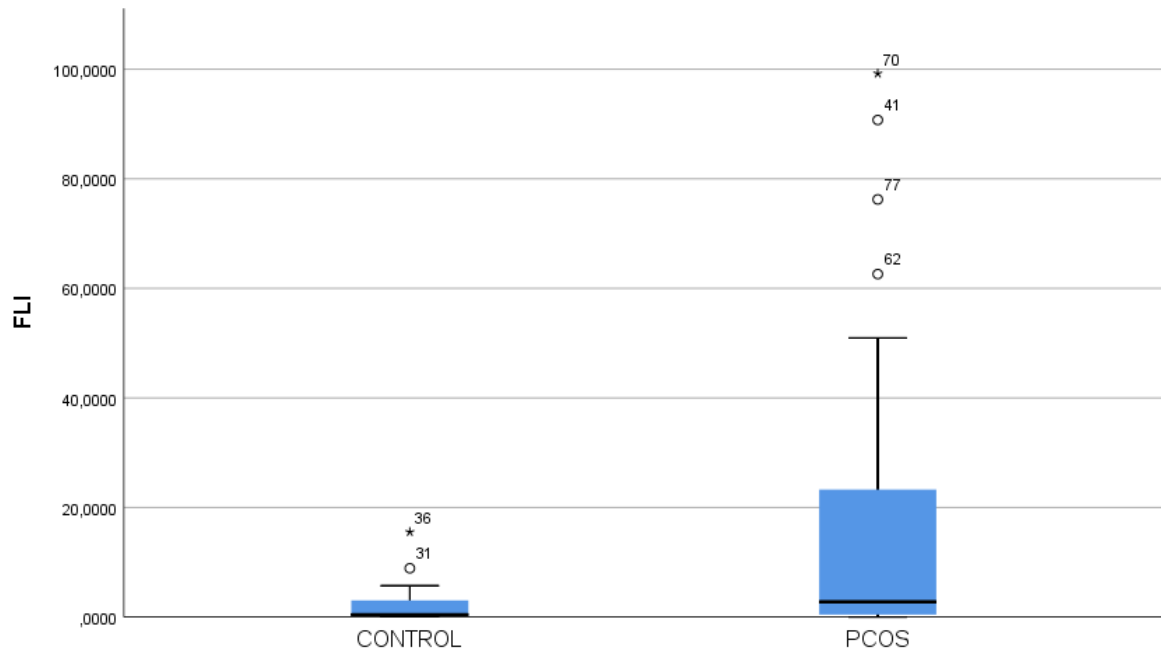
^sΟι τιμές αφορούν σε διάμεσο, ενδοτεταρτημοριακό εύρος, ελέγχους Mann-Whitney U και αντίστοιχο p-value.

Με έντονη γραφή σημειώνονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

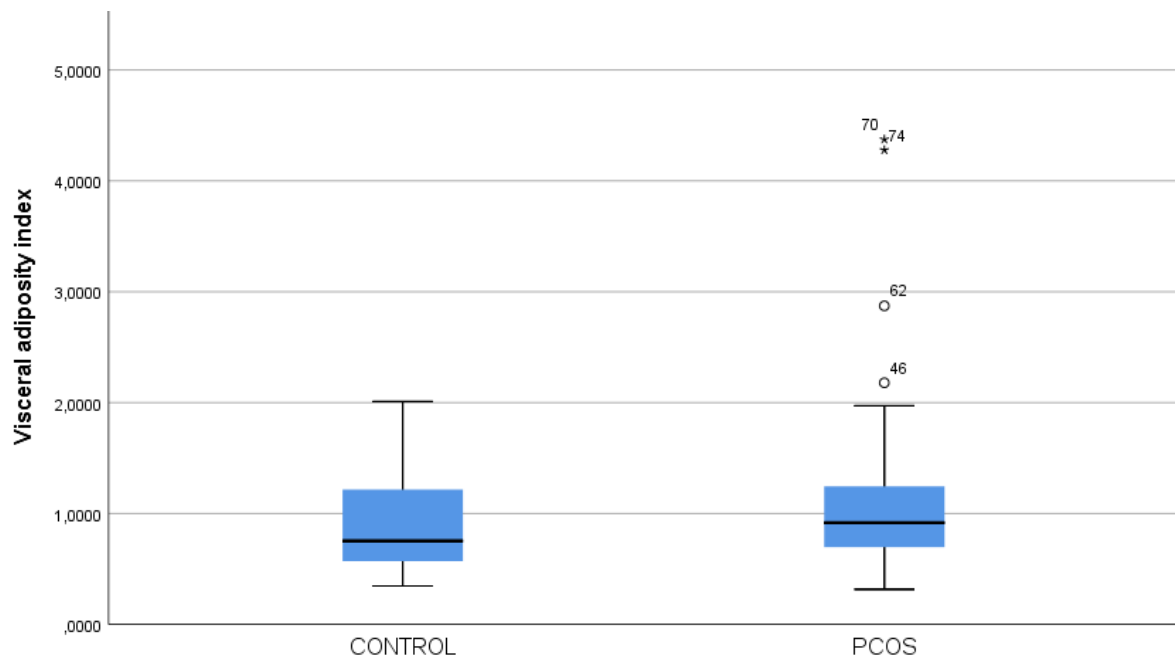
Τα αποτελέσματα επιβεβαίωσαν τη διαφορά που βρέθηκε με το υπερηχογράφημα. Όλοι οι δείκτες ήταν υψηλότεροι (πιο επηρεασμένοι) στην ομάδα του PCOS. Στα LFS, FLI, HSI, ALT/TRG ratio ως ποσοτικές μεταβλητές οι διαφορές ήταν στατιστικά σημαντικές. Χρησιμοποιώντας τα cut-off που προτείνονται από τους δημιουργούς του κάθε δείκτη έγινε και σύγκριση της συχνότητας διάγνωσης της ηπατικής στεάτωσης με τον καθένα από αυτούς ανάμεσα στις δύο ομάδες. Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές των διαγνώσεων στεάτωσης βάσει του δείκτη HSI μεταξύ μαρτύρων και εφήβων με PCOS.



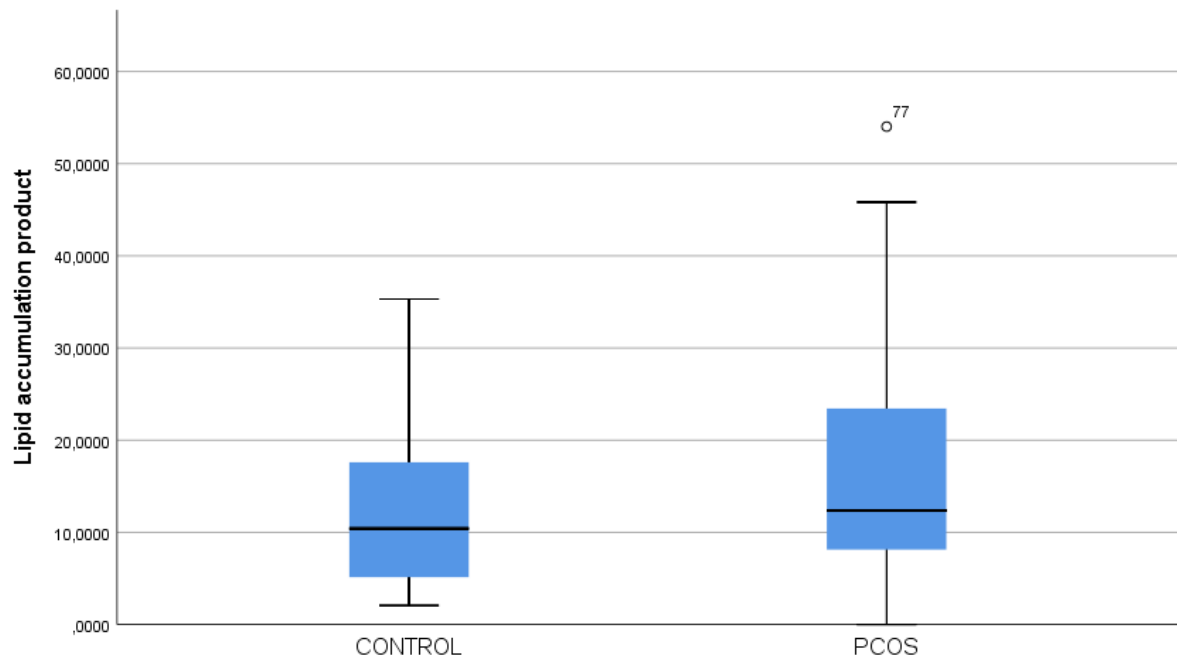
Γράφημα 4: Βoxplot των τιμών του LFS στις έφηβες με PCOS και τις μάρτυρες



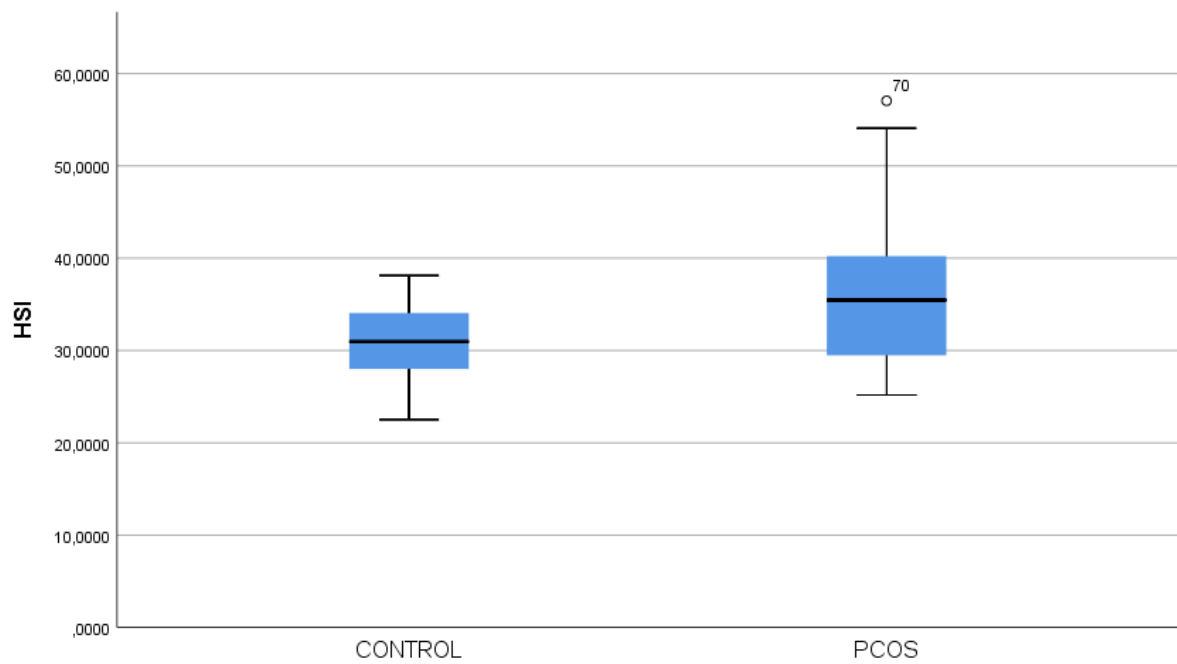
Γράφημα 5: Βοχplot των τιμών του FFI στις έφηβες με PCOS και τις μάρτυρες



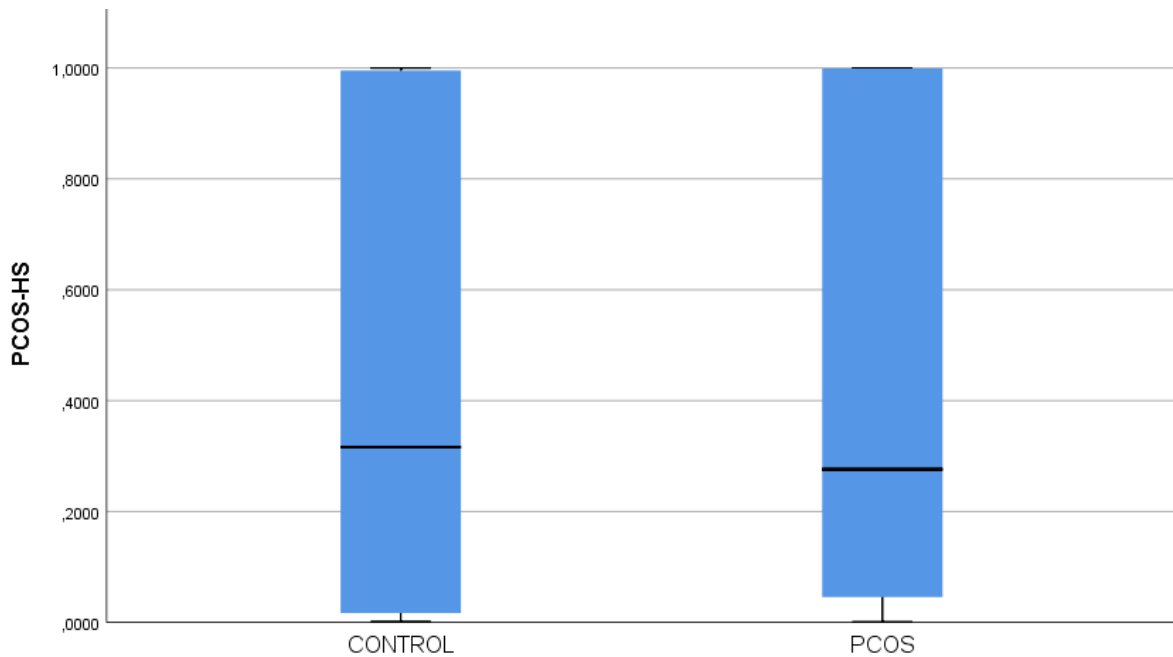
Γράφημα 6: Βοχplot των τιμών του VAI στις έφηβες με PCOS και τις μάρτυρες



Γράφημα 7: Βοχplot των τιμών του LAP στις έφηβες με PCOS και τις μάρτυρες



Γράφημα 8: Βοχplot των τιμών του HSI στις έφηβες με PCOS και τις μάρτυρες



Γράφημα 9: Βoxplot των τιμών του PCOS-HS στις έφηβες με PCOS και τις μάρτυρες

A. Διαστρωμάτωση βάσει BMI

Διαχωρίζοντας το δείγμα σε νορμοβαρείς έφηβες ($BMI < 25 \text{ kg/m}^2$) και σε έφηβες με υπερβαρότητα ή παχυσαρκία ($BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$) αναζητήθηκε εάν η διάγνωση της ηπατικής στεάτωσης είναι συχνότερη στο PCOS ανεξαρτήτως της υπερβαρότητας. Το υψηλότερο ποσοστό ηπατικής στεάτωσης των εφήβων με PCOS έναντι των μαρτύρων διατηρήθηκε μόνο στην ομάδα των εφήβων με υπερβαρότητα ή παχυσαρκία και όχι στην ομάδα των νορμοβαρών. Η διαφορά στους δείκτες FLI, HSI και ALT/TRG ήταν στατιστικά σημαντική αλλά στους δυο πρώτους δείκτες το BMI συμμετέχει στον υπολογισμό τους. Στην υπερηχογραφική διάγνωση λιπώδους ήπατος, ενώ στις υπέρβαρες έφηβες με PCOS υπήρχε ενδεικτική αύξηση των διαγνώσεων σε σχέση με τις υπέρβαρες μάρτυρες, η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική.

Πίνακας 7.10 Διαφορές στην επίπτωση της ηπατικής στεάτωσης μεταξύ PCOS και μαρτύρων στις δύο ομάδες BMI

	Με φυσιολογικό βάρος			Με υπερβαρότητα/παχυσαρκία		
	PCOS (n=24)	Μάρτυρες (n=28)	p	PCOS (n=23)	Μάρτυρες (n=12)	p
FLI [§]	0.37 (0.63)	0.26 (0.31)	0.273	19.71 (22.92)	3.42 (3.20)	0.001
HSI [§]	29.24 (2.33)	28.30 (4.16)	0.339	40.10 (6.40)	34.90 (3.91)	0.001
ALT/TG [§]	3.33 (1.59)	3.21 (1.50)	0.458	4.08 (2.75)	2.74 (2.06)	0.008
Υπερηχογραφική διάγνωση NAFLD [†]	3 (14.3%)	2 (9.5%)	>0.999	7 (30.4%)	0 (0.0%)	0.070

LFS: liver fat score: FLI, fatty liver index: HSI, hepatic steatosis index, ALT, ALT: πυροσταφυλική τρανσαμινάση, TG: Τριγλυκερίδια

[§]Οι τιμές αφορούν σε διάμεσο, ενδοτεταρτημοριακό εύρος, ελέγχους Mann-Whitney U και αντίστοιχο p-value.

[†]Οι τιμές αφορούν σε απόλυτες και σχετικές συχνότητες και αντίστοιχο p-value του χ^2 ελέγχου. Με έντονη γραφή σημειώνονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Οι πιθανότητες οι έφηβες με PCOS, σε σχέση με τις μάρτυρες, να παρουσίαζαν ηπατική στεάτωση (με υπερηχογραφική διάγνωση) ήταν 4,55 προς 1 (OR 4.55, 95% CI 0,92-22,45). Ο λόγος πιθανοτήτων μειώθηκε στο 1,73 προς 1 στις αντίστοιχες νορμοβαρείς ασθενείς (OR 1,73, 95% CI 0,26-11,51).

B. Διαστρωμάτωση βάσει της αντίστασης στην ινσουλίνη

Στη συνέχεια, το δείγμα χωρίστηκε ανάλογα με την αντίσταση στην ινσουλίνη, χρησιμοποιώντας τον δείκτη HOMA-IR. Χρησιμοποιήθηκε το όριο του 2,32 που προτείνεται στη βιβλιογραφία για τον εφηβικό πληθυσμό. Σε κανένα από τα δύο επίπεδα ευαισθησίας στην ινσουλίνη (χαμηλή ή υψηλή ευαισθησία) δεν βρέθηκαν διαφορές μεταξύ PCOS ασθενών και υγιών μαρτύρων στη διάγνωση ηπατικής στεάτωσης.

Πίνακας 7.11 Διαφορές στην επίπτωση της ηπατικής στεάτωσης μεταξύ PCOS και μαρτύρων στις δύο ομάδες ευαισθησίας στην ινσουλίνη

	Με HOMA-IR<2,32			Με HOMA-IR>2,32		
	PCOS (n=19)	Μάρτυρες (n=19)	p	PCOS (n=22)	Μάρτυρες (n=11)	p
LFS [§]	-2.01 (1.06)	-2.38 (0.83)	0.064	-0.88 (2.00)	-1.29 (0.74)	0.272
FLI [§]	0.49 (2.42)	0.40 (1.22)	0.366	16.17 (43.68)	2.90 (5.24)	0.076
HSI [§]	30.26 (7.70)	30.29 (4.65)	0.194	37.95 (12.79)	34.32 (5.68)	0.088

LFS; liver fat score; FLI, fatty liver index; HSI, hepatic steatosis index,

[§]Οι τιμές αφορούν σε διάμεσο, ενδοτεταρτημοριακό εύρος, ελέγχους Mann-Whitney U και αντίστοιχο p-value. Με έντονη γραφή σημειώνονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Οι πιθανότητες οι έφηβες με PCOS, σε σχέση με τις μάρτυρες, να παρουσίαζαν ηπατική στεάτωση (με υπερηχογραφική διάγνωση) ήταν 4,55 προς 1 (OR 4.55, 95% CI 0,92-22,45). Ο λόγος πιθανοτήτων μειώθηκε στο 2 προς 1 στις ασθενείς που δεν είχαν ινσουλινοαντίσταση (OR 2.00, 95% CI 0,16-24,32).

Δεδομένης της διακύμανσης του λόγου πιθανοτήτων κατά τη διαστρωμάτωση του BMI και της ινσουλινοαντίστασης, μπορούν οι δύο αυτοί παράγοντες να θεωρηθούν τροποποιητικοί της σχέσης PCOS – NAFLD.

Στη συνέχεια αναζητήθηκαν διαφορές στους δείκτες ηπατικής ίνωσης μεταξύ μαρτύρων και εφήβων με PCOS. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, στον έλεγχο με Fibroscan® μεταξύ των δύο ομάδων δεν βρέθηκαν διαφορές. Αντίστοιχα, ούτε στους δείκτες (είτε ως ποσοτικές είτε ως κατηγορικές μεταβλητές) παρατηρήθηκε διαφορά μεταξύ μαρτύρων και εφήβων με PCOS, γεγονός που αποδεικνύει πως η διαδικασία της NAFLD δεν είχε δημιουργήσει τόσο μεγάλη βλάβη στις ασθενείς με PCOS.

Πίνακας 7.12: Σκορ ηπατικής ίνωσης ως προς την ομάδα (ως ποσοτικές μεταβλητές)

	PCOS	Μάρτυρες	p
--	------	----------	---

<i>FIB-4 index</i> [§]	0,24 (0,08)	0,24 (0,11)	0,178
<i>NFS</i>	-4,53 ± 1,03	-4,16 ± 1,31	0,411
<i>APRI</i> [§]	0,20 (0,09)	0,18 (0,10)	0,957

FIB-4: Fibrosis-4 index, NFS: NAFLD fibrosis score, APRI: AST to Platelet Ratio Index

Οι τιμές αφορούν σε μέσο όρο (Μ.Ο.), τυπική απόκλιση (Τ.Α.), t-test και αντίστοιχο p-value.

[§]*Οι τιμές αφορούν σε διάμεσο, ενδοτεταρτημοριακό εύρος, ελέγχους Mann-Whitney U και αντίστοιχο p-value.*

Με έντονη γραφή σημειώνονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Πίνακας 7.13: Σκορ ηπατικής ίνωσης ως προς την ομάδα (ως κατηγορικές μεταβλητές)

	PCOS	Μάρτυρες	p
<i>FIB4</i>	0%	0%	0,999
<i>NFS</i>	0%	0%	0,999
<i>APRI</i>	2.7%	3%	0,955
<i>BAAT score</i>	2.1%	0%	0.353
<i>BARD score</i>	92.5%	97,2%	0,357

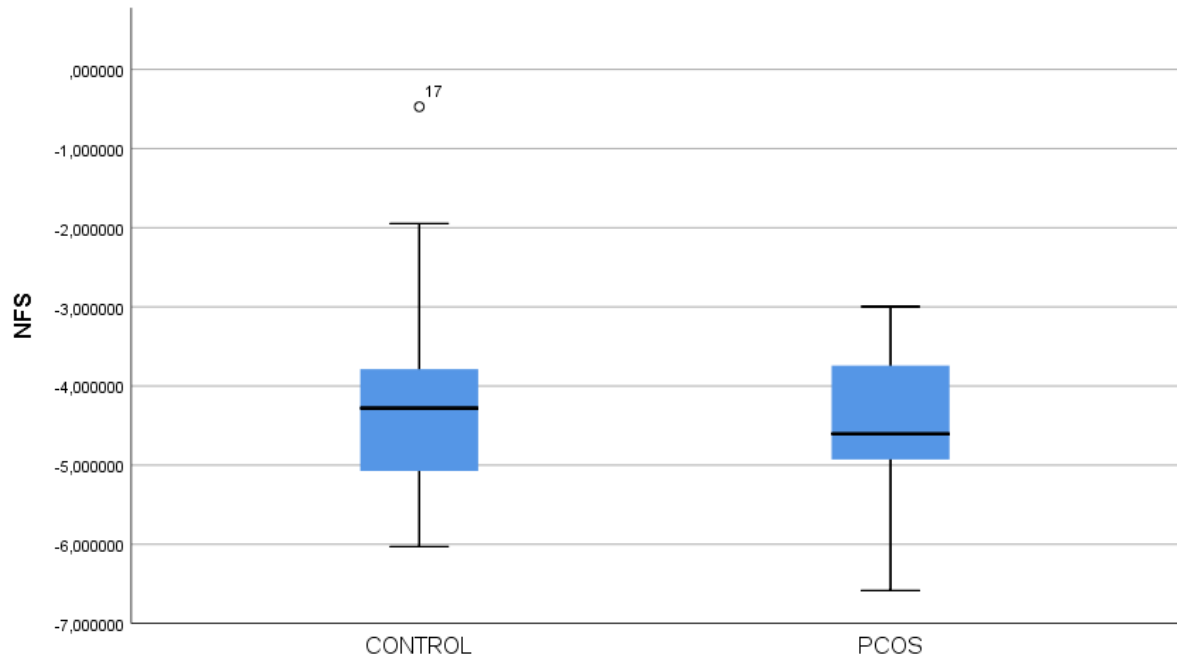
FIB-4: Fibrosis-4 index, NFS: NAFLD fibrosis score, APRI: AST to Platelet Ratio Index

Οι τιμές αφορούν σε μέσο όρο (Μ.Ο.), τυπική απόκλιση (Τ.Α.), t-test και αντίστοιχο p-value.

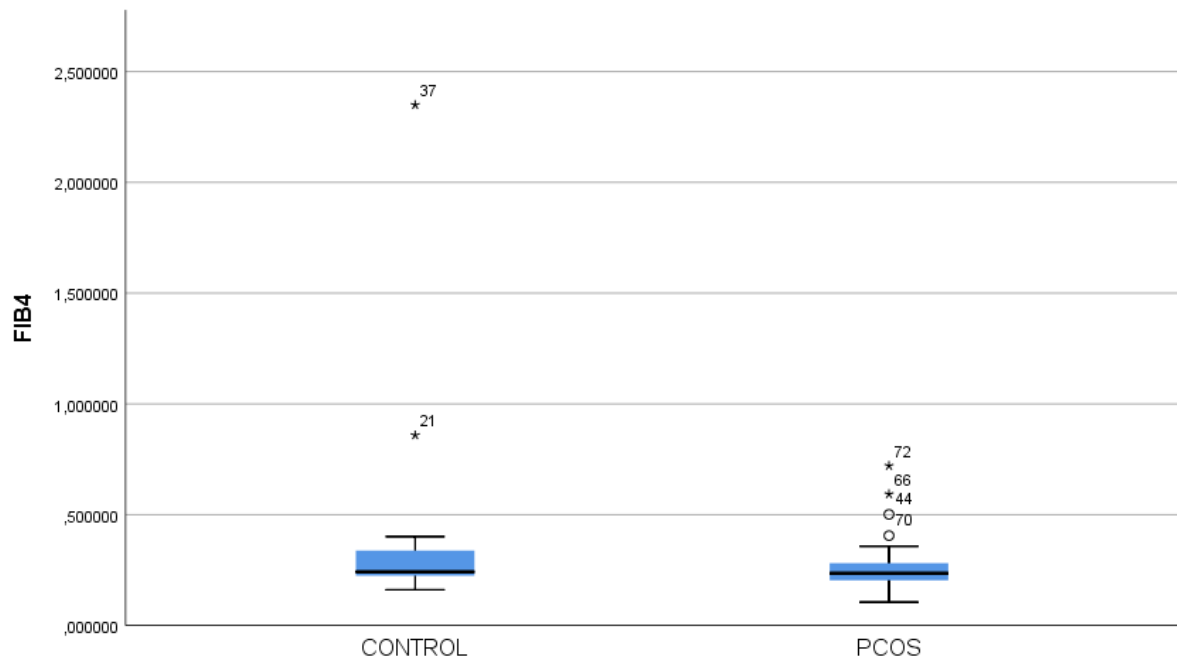
[§]*Οι τιμές αφορούν σε διάμεσο, ενδοτεταρτημοριακό εύρος, ελέγχους Mann-Whitney U και αντίστοιχο p-value.*

Με έντονη γραφή σημειώνονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

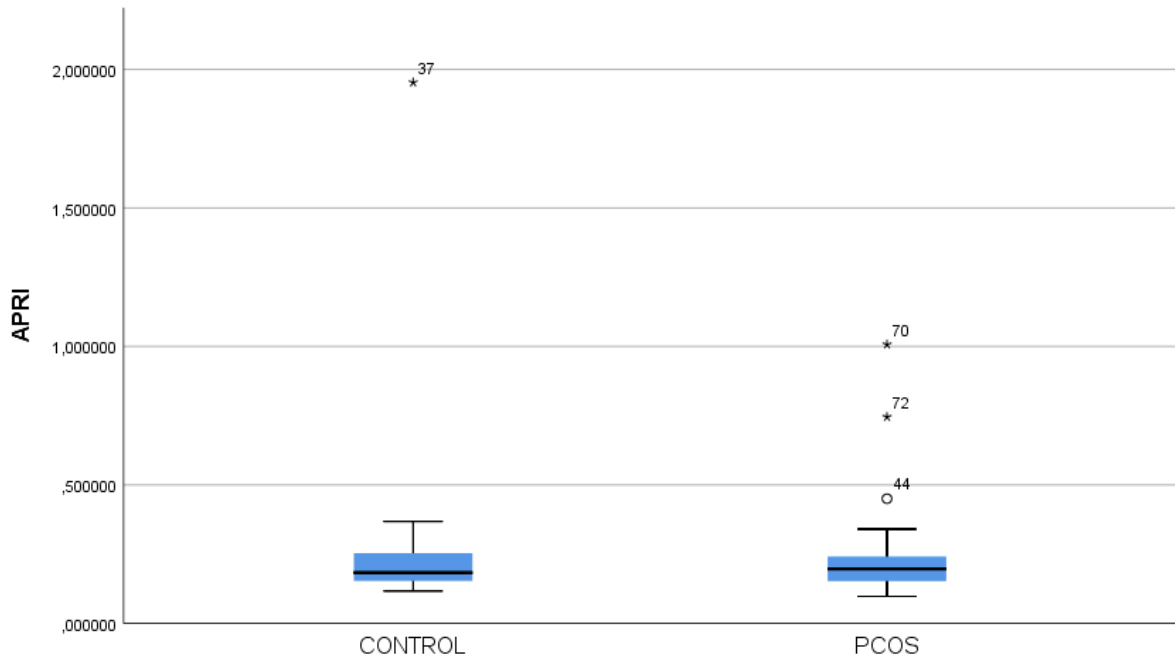
Από τη ανάλυσή τους ως κατηγορικές μεταβλητές βάσει των cut-offs που δόθηκαν από τους δημιουργούς, μία μόνο ασθενής με PCOS είχε BAAT score>1, μία ασθενής από κάθε ομάδα είχε APRI παθολογικό και καμία FIB-4 παθολογικό. Όσον αφορά το σκορ BARD σε αυτό εμφανίστηκαν ασυνήθιστα υψηλά ποσοστά παθολογικών τιμών με άνω των 90% των μαρτύρων και των ασθενών να έχουν παθολογικές τιμές, ενδεικτικές ίνωσης καθώς η πλειοψηφία των ασθενών είχε AST/ALT>0.8.



Γράφημα 10: Βοχplot των τιμών του NFS στις έφηβες με PCOS και τις μάρτυρες



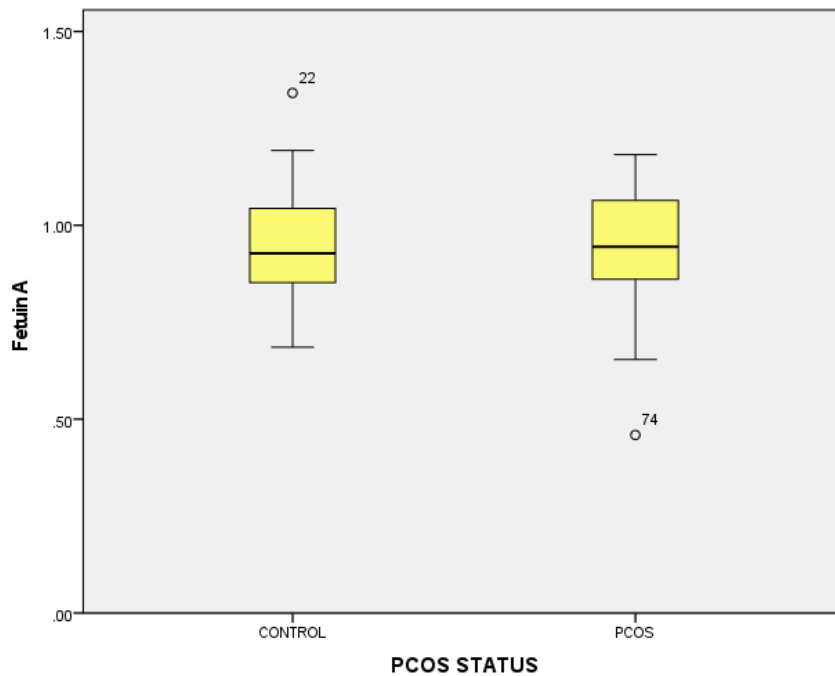
Γράφημα 11: Βοχplot των τιμών του FIB-4 στις έφηβες με PCOS και τις μάρτυρες



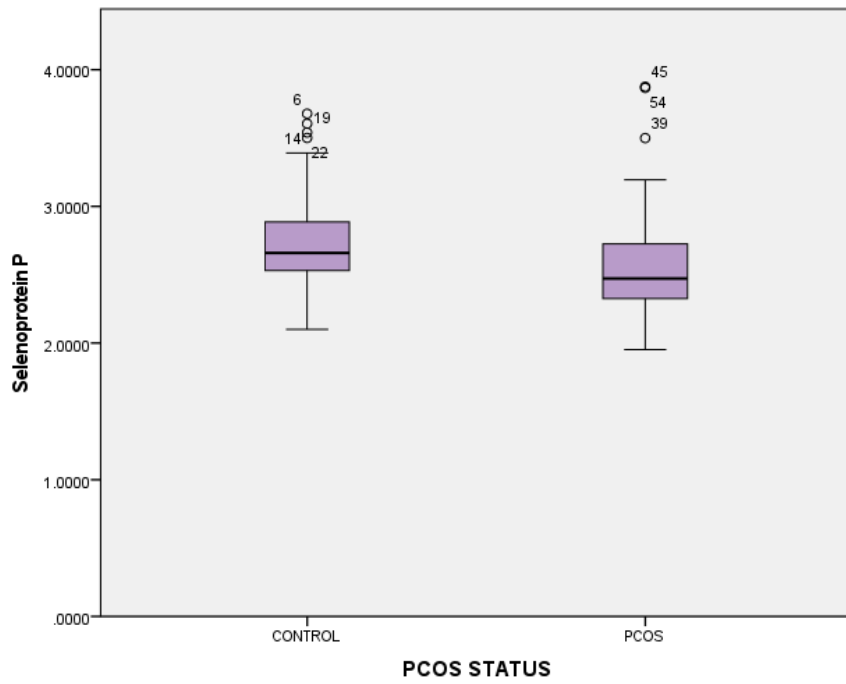
Γράφημα 12: Βοχplot των τιμών του APRI στις έφηβες με PCOS και τις μάρτυρες

Στη συνέχεια, συγκρίθηκαν οι ηπατοκίνες μεταξύ των υγιών μαρτύρων και των ασθενών με PCOS.

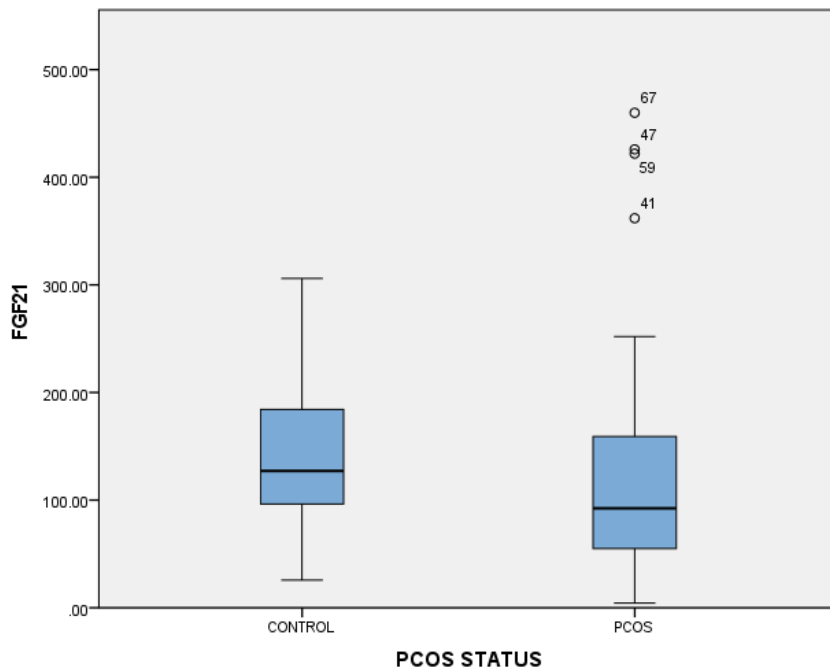
Παρακάτω παρουσιάζονται τα βοχplots των τιμών ανά ηπατοκίνη για κάθε ομάδα:



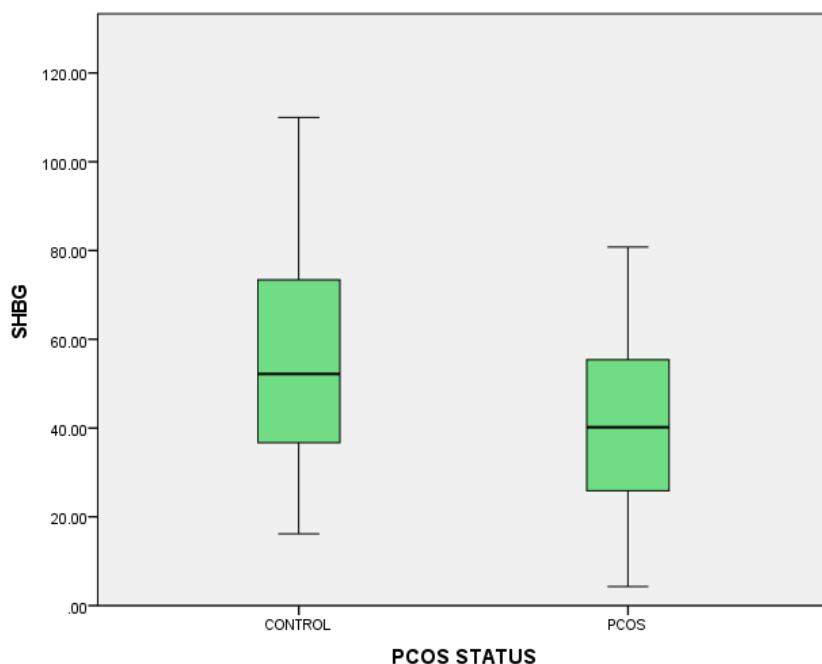
Γράφημα 13: Βοχplot των τιμών της fetuinA στις έφηβες με PCOS και τις μάρτυρες



Γράφημα 14: Βοχplot των τιμών της SelenoproteinP στις έφηβες με PCOS και τις μάρτυρες



Γράφημα 15: Βοχplot των τιμών του FGF21 στις έφηβες με PCOS και τις μάρτυρες



Γράφημα 16: Βοχplots των τιμών της SHBG στις έφηβες με PCOS και τις μάρτυρες

Όπως φαίνεται και στον πίνακα που ακολουθεί, η Selenoprotein P και η SHBG παρουσιάζαν στατιστικά σημαντική υψηλότερη συγκέντρωση στην ομάδα των υγιών μαρτύρων σε σχέση με τις έφηβες με PCOS.

Πίνακας 7.14: Ηπατοκίνες ως προς τη διάγνωση PCOS

	PCOS	Μάρτυρες	<i>p</i>
<i>fetuin A</i>	0.94 ± 0,16	0,94 ± 0,15	0,972
<i>FGF21</i> [§]	90,00 (110,40)	127,20 (87,80)	0,077
<i>selenoprotein</i> [§]	2,47 (0,40)	2,66 (0,36)	0,025
<i>SHBG</i>	41,71 ± 19,41	54,94 ± 22,12	0,011

FGF21; Fibroblast growth factor 21, *SHBG*; Sex hormone binding globulin

Οι τιμές αφορούν σε μέσο όρο (Μ.Ο.), τυπική απόκλιση (Τ.Α.), *t*-test και αντίστοιχο *p*-value.

[§]Οι τιμές αφορούν σε διάμεσο, ενδοτεταρτημοριακό εύρος, ελέγχους Mann-Whitney *U* και αντίστοιχο *p*-value.

Με έντονη γραφή σημειώνονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

3. Σύγκριση μεταξύ νορμοβαρών εφήβων και εφήβων με υπερβαρότητα/παχυσαρκία

Στη συνέχεια συγκρίθηκαν οι φυσιολογικού βάρους έφηβες με εκείνες που είχαν υπερβαρότητα ή παχυσαρκία.

Πίνακας 8.1: Δημογραφικά και σωματομετρικά χαρακτηριστικά ως προς το BMI

	Μάρτυρες Φυσιολογικού βάρους	Μάρτυρες Υπέρβαρες/ παχύσαρκες	p	PCOS Φυσιολογικού βάρους	PCOS Υπέρβαρες/ παχύσαρκες	p
Ηλικία (έτη)	14,95 ± 1,46	15,05 ± 1,35	0,839	15,48 ± 1,48	15,70 ± 1,82	0,649
Εμμηναρχή (έτη)	11,71 ± 0,98	11,60 ± 0,74	0,694	12,57 ± 1,33	11,45 ± 1,25	0,006
Σωματική άσκηση (h/w) [§]	0,5 (4,9)	3 (6,4)	0,439	2,00 (5,00)	0,00 (5,00)	0,778
ΣΑΠ(mmHg)	111.20 ± 6.72	116.75 ± 8.66	0.067	111,28 ± 8,64	119,48 ± 9,09	0,007
ΔΑΠ(mmHg)	65,76 ± 7,17	67,78 ± 8,19	0.534	66,12 ± 12,22	69,53 ± 8,71	0,338
WC (cm)	67.41 ± 8.19	69.04 ± 7.17	<0.001	68,61 ± 4,43	83,22 ± 8,89	<0,001
HC (cm) [§]	94.35 ± 6.55	103.83 ± 9.30	<0.001	96,00 (7,00)	109,00 (11,00)	<0,001
WHtR	0.43 ± 0.04	0.51 ± 0.02	<0.001	0,42 ± 0,03	0,52 ± 0,05	<0,001
FG score [§]	5 (9)	2 (5)	0,202	12,00 (6,00)	12,00 (6,00)	0,900

ΣΑΠ; Συστολική αρτηριακή πίεση, ΔΑΠ; Διαστολική αρτηριακή πίεση, WC; περίμετρος μέσης, HC; περίμετρος γοφών, WHtR; λόγος WC προς ύψος, FG score; Ferriman-Gallway score

Οι τιμές αφορούν σε μέσο όρο (M.O.), τυπική απόκλιση (T.A.), t-test και αντίστοιχο p-value.

[§]Οι τιμές αφορούν σε διάμεσο, ενδοτεταρτημοριακό εύρος, ελέγχους Mann-Whitney U και αντίστοιχο p-value. Με έντονη γραφή σημειώνονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Όπως ήταν αναμενόμενο οι περιμέτροι μέσης και γοφών και ο λόγος περιμέτρου μέσης προς ύψος ακολούθησαν το BMI, και παρουσίασαν διαφορές ανάμεσα στις δύο ομάδες (p<0,001 σε όλα). Παρατηρήθηκε, επίσης, πως η ομάδα των ασθενών με υπερβαρότητα/παχυσαρκία

παρουσίασε εμμηναρχή σε μικρότερη ηλικία. Η σχέση αυτή έχει προταθεί στη βιβλιογραφία ως αιτιολογική, πως δηλαδή το αυξημένο βάρος οδηγεί σε πρωιμότερη εμμηναρχή.

Πίνακας 8.2: Βιοχημικές και ορμονικές μετρήσεις ως προς το BMI

	Μάρτυρες Φυσιολογικού βάρους	Μάρτυρες Υπέρβαρες/ παχύσαρκες	<i>p</i>	PCOS Φυσιολογικού βάρους	PCOS Υπέρβαρες/ παχύσαρκες	<i>p</i>
SGOT (U/l) [§]	13,00 (6,00)	11,00 (5,25)	0,460	16,50 (7,00)	18,00 (5,00)	0,760
SGPT (U/l) [§]	13 (6)	11 (5,25)	0,439	13,00 (7,00)	20,00 (11,00)	0,040
γgt (U/l) [§]	9 (5)	10 (6,5)	0,602	10,00 (4,50)	15,00 (9,00)	0,014
ALP (U/l) [§]	79,00 (48)	90,5 (47,25)	0,842	80,50 (39,50)	73,50 (30,00)	0,525
TC (mg/dl) [§]	144 (47,30)	156 (29,70)	0,477	145,00 (29,60)	149,20 (26,90)	0,352
LDL (mg/dl)	80 (35,90)	91,90 (29,20)	0,913	81,43 ± 19,87	88,02 ± 29,54	0,387
HDL (mg/dl)	61 (18,50)	56 (4,5)	0,188	55,11 ± 10,91	52,00 ± 14,18	0,417
TG (mg/dl) [§]	55,35 (25,07)	77 (31)	0,008	53,00 (36,00)	70,60 (44,00)	0,095
LpA (nmol/L) [§]	13 (22,50)			14,50 (105,10)	13,50 (9,20)	0,470
ApoB (mg/dl) [§]	58 (43,50)			72,80 (27,00)	73,00 (18,50)	0,929
ApoA1 (mg/dl)	142,80 ± 33,75	137,00	0,883	140,89 ± 22,03	128,86 ± 14,85	0,236
Ασβέστιο (mg/dl)	9,67 ± 0,28	9,78 ± 0,19	0,351	9,57 ± 0,30	9,73 ± 0,28	0,202
Φώσφορος (mg/dl)	4,18 ± 0,33	4,22 ± 0,30	0,850	4,31 ± 0,35	3,99 ± 0,46	0,104
PLT (10³/U)	257,62 ± 70,59	256,83 ± 49,47	0,969	261,71 ± 59,58	293,53 ± 51,35	0,094
VitD (ng/mL)	27,67 ± 8,30	24,64 ± 6,05	0,317	25,06 ± 8,49	25,80 ± 7,88	0,816
FSH (mIU/mL) [§]	4,74 (2,17)	5,3 (2,55)	0,381	4,80 ± 2,41	4,80 ± 1,90	0,778
LH (mIU/mL) [§]	3,45 (3,00)	2,65 (2,60)	0,341	5,92 (7,30)	5,70 (7,82)	0,808
E2 (pg/mL) [§]	32,00 (26,55)	26,00 (17,50)	0,642	39,15 (21,25)	44,00 (34,00)	0,421
PRL (ng/mL) [§]	12,80 (9,82)	11,35 (11,20)	0,780	13,50 (11,70)	11,80 (7,80)	0,441
TSH (μIU/mL)	1,63 ± 0,80	2,16 ± 1,14	0,135	1,64 ± 0,63	1,67 ± 0,54	0,901
T3 (ng/dL)	2,67 ± 4,57	1,26 ± 0,10	0,410	42,26 ± 63,80	1,16 ± 0,11	0,175
ft4 (ng/dL)	1,00 ± 0,16	0,96 ± 0,10	0,563	3,62 ± 5,22	2,33 ± 4,27	0,552

PTH (pg/mL)	44,66 ± 22,16	31,15 ±17,32	0,453	34,35 ± 10,11	41,50 ± 14,26	0,340
--------------------	---------------	-----------------	-------	---------------	---------------	-------

SGOT: οξαλοξική τρανσαμινάση, SGPT: πυροσταφυλική τρανσαμινάση, γGT, γ-γλουταμυλτρανσφεράση, ALP: αλκαλική φωσφατάση, TC: ολική χοληστερόλη, LDL: λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας, HDL: λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας TG: τριγλυκερίδια, LpA: λιποπρωτεΐνηΑ, ApoB: απολιποπρωτεΐνη Β, ApoA: απολιποπρωτεΐνη Α1, PLT: αιμοπετάλια, VitD: 25-OH-vitamin D, FSH :θυλακιοτρόπος ορμόνη, LH ωχρινοτρόπος ορμόνη, E2: οιστραδιόλη, PRL: προλακτίνη, TSH: θυρεοτρόπος ορμόνη, T3: τριωδοθυρονίνη, fT4: ελεύθερη θυροξίνη, PTH: παραθορμόνη.

Οι τιμές αφορούν σε μέσο όρο (Μ,Ο.), τυπική απόκλιση (Τ,Α.), t-test και αντίστοιχο p-value,

[§]Οι τιμές αφορούν σε διάμεσο, ενδοτεταρτημοριακό εύρος, ελέγχους Mann-Whitney U και αντίστοιχο p-value,

Με έντονη γραφή σημειώνονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 5%,

Όσον αφορά τις βιοχημικές μετρήσεις, από τις τρανσαμινάσες, η SGPT και η γGT ήταν σημαντικά υψηλότερες στην υποομάδα των παχύσαρκων/υπέρβαρων εφήβων με PCOS σε σύγκριση με τις νορμοβαρείς έφηβες με PCOS (p=0,040 και p=0,014 αντίστοιχα). Δεν παρατηρήθηκε αντίστοιχη διαφορά σε καμία παράμετρο του λιπιδαιμικού προφίλ των δύο υποομάδων.

Πίνακας 8.3: Ανδρογόνα ως προς το BMI

	Μάρτυρες Φυσιολογικού βάρους	Μάρτυρες Υπέρβαρες/ παχύσαρκες	ρ	PCOS Φυσιολογικού βάρους	PCOS Υπέρβαρες/ παχύσαρκες	ρ
Testosterone[§] (ng/mL)	0,34 (0,18)	0,28 (0,25)	0,535	0,40 (0,22)	0,40 (0,21)	0,575
FAI[§]	1,92 (2,21)	2,40 (1,30)	0,384	2,76 (2,14)	4,92 (4,68)	0,009
DHEA-S (μg/dL)	258,83 ± 98,62	210,67 ± 90,14	0,193	244,64 ± 81,94	244,66 ± 126,70	>0,999
17-OH-PRG (ng/mL)	1,24 ± 0,45	1,40 ± 0,81	1,580	1,71 ± 0,56	1,51 ± 0,65	0,329
SHBG (nmol/L)	60,14 ± 22,27	44,22 ±15,26	0,025	45,75 ± 20,25	36,04 ± 16,92	0,102
Δ4 (ng/dL)[§]	2,78 ±1,07	2,28 ± 1,68	0,408	3,44 (2,40)	2,48 (1,73)	0,039

FAI: Free androgen index, DHEA-S: Θεϊκή δεϋδροεπιανδροστερόνη, 17-OH-PRG: 17υδροξυπρογεστερόνη, SHBG: Sex hormone binding globulin, Δ4: Δ4-ανδροστενεδιόνη

Οι τιμές αφορούν σε μέσο όρο (Μ.Ο.), τυπική απόκλιση (Τ.Α.), t-test και αντίστοιχο p-value.

[§]Οι τιμές αφορούν σε διάμεσο, ενδοτεταρτημοριακό εύρος, ελέγχους Mann-Whitney U και αντίστοιχο p-value.

Με έντονη γραφή σημειώνονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Όσον αφορά τα ανδρογόνα, το Free androgen index ήταν υψηλότερο στην υποομάδα των υπέρβαρων/παχύσαρκων εφήβων με PCOS σε σχέση με τις νορμοβαρείς έφηβες με PCOS ($p=0,009$) ενώ η Δ4 ήταν χαμηλότερη στην υποομάδα των υπέρβαρων/παχύσαρκων εφήβων με PCOS σε σχέση με τις νορμοβαρείς έφηβες με PCOS ($p=0,039$).

Πίνακας 8.4: Δείκτες ινσουλινοαντίστασης ως προς το BMI

	Μάρτυρες Φυσιολογικού βάρους	Μάρτυρες Υπέρβαρες/ παχύσαρκες	p	PCOS Φυσιολογικού βάρους	PCOS Υπέρβαρες/ παχύσαρκες	p
<i>Glu</i> (mg/dl)	82,20 ± 4,86	85,89 ± 7,39	0,153	88,33 ± 8,73	87,40 ± 6,40	0,686
<i>Ins</i> ($\mu\text{U}/\text{mL}$) [§]	8,65 ± 3,60	14,19 ± 4,87	0,004	9,40 (4,35)	14,30 (9,30)	0,004
QUICKI	0.35 ± 0.02	0.33 ± 0.02	0.002	0,34 ± 0,02	0,32 ± 0,02	0,012
HOMA-IR [§]	1.58 (0.94)	2.56 (2.09)	0.006	2,01 (1,04)	2,98 (2,48)	0,012
G-I ratio	11.67 ± 5.66	6.94 ± 2.42	0.002	9,69 ± 3,41	6,56 ± 2,52	0,002

Glu: γλυκόζη νηστείας, *Ins*: Ινσουλίνη, QUICKI: Quantitative Insulin Sensitivity Check Index, HOMA-IR: Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance, G-I ratio: Glucose to insulin ratio

Οι τιμές αφορούν σε μέσο όρο (Μ.Ο.), τυπική απόκλιση (Τ.Α.), t-test και αντίστοιχο p -value.

[§]Οι τιμές αφορούν σε διάμεσο, ενδοτεταρτημοριακό εύρος, ελέγχους Mann-Whitney U και αντίστοιχο p -value.

Με έντονη γραφή σημειώνονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Οι δείκτες ινσουλινοαντίστασης QUICKI, HOMA-IR και G-I ratio ήταν σημαντικά ευνοϊκότεροι στην ομάδα των νορμοβαρών εφήβων έναντι των υπέρβαρων. Οι διαφορές παρέμειναν σημαντικές τόσο στην υποομάδα των μαρτύρων όσο και στις έφηβες με PCOS.

Πίνακας 8.5: Υπερηχογραφικοί δείκτες NAFLD ως προς το BMI

	Μάρτυρες Φυσιολογικού βάρους	Μάρτυρες Υπέρβαρες/ παχύσαρκες	p	PCOS Φυσιολογικού βάρους	PCOS Υπέρβαρες/ παχύσαρκες	p
Fibroscan® stiffness	6,84 ± 4,10	7,00 ± 0,75	0,908	5,60 ± 1,45	6,50 ± 1,60	0,343
Fibroscan® IQR	1,27 ± 0,67	1,40 ± 0,36	0,676	1,42 ± 0,90	1,60 ± 0,65	0,695
Υπερηχογραφική διάγνωση NAFLD [†]	2 (8,3%)	0 (0%)	0,372	3 (13,6%)	7 (31,8%)	0,150

Οι τιμές αφορούν σε μέσο όρο (Μ.Ο.), τυπική απόκλιση (Τ.Α.), t-test και αντίστοιχο p-value.
[§]Οι τιμές αφορούν σε διάμεσο, ενδοτεταρτημοριακό εύρος, ελέγχους Mann-Whitney U και αντίστοιχο p-value.

[†]Οι τιμές αφορούν σε απόλυτες και σχετικές συχνότητες και αντίστοιχο p-value του χ^2 ελέγχου.
 Με έντονη γραφή σημειώνονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Δεν παρατηρήθηκε διαφορά στις υπερηχογραφικές μετρήσεις της ηπατικής στεάτωσης και στις μετρήσεις του Fibroscan® ανάμεσα στην ομάδα των νορμοβαρών και των υπέρβαρων/παχύσαρκων ασθενών.

Πίνακας 8.6: Βιοχημικοί δείκτες και σκορ ηπατικής στεάτωσης ως προς το BMI

	Μάρτυρες Φυσιολογικού βάρους	Μάρτυρες Υπέρβαρες/ παχύσαρκες	p	PCOS Φυσιολογικού βάρους	PCOS Υπέρβαρες/ παχύσαρκες	p
SGPT (U/l) [§]	13 (6)	11 (5.25)	0.439	13,00 (7,00)	20,00 (11,00)	0,040
LFS [§]	-2.38 (1.32)	-1.56 (1.20)	0.011	-1,97 (1,03)	-1,20 (1,67)	0,007
FLI [§]	0.36 (0.37)	4.76 (3.62)	<0.001	0,37 (0,63)	19,71 (22,92)	<0,001
VAI [§]	0,63 (0,57)	1,01 (0,59)	0,011	0,77 (0,42)	1,10 (1,11)	0,069
LAP	8.98 ± 5.43	21.57 ± 2.42	<0.001	8,07 ± 4,38	24,55 ± 11,41	<0,001
HSI [§]	29.11 (4.47)	35.86 (3.62)	<0.001	29,24 (2,33)	40,10 (6,40)	<0,001
ALT/TG [§]	3,36 (1,65)	2,52 (1,44)	0,183	3,33 (1,59)	4,08 (2,75)	0,166

SGPT ή ALT: πυροσταφυλική τρανσαμινάση, LFS: liver fat score: FLI, fatty liver index: VAI: Visceral adiposity index LAP, lipid accumulation product: HSI, hepatic steatosis index, TG: Τριγλυκερίδια

Οι τιμές αφορούν σε μέσο όρο (Μ.Ο.), τυπική απόκλιση (Τ.Α.), t-test και αντίστοιχο p-value.

[§]Οι τιμές αφορούν σε διάμεσο, ενδοτεταρτημοριακό εύρος, ελέγχους Mann-Whitney U και αντίστοιχο p-value.

Με έντονη γραφή σημειώνονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Ωστόσο όσον αφορά τα σκορ ηπατικής στεάτωσης, παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά (υψηλότερα σκορς) στην ομάδα των παχύσαρκων εφήβων σε σχέση με τις νορμοβαρείς έφηβες, τόσο στην ομάδα των μαρτύρων όσο και του PCOS.

Πίνακας 8.7: Σκορ ηπατικής ίνωσης ως προς το BMI

	Μάρτυρες Φυσιολογικού βάρους	Μάρτυρες Υπέρβαρες/ παχύσαρκες	p	PCOS Φυσιολογικού βάρους	PCOS Υπέρβαρες/ παχύσαρκες	p
<i>FIB4</i> [§]	0,27 (0,12)	0,24 (0,06)	0,802	0,28 (0,11)	0,22 (0,04)	0,037
<i>NFS</i>	-4,13 (1,40)	-4,31 (0,24)	0,670	-4,42 ± 1,24	-4,53 ± 0,96	0,866
<i>APRI</i> [§]	0,18 (0,12)	0,18 (0,08)	0,550	0,21 (0,08)	0,19 (0,08)	0,446

FIB-4: fibrosis-4 index, *NFS*: NAFLD fibrosis score, *APRI*: AST to platelet ratio index

Οι τιμές αφορούν σε μέσο όρο (Μ.Ο.), τυπική απόκλιση (Τ.Α.), t-test και αντίστοιχο p-value.

[§]Οι τιμές αφορούν σε διάμεσο, ενδοτεταρτημοριακό εύρος, ελέγχους Mann-Whitney U και αντίστοιχο p-value.

Με έντονη γραφή σημειώνονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Από τους δείκτες ίνωσης μόνο το FIB-4 σκορ ήταν σημαντικά αυξημένο στις νορμοβαρείς έφηβες με PCOS έναντι των υπέρβαρων/παχυσάρκων εφήβων με PCOS, ωστόσο οι διάμεσες τιμές και των δύο ομάδων ήταν πολύ χαμηλότερες από το cut-off διάγνωσης της ίνωσης (FIB-4 > 3,25) που προτείνεται από τους δημιουργούς του δείκτη.

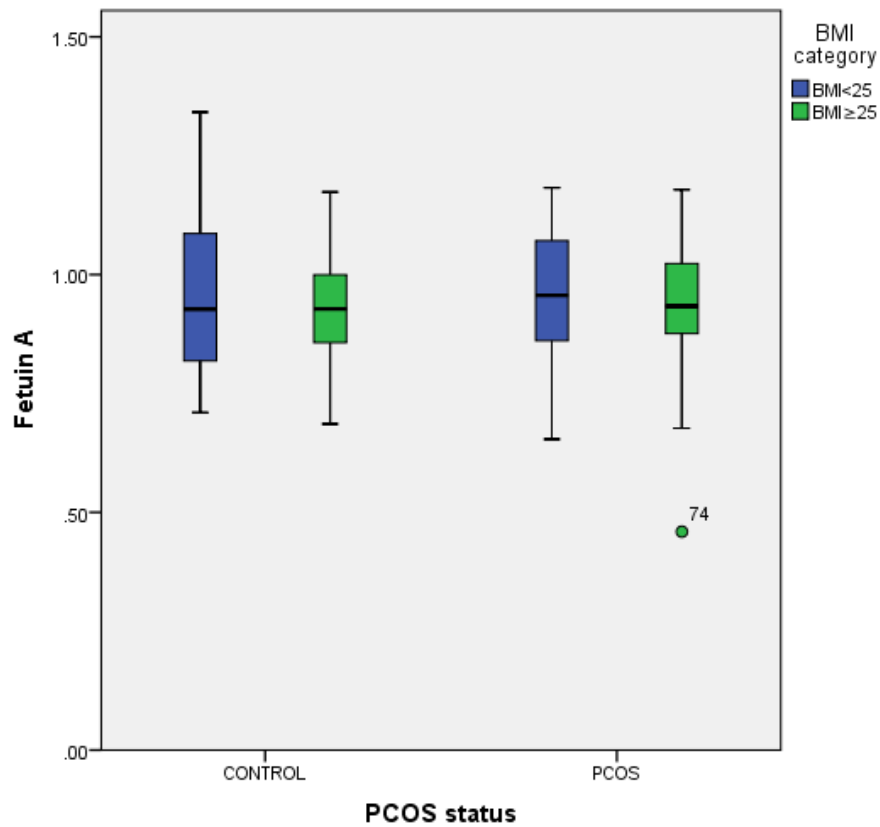
Στη συνέχεια συγκρίθηκαν οι συγκεντρώσεις των ηπατοκινών μεταξύ των νορμοβαρών και των υπέρβαρων/παχύσαρκων εφήβων τόσο στην ομάδα των μαρτύρων όσο και στην ομάδα των εφήβων με PCOS. Παράλληλα, εκτελέστηκε ANOVA που ανέδειξε πως η μόνη ηπατοκίνη που διατηρεί ενδεικτικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες του BMI είναι η SHBG.

Πίνακας 8.8: Σύγκριση των ηπατοκινών μεταξύ νορμοβαρών και υπέρβαρων/παχύσαρκων εφήβων σε κάθε ομάδα & σύγκριση μεταξύ όλων των υποομάδων

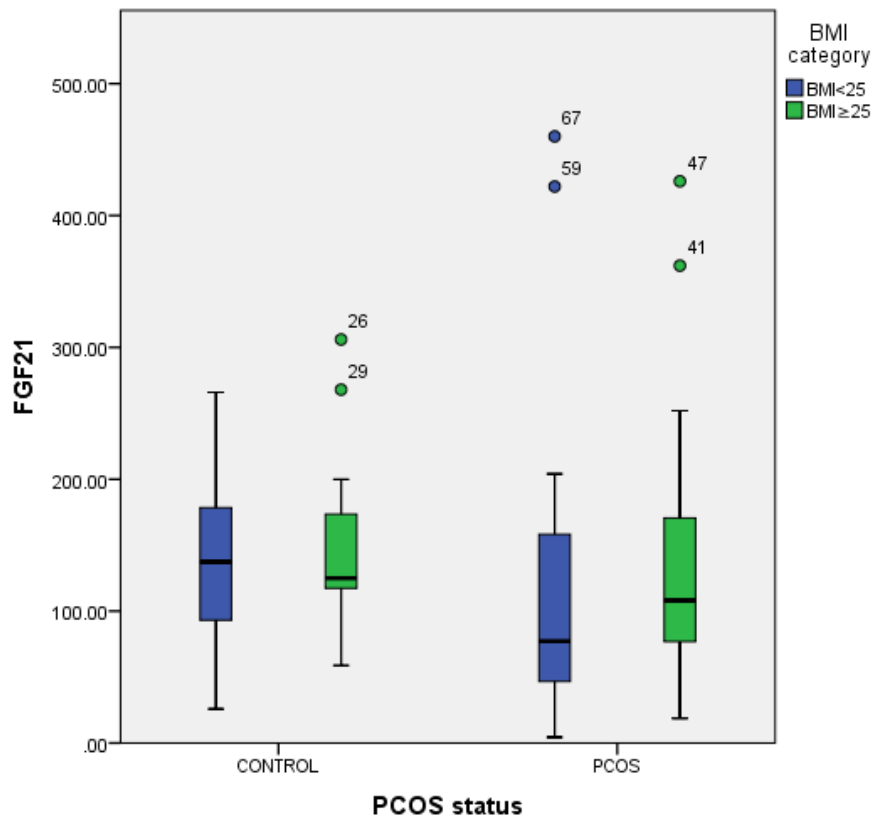
	Μάρτυρες Φυσιολογικού βάρους	Μάρτυρες Υπέρβαρες/ παχύσαρκες	p	PCOS Φυσιολογικού βάρους	PCOS Υπέρβαρες/ παχύσαρκες	p	p (συγκρίσεις ανάμεσα στις 4 υποομάδες)
<i>Fetuin A</i> (g/L)	0.95±0.16)	0.92±0.12	0.659	0.96 ± 0.15	0.92 ± 0.17	0.523	0.892 [#]
<i>FGF21</i> [§] (pg/mL)	136.77±67.25	150.27±77.60	0.613	77.30 (113.85)	108.20 (103.70)	0.404	0.405*
<i>SeP</i> [§] (mg/ml)	2.73 (0.37)	2.61 (0.17)	0.885	2.44 (0.36)	2.59 (0.48)	0.320	0.098*

SHBG (nmol/L)	60.04 (44.22)	44.22 (15.26)	0.061	47.53 ± 20.41	36.77 ± 17.52	0.093	0.005[#]
-------------------------	------------------	---------------	-------	------------------	---------------	-------	--------------------------

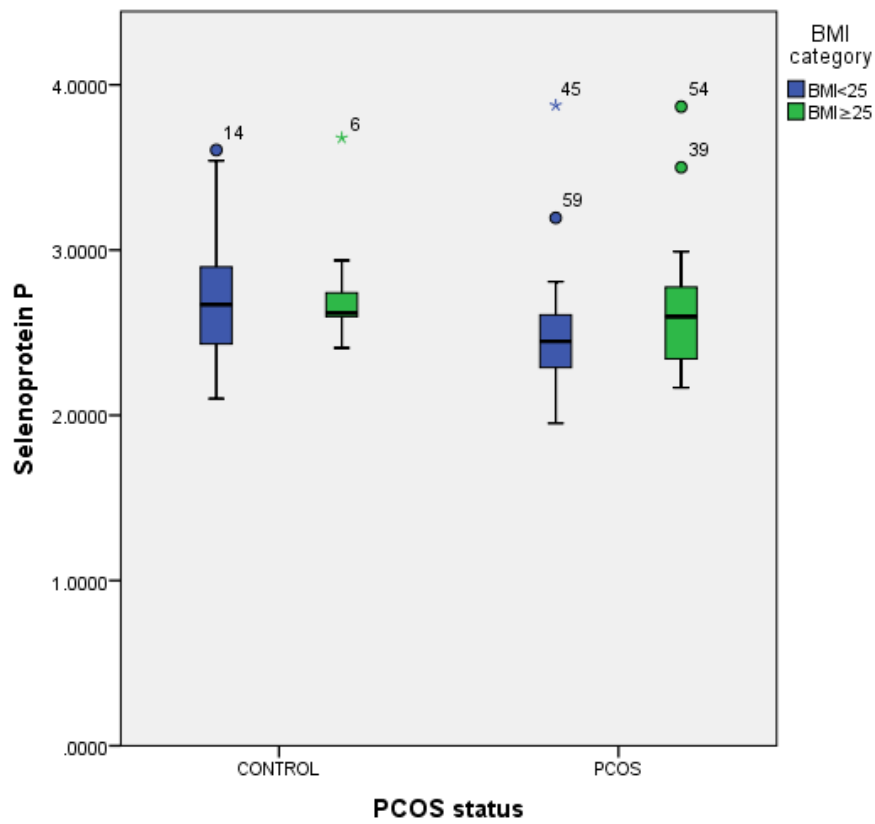
SHBG; sex hormone binding globulin, FGF21; Fibroblast growth factor, SeP; selenoprotein P
 Values refer to mean ± standard deviation and t-test or ^smedian (interquartile range) and Mann-Whitney U.
 *Kruskal-Wallis was used for non-parametric and [#]ANOVA for parametric comparisons. Bold indicates statistically significant differences.



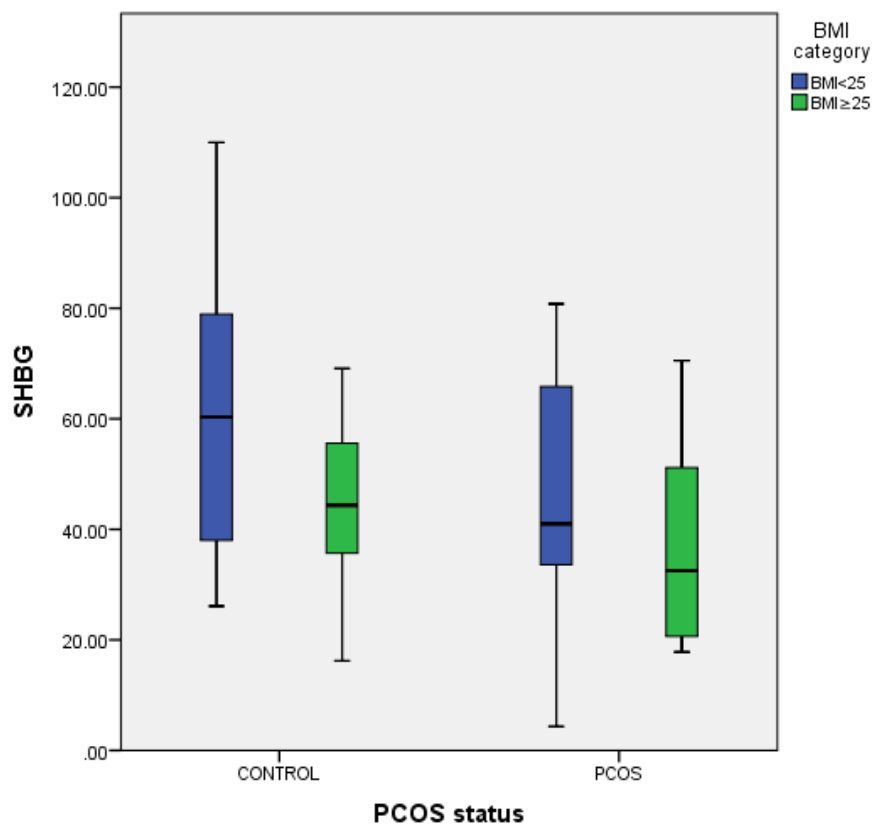
Γράφημα 17: Βoxplots τιμών της fetuinA στις 4 υποομάδες PCOS status & BMI



Γράφημα 18: Βoxplots τιμών του FGF21 στις 4 υποομάδες PCOS status & BMI

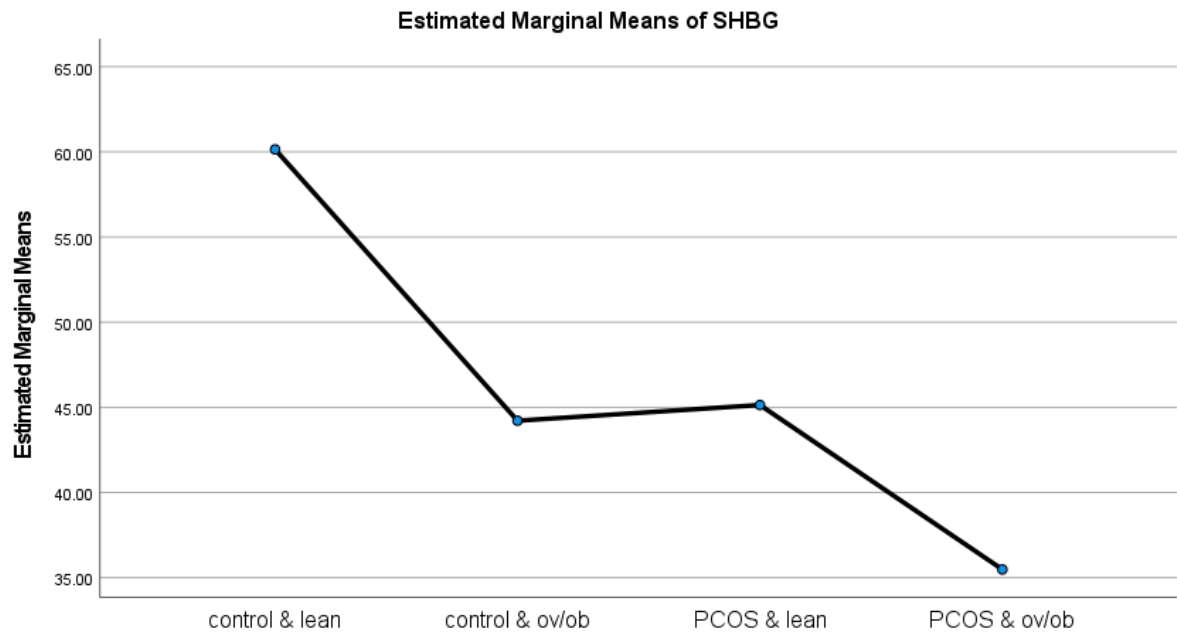


Γράφημα 19: Βoxplots τιμών της SelenoproteinP στις 4 υποομάδες PCOS status & BMI



Γράφημα 20: Βoxplots τιμών της SHBG στις 4 υποομάδες PCOS status & BMI

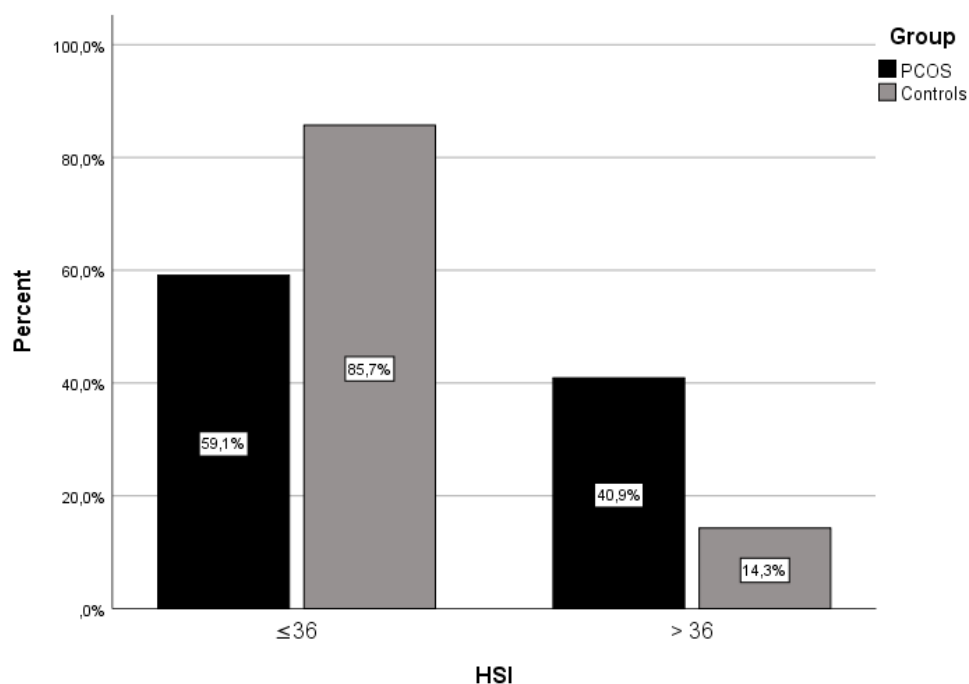
Την ANOVA ακολούθησαν post hoc tests, και το Tukey-Kramer test ανέδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στη μέση τιμή της SHBG στις νορμοβαρείς μάρτυρες και στις έφηβες με PCOS και BMI > 25 $p < 0,001$, 95% CI (9,43, 39,88). Η διαφορά της μέσης τιμής μεταξύ νορμοβαρών μαρτύρων και νορμοβαρών εφήβων με PCOS ήταν ενδεικτική με $p = 0,064$.



Γράφημα 21: Ιστόγραμμα μέσω των τιμών SHBG στις 4 υποομάδες PCOS status & BMI

4. Σύγκριση ασθενών με ηπατική στεάτωση (HSI>36) με ασθενείς χωρίς στεάτωση

Στη συνέχεια χωρίστηκε η ομάδα των εφήβων με PCOS σε δύο υποομάδες, στις ασθενείς με στεάτωση βάσει του δείκτη HSI (Hepatic steatosis index). Τιμές HSI>36, θεωρήθηκαν ενδεικτικές ηπατικής στεάτωσης βάσει της βιβλιογραφίας, ενώ τιμές HSI≤36 ενδεικτικές για φυσιολογικό ήπαρ. Όπως φαίνεται και στο παρακάτω γράφημα το 40,9% των εφήβων με PCOS είχαν HSI>36, ενδεικτικό ηπατικής στεάτωσης, ενώ αντίστοιχα μόνο το 14,3% των μαρτύρων είχε HSI σκορ ενδεικτικό ηπατικής στεάτωσης.



Γράφημα 22: Ιστόγραμμα συχνοτήτων ηπατικής στεάτωσης (βάσει HSI) στις έφηβες με PCOS και τις μάρτυρες

Συγκρίσεις μεταξύ των μαρτύρων με στεάτωση ή μη, δεν κατέστησαν δυνατές λόγω του μικρού δείγματος (μόνο 5 περιπτώσεις). Ακολούθησε σύγκριση των σωματομετρικών και εργαστηριακών παραμέτρων των δύο ομάδων.

Πίνακας 9.1: Δημογραφικά και σωματομετρικά χαρακτηριστικά ασθενών με PCOS ως προς τη στεάτωση

	PCOS με HSI≤36	PCOS με HSI>36	p
Ηλικία (έτη)	15,21 ± 1,39	16,04 ± 1,78	0,088
Εμμηναρχή (έτη)	12,20 ± 1,54	11,55 ± 1,14	0,142
Άσκηση (ώρες/εβδομάδα) [§]	2,50 (5,00)	1,50 (5,00)	0,870
BMI (kg/m ²)	22,33 ± 3,09	30,69 ± 3,98	<0,001
Εκατοστημόριο BMI ειδικό για την ηλικία [§]	63,90 (37,70)	96,75 (5,40)	<0,001
ΣΑΠ (mmHg)	113,57 ± 8,93	121,06 ± 11,05	0,025
ΔΑΠ (mmHg)	67,05 ± 11,29	69,38 ± 9,49	0,515
WC (cm)	70,80 ± 5,53	85,31 ± 9,22	<0,001
HC (cm)	96,82 ± 7,06	111,03 ± 8,86	<0,001
WHtR	0,44 ± 0,04	0,53 ± 0,06	<0,001
WHR	0,73 ± 0,45	0,77 ± 0,06	0,030

BMI: δείκτης μάζας σώματος, ΣΑΠ: συστολική αρτηριακή πίεση, ΔΑΠ: διαστολική αρτηριακή πίεση, WC: περίμετρος μέσης, HC: περίμετρος γοφών, WHtR: λόγος WC προς ύψος, WHR: λόγος WC προς HC, Οι τιμές αφορούν σε μέσο όρο (M.O.), τυπική απόκλιση (T.A.), t-test και αντίστοιχο p-value.
[§]Οι τιμές αφορούν σε διάμεσο, ενδοτεταρτημοριακό εύρος, ελέγχους Mann-Whitney U και αντίστοιχο p-value.

Με έντονη γραφή σημειώνονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Οι ασθενείς με ηπατική στεάτωση είχαν υψηλότερο BMI, αναμενόμενο καθώς αποτελεί μία από τις παραμέτρους που χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό του σκορ HSI. Ακολουθούν το ίδιο πρότυπο και άλλες μεταβολικές παράμετροι όπως οι περίμετροι μέσης, γοφών, ο λόγος αυτών καθώς και η ΣΑΠ και το WHtR.

Πίνακας 9.2: Ανδρογόνα ως προς την στεάτωση

	PCOS με HSI≤36	PCOS με HSI>36	p
Testosterone [§] (ng/mL)	0,38 (0,18)	0,43 (0,26)	0,065
FAI [§]	3,05 (3,48)	5,31 (5,69)	0,034
DHEA-S (μg/dL)	234,29 ± 88,59	261,63 ± 130,33	0,417

17-OH-PRG (ng/mL)	1,57 ± 0,64	1,66 ± 0,65	0,673
SHBG (nmol/L)	42,12 ± 20,60	36,05 ± 15,95	0,309
Δ4 (ng/dL) [§]	3,20 (1,70)	2,66 (1,73)	0,465

FAI; Free androgen index, DHEA-S; Θεϊκή δεϋδροεπιανδροστερόνη, 17-OH-PRG; 17υδροξυπρογεστερόνη, SHBG; Sex hormone binding globulin, Δ4: Δ4-ανδροστενεδιόνη

Οι τιμές αφορούν σε μέσο όρο (Μ.Ο.), τυπική απόκλιση (Τ.Α.), t-test και αντίστοιχο p-value.

[§]Οι τιμές αφορούν σε διάμεσο, ενδοτεταρτημοριακό εύρος, ελέγχους Mann-Whitney U και αντίστοιχο p-value.

Με έντονη γραφή σημειώνονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Το FAI ήταν σημαντικά αυξημένο στις ασθενείς με PCOS και ηπατική στεάτωση συγκριτικά με αυτές που δεν παρουσίαζαν στεάτωση.

Πίνακας 9.3: Παράμετροι μεταβολισμού γλυκόζης και ινσουλινοαντίστασης ως προς την στεάτωση

	PCOS με HSI≤36	PCOS με HSI>36	p
Glu (mg/dl)	87,99 ± 8,45	88,00 ± 6,50	0,996
Ins (μU/mL) [§]	9,40 (3,75)	15,00 (6,40)	0,001
QUICKI	0,34 ± 0,02	0,32 ± 0,02	0,002
HOMA-IR [§]	2,02 (0,89)	3,16 (2,03)	0,002
G-I ratio	9,34 ± 3,33	5,88 ± 2,42	0,001

Glu: γλυκόζη νηστείας, Ins: Ινσουλίνη, QUICKI: Quantitative Insulin Sensitivity Check Index, HOMA-IR: Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance, G-I ratio: Glucose to insulin ratio

Οι τιμές αφορούν σε μέσο όρο (Μ.Ο.), τυπική απόκλιση (Τ.Α.), t-test και αντίστοιχο p-value.

[§]Οι τιμές αφορούν σε διάμεσο, ενδοτεταρτημοριακό εύρος, ελέγχους Mann-Whitney U και αντίστοιχο p-value.

Με έντονη γραφή σημειώνονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Παρατηρήθηκαν δυσμενέστεροι δείκτες ινσουλινοαντίστασης στις ασθενείς με ηπατική στεάτωση στην ομάδα PCOS.

Πίνακας 9.4 Λιπίδια ως προς την στεάτωση

	PCOS με HSI≤36	PCOS με HSI>36	<i>p</i>
TC (mg/dl)	143,12 ± 18,44	159,27 ± 29,49	0,031
LDL (mg/dl)	77,56 ± 20,21	94,07 ± 29,08	0,031
HDL (mg/dl)	55,55 ± 10,91	50,12 ± 14,53	0,164
TRG (mg/dl) [§]	51,50 (30,90)	75,00 (31,00)	0,019
LpA (nmol/L) [§]	14,40 (42,00)	15,10 (36,30)	0,621
ApoB (mg/dl)	69,69 ± 14,53	69,24 ± 32,56	0,968
ApoA1 (mg/dl)	143,10 ± 19,59	124,67 ± 12,69	0,060

TC: ολική χοληστερόλη, LDL: λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας, HDL: λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας TG: τριγλυκερίδια, LpA: λιποπρωτεΐνη Α, ApoB: απολιποπρωτεΐνη Β, ApoA: απολιποπρωτεΐνη Α1, Οι τιμές αφορούν σε μέσο όρο (Μ.Ο.), τυπική απόκλιση (Τ.Α.), t-test και αντίστοιχο *p*-value.

[§]Οι τιμές αφορούν σε διάμεσο, ενδοτεταρτημοριακό εύρος, ελέγχους Mann-Whitney U και αντίστοιχο *p*-value.

Με έντονη γραφή σημειώνονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Αντίστοιχα, οι ίδιες ασθενείς φαίνεται πως είχαν δυσμενέστερο λιπιδαιμικό προφίλ, με σημαντικά υψηλότερη ολική χοληστερόλη, LDL και τριγλυκερίδια, ενώ η διαφορά στην HDL δεν ήταν στατιστικά σημαντική.

Πίνακας 9.5: Υπερηχογραφικοί δείκτες ως προς τη στεάτωση

	PCOS με HSI≤36	PCOS με HSI>36	<i>p</i>
Μέγιστο cIMT (mm)	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,721
Ωοθηκικός όγκος (cm ³)	10,83 ± 3,98	12,16 ± 3,36	0,256

cIMT; Carotid intima media thickness

Οι τιμές αφορούν σε μέσο όρο (Μ.Ο.), τυπική απόκλιση (Τ.Α.), t-test και αντίστοιχο *p*-value.

[§]Οι τιμές αφορούν σε διάμεσο, ενδοτεταρτημοριακό εύρος, ελέγχους Mann-Whitney U και αντίστοιχο *p*-value.

Στην υποομάδα των PCOS ασθενών, αυτές με ηπατική στεάτωση δεν είχαν ούτε σημαντικά μεγαλύτερο πάχος έσω μέσου χιτώνα, ούτε σημαντικά μεγαλύτερο ωοθηκικό όγκο.

Όπως ήταν αναμενόμενο οι υπόλοιποι δείκτες ηπατικής στεάτωσης ακολουθούν το HSI, οπότε ήταν υψηλότεροι στην ομάδα με παθολογικό HSI. Στις έφηβες με PCOS και ηπατική στεάτωση παρατηρήθηκαν υψηλότερες τιμές στο Fibroscan® σε σχέση με τις έφηβες με PCOS χωρίς ηπατική στεάτωση ($p=0,009$). Αντίστοιχη τάση ακολούθησαν και οι δείκτες ίνωσης, με το FIB-4 να παρουσιάζει σημαντική διαφορά ανάμεσα στις 2 ομάδες ($p=0,030$).

Πίνακας 9.6: Δείκτες ηπατικής ίνωσης ως προς την στεάτωση

	PCOS με HSI≤36	PCOS με HSI>36	<i>p</i>
<i>NFS</i>	-3,99 ± 0,73	-4,61 ± 0,90	0,235
<i>APRI</i> [§]	0,20 (0,09)	0,19 (0,08)	0,739
<i>FIB4</i> [§]	0,26 (0,10)	0,21 (0,05)	0,030
<i>Fibroscan® stiffness (kPa)</i>	5,30 ± 1,30	7,37 ± 0,99	0,009
<i>Fibroscan® IQR</i>	1,40 ± 0,75	1,57 ± 0,75	0,696

FIB-4: fibrosis-4 index, NFS: NAFLD fibrosis score, APRI: AST to platelet ratio index

Οι τιμές αφορούν σε μέσο όρο (M.O.), τυπική απόκλιση (T.A.), t-test και αντίστοιχο p-value.

[§]*Οι τιμές αφορούν σε διάμεσο, ενδοτεταρτημοριακό εύρος, ελέγχους Mann-Whitney U και αντίστοιχο p-value.*

[†]*Οι τιμές αφορούν σε απόλυτες και σχετικές συχνότητες και αντίστοιχο p-value του Fisher ελέγχου. Με έντονη γραφή σημειώνονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.*

Αναζητήθηκαν οι διαφορές των ηπατοκινών ανάμεσα στις δύο κατηγορίες, με και χωρίς ηπατική στεάτωση:

Πίνακας 9.7: Σύγκριση ηπατοκινών μεταξύ PCOS με HSI≤36 και PCOS με HSI>36

	PCOS με HSI≤36	PCOS με HSI>36	<i>p</i>
<i>Fetuin A (g/L)</i>	0,96 ± 0,14	0,91 ± 0,19	0,364
<i>FGF21 (pg/mL)</i> [§]	86,40 (108,00)	114,20 (102,65)	0,350
<i>Selenoprotein P (mg/ml)</i> [§]	2,44 (0,27)	2,60 (0,53)	0,341
<i>SHBG (nmol/L)</i>	43,70 ± 21,45	37,73 ± 16,14	0,348

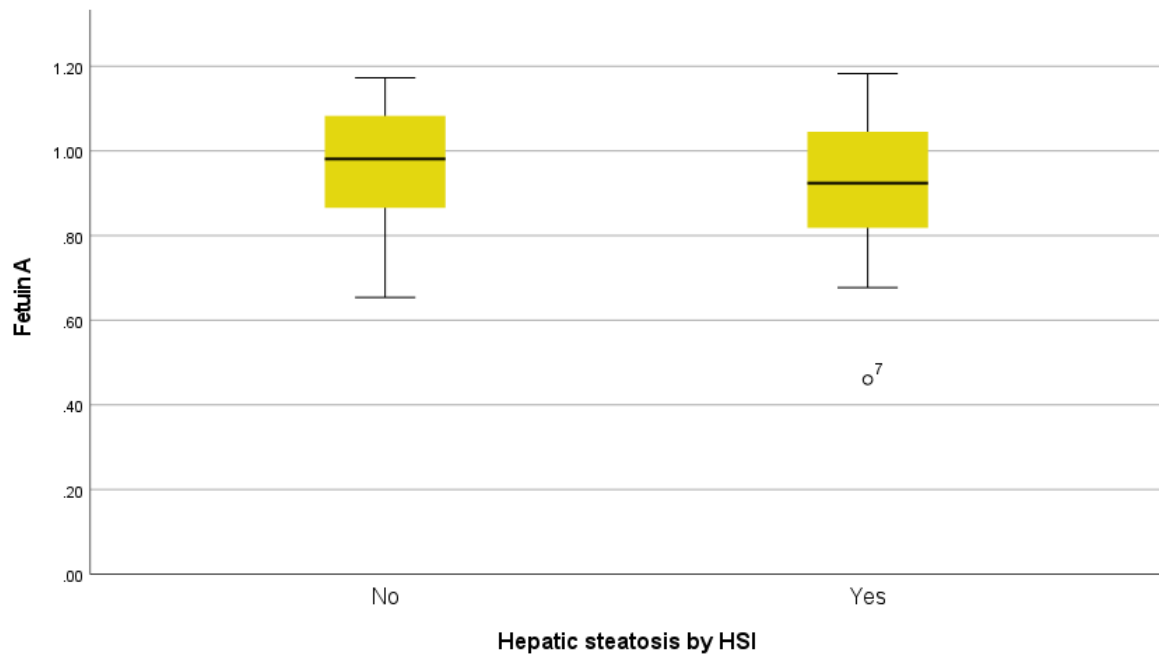
FGF21: fibroblast growth factor, SHBG: sex hormone binding globulin

Οι τιμές αφορούν σε μέσο όρο (M.O.), τυπική απόκλιση (T.A.), t-test και αντίστοιχο p-value.

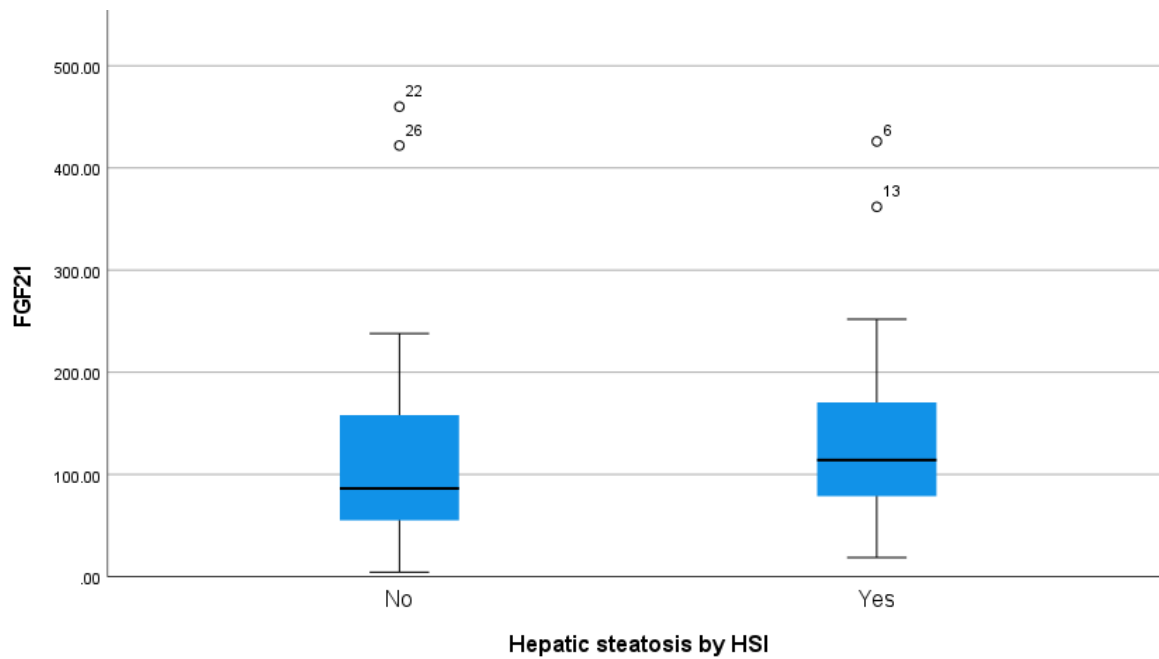
[§]*Οι τιμές αφορούν σε διάμεσο, ενδοτεταρτημοριακό εύρος, ελέγχους Mann-Whitney U και αντίστοιχο p-value.*

Με έντονη γραφή σημειώνονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

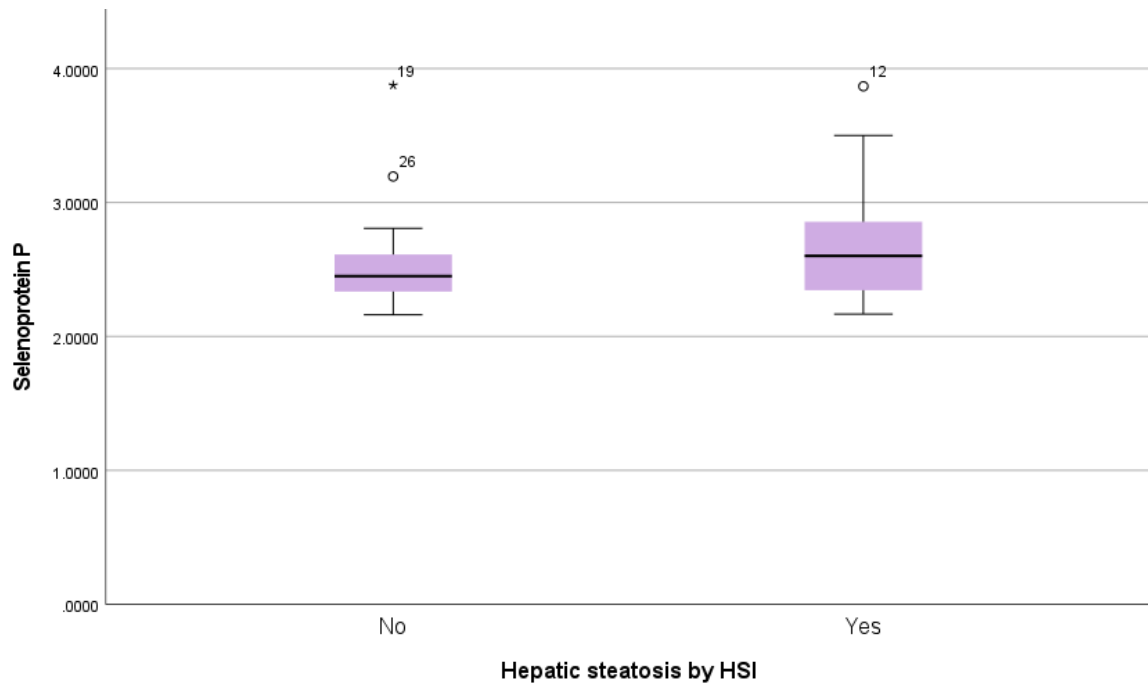
Τέλος, παρατηρήθηκε πως οι ηπατοκίνες δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των εφήβων με ηπατική στεάτωση και χωρίς ηπατική στεάτωση.



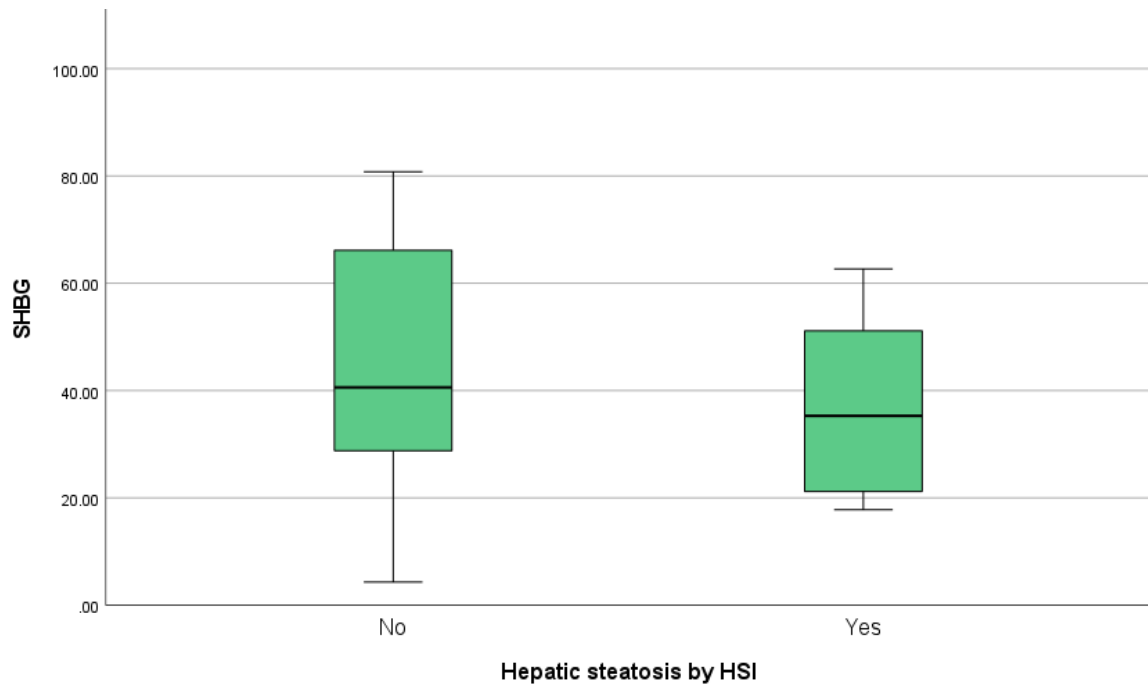
Γράφημα 23: Βοχplots τιμών της fetuinA στις έφηβες με PCOS με ηπατική στεάτωση και στην έφηβες με PCOS χωρίς στεάτωση



Γράφημα 24: Βοχplots τιμών του FGF21 στις έφηβες με PCOS με ηπατική στεάτωση και στην έφηβες με PCOS χωρίς στεάτωση



Γράφημα 25: Βoxplots τιμών της SelenoproteinP στις έφηβες με PCOS με ηπατική στεάτωση και στην έφηβες με PCOS χωρίς στεάτωση



Γράφημα 26: Βoxplots τιμών της SHBG στις έφηβες με PCOS με ηπατική στεάτωση και στην έφηβες με PCOS χωρίς στεάτωση

Ωστόσο εάν η διάγνωση της ηπατικής στεάτωσης δεν βασιζόταν στο HSI αλλά στο υπερηχογράφημα ήπατος, που έχει μεγαλύτερη ειδικότητα, η ηπατοκίνη FGF21 παρουσίαζε υψηλότερα επίπεδα στις έφηβες με PCOS και ηπατική στεάτωση σε σχέση με τις έφηβες με PCOS και φυσιολογικό ήπαρ ($p=0,028$). Σημειώνεται πως μόνο 7 από τις 16 περιπτώσεις με παθολογικό HSI είχαν εικόνα ηπατικής στεάτωσης υπερηχογραφικά.

Η σχέση αυτή του FGF21 με την NAFLD επιβεβαιώθηκε και στη λογιστική παλινδρόμηση που περιγράφεται παρακάτω.

5. Συσχετίσεις

Η **Fetuin A** στο δείγμα όλων των συμμετεχουσών δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις με την ηλικία, τις σωματομετρικές παραμέτρους ή τις μετρήσεις της αρτηριακής πίεσης. Παρομοίως δεν βρέθηκαν συσχετίσεις με τα ηπατικά ένζυμα, την ολική χοληστερόλη ή άλλα λιπίδια, τους δείκτες ινσουλινοαντίστασης, τα ανδρογόνα ή τον ωθηκικό όγκο. Τόσο στις έφηβες με PCOS όσο και στις έφηβες με ινσουλινοαντίσταση, βρέθηκε αρνητική συσχέτιση με την LDL ($r=-0.387$, $p=0.014$ και $r=-0.430$, $p=0.022$, αντίστοιχα). Αντίθετα, στις λιγότερο μεταβολικά επιβαρυνμένες νορμοβαρείς μάρτυρες βρέθηκε θετική συσχέτιση της fetuin A με τα τριγλυκερίδια ($r=0.511$, $p=0.015$).

Μέτριας ισχύος θετική συσχέτιση βρέθηκε μεταξύ του **FGF21** και του WHtR στις έφηβες με PCOS ($\rho=0,372$, $p=0,028$). Στις μάρτυρες βρέθηκαν μέτριες αρνητικές συσχετίσεις μεταξύ FGF21 και των τρανσαμινασών ($\rho=-0,370$, $p=0,048$ για την SGOT, και $\rho=-0,444$, $p=0,016$ για την SGPT).

Όσον αφορά τη **Selenoprotein P**, παρουσίασε μέτρια συσχέτιση με την τεστοστερόνη και το FAI ($r=0.325$, $p=0.007$ και $r=0.361$, $p=0.002$). Αυτές οι συσχετίσεις παρέμειναν σταθερές και στις επιμέρους ομάδες (PCOS – μάρτυρες). Ειδικά στις ομάδα των μαρτύρων βρέθηκε συσχέτιση και με τον ωθηκικό όγκο ($r=0.414$, $p=0.021$). Επιπρόσθετα, στις μάρτυρες παρουσιάστηκε θετική συσχέτιση με τον δείκτη WHR ($r=0.385$, $p=0.024$) και αρνητική με την HDL ($p=-0.369$, $p=0.045$).

Η **SHBG** είχε αρκετές σημαντικές αρνητικές συσχετίσεις με δυσμενείς μεταβολικές παραμέτρους τόσο σε όλο το δείγμα όσο και στις επιμέρους ομάδες: με το BMI ($r=-0.398$, $P<0.001$), με τη ΣΑΠ ($r=-0.299$, $p=0.18$), με το WHtR ($r=-0.407$, $p<0.001$), με την ολική

χοληστερόλη ($r=-0.276$, $p=0.024$), με το HOMA-IR ($r=-0.400$, $p=0.001$). Όπως ήταν αναμενόμενο, η SHBG συσχετίστηκε με τα επίπεδα των ανδρογόνων. Τέλος, ανεδείχθη αρνητική συσχέτιση μεταξύ της SHBG και του ωοθηκικού όγκου στις μάρτυρες ($r=-0.312$, $p=0.011$).

Πίνακας 10: Συσχετίσεις των ηπατοκινών με σωματομετρικούς και εργαστηριακούς παράγοντες στο σύνολο των συμμετεχουσών

	fetuin A			FGF21			Selenoprotein P			SHBG		
	n	r	p-value	n	r	p-value	n	r	p-value	n	r	p-value
<i>Ηλικία (έτη)</i>	75	-0.204	0.079	68	-	0,229	74	0,105	0,373	68	-	0,008
					0,148						0,321	
<i>BMI (kg/m²)</i>	75	-0.163	0.163	68	0,123	0,319	74	0,144	0,222	68	-	<0,001
											0,398	
<i>ΣΑΠ(mmHg)</i>	68	-	0.625	61	0,088	0,499	67	-	0,852	62	-	0,018
		0.060						0,023			0,299	
<i>ΔΑΠ(mmHg)</i>	68	0.056	0.056	61	0,068	0,613	67	-	0,675	62	-	0,646
								0,053			0,061	
<i>WHR</i>	74	-	0.398	67	0,435	0,097	73	0,114	0,335	67	-	0,146
		0.100									0,180	
<i>WHtR</i>	74	-	0.165	67	0,175	0,157	73	0,105	0,378	67	-	<0,001
		0.163									0,407	
<i>SGOT (U/l)</i>	70	0,020	0,873	64	-	0.409	69	-	0,558	66	-	0,778
					0.105			0,066			0,035	
<i>SGPT (U/l)</i>	71	-	0,831	64	-	0,506	70	-	0,464	67	-	0,176
		0,026			0,085			0,089			0,171	
<i>γGT (U/l)</i>	68	-	0,775	62	-	0,554	67	-	0,589	64	-	0,148
		0,035			0,077			0,067			0,183	
<i>TC (mg/dl)</i>	72	-	0,143	65	-	0,895	71	-	0,898	67	-	0,024
		0,174			0,017			0,016			0,276	
<i>LDL (mg/dl)</i>	71	0,077	0,522	64	0,071	0,578	70	-	0,191	66	-	0,822
								0,158			0,028	
<i>HDL (mg/dl)</i>	71	0,141	0,240	64	-	0,830	70	0,030	0,806	66	0,120	0,338
					0,027							
<i>TG (mg/dl)</i>	72	0,041	0,734	65	-	0,994	71	0,003	0,980	67	-	0,061
					0,001						0,230	
<i>VitD (ng/mL)</i>	54	-	0,206	49	-	0,567	53	0,185	0,186	51	-	0,970
		0,175			0,084						0,005	
<i>Testosterone (ng/mL)</i>	68	0,034	0,781	61	-	0,953	68	0,325	0,007	66	-	0,016
					0,008						0,295	
<i>FAI</i>	68	0,005	0,969	61	0,063	0,631	68	0,361	0,002	68	-	<0,001
											0,529	
<i>Δ4 (ng/dL)</i>	68	-	0,119	61	-	0,683	68	0,174	0,157	66	0,001	0,991
		0,191			0,053							

Ωοθ. όγκος (cm ³)	71	0,176	0,143	64	-	0,499	70	-	0,937	66	-	0,011
					0,086			0,010			0,312	
cIMT	64	-	0,709	61	0,051	0,696	63	-	0,431	59	0,052	0,698
		0,047						0,101				
Fibroscan® stiffness	27	0,030	0,881	27	0,181	0,367	27	0,333	0,090	26	-	0,320
											0,203	
HSI	70	-	0,221	61	0,051	0,691	69	0,120	0,327	66	-	<0,001
		0,148									0,411	
HOMA-IR	65	0,078	0,535	59	0,024	0,859	65	0,120	0,340	62	-	0,001
											0,400	

BMI; δείκτης μάζας σώματος, ΣΑΠ; Συστολική αρτηριακή πίεση, ΔΑΠ; Διαστολική αρτηριακή πίεση, WHR; Λόγος περιμέτρου μέσης προς περίμετρος γοφών, WHtR; λόγος περιμέτρου μέσης προς ύψος, SGOT; οξαλοξική τρανσαμινάση, SGPT; πυροσταφυλική τρανσαμινάση, γGT, γ-γλουταμυλτρανσφεράσης, TC: ολική χοληστερόλη, LDL: λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας, HDL: λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας TG: τριγλυκερίδια, VitD, 25-OH-vitamin, FAI; free androgen index, Δ4; ανδροστενεδιόνη, cIMT; carotid intima-media thickness, HSI; Hepatic steatosis index, HOMA-IR; Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance
Με έντονη γραφή σημειώνονται οι στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

6. Λογιστική παλινδρόμηση

Αύξηση του FGF21 κατά 1 pg/mL, αύξησε κατά 1% την πιθανότητα διάγνωσης λιπώδους διήθησης ήπατος υπερηχογραφικά, όταν οι υπόλοιπες παράμετροι παρέμειναν αμετάβλητες. Λόγω του μεγάλου εύρους του FGF21 με το 3-ψήφιο IQR του, η αύξησή του μπορεί να οδηγήσει σε σημαντικά αυξημένες διαγνώσεις στεάτωσης. Η συμμετοχή του FGF21 στα μοντέλα ηπατικής στεάτωσης ήταν παρούσα και στην υποομάδα των PCOS και στην υποομάδα με BMI ≥ 25 kg/m².

Επιπρόσθετα αύξηση της ηλικίας κατά ένα έτος οδήγησε σε αύξηση 220% στην πιθανότητα διάγνωσης NAFLD και η αύξηση της HOMA-IR κατά ένα 1 οδήγησε σε αύξηση 98% στην πιθανότητα διάγνωσης NAFLD.

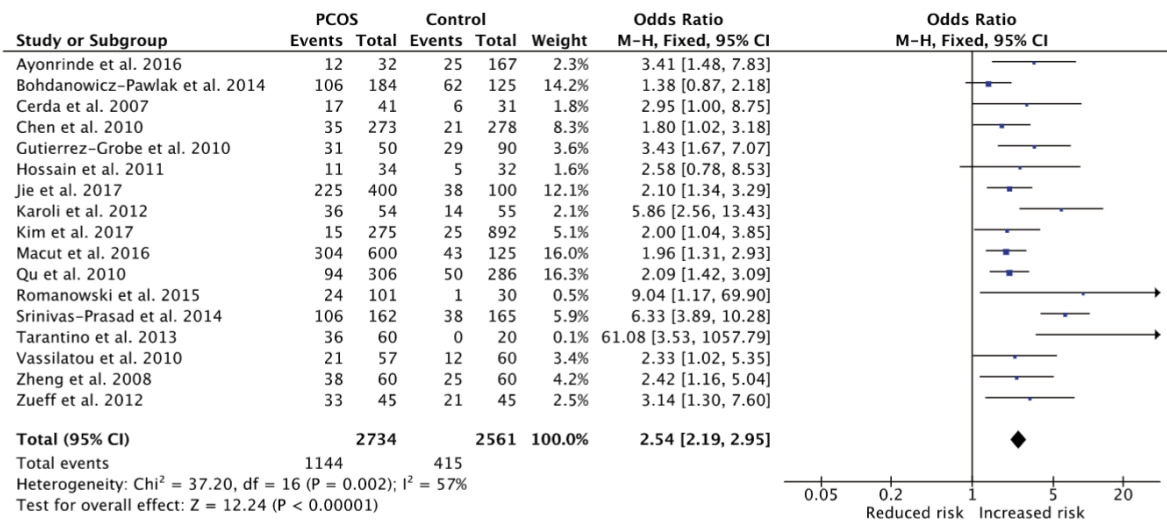
Συζήτηση

Στην παρούσα μελέτη σε δείγμα των εφήβων με PCOS, αναζητήθηκε εάν οι ηπατικές εκδηλώσεις του συνδρόμου είναι εμφανείς ήδη από την εφηβεία. Χρησιμοποιήθηκε πληθώρα μεθόδων ελέγχου της ηπατικής βλάβης: υπερηχογράφημα, ελαστογραφία, βιοχημικές παράμετροι και σχετικά υπολογιζόμενα σκορς. Με όλες τις μεθόδους εκτίμησης της ηπατικής βλάβης πλην της ελαστογραφίας, βρέθηκαν υψηλότερα ποσοστά NAFLD στις έφηβες με PCOS σε σχέση με τις συνομήλικες υγιείς μάρτυρες. Συγκεκριμένα, οι πιθανότητες οι έφηβες να διαγνωστούν με NAFLD (με υπερηχογράφημα ήπατος) έχοντας PCOS σε σχέση με τις μάρτυρες ήταν 4,55 προς 1 (OR 4,55 CI 0,92-22,45). Το αποτέλεσμα αυτό συνάδει με αντίστοιχα αποτελέσματα στη βιβλιογραφία τόσο σε ενήλικες γυναίκες όσο και στις λιγοστές μελέτες που συμμετέχουν έφηβες. Οι έφηβες με PCOS και NAFLD, παρουσίαζαν εντονότερη υπερανδρογοναιμία και χειρότερο μεταβολικό προφίλ (λιπίδια και ινσουλινοαντίσταση).

Αναζητήθηκαν συναφείς μελέτες στη βιβλιογραφία, οι οποίες προσπαθούν να διερευνήσουν την ύπαρξη και τον τύπο της σχέσης μεταξύ PCOS και NAFLD. Οι βασικοί διαμεσολαβητές που έχουν προταθεί είναι το σωματικό βάρος/λίπος, η υπερανδρογοναιμία, η ινσουλινοαντίσταση και η φλεγμονή. Ωστόσο, οι σημαντικές αλληλεπιδράσεις που υπάρχουν ανάμεσα σε αυτούς τους παράγοντες δυσχεραίνουν την αποσαφήνιση της σχέσης PCOS με τη λιπώδη νόσο του ήπατος.

Το 2017 δημοσιεύτηκε η συστηματική ανασκόπηση και μεταανάλυση της Rocha και των συνεργατών της σχετικά με τη NAFLD στις ασθενείς με PCOS, προσπαθώντας να απαντήσει στο ερώτημα ποια χαρακτηριστικά του PCOS, είτε ειδικά, όπως η υπερανδρογοναιμία είτε μη ειδικά, όπως οι μεταβολικές διαταραχές, μεταβάλλουν τον κίνδυνο για ανάπτυξη NAFLD. Η αρχική τους υπόθεση ήταν πως πολυσχιδείς και πολυπαραγοντικές καταστάσεις όπως η

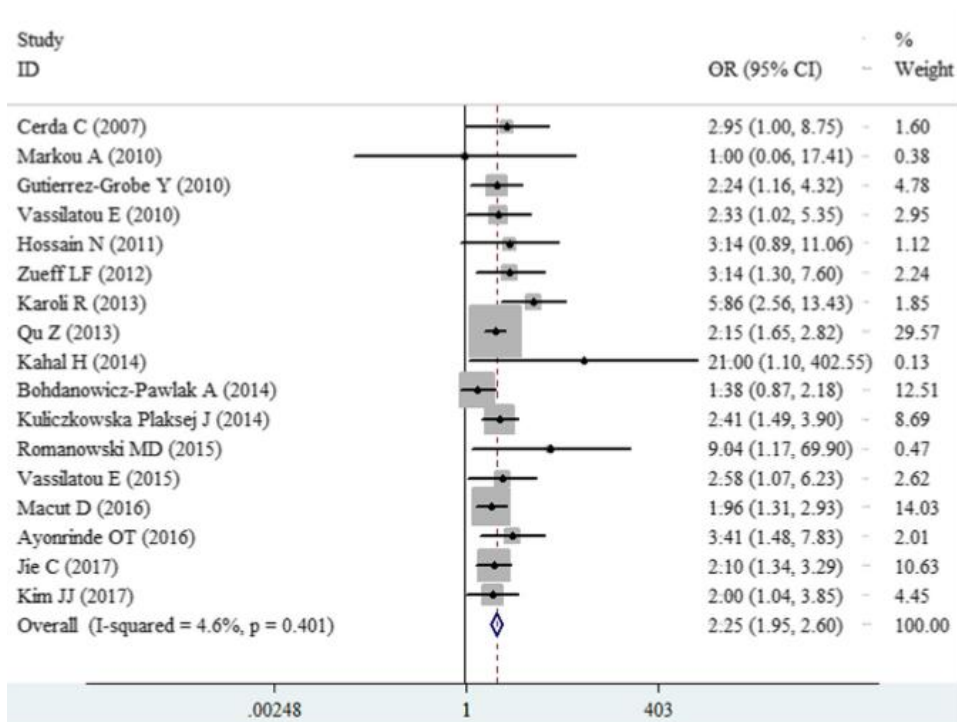
NAFLD και το PCOS δεν είναι απαραίτητο πως συνυπάρχουν πάντα αλλά το πιθανότερο είναι να έχουν περισσότερα του ενός κοινά σημεία [295]. Η μελέτη τους συμπεριέλαβε 17 προηγούμενες μελέτες που συνολικά συμμετείχαν 2734 γυναίκες με PCOS και 2561 υγιείς μάρτυρες παρόμοιου BMI. Φάνηκε πως οι γυναίκες με PCOS είχαν μεγαλύτερο επιπολασμό NAFLD (OR-odds ratio, 2,54, 95% CI =2,19-2,95) που παρέμενε μετά τη διαστρωμάτωση του BMI, και ανάμεσα σε αυτές, οι γυναίκες με τον κλασσικό PCOS φαινότυπο είχαν μεγαλύτερο επιπολασμό σε σχέση με αυτές με νεότερο φαινότυπο. Επίσης, ανάμεσα στις γυναίκες με PCOS, αυτές που παρουσίαζαν NAFLD είχαν υψηλότερα επίπεδα ολικής τεστοστερόνης ορού (μέση διαφορά 0,40 nmol/L 95% CI = 0,29-0,5) και FAI (μέση διαφορά 4,46, 95% CI =3,35-5,39). Η πολυπαραγοντική ανάλυση με ταυτόχρονο έλεγχο για όλους του πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες (ηλικία, BMI, τριγλυκερίδια, και ινσουλινοαντίσταση) έδειξε πως η ολική τεστοστερόνη ορού και ο FAI είναι ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες της NAFLD στο PCOS.



Εικόνα 14: Ποσοτική σύνθεση των εκβάσεων των μελετών
Πηγή: Rocha et. al [295]

Στον γενικό πληθυσμό, έχει καταδειχθεί πως όντως η αύξηση του βάρους προηγείται της εμφάνισης της NAFLD σε πρότερα υγιείς ενήλικες [296]. Ο επιπολασμός και των δύο παθολογιών, PCOS και NAFLD, αυξάνεται ανάλογα με τον βαθμό της ινσουλινοαντίστασης και λιπώδους μάζας του σώματος [170]. Ο πιο εμφανής κοινός παρονομαστής των δύο παθολογιών είναι η αντίσταση στην ινσουλίνη, η οποία στο PCOS, όπως ήδη αναφέρθηκε, προκαλεί επίταση της υπερανδρογοναιμίας και ανωθυλακιορρηξία ενώ στη NAFLD προωθεί τη συσσώρευση λίπους στο ήπαρ. Ωστόσο, κατά την πολυπαραγοντική ανάλυση επιβεβαιώθηκε ο κίνδυνος για NAFLD με ταυτόχρονο έλεγχο για ινσουλινοαντίσταση και σωματικό βάρος. Συμπερασματικά προτείνεται από τους συγγραφείς η ύπαρξη ενός επιπρόσθετου μηχανισμού, πιθανώς μέσω της υπερανδρογοναιμίας [295].

Το 2018 ο Wu και συνεργάτες δημοσίευσαν μια συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας και μεταανάλυση 17 μελετών, που συνέκριναν γυναίκες με PCOS με υγιείς μάρτυρες, όσον αφορά τη NAFLD. Φάνηκε πως σε σχέση με τις υγιείς μάρτυρες, οι γυναίκες με PCOS είχαν υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης NAFLD (OR = 2.25, 95% CI = 1.95–2.60). Ο κίνδυνος παρέμεινε και μετά τη διαστρωμάτωση για γεωγραφική περιοχή, BMI, και διαφορετικά κριτήρια διάγνωσης του PCOS. Συγκεκριμένα, ο λόγος των αναλογιών (odds ratio) για τις παχύσαρκες ασθενείς βρέθηκε OR = 3.01 (95% CI = 1.88–4.82) ενώ για τις μη παχύσαρκες OR = 2.07 (95% CI = 1.12–3.85) [297]. Αυτό αποδεικνύει πως οι γυναίκες με PCOS παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο για την ανάπτυξη NAFLD, ανεξαρτήτως του σωματικού τους βάρους. Ο καθοριστικός παράγοντας εντός του PCOS φαίνεται πως είναι η ύπαρξη ή όχι υπερανδρογοναιμίας, καθώς μόνο οι υπερανδρογονικές ασθενείς είχαν αυξημένο κίνδυνο σε σχέση με τις μάρτυρες.



Εικόνα 15: Ποσοτική σύνθεση των εκβάσεων των μελετών που παρουσιάζουν τον σχετικό κίνδυνο ηπατικής στεάτωσης σε ασθενείς PCOS και μάρτυρες
 Πηγή: Wu et al. [297]

Από τις λίγες μελέτες εντός της μεταανάλυσης που δεν εμφανίστηκε αυξημένος κίνδυνος για NAFLD στις ασθενείς με PCOS, είναι η Ελληνική μελέτη της Μάρκου και συνεργατών. Σε αντίθεση με την πλειοψηφία των μελετών για τη NAFLD που συμμετέχουν κυρίως υπέρβαρες ασθενείς, η ομάδα της Μάρκου και των συνεργατών της το 2010 δημοσίευσε μία μελέτη στην οποία συγκρίθηκαν 17 νορμοβαρείς γυναίκες με PCOS με 17 υγιείς μάρτυρες. Η μέση ηλικία τους ήταν 20-33 έτη και η εκτίμηση της NAFLD έγινε με υπερηχογράφημα και αξονική τομογραφία. Βρέθηκε πως οι γυναίκες με PCOS είχαν αντίσταση στην ινσουλίνη, ωστόσο καμία από τις συμμετέχουσες δεν παρουσίαζαν λιπώδη διήθηση ήπατος, προτείνοντας πως ίσως χρειάζεται και άλλος επιπρόσθετος παράγοντας πλην την αντίστασης στην ινσουλίνη για να εμφανιστεί η NAFLD στις ασθενείς με PCOS [298].

Όσον αφορά τις έφηβες, στη συγκεκριμένη μετα-ανάλυση μόνο μία μελέτη αφορούσε έφηβες με PCOS, αυτή των Agonrinde και συνεργατών [299]. Η συγκεκριμένη μελέτη σχεδιάστηκε για τη διερεύνηση του επιπολασμού της NAFLD σε έφηβες με PCOS. 201 έφηβες ελέγχθηκαν και για τις δύο παθολογίες. Για το PCOS χρησιμοποιήθηκαν τα κριτήρια του NIH, λόγω εντονότερης συσχέτισής τους με τον καρδιαγγειακό κίνδυνο από αυτά του Rotterdam, και ο επιπολασμός του PCOS στο δείγμα ήταν 16,1% [150]. Οι μελετητές έκαναν πολλαπλές μονοπαραγοντικές στατιστικές αναλύσεις συγκρίνοντας έφηβες με NAFLD και PCOS προς έφηβες με μόνο NAFLD καθώς και έφηβες με NAFLD και PCOS με συνομήλικα έφηβα αγόρια με ή χωρίς NAFLD. Ο επιπολασμός της ηπατικής στεάτωσης στο σύνολο των κοριτσιών ήταν 18,6% ενώ ο συνδυασμός και των δύο παθολογιών βρέθηκε στο 6% του συνόλου. Η τελευταία, περισσότερο επιβαρυσμένη, ομάδα παρουσίαζε και μεγαλύτερο βάρος, BMI, σπλαχνικό λίπος, ινσουλινοαντίσταση και υψηλότερα ανδρογόνα. Αναμενόμενα, η NAFLD ήταν συχνότερη στις έφηβες με PCOS από εκείνες χωρίς το σύνδρομο (37,5% έναντι 15,1%, $P=0,003$). Σχεδόν το σύνολο των αυξημένων επιπέδων τρανσαμινασών ($SGPT>30$ U/L) βρέθηκε στην επιβαρυσμένη ομάδα (PCOS+NAFLD). Κατά τη σύγκριση με τα συνομήλικα αγόρια, η ίδια ομάδα βρέθηκε να έχει παρόμοιο βάρος, BMI, λιπομέτρηση, λιπίδια, γλυκόζη και αντιπυονεκτίνη. Ως ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες για την εμφάνιση ηπατικής στεάτωσης στις έφηβες κρίθηκαν η διάγνωση του PCOS και το πάχος της δερματικής πτυχής (OR 2,99, 95% CI 1,01–8,82, $P=0.048$ και OR 1,14, 95% CI 1,08–1,20, $P<0,001$ αντίστοιχα), ενώ είναι ενδιαφέρον πως η HOMA-IR δεν προέβλεψε ανεξάρτητα από τους υπόλοιπους παράγοντες την παρουσία της ηπατικής στεάτωσης [299].

Την ίδια χρονιά δημοσιεύτηκε η μελέτη των Cree-Green και συνεργατών οι οποίοι εστίασαν στους επιβαρυντικούς παράγοντες της ηπατικής στεάτωσης παχύσαρκων έφηβων με ή χωρίς PCOS. Τα αποτελέσματά τους ήταν ιδιαίτερα ενδιαφέροντα καθώς παρατήρησαν πως το 50%

των μη διαβητικών κοριτσιών με PCOS και παχυσαρκία παρουσίαζαν ηπατική στεάτωση, η οποία σχετιζόταν με το ποσό του σπλαχνικού λίπους και τον βαθμό της λιπογένεσης αλλά όχι με την ευαισθησία στην ινσουλίνη ή τα επίπεδα των ανδρογόνων [300]. Συγκεκριμένα, οι μελετητές συμπεριέλαβαν 41 ασθενείς με PCOS (διεγνωσμένες με τα NIH κριτήρια) με μέση ηλικία τα 15 έτη και 30 παχύσαρκες έφηβες. Εκτός από τις τυπικές εργαστηριακές μετρήσεις, μετρήθηκαν σπλαχνικό και ηπατικό λίπος με μαγνητική τομογραφία, δείκτες de novo λιπογένεσης και αναζητήθηκε η ευαισθησία διάφορων ιστών στην ινσουλίνη. Το 49% των παχύσαρκων εφήβων με PCOS είχαν ηπατική στεάτωση έναντι του 14% των παχύσαρκων εφήβων χωρίς το σύνδρομο και αυτή η διαφορά ήταν στατιστικά σημαντική ($p=0,02$). Επιπρόσθετα, οι έφηβες με PCOS είχαν χειρότερη ευαισθησία στην ινσουλίνη στην περιφέρεια, στο ήπαρ και στο λιπώδη ιστό [300].

Σε δευτερεύουσα ανάλυση στο ίδιο δείγμα παχύσαρκων εφήβων με PCOS αναζητήθηκαν φυλετικές/εθνικές διαφορές. Οι ερευνητές ανέδειξαν στατιστικά σημαντική διαφορά στον επιπολασμό της NAFLD ανάμεσα στις διάφορες φυλετικές ομάδες. Συγκεκριμένα, η ισπανική φυλή (Hispanic white) παρουσίασε επιπολασμό 62%, η καυκάσια (non-hispanic white) 42%, ενώ η μαύρη φυλή 25 ($p=0,032$) [301].

Προ διετίας δημοσιεύτηκε από την ίδια ομάδα μελέτη σχετικά με τον επιπολασμό των ηπατικών διαταραχών σε έφηβες ασθενείς με PCOS [201]. Η Carreau και οι συνεργάτες της προσπάθησαν να αναπτύξουν ένα νέο εργαλείο πρόβλεψης κινδύνου για NAFLD στις υπέρβαρες έφηβες με PCOS καθώς η υπερτρανσαμινασαιμία δεν είναι αρκετά ευαίσθητος δείκτης NAFLD στα υπέρβαρα κορίτσια στην εφηβεία [302]. Το 52% των συμμετεχουσών στη μελέτη αυτή είχαν NAFLD. Σχεδιάστηκε ένα δείκτης "PCOS-HS index" που περιλαμβάνει την εκατοστιαία θέση του BMI, την περίμετρο μέσης, την SGPT και την SHBG με εμβαδόν κάτω

από την καμπύλη ROC 0.81, ευαισθησία 82%, ειδικότητα 69%, αρνητική προγνωστική αξία (NPV) 78% και θετική προγνωστική αξία 74%, θέτοντας το όριο του 0.44 για την πρόβλεψη της ηπατικής στεάτωσης. Το όριο του 0.15 αποκλείει τη NAFLD με αρνητική προγνωστική αξία 90%. Στην κοορτή στάθμισης, το μοντέλο έδειξε ακρίβεια 81%, ευαισθησία 91% και ειδικότητα 70%.

Άλλες δύο μελέτες για τον εφηβικό πληθυσμό ήταν η μελέτη του Barfield et al δημοσιευμένη το 2009, όπου βρέθηκε επιπολασμός ηπατικών εκδηλώσεων (χρησιμοποιήθηκε η υπερτρανσαμινασαιμία ως δείκτης) σε παχύσαρκες έφηβες με PCOS 15,4%, και αυτή της Michaliszyn et al, όπου σε 30 παχύσαρκες έφηβες με το σύνδρομο διαγνώστηκε με αξονική τομογραφία ηπατική νόσος στο 6,7% των ασθενών [303,304].

Τέλος, πρόσφατα δημοσιεύτηκε η μεγάλη μελέτη του Won et al. από την Κορέα, στην κοορτή της οποίας συμπεριλαμβάνονταν και έφηβες ασθενείς που διαγνώστηκαν με PCOS βάσει των AE-PCOS κριτηρίων και παρουσίασαν NAFLD σε ποσοστό 11,8%. Στην ίδια μελέτη το ποσοστό των ενήλικων ασθενών με PCOS εμφάνιζαν ηπατική στεάτωση σε μικρότερο ποσοστό (8,1%) [305].

Συμπερασματικά, όλο και περισσότερες μελέτες θεωρούν τον υπερανδρογονισμό συνδετικό κρίκο μεταξύ της NAFLD και του PCOS, πέραν από την ινσουλινοαντίσταση [175]. Τόσο τα στατιστικά αποτελέσματα επιδημιολογικών μελετών αλλά και η συμπλησίαση σε αρκετά σημεία των γενετικών και μεταφραστικών μονοπατιών της ηπατικής νόσου και των ανδρογόνων φαίνεται πως συγκλίνουν στο ανωτέρω συμπέρασμα. Έτσι, η περίσσεια των ανδρογόνων μπορεί να συνεισφέρει στην NAFLD στις γυναίκες με PCOS, επηρεάζοντας είτε

άμεσα το ήπαρ είτε έμμεσα μέσω της ρύθμισης της ευαισθησίας της ινσουλίνης, της αύξησης του σπλαχνικού λίπους ή του συνδυασμού αυτών [175].

Το 2014 η American Association of Clinical Endocrinologists (AACE) σε συνεργασία με την Androgen Excess and PCOS Society (AES) προτείνει για πρώτη φορά τον έλεγχο ρουτίνας όλων των γυναικών με PCOS για μεταβολικό σύνδρομο, ενώ ήδη από το 2013 η Endocrine Society προτείνει υψηλό δείκτη υποψίας για τη NAFLD στις γυναίκες με PCOS αλλά όχι έλεγχο ρουτίνας [84,306]. Η λιπώδης διήθηση του ήπατος δεν αναφέρεται στις πρόσφατες κατευθυντήριες οδηγίες για το PCOS αλλά ούτε και στη συνεργασία της Pediatric Endocrine Society με την Androgen Excess - PCOS society [10,76]. Χωρίς σαφείς οδηγίες είναι αναμενόμενο να υπάρχουν μεγάλες διαφοροποιήσεις ως προς τον έλεγχο που διεξάγει κάθε κλινικός ιατρός σε μια γυναίκα που έχει διαγνωστεί με PCOS και είναι πιθανότερο να ελέγχονται συχνότερα γυναίκες μεγαλύτερες ηλικίας και αυτές με το υψηλότερο BMI [301].

Το ήπαρ φαίνεται ότι επηρεάζει τον μεταβολισμό των λιπιδίων και της γλυκόζης μέσω των ηπατοκινών. Στη NAFLD η παραγωγή αυτών των ηπατοκινών από το ήπαρ φαίνεται να μεταβάλλεται [252,261].

Στην παρούσα μελέτη παράλληλα με τη διερεύνηση της λιπώδους νόσου του ήπατος στο PCOS, μελετήθηκαν και οι ηπατοκίνες καθώς και η συσχέτισή τους με διάφορες παραμέτρους του συνδρόμου αλλά και του μεταβολισμού. Ο έλεγχος της βιβλιογραφίας για μελέτες ηπατοκινών ανέδειξε λίγα αποτελέσματα και ανεπαρκή ένταξη αυτών στη γενικότερη εικόνα των διαταραχών του μεταβολισμού που χαρακτηρίζουν το PCOS.

Ο FGF21 ως ηπατοκίνη στο PCOS

Αντικρουόμενα είναι τα αποτελέσματα της βιβλιογραφίας για τα επίπεδα του FGF21 στις γυναίκες με PCOS. Επί του παρόντος υπάρχουν 8 σχετικές μελέτες στη βιβλιογραφία, οι μισές ανέδειξαν υψηλότερα επίπεδα FGF21 στις γυναίκες με PCOS, ενώ στις υπόλοιπες δεν αναδείχθηκε σημαντική διαφορά ανάμεσα στις γυναίκες με PCOS και τις υγιείς μάρτυρες. Συγκεκριμένα, οι μελέτες των Sahin, Kahraman, Martinez-Garcia και Ramanjaneya και των συνεργατών τους αφορούσαν όλες γυναίκες με PCOS στη δεκαετία των 20-30 ετών και δεν ανέδειξαν στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις 2 ομάδες [245,307–309].

Η πρώτη μελέτη που συνδέει τα αυξημένα επίπεδα FGF21 με το σύνδρομο δημοσιεύτηκε το 2010 από τον Gogar et al. και συνέκρινε νορμοβαρείς και υπέρβαρες γυναίκες με PCOS με νορμοβαρείς υγιείς μάρτυρες στη δεκαετία των 20 ετών. Στην ανάλυση που πραγματοποιήθηκε, αν και τα επίπεδα του FGF21 δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων, η χαμηλότερη τιμή του στην ομάδα ελέγχου ήταν εμφανής σε σύγκριση με άλλες ομάδες. Όταν πραγματοποιήθηκε διόρθωση βάσει ηλικίας και BMI, και πάλι δεν προσδιορίστηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων. Παρατηρήθηκε ωστόσο ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων του FGF21 στον ορό και της LH ($r=0.43, p<0.01$) και της τεστοστερόνης ($r=0.38, p<0.05$) σε όλα τα group [310].

Το 2015, οι Olszanecka et al. επανέλαβαν το ίδιο πρότυπο μελέτης χρησιμοποιώντας δείγμα με νορμοβαρείς γυναίκες με PCOS, υπέρβαρες γυναίκες με PCOS και υγιείς μάρτυρες (νορμοβαρείς και παχύσαρκες) άνω των 20 ετών. Τα επίπεδα του FGF21 στο πλάσμα ήταν σημαντικά υψηλότερα στις παχύσαρκες γυναίκες σε σύγκριση με τις γυναίκες με φυσιολογικό βάρος τόσο στην ομάδα των PCOS όσο και στην ομάδα χωρίς PCOS. Επιπλέον, τα επίπεδα του FGF21 ήταν σημαντικά υψηλότερα στην υποομάδα των παχύσαρκων PCOS

σε σύγκριση με παχύσαρκες μάρτυρες, αλλά όχι στην υποομάδα PCOS φυσιολογικού βάρους σε σύγκριση με τις νορμοβαρείς υγιείς μάρτυρες. Επίσης θετική συσχέτιση παρατηρήθηκε με την WC, το HOMA-IR αλλά όχι τα ανδρογόνα [311].

Οι μελέτες των Bednarsha και Cheng ανέδειξαν αυξημένα επίπεδα του FGF21 στις γυναίκες με PCOS σε σχέση με τις μάρτυρες [312,313]. Στην πρώτη μελέτη, οι τιμές των παραμέτρων δεν επηρεάστηκαν ιδιαίτερα από τα διαφορετικά BMI [312]. Η δεύτερη μελέτη αφορούσε πρόοδο προς ΣΔ2, και ανέδειξε σημαντικά υψηλότερα επίπεδα FGF21 στις ασθενείς που ανέπτυξαν ΣΔ2 ανεξαρτήτως ηλικίας, περιμέτρου μέσης και HOMA-IR [313].

Στο δείγμα μας δεν βρέθηκε διαφορά στα επίπεδα του FGF 21 μεταξύ των εφήβων με PCOS και μαρτύρων. Επίσης, δεν βρέθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ νορμοβαρών και υπέρβαρων/παχύσαρκων ασθενών. Ωστόσο, η ηπατοκίνη FGF21 παρουσίαζε υψηλότερα επίπεδα στις έφηβες με PCOS και ηπατική στεάτωση (υπερηχογραφικά) σε σχέση με τις έφηβες με PCOS και φυσιολογικό ήπαρ (υπερηχογραφικά). Η σχέση αυτή του FGF21 με την NAFLD επιβεβαιώθηκε και στο μοντέλο λογιστικής παλινδρόμησης. Επιπρόσθετα, επιβεβαιώθηκε η θετική συσχέτιση με την περίμετρο μέσης που έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία [311].

Η Fetuin A ως ηπατοκίνη στο PCOS

Τα τελευταία 10 έτη έχουν δημοσιευτεί 9 μελέτες στη βιβλιογραφία αναζητώντας πιθανή διαφορά στα επίπεδα της fetuin A σε σχέση με το PCOS status της γυναίκας. Τα αποτελέσματα των έως τώρα μελετών δεν είναι ομόφωνα. Παρόλο που η πλειοψηφία των μελετών αναδεικνύει υψηλότερα επίπεδα fetuin A στις γυναίκες με PCOS, υπάρχουν μελέτες που δεν βρίσκουν στατιστικά σημαντική διαφορά καθώς και μία μελέτη σε δείγμα εφήβων με PCOS, που βρίσκει χαμηλότερα επίπεδα fetuin A στον ορό.

Η μελέτη των Abali et al. ήταν η πρώτη που ανέδειξε σημαντική διαφορά στα επίπεδα της ηπατοκίνης ανάμεσα στις γυναίκες με PCOS και τις υγιείς μάρτυρες ($101.2 \text{ ng/ml} \pm 33.55$ vs. $82.5 \text{ ng/ml} \pm 32.65$, $P = 0.019$) με συσχέτισή της με τα λιπίδια αλλά όχι με το cIMT [314]. Στατιστικά σημαντικά αυξημένα επίπεδα της fetuin A ανεδείχθησαν και από τους Enli et al. την ίδια χρονιά με ταυτόχρονη θετική συσχέτιση με τις τιμές της ινσουλίνης, του HOMA-IR και του FAI [315]. Παρόμοια αποτελέσματα ανέδειξαν οι μελέτες των Sak, Liu και Ramanjaneya και συνεργατών [245,316,317].

Η μελέτη των Gulhan et al. που ήταν και η πρώτη μελέτη που αναζήτησε τη σχέση της fetuin A και του PCOS, δεν ανέδειξε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις γυναίκες με το σύνδρομο και τις υγιείς μάρτυρες [318]. Οι Kozakowski et al. αναζήτησαν διαφορά στα επίπεδα της ηπατοκίνης ανάμεσα σε νορμοβαρείς και παχύσαρκες γυναίκες με PCOS, ωστόσο δεν ανέδειξαν στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα σε αυτές τις δύο ομάδες [319].

Ιδιαίτερη μνεία πρέπει να γίνει στη μελέτη των Diaz και συνεργατών που δημοσιεύτηκε το 2018. Η συγκεκριμένη μελέτη είναι η μόνη που αφορά εφηβικό πληθυσμό. Συνέκρινε νορμοβαρείς έφηβες με PCOS με υγιείς έφηβες ίδιου BMI και αξιολόγησε και το ηπατικό λίπος με MRI. Στη συγκεκριμένη μελέτη οι έφηβες με PCOS είχαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα fetuin A σε σχέση με τις υγιείς, επίπεδα που εμφανίστηκαν αυξημένα μετά τη θεραπεία με ευαισθητοποιητές ινσουλίνης, αλλά όχι με τα αντισυλληπτικά δισκία. Αναδείχθηκε, επίσης, αρνητική συσχέτιση της ηπατοκίνης με το ηπατικό λίπος τόσο στις μάρτυρες όσο και στις έφηβες με PCOS. Σχολιάζοντας τα αποτελέσματα οι ερευνητές αναφέρονται στην πιθανή αντιφλεγμονώδη δράση της fetuin A (ενδογενής αναστολέας των

μεταλλοπρωτεΐναςών) και προβλημάτων κατά τη διαδικασία μέτρησης της ηπατοκίνης [320].

Σε μια πρωτότυπη μελέτη πρωτεωμικού προφίλ του ωοθυλακικού υγρού γυναικών με PCOS που υποβλήθηκαν σε IVF, παρατηρήθηκε αποκλειστική έκφραση της fetuin A σε σχέση με την ομάδα των υγιών δοτριών ωαρίων [321].

Παρόλο που στην παρούσα μελέτη δεν βρέθηκαν διαφορές στα επίπεδα της fetuin A σε οποιαδήποτε σύγκριση έγινε, τα αποτελέσματα κατά τον έλεγχο των συσχετίσεων ήταν αμφίρροπα. Στις έφηβες με PCOS βρέθηκε αρνητική συσχέτιση με την LDL, αποτέλεσμα που θα μπορούσε να αντιστοιχηθεί με την αρνητική συσχέτιση που βρήκαν οι Diaz et al. με το ηπατικό λίπος [320]. Αντίθετα στις μάρτυρες βρέθηκε μέτρια θετική συσχέτιση με τα τριγλυκερίδια, συσχέτιση που έχει αναφερθεί παλαιότερα στη βιβλιογραφία από τους Abali et al. [314].

Η Selenoprotein P ως ηπατοκίνη στο PCOS

Η διακύμανση των επιπέδων της selenoprotein P (SeP) στο μεταβολικό σύνδρομο και στο PCOS δεν έχει προσδιοριστεί με ακρίβεια στη βιβλιογραφία. Αρχικά, αναφέρεται ότι τα επίπεδα SeP μειώνονται σε φλεγμονώδεις καταστάσεις και στο μεταβολικό σύνδρομο [267,268]. Στη βιβλιογραφία υπάρχουν δύο μελέτες που ερευνούν τα επίπεδα της SeP στο PCOS, οι οποίες ωστόσο έχουν αντικρουόμενα αποτελέσματα. Το 2017, οι Zagrodzki et al. δημοσιεύσαν πως δεν ανευρέθηκαν διαφορές στη selenoprotein P ανάμεσα στην ομάδα των γυναικών με PCOS και στις υγιείς μάρτυρες, ενώ το 2021 οι Temur et al. βρήκαν τα επίπεδά της σημαντικά υψηλότερα στις PCOS γυναίκες σε σχέση με τις υγιείς μάρτυρες (7.48 ± 3.80 vs. 5.17 ± 3.20 mg/ml, $p = .005$) [322,323].

Στην παρούσα μελέτη ενώ ανεδείχθησαν διαφορές στην αρχική σύγκριση μεταξύ εφήβων με PCOS και μαρτύρων, αυτές δεν παρέμειναν στις επιμέρους συγκρίσεις. Ωστόσο παρατηρήθηκαν ενδιαφέρουσες μέτριας ισχύος συσχετίσεις με την τεστοστερόνη και το FAI και στις δύο ομάδες (με PCOS και χωρίς). Οι συσχετίσεις αυτές σίγουρα παρουσιάζουν ενδιαφέρον και αξίζει να διερευνηθούν σε μεγαλύτερες μελέτες στο μέλλον.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η σχέση της ηπατοκίνης αυτής με μεταβολικές παραμέτρους δεν είναι σταθερή στη βιβλιογραφία γιατί σε παιδικό πληθυσμό έχει φανεί θετική συσχέτιση μεταξύ SeP και HDL και αρνητική μεταξύ SeP και BMI, WC, BP, επιπέδων τρανσαμινασών και HOMA IR [324,325] ενώ σε ενήλικες έχει συσχετιστεί με το MetS και το ΣΔ2 [326]. Στην παρούσα μελέτη θετικές συσχετίσεις με μεταβολικές παραμέτρους βρέθηκαν μόνο στην ομάδα των μαρτύρων.

Η SHBG ως ηπατοκίνη στο PCOS

Πρόσφατες μελέτες (GWAS και mendelian randomization αναλύσεις) αποδεικνύουν πως η SHBG έχει σημαντικότερο ρόλο στις μεταβολικές διαταραχές από ό,τι της είχε δοθεί στο παρελθόν, λειτουργώντας τόσο ως βιοδείκτης (biomarker) μεταβολικών διαταραχών, συμπεριλαμβανομένης της de novo λιπογένεσης, όσο και ως μεσολαβητής (είτε πρωτογενής είτε δευτερογενής) στην παθογένεση μεταβολικών διαταραχών όπως ο ΣΔ και το PCOS [327]. Συγκεκριμένα, ενώ για το PCOS είναι καθοριστικοί παράγοντες τόσο η γενετικά προσδιορισμένη ολική τεστοστερόνη όσο και η SHBG, για τον ΣΔ φαίνεται πως μόνο η SHBG έχει άμεσο ρόλο.

Στην παρούσα μελέτη, η SHBG παρουσίασε διαφορές ανάμεσα στις μάρτυρες και τις έφηβες με PCOS. Στις μάρτυρες η SHBG παρουσίασε πληθώρα αντίστροφων συσχετίσεων μέτριας

ισχύος με δυσμενείς μεταβολικές παραμέτρους όπως το BMI, η ΣΑΠ, την WC, το WHtR, και το HOMA-IR. Εντυπωσιακή είναι η ισχυρή θετική συσχέτιση με την ApoA1. Από τις παραμέτρους αυτές μόνο η WC και το WHtR διατηρούν τη συσχέτιση και στην ομάδα των εφήβων με PCOS. Η συσχέτιση της SHBG με τον ωοθηκικό όγκο παρέμεινε μόνο στην ομάδα των PCOS με αξιοσημείωτη έλλειψη συσχέτισης με την ολική τεστοστερόνη, επιβεβαιώνοντας τα νεότερα δεδομένα πως γενετικά, η σχέση SHBG και ολικής τεστοστερόνης δεν είναι αλληλοεξαρτώμενη.

Όσον αφορά τη θεωρία πως το λίπος του ήπατος είναι κύριος καθοριστικός παράγοντας της παραγωγής της SHBG, στην ομάδα των εφήβων με PCOS, οι έφηβες με HSI>36 (ενδεικτικό ηπατικής στεατώσεως) δεν είχαν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα SHBG σε σχέση με τις έφηβες με HSI≤36. Αντίθετα στις μάρτυρες υπήρχε μέτρια συσχέτιση της SHBG με το HSI.

Η SHBG έχει προταθεί από ερευνητές ως κύριος μεσολαβητής στον ηπατο-ωοθηκικό άξονα για το PCOS. Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή, στο αρχικό στάδιο του PCOS, η λιπώδης διήθηση του ήπατος οδηγεί σε μείωση της παραγωγής SHBG άρα και αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας των ανδρογόνων. Η αύξηση αυτή οδηγεί από τη μία σε ωοθηκική δυσλειτουργία και από την άλλη μειώνει την ευαισθησία του υποθαλάμου στην LH, οδηγεί σε υπέρμετρη απελευθέρωση GnRH, που διεγείρει την περαιτέρω απελευθέρωση της LH [328].

Η συμμετοχή της SHBG έχει κινήσει το ενδιαφέρον των ερευνητών για πιθανό θεραπευτικό της ρόλο στη NAFLD και την IR.

Πλεονεκτήματα και περιορισμοί της μελέτης

Το βασικό πλεονέκτημα της μελέτης είναι η αναζήτηση των ηπατικών εκδηλώσεων του PCOS σε δείγμα εφηβικού πληθυσμού, στον οποίο οι μελέτες για το αντίστοιχο θέμα στη βιβλιογραφία είναι ελάχιστες. Η λιπώδης νόσος σε μικρή ηλικία ίσως είναι πιο επικίνδυνη από τη διάγνωσή της αργότερα στην ενήλικη ζωή. Η προϊούσα πορεία της νόσου από την εφηβεία ως την προχωρημένη ενήλικη ζωή, δίνει περισσότερο χρόνο για την πιθανή εξέλιξη της νόσου σε ηπατική κίρρωση και ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα. Ωστόσο, οποιαδήποτε παρέμβαση σε αυτή την ηλικία, με αλλαγή του τρόπου ζωής, απώλεια βάρους και πιθανώς με βελτίωση της υπερανδρογοναιμίας στις ασθενείς με PCOS, μπορεί να οδηγήσει σε πλήρη υποστροφή της λιπώδους νόσου του ήπατος και να δημιουργήσει ορθότερες συνήθειες που θα την προστατεύσουν από τον καρδιαγγειακό κίνδυνο γενικότερα.

Η δυσχέρεια της διάγνωσης του PCOS στην εφηβεία ξεπεράστηκε με τη δημιουργία ενός σαφούς και αυστηρού πρωτοκόλλου εισαγωγής στη μελέτη, το οποίο περιελάμβανε τόσο τον ορισμό του συνδρόμου βάσει του consensus του Rotterdam (ESHRE/ASRM) όσο και όλες τις προτάσεις των Εταιρειών για τη διάγνωση του συνδρόμου στην εφηβεία. Αυτό οδήγησε σε ένα δείγμα εφήβων με διάγνωση αντιπροσωπευτική του PCOS στον πληθυσμό που μελετήθηκε.

Η επιλογή των μαρτύρων έγινε από τα ίδια νοσοκομειακά τμήματα με τις ασθενείς ώστε να περιοριστούν οι κοινωνικοοικονομικοί συγχυτικοί παράγοντες.

Η διαφορά που προέκυψε στο BMI μεταξύ των δύο ομάδων, εφήβων με PCOS και μαρτύρων, ήταν αναμενόμενη καθώς είναι γνωστό πως ο επιπολασμός της υπερβαρότητας/παχυσαρκίας είναι αυξημένος στο PCOS. Η διαστρωμάτωση για το BMI και

η λεπτομερής αναφορά όλων των αποτελεσμάτων στις διάφορες κατηγορίες BMI, αποσαφήνισε τη σχέση του BMI με όλες τις μετρούμενες παραμέτρους της μελέτης.

Ο σχεδιασμός της μελέτης επέτρεψε τη διερεύνηση της διαφοροποίησης της λιπώδους νόσου του ήπατος για τις δύο ομάδες (έφηβες με PCOS και μάρτυρες), ωστόσο η αιτιολογική συσχέτιση των δύο παθολογιών δεν δύναται να εξεταστεί με τον συγκεκριμένο τύπο μελέτης.

Επιπρόσθετα, η μέτρηση των επιπέδων των ανδρογόνων παρότι έγινε κατά τα υψηλότερα εργαστηριακά πρότυπα, δεν έγινε με την ιδανική μέθοδο. Συγκεκριμένα, για τον ποσοτικό προσδιορισμό της τεστοστερόνης χρησιμοποιήθηκε η μικροσωματιδιακή ανοσοεξέταση χημειοφωταύγειας (Chemiluminescent Microparticle Immunoassays - CMIA) της εταιρείας Abbott. Οι πρόσφατες κατευθυντήριες οδηγίες του 2018 προτείνουν τη χρήση χρωματογραφίας - φασματομετρίας μάζας για τον ακριβή προσδιορισμό της ολικής και την ελεύθερης τεστοστερόνης, η οποία ωστόσο είναι αρκετά ακριβή και δεν χρησιμοποιείται ευρέως από τα εργαστήρια. Η ερμηνεία των επιπέδων των ανδρογόνων καθοδηγήθηκε από το εύρος φυσιολογικών τιμών του Ορμονολογικού Εργαστηρίου του Αρεταίειου Νοκοσοκομείου και την ηλικία της κάθε έφηβης, όπως αναφέρεται στις προτάσεις για τη διάγνωση του PCOS στην εφηβεία [76].

Συμπεράσματα

Οι έφηβες με PCOS που μελετήθηκαν ήταν πιθανότερο να διαγνωστούν συγχρόνως με λιπώδη νόσο του ήπατος από τις έφηβες χωρίς PCOS. Η διαφορά αυτή ήταν στατιστικά σημαντική είτε χρησιμοποιήθηκε για τη διάγνωση υπερηχογράφημα ήπατος, είτε δείκτες υπολογιζόμενοι από βιοχημικές παραμέτρους. Ωστόσο, δεν υπήρχε αντίστοιχη διαφορά στις διαγνώσεις της ηπατικής ίνωσης με τη μέθοδο του Fibroscan® ανάμεσα στις δύο ομάδες. Οι έφηβες με PCOS και σύγχρονη ηπατική στεάτωση είχαν εντονότερο υπερανδρογονισμό και ινσουλινοαντίσταση και χειρότερο λιπιδαιμικό προφίλ σε σχέση με εκείνες που είχαν μόνο PCOS. Ο FGF21 συμμετείχε στην πρόβλεψη της ηπατικής στεάτωσης, καθιστώντας τον συνεπώς ως ένα χρήσιμο βιοδείκτη μελλοντικά. Επιπρόσθετα, τα επίπεδα των Selenoprotein P και SHBG βρέθηκαν σημαντικά χαμηλότερα στις έφηβες με PCOS. Η Selenoprotein P παρουσίασε σημαντική συσχέτιση με το Free androgen index ενώ η SHBG πληθώρα συσχετίσεων με μεταβολικές παραμέτρους. Βάσει των αποτελεσμάτων, η συχνή σύγχρονη εκδήλωση του PCOS με λιπώδη νόσο του ήπατος ήδη από την εφηβεία μπορεί να κατευθύνει την κλινική πρακτική στον έλεγχο ρουτίνας του ήπατος των εφήβων με PCOS, στοχεύοντας στην έγκαιρη διάγνωση πιθανής ηπατικής νόσου, πιθανώς και με τη χρήση ηπατοκινών.

Βιβλιογραφικές αναφορές

- [1] ACOG Practice Bulletin No. 194: Polycystic Ovary Syndrome. *Obstet Gynecol* 2018;131:e157–71. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000002656>.
- [2] Diamanti-Kandarakis E, Kouli CR, Bergiele AT, Filandra FA, Tsianateli TC, Spina GG, et al. A Survey of the Polycystic Ovary Syndrome in the Greek Island of Lesbos: Hormonal and Metabolic Profile. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:4006–11. <https://doi.org/10.1210/JCEM.84.11.6148>.
- [3] Azziz R, Dumesic DA, Goodarzi MO. POLYCYSTIC OVARY SYNDROME: AN ANCIENT DISORDER? *Fertil Steril* 2011;95:1544. <https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2010.09.032>.
- [4] Stein IF, Leventhal ML. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *Am J Obstet Gynecol* 1935;29:181–91. [https://doi.org/10.1016/S0002-9378\(15\)30642-6](https://doi.org/10.1016/S0002-9378(15)30642-6).
- [5] Stein IF, Cohen MR, Elson R. Results of bilateral ovarian wedge resection in 47 cases of sterility: Twenty-year end results: 75 cases of bilateral polycystic ovaries. *Am J Obstet Gynecol* 1949;58:267–74. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(49\)90379-8](https://doi.org/10.1016/0002-9378(49)90379-8).
- [6] STEIN IFS. The Stein-Leventhal syndrome. *Clin Obstet Gynecol* 1959;2:207–17. <https://doi.org/10.1097/00003081-195903000-00019>.
- [7] Zawadzki JK DA. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: Towards a rational approach. In: *Polycystic Ovary Syndrome (Current Issues in Endocrinology and Metabolism)*. *Curr Issues Endocrinol Metab* 1992:377-undefined.
- [8] group TREP consensus workshop. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod* 2004;19:41–7. <https://doi.org/10.1093/HUMREP/DEH098>.
- [9] Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, et al. The Androgen Excess and PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report. *Fertil Steril* 2009;91:456–88. <https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2008.06.035>.
- [10] Teede HJ, Misso ML, Costello MF, Dokras A, Laven J, Moran L, et al. Recommendations from the international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome † , ‡. *Hum Reprod* 2018;33:1602–18. <https://doi.org/10.1093/humrep/dey256>.
- [11] Evidence-based Methodology Workshop on Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) | NIH Office of Disease Prevention Website n.d. <https://prevention.nih.gov/research-priorities/research-needs-and-gaps/pathways-prevention/evidence-based-methodology-workshop-polycystic-ovary-syndrome-pcos> (accessed August 17, 2021).
- [12] Wolf WM, Wattick RA, Kinkade ON, Olfert MD. Geographical Prevalence of Polycystic Ovary Syndrome as Determined by Region and Race/Ethnicity. *Int J Environ Res Public Health* 2018;15. <https://doi.org/10.3390/IJERPH15112589>.
- [13] Okoroh EM, Hooper WC, Atrash HK, Yusuf HR, Boulet SL. Prevalence of polycystic

- ovary syndrome among the privately insured, United States, 2003-2008. *Am J Obstet Gynecol* 2012;207:299.e1-299.e7. <https://doi.org/10.1016/J.AJOG.2012.07.023>.
- [14] March WA, Moore VM, Willson KJ, Phillips DIW, Norman RJ, Davies MJ. The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample assessed under contrasting diagnostic criteria. *Hum Reprod* 2010;25:544–51. <https://doi.org/10.1093/HUMREP/DEP399>.
- [15] 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;83:3078–82. <https://doi.org/10.1210/JCEM.83.9.5090>.
- [16] Azziz R. Reproductive endocrinology and infertility: Clinical expert series polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol* 2018;132:321–36. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000002698>.
- [17] Bozdag G, Mumusoglu S, Zengin D, Karabulut E, Yildiz BO. The prevalence and phenotypic features of polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod* 2016;31:2841–55. <https://doi.org/10.1093/HUMREP/DEW218>.
- [18] Naz MSG, Tehrani FR, Majd HA, Ahmadi F, Ozgoli G, Fakari FR, et al. The prevalence of polycystic ovary syndrome in adolescents: A systematic review and meta-analysis. *Int J Reprod Biomed* 2019;17:533. <https://doi.org/10.18502/IJRM.V17I8.4818>.
- [19] 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;89:2745–9. <https://doi.org/10.1210/JC.2003-032046>.
- [20] Azziz R, Sanchez LA, Knochenhauer ES, Moran C, Lazenby J, Stephens KC, et al. Androgen Excess in Women: Experience with Over 1000 Consecutive Patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:453–62. <https://doi.org/10.1210/JC.2003-031122>.
- [21] Chang WY, Knochenhauer ES, Bartolucci AA, Azziz R. Phenotypic spectrum of polycystic ovary syndrome: clinical and biochemical characterization of the three major clinical subgroups. *Fertil Steril* 2005;83:1717–23. <https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2005.01.096>.
- [22] Carmina E, Rosato F, Janni A, Rizzo M, Longo RA. Relative Prevalence of Different Androgen Excess Disorders in 950 Women Referred because of Clinical Hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:2–6. <https://doi.org/10.1210/JC.2005-1457>.
- [23] Yildiz BO, Bolour S, Woods K, Moore A, Azziz R. Visually scoring hirsutism. *Hum Reprod Update* 2010;16:51. <https://doi.org/10.1093/HUMUPD/DMP024>.
- [24] FERRIMAN D, GALLWEY JD. CLINICAL ASSESSMENT OF BODY HAIR GROWTH IN WOMEN. *J Clin Endocrinol Metab* 1961;21:1440–7. <https://doi.org/10.1210/JCEM-21-11-1440>.
- [25] Falsetti L, Gambera A, Andrico S, Sartori E. Acne and hirsutism in polycystic ovary syndrome: clinical, endocrine–metabolic and ultrasonographic differences. [Http://DxDoiOrg/101080/Gye164275284](http://DxDoiOrg/101080/Gye164275284) 2009;16:275–84.

- <https://doi.org/10.1080/GYE.16.4.275.284>.
- [26] Borgia F, Cannavò S, Guarneri F, Cannavò SP, Vaccaro M, Guarneri B. Correlation between endocrinological parameters and acne severity in adult women. *Acta Derm Venereol* 2004;84:201–4. <https://doi.org/10.1080/00015550410023248>.
- [27] Hacivelioglu S, Gungor ANC, Gencer M, Uysal A, Hizli D, Koc E, et al. Acne severity and the Global Acne Grading System in polycystic ovary syndrome. *Int J Gynecol Obstet* 2013;123:33–6. <https://doi.org/10.1016/J.IJGO.2013.05.005>.
- [28] Futterweit W, Dunaif A, Yeh H-C, Kingsley P. The prevalence of hyperandrogenism in 109 consecutive female patients with diffuse alopecia. *J Am Acad Dermatol* 1988;19:831–6. [https://doi.org/10.1016/S0190-9622\(88\)70241-8](https://doi.org/10.1016/S0190-9622(88)70241-8).
- [29] Vexiau P, Chaspoux C, Boudou P, Fiet J, Abramovici Y, Rueda M-J, et al. Role of androgens in female-pattern androgenetic alopecia, either alone or associated with other symptoms of hyperandrogenism. *Arch Dermatological Res* 2000 29212 2000;292:598–604. <https://doi.org/10.1007/S004030000184>.
- [30] Lizneva D, Gavrilova-Jordan L, Walker W, Azziz R. Androgen excess: Investigations and management. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2016;37:98–118. <https://doi.org/10.1016/J.BPOBGYN.2016.05.003>.
- [31] Longcope C. Adrenal and gonadal androgen secretion in normal females. *Clin Endocrinol Metab* 1986;15:213–28. [https://doi.org/10.1016/s0300-595x\(86\)80021-4](https://doi.org/10.1016/s0300-595x(86)80021-4).
- [32] Taylor, H., Pal, L. and Sell E. *Speroff's Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*. 9th Editio. Wolters Kluwer Health; 2019.
- [33] Miller KK, Rosner W, Lee H, Hier J, Sesmilo G, Schoenfeld D, et al. Measurement of Free Testosterone in Normal Women and Women with Androgen Deficiency: Comparison of Methods. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:525–33. <https://doi.org/10.1210/JC.2003-030680>.
- [34] Vermeulen A, Verdonck L, Kaufman JM. A Critical Evaluation of Simple Methods for the Estimation of Free Testosterone in Serum. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:3666–72. <https://doi.org/10.1210/JCEM.84.10.6079>.
- [35] Azziz R, Black V, Hines GA, Fox LM, Boots LR. Adrenal Androgen Excess in the Polycystic Ovary Syndrome: Sensitivity and Responsivity of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:2317–23. <https://doi.org/10.1210/JCEM.83.7.4948>.
- [36] Workshop RE-SP consensus. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod* 2004;41.
- [37] Carmina E, Orio F, Palomba S, Longo RA, Lombardi G, Lobo RA. Ovarian size and blood flow in women with polycystic ovary syndrome and their correlations with endocrine parameters. *Fertil Steril* 2005;84:413–9. <https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2004.12.061>.
- [38] Clayton RN, Ogden V, Hodgkinson J, Worswick L, Rodin DA, Dyer S, et al. How common are polycystic ovaries in normal women and what is their significance for the

- fertility of the population? *Clin Endocrinol (Oxf)* 1992;37:127–34.
<https://doi.org/10.1111/J.1365-2265.1992.TB02296.X>.
- [39] Michelmore KF, Balen AH, Dunger DB, Vessey MP. Polycystic ovaries and associated clinical and biochemical features in young women. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1999;51:779–86. <https://doi.org/10.1046/J.1365-2265.1999.00886.X>.
- [40] LOWE P, KOVACS G, HOWLETT D. Incidence of polycystic ovaries and polycystic ovary syndrome amongst women in Melbourne, Australia. *Aust New Zeal J Obstet Gynaecol* 2005;45:17–9. <https://doi.org/10.1111/J.1479-828X.2005.00334.X>.
- [41] Dewailly D, Lujan ME, Carmina E, Cedars MI, Laven J, Norman RJ, et al. Definition and significance of polycystic ovarian morphology: a task force report from the Androgen Excess and Polycystic Ovary Syndrome Society. *Hum Reprod Update* 2014;20:334–52. <https://doi.org/10.1093/HUMUPD/DMT061>.
- [42] Lujan ME, Jarrett BY, Brooks ED, Reines JK, Peppin AK, Muhn N, et al. Updated ultrasound criteria for polycystic ovary syndrome: reliable thresholds for elevated follicle population and ovarian volume. *Hum Reprod* 2013;28:1361–8. <https://doi.org/10.1093/HUMREP/DET062>.
- [43] Dewailly D, Gronier H, Poncelet E, Robin G, Leroy M, Pigny P, 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;26:3123–9. <https://doi.org/10.1093/HUMREP/DER297>.
- [44] Christensen SB, Ericsson UB, Janzon L, Tibblin S, Trelle E. The prevalence of thyroid disorders in a middle-aged female population, with special reference to the solitary thyroid nodule. *Acta Chir Scand* 1984;150:13–9.
- [45] Bjoro T, Holmen J, Kruger O, Midthjell K, Hunstad K, Schreiner T, et al. Prevalence of thyroid disease, thyroid dysfunction and thyroid peroxidase antibodies in a large, unselected population. The Health Study of Nord-Trøndelag (HUNT). *Eur J Endocrinol* 2000;143:639–47. <https://doi.org/10.1530/EJE.0.1430639>.
- [46] Krassas GE, Pontikides N, Kaltsas T, Papadopoulou P, Paunkovic J, Paunkovic N, et al. Disturbances of menstruation in hypothyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1999;50:655–9. <https://doi.org/10.1046/J.1365-2265.1999.00719.X>.
- [47] HIGUCHI K, NAWATA H, MAKI T, HIGASHIZIMA M, KATO K-I, IBAYASHI H. Prolactin Has a Direct Effect on Adrenal Androgen Secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 1984;59:714–8. <https://doi.org/10.1210/JCEM-59-4-714>.
- [48] C M, R A. 21-hydroxylase-deficient nonclassic adrenal hyperplasia: the great pretender. *Semin Reprod Med* 2003;21:295–300. <https://doi.org/10.1055/S-2003-43307>.
- [49] Ross EJ, Linch DC. CUSHING’S SYNDROME—KILLING DISEASE: DISCRIMINATORY VALUE OF SIGNS AND SYMPTOMS AIDING EARLY DIAGNOSIS. *Lancet* 1982;320:646–9. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(82\)92749-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(82)92749-0).
- [50] Gold EM. The Cushing syndromes: Changing views of diagnosis and treatment. *Ann Intern Med* 1979;90:829–44. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-90-5-829>.

- [51] Urbanic RC, George JM. Cushing's disease--18 years' experience. *Medicine (Baltimore)* 1981;60:14–24.
- [52] Kaltsas GA, Korbonits M, Isidori AM, Webb JAW, Trainer PJ, Monson JP, et al. How common are polycystic ovaries and the polycystic ovarian syndrome in women with Cushing's syndrome? *Clin Endocrinol (Oxf)* 2000;53:493–500. <https://doi.org/10.1046/J.1365-2265.2000.01117.X>.
- [53] Derksen J, Nagesser SK, Meinders AE, Haak HR, van de Velde C. Identification of Virilizing Adrenal Tumors in Hirsute Women. <Http://DxDoiOrg/101056/NEJM199410133311502> 2010;331:968–73. <https://doi.org/10.1056/NEJM199410133311502>.
- [54] Barbieri RL, Ryan KJ. Hyperandrogenism, insulin resistance, and acanthosis nigricans syndrome: A common endocrinopathy with distinct pathophysiologic features. *Am J Obstet Gynecol* 1983;147:90–101. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(83\)90091-1](https://doi.org/10.1016/0002-9378(83)90091-1).
- [55] Semple RK, Savage DB, Cochran EK, Gorden P, O'Rahilly S. Genetic Syndromes of Severe Insulin Resistance. *Endocr Rev* 2011;32:498–514. <https://doi.org/10.1210/ER.2010-0020>.
- [56] Azziz R, Carmina E, Sawaya ME. Idiopathic Hirsutism. *Endocr Rev* 2000;21:347–62. <https://doi.org/10.1210/EDRV.21.4.0401>.
- [57] GOMPEL A, WRIGHT F, KUTTENN F, MAUVAIS-JARVIS P. Contribution of Plasma Androstenedione to 5 α -Androstanediol Glucuronide in Women with Idiopathic Hirsutism. *J Clin Endocrinol Metab* 1986;62:441–4. <https://doi.org/10.1210/JCEM-62-2-441>.
- [58] Le MT, Le VNS, Le DD, Nguyen VQH, Chen C, Cao NT. Exploration of the role of anti-Mullerian hormone and LH/FSH ratio in diagnosis of polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2019;90:579–85. <https://doi.org/10.1111/CEN.13934>.
- [59] Anti-mullerian hormone : biology, role in ovarian function and clinical. 2015:339.
- [60] DB S, DT M. Mullerian Inhibiting Substance is an ovarian growth factor of emerging clinical significance. *Fertil Steril* 2007;88:539–46. <https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2007.02.014>.
- [61] Moller DE, Flier JS. Insulin Resistance — Mechanisms, Syndromes, and Implications. <Http://DxDoiOrg/101056/NEJM199109263251307> 2010;325:938–48. <https://doi.org/10.1056/NEJM199109263251307>.
- [62] Legro RS, Schlaff WD, Diamond MP, Coutifaris C, Casson PR, Brzyski RG, et al. Total Testosterone Assays in Women with Polycystic Ovary Syndrome: Precision and Correlation with Hirsutism. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:5305. <https://doi.org/10.1210/JC.2010-1123>.
- [63] DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. <Https://DoiOrg/101152/Ajpendo19792373E214> 1979;6. <https://doi.org/10.1152/AJPENDO.1979.237.3.E214>.
- [64] Mathews ST, Singh GP, Ranalletta M, Cintron VJ, Qiang X, Goustin AS, et al. Improved

- Insulin Sensitivity and Resistance to Weight Gain in Mice Null for the Ahsg Gene. *Diabetes* 2002;51:2450–8. <https://doi.org/10.2337/DIABETES.51.8.2450>.
- [65] McAuley KA, Williams SM, Mann JI, Walker RJ, Lewis-Barned NJ, Temple LA, et al. Diagnosing Insulin Resistance in the General Population. *Diabetes Care* 2001;24:460–4. <https://doi.org/10.2337/DIACARE.24.3.460>.
- [66] Andrade MIS de, Oliveira JS, Leal VS, Lima NMS da, Costa EC, Aquino NB de, et al. Identification of cutoff points for Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance index in adolescents: systematic review. *Rev Paul Pediatr* 2016;34:234. <https://doi.org/10.1016/J.RPPEDE.2016.01.004>.
- [67] Arellano-Ruiz P, García-Hermoso A, Cavero-Redondo I, Pozuelo-Carrascosa D, Martínez-Vizcaíno V, Solera-Martinez M. Homeostasis Model Assessment cut-off points related to metabolic syndrome in children and adolescents: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Pediatr* 2019 17812 2019;178:1813–22. <https://doi.org/10.1007/S00431-019-03464-Y>.
- [68] DeFronzo RA, Ferrannini E. Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care* 1991;14:173–94. <https://doi.org/10.2337/diacare.14.3.173>.
- [69] Katz A, Nambi SS, Mather K, Baron AD, Follmann DA, Sullivan G, et al. Quantitative Insulin Sensitivity Check Index: A Simple, Accurate Method for Assessing Insulin Sensitivity In Humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:2402–10. <https://doi.org/10.1210/JCEM.85.7.6661>.
- [70] Keskin M, Kurtoglu S, Kendirci M, Atabek ME, Yazici C. Homeostasis Model Assessment Is More Reliable Than the Fasting Glucose/Insulin Ratio and Quantitative Insulin Sensitivity Check Index for Assessing Insulin Resistance Among Obese Children and Adolescents. *Pediatrics* 2005;115:e500–3. <https://doi.org/10.1542/PEDS.2004-1921>.
- [71] Matsuda M, DeFronzo RA. Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp. *Diabetes Care* 1999;22:1462–70. <https://doi.org/10.2337/DIACARE.22.9.1462>.
- [72] Lechner K, Lechner B, Crispin A, Schwarz PEH, von Bibra H. Waist-to-height ratio and metabolic phenotype compared to the Matsuda index for the prediction of insulin resistance. *Sci Reports* 2021 111 2021;11:1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-87266-z>.
- [73] Lorenzo C, Haffner SM, Stančáková A, Kuusisto J, Laakso M. Fasting and OGTT-derived Measures of Insulin Resistance as Compared With the Euglycemic-Hyperinsulinemic Clamp in Nondiabetic Finnish Offspring of Type 2 Diabetic Individuals. *J Clin Endocrinol Metab* 2015;100:544–50. <https://doi.org/10.1210/JC.2014-2299>.
- [74] Kauffman RP, Baker VM, DiMarino P, Gimpel T, Castracane VD. Polycystic ovarian syndrome and insulin resistance in white and Mexican American women: A comparison of two distinct populations. *Am J Obstet Gynecol* 2002;187:1362–9. <https://doi.org/10.1067/MOB.2002.126650>.

- [75] Carmina E, Oberfield SE, Lobo RA. The diagnosis of polycystic ovary syndrome in adolescents. *Am J Obstet Gynecol* 2010;203:201.e1-201.e5. <https://doi.org/10.1016/J.AJOG.2010.03.008>.
- [76] Witchel SF, Oberfield S, Rosenfield RL, Codner E, Bonny A, Ibáñez L, et al. The Diagnosis of Polycystic Ovary Syndrome during Adolescence. *Horm Res Paediatr* 2015;83:376–89. <https://doi.org/10.1159/000375530>.
- [77] Rosenfield RL. The Diagnosis of Polycystic Ovary Syndrome in Adolescents. *Pediatrics* 2015;136:1154–65. <https://doi.org/10.1542/PEDS.2015-1430>.
- [78] Pandolfi C, Zugaro A, Lattanzio F, Necozone S, Barbonetti A, Colangeli MS, et al. Low birth weight and later development of insulin resistance and biochemical/clinical features of polycystic ovary syndrome. *Metab - Clin Exp* 2008;57:999–1004. <https://doi.org/10.1016/J.METABOL.2008.02.018>.
- [79] Ibáñez L, Díaz R, López-Bermejo A, Marcos MV. Clinical spectrum of premature pubarche: Links to metabolic syndrome and ovarian hyperandrogenism. *Rev Endocr Metab Disord* 2008 101 2008;10:63–76. <https://doi.org/10.1007/S11154-008-9096-Y>.
- [80] Uçar A, Yackobovitch-Gavan M, Erol OB, Yekeler E, Saka N, Baş F, et al. Associations of Size at Birth and Postnatal Catch-up Growth Status With Clinical and Biomedical Characteristics in Prepubertal Girls With Precocious Adrenarche: Preliminary Results. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99:2878–86. <https://doi.org/10.1210/JC.2013-3144>.
- [81] Sir-Petermann T, Codner E, Pérez V, Echiburú B, Maliqueo M, Guevara AL de, et al. Metabolic and Reproductive Features before and during Puberty in Daughters of Women with Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:1923. <https://doi.org/10.1210/JC.2008-2836>.
- [82] MJ F, KN L. Guidelines for Clinical Practice: From Development to Use 1992. <https://doi.org/10.17226/1863>.
- [83] Ibáñez L, Oberfield SE, Witchel S, Auchus RJ, Chang RJ, Codner E, et al. An International Consortium Update: Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment of Polycystic Ovarian Syndrome in Adolescence. *Horm Res Paediatr* 2017;88:371–95. <https://doi.org/10.1159/000479371>.
- [84] Legro RS, Arslanian SA, Ehrmann DA, Hoeger KM, Murad MH, Pasquali R, et al. Diagnosis and Treatment of Polycystic Ovary Syndrome: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:4565–92. <https://doi.org/10.1210/JC.2013-2350>.
- [85] Lara-Torre E, Gomez-Lobo V. Sanfilippo's Textbook of Pediatric and Adolescent Gynecology Second Edition. Sanfilippo's Textb Pediatr Adolesc Gynecol Ed 2019. <https://doi.org/10.1201/9781315147659/SANFILIPPO-TEXTBOOK-PEDIATRIC-ADOLESCENT-GYNECOLOGYSECOND-EDITION-JOSEPH-SANFILIPPO-EDUARDO-LARA-TORRE-VERONICA-GOMEZ-LOBO>.
- [86] Rosenfield RL. Clinical review: Adolescent anovulation: maturational mechanisms and implications. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:3572–83. <https://doi.org/10.1210/jc.2013-1770>.

- [87] Diamanti-Kandarakis E. PCOS in adolescents. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2010;24:173–83. <https://doi.org/10.1016/J.BPOBGYN.2009.09.005>.
- [88] Metcalf MG, Skidmore DS, Lowry GF, Mackenzie JA. Incidence of ovulation in the years after the menarche. *J Endocrinol* 1983;97:213–9. <https://doi.org/10.1677/JOE.0.0970213>.
- [89] Apter D, Raisanen I, Ylostalo P, Vihko R. Follicular growth in relation to serum hormonal patterns in adolescent compared with adult menstrual cycles. *Fertil Steril* 1987;47:82–8. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(16\)49940-1](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)49940-1).
- [90] Vihko R, Apter D. Endocrine characteristics of adolescent menstrual cycles: impact of early menarche. *J Steroid Biochem* 1984;20:231–6. [https://doi.org/10.1016/0022-4731\(84\)90209-7](https://doi.org/10.1016/0022-4731(84)90209-7).
- [91] Venturoli S, Porcu E, Fabbri R, Paradisi R, Ruggeri S, Bolelli G, et al. Menstrual Irregularities in Adolescents: Hormonal Pattern and Ovarian Morphology. *Horm Res Paediatr* 1986;24:269–79. <https://doi.org/10.1159/000180567>.
- [92] Southam AL, Richart RM. The prognosis for adolescents with menstrual abnormalities. *Am J Obstet Gynecol* 1966;94:637–45. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(66\)90398-X](https://doi.org/10.1016/0002-9378(66)90398-X).
- [93] Treloar AE, Boynton RE, Behn BG, Brown BW. Variation of the human menstrual cycle through reproductive life. *Int J Fertil* 1967;12:77–126.
- [94] ACOG Committee Opinion No. 651: Menstruation in Girls and Adolescents: Using the Menstrual Cycle as a Vital Sign. *Obstet Gynecol* 2015;126:e143–6. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000001215>.
- [95] World Health Organization multicenter study on menstrual and ovulatory patterns in adolescent girls. II. Longitudinal study of menstrual patterns in the early postmenarcheal period, duration of bleeding episodes and menstrual cycles. *World Health Organiz. J Adolesc Heal Care Off Publ Soc Adolesc Med* 1986;7:236–44.
- [96] van Hooff MHA, Voorhorst FJ, Kaptein MBH, Hirasing RA, Koppelaar C, Schoemaker J. Endocrine features of polycystic ovary syndrome in a random population sample of 14–16 year old adolescents. *Hum Reprod* 1999;14:2223–9. <https://doi.org/10.1093/HUMREP/14.9.2223>.
- [97] Sultan C, Paris F. Clinical expression of polycystic ovary syndrome in adolescent girls. *Fertil Steril* 2006;86 Suppl 1:S6. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2006.04.015>.
- [98] Rosenfield RL. Adolescent Anovulation: Maturational Mechanisms and Implications. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:3572–83. <https://doi.org/10.1210/jc.2013-1770>.
- [99] Urbanska E, Hirnle L, Olszanecka-Glinianowicz M, Skrzypulec-Plinta V, Skrzypulec-Frankel A, Drosdzol-Cop A. Is polycystic ovarian syndrome and insulin resistance associated with abnormal uterine bleeding in adolescents? *Ginekol Pol* 2019;90:262–9. <https://doi.org/10.5603/GP.2019.0049>.
- [100] Merino PM, Codner E, Cassorla F. A rational approach to the diagnosis of polycystic ovarian syndrome during adolescence. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2011;55:590–8.

<https://doi.org/10.1590/S0004-27302011000800013>.

- [101] Eichenfield LF, Krakowski AC, Piggott C, Rosso J Del, Baldwin H, Friedlander SF, et al. Evidence-Based Recommendations for the Diagnosis and Treatment of Pediatric Acne. *Pediatrics* 2013;131:S163–86. <https://doi.org/10.1542/PEDS.2013-0490B>.
- [102] Rosenfield RL. Clinical Review: Adolescent Anovulation: Maturational Mechanisms and Implications. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:3572. <https://doi.org/10.1210/JC.2013-1770>.
- [103] van Hooff MHA, Voorhorst FJ, Kaptein MBH, Hirasing RA, Koppelaar C, Schoemaker J. Insulin, Androgen, and Gonadotropin Concentrations, Body Mass Index, and Waist to Hip Ratio in the First Years after Menarche in Girls with Regular Menstrual Cycles, Irregular Menstrual Cycles, or Oligomenorrhea. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:1394–400. <https://doi.org/10.1210/JCEM.85.4.6543>.
- [104] Venturoli S, Porcu E, Fabbri R, Pluchinotta V, Ruggeri S, Macrelli S, et al. Longitudinal Change of Sonographic Ovarian Aspects and Endocrine Parameters in Irregular Cycles of Adolescence. *Pediatr Res* 1995 386 1995;38:974–80. <https://doi.org/10.1203/00006450-199512000-00024>.
- [105] Codner E, Villarreal C, Eyzaguirre FC, López P, Merino PM, Pérez-Bravo F, et al. Polycystic ovarian morphology in postmenarchal adolescents. *Fertil Steril* 2011;95:702–706.e2. <https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2010.06.015>.
- [106] Adams J, Polson DW, Abdulwahid N, Morris DV, Franks S, Mason HD, et al. MULTIFOLLICULAR OVARIES: CLINICAL AND ENDOCRINE FEATURES AND RESPONSE TO PULSATILE GONADOTROPIN RELEASING HORMONE. *Lancet* 1985;326:1375–9. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(85\)92552-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(85)92552-8).
- [107] Herter LD, Magalhães JA, Spritzer PM. Relevance of the determination of ovarian volume in adolescent girls with menstrual disorders. *J Clin Ultrasound* 1996;24:243–8. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0096\(199606\)24:5<243::AID-JCU3>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0096(199606)24:5<243::AID-JCU3>3.0.CO;2-E).
- [108] Pastor CL, Griffin-Korf ML, Aloi JA, Evans WS, Marshall JC. Polycystic Ovary Syndrome: Evidence for Reduced Sensitivity of the Gonadotropin-Releasing Hormone Pulse Generator to Inhibition by Estradiol and Progesterone. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:582–90. <https://doi.org/10.1210/JCEM.83.2.4604>.
- [109] Eagleson CA, Gingrich MB, Pastor CL, Arora TK, Burt CM, Evans WS, et al. Polycystic Ovarian Syndrome: Evidence that Flutamide Restores Sensitivity of the Gonadotropin-Releasing Hormone Pulse Generator to Inhibition by Estradiol and Progesterone. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:4047–52. <https://doi.org/10.1210/JCEM.85.11.6992>.
- [110] Chang RJ. Ovarian Steroid Secretion in Polycystic Ovarian Disease. *Semin Reprod Endocrinol* 2008;2:244–50. <https://doi.org/10.1055/S-2008-1068382>.
- [111] Gonzalez F, Hatala DA, Speroff L. Adrenal and ovarian steroid hormone responses to gonadotropin-releasing hormone agonist treatment in polycystic ovary syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1991;165:535–45. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(91\)90280-5](https://doi.org/10.1016/0002-9378(91)90280-5).
- [112] Laven JSE, Imani B, Eijkemans MJC, de Jong FH, Fauser BCJM. Absent biologically relevant associations between serum inhibin B concentrations and characteristics of

- polycystic ovary syndrome in normogonadotrophic anovulatory infertility. *Hum Reprod* 2001;16:1359–64. <https://doi.org/10.1093/HUMREP/16.7.1359>.
- [113] S V, E P, R F, O M, L G, R P, et al. Episodic pulsatile secretion of FSH, LH, prolactin, oestradiol, oestrone, and LH circadian variations in polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1988;28:93–107. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2265.1988.TB01208.X>.
- [114] BURGHEN GA, GIVENS JR, KITABCHI AE. Correlation of Hyperandrogenism with Hyperinsulinism in Polycystic Ovarian Disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1980;50:113–6. <https://doi.org/10.1210/JCEM-50-1-113>.
- [115] Panidis D, Macut D, Tziomalos K, Papadakis E, Mikhailidis K, Kandaraki EA, et al. Prevalence of metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2013;78:586–92. <https://doi.org/10.1111/CEN.12008>.
- [116] PLYMATE SR, MATEJ LA, JONES RE, FRIEDL KE. Inhibition of Sex Hormone-Binding Globulin Production in the Human Hepatoma (Hep G2) Cell Line by Insulin and Prolactin. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;67:460–4. <https://doi.org/10.1210/JCEM-67-3-460>.
- [117] Dunaif A, Finegood DT. β -Cell dysfunction independent of obesity and glucose intolerance in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:942–7. <https://doi.org/10.1210/JC.81.3.942>.
- [118] Cagnacci A, Paoletti AM, Arangino S, Melis GB, Volpe A. Effect of ovarian suppression on glucose metabolism of young lean women with and without ovarian hyperandrogenism. *Hum Reprod* 1999;14:893–7. <https://doi.org/10.1093/HUMREP/14.4.893>.
- [119] Moghetti P, Tosi F, Castello R, Magnani CM, Negri C, Brun E, et al. The insulin resistance in women with hyperandrogenism is partially reversed by antiandrogen treatment: evidence that androgens impair insulin action in women. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:952–60. <https://doi.org/10.1210/JCEM.81.3.8772557>.
- [120] Diamanti-Kandarakis E, Mitrakou A, Hennes MMI, Platanissiotis D, Kaklas N, Spina J, et al. Insulin sensitivity and antiandrogenic therapy in women with polycystic ovary syndrome. *Metab - Clin Exp* 1995;44:525–31. [https://doi.org/10.1016/0026-0495\(95\)90062-4](https://doi.org/10.1016/0026-0495(95)90062-4).
- [121] J.Marsden P, Murdoch AP, Taylor R. Adipocyte insulin action following ovulation in polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod* 1999;14:2216–22. <https://doi.org/10.1093/HUMREP/14.9.2216>.
- [122] Rosenfield RL, Ehrmann DA. The Pathogenesis of Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): The Hypothesis of PCOS as Functional Ovarian Hyperandrogenism Revisited. *Endocr Rev* 2016;37:467. <https://doi.org/10.1210/ER.2015-1104>.
- [123] Rosenfield RL, Mortensen M, Wroblewski K, Littlejohn E, Ehrmann DA. Determination of the source of androgen excess in functionally atypical polycystic ovary syndrome by a short dexamethasone androgen-suppression test and a low-dose ACTH test. *Hum Reprod* 2011;26:3138–46. <https://doi.org/10.1093/humrep/der291>.

- [124] Ehrmann DA, Barnes RB, Rosenfield RL. Polycystic ovary syndrome as a form of functional ovarian hyperandrogenism due to dysregulation of androgen secretion. *Endocr Rev* 1995;16:322–53. <https://doi.org/10.1210/edrv-16-3-322>.
- [125] Dunaif A, Segal KR, Futterweit W, Dobrjansky A. Profound Peripheral Insulin Resistance, Independent of Obesity, in Polycystic Ovary Syndrome. *Diabetes* 1989;38:1165–74. <https://doi.org/10.2337/DIAB.38.9.1165>.
- [126] Du X, Rosenfield RL, Qin K. KLF15 Is a Transcriptional Regulator of the Human 17 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 5 Gene. A Potential Link between Regulation of Testosterone Production and Fat Stores in Women. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:2594. <https://doi.org/10.1210/JC.2009-0139>.
- [127] Christakou CD, Diamanti-Kandarakis E. Role of Androgen Excess on Metabolic Aberrations and Cardiovascular Risk in Women with Polycystic Ovary Syndrome: <Http://DxDoiOrg/102217/1745505746583> 2008;4:583–94. <https://doi.org/10.2217/17455057.4.6.583>.
- [128] Abbott DH, Tarantal AF, Dumesic DA. Fetal, infant, adolescent and adult phenotypes of polycystic ovary syndrome in prenatally androgenized female rhesus monkeys. *Am J Primatol* 2009;71:776. <https://doi.org/10.1002/AJP.20679>.
- [129] Vink JM, Sadrzadeh S, Lambalk CB, Boomsma DI. Heritability of Polycystic Ovary Syndrome in a Dutch Twin-Family Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:2100–4. <https://doi.org/10.1210/JC.2005-1494>.
- [130] Liu DM, Torchen LC, Sung Y, Papanicolaou R, Legro RS, Grebe SK, et al. Evidence for gonadotrophin secretory and steroidogenic abnormalities in brothers of women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2014;29:2764. <https://doi.org/10.1093/HUMREP/DEU282>.
- [131] Crisosto N, Echiburú B, Maliqueo M, Luchsinger M, Rojas P, Recabarren S, et al. Reproductive and metabolic features during puberty in sons of women with polycystic ovary syndrome. *Endocr Connect* 2017;6:607–13. <https://doi.org/10.1530/EC-17-0218>.
- [132] Leibel NI, Baumann EE, Kocherginsky M, Rosenfield RL. Relationship of Adolescent Polycystic Ovary Syndrome to Parental Metabolic Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:1275–83. <https://doi.org/10.1210/JC.2005-1707>.
- [133] Day F, Karaderi T, Jones MR, Meun C, He C, Drong A, et al. Large-scale genome-wide meta-analysis of polycystic ovary syndrome suggests shared genetic architecture for different diagnosis criteria. *PLoS Genet* 2018;14:19. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PGEN.1007813>.
- [134] Kimm SYS. Fetal origins of adult disease: The Barker hypothesis revisited-2004. *Curr Opin Endocrinol Diabetes* 2004;11:192–6. <https://doi.org/10.1097/01.MED.0000140938.39925.4C>.
- [135] Bateson P, Barker D, Clutton-Brock T, Deb D, D’Udine B, Foley RA, et al. Developmental plasticity and human health. *Nat* 2004 4306998 2004;430:419–21. <https://doi.org/10.1038/nature02725>.

- [136] Ibanez L, Potau N, Zampolli M, Prat N, Viridis R, Vicens-Calvet E, et al. Hyperinsulinemia in postpubertal girls with a history of premature pubarche and functional ovarian hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:1237–43. <https://doi.org/10.1210/JCEM.81.3.8772605>.
- [137] Laitinen J, Taponen S, Martikainen H, Pouta A, Millwood I, Hartikainen A-L, et al. Body size from birth to adulthood as a predictor of self-reported polycystic ovary syndrome symptoms. *Int J Obes Relat Metab Disord J Int Assoc Study Obes* 2003;27:710–5. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0802301>.
- [138] Barnes RB, Rosenfield RL, Ehrmann DA, Cara JF, Cuttler L, Levitsky LL, et al. Ovarian hyperandrogenism as a result of congenital adrenal virilizing disorders: evidence for perinatal masculinization of neuroendocrine function in women. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;79:1328–33. <https://doi.org/10.1210/jcem.79.5.7962325>.
- [139] Dumesic DA, Abbott DH, Padmanabhan V. Polycystic ovary syndrome and its developmental origins. *Rev Endocr Metab Disord* 2007;8:127–41. <https://doi.org/10.1007/s11154-007-9046-0>.
- [140] Baranova A, Tran TP, Birerdinc A, Younossi ZM. Systematic review: association of polycystic ovary syndrome with metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2011;33:801–14. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2036.2011.04579.X>.
- [141] Björntorp P. Metabolic implications of body fat distribution. *Diabetes Care* 1991;14:1132–43. <https://doi.org/10.2337/diacare.14.12.1132>.
- [142] Cook S, Weitzman M, Auinger P, Nguyen M, Dietz WH. Prevalence of a Metabolic Syndrome Phenotype in Adolescents: Findings From the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2003;157:821–7. <https://doi.org/10.1001/ARCHPEDI.157.8.821>.
- [143] Weiss R, Dziura J, Burgert TS, Tamborlane W V., Taksali SE, Yeckel CW, et al. Obesity and the Metabolic Syndrome in Children and Adolescents. [Http://DxDoiOrg/101056/NEJMoa031049](http://DxDoiOrg/101056/NEJMoa031049) 2009;350:2362–74. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa031049>.
- [144] Goodman E, Daniels SR, Meigs JB, Dolan LM. Instability in the diagnosis of metabolic syndrome in adolescents. *Circulation* 2007;115:2316. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.669994>.
- [145] Ford ES, Li C. Defining the Metabolic Syndrome in Children and Adolescents: Will the Real Definition Please Stand Up? *J Pediatr* 2008;152:160-164.e13. <https://doi.org/10.1016/J.JPEDS.2007.07.056>.
- [146] Zimmet P, Alberti GKMM, Kaufman F, Tajima N, Silink M, Arslanian S, et al. The metabolic syndrome in children and adolescents - An IDF consensus report. *Pediatr Diabetes* 2007;8:299–306. <https://doi.org/10.1111/J.1399-5448.2007.00271.X>.
- [147] Cook S. The metabolic syndrome: Antecedent of adult cardiovascular disease in pediatrics. *J Pediatr* 2004;145:427–30. <https://doi.org/10.1016/J.JPEDS.2004.07.021>.
- [148] Glueck C., Papanna R, Wang P, Goldenberg N, Sieve-Smith L. Incidence and treatment

- of metabolic syndrome in newly referred women with confirmed polycystic ovarian syndrome. *Metab - Clin Exp* 2003;52:908–15. [https://doi.org/10.1016/S0026-0495\(03\)00104-5](https://doi.org/10.1016/S0026-0495(03)00104-5).
- [149] Coviello AD, Legro RS, Dunaif A. Adolescent Girls with Polycystic Ovary Syndrome Have an Increased Risk of the Metabolic Syndrome Associated with Increasing Androgen Levels Independent of Obesity and Insulin Resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:492–7. <https://doi.org/10.1210/JC.2005-1666>.
- [150] Hart R, Doherty DA, Mori T, Huang R-C, Norman RJ, Franks S, et al. Extent of metabolic risk in adolescent girls with features of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2011;95:2347-2353.e1. <https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2011.03.001>.
- [151] Alemzadeh R, Kichler J, Calhoun M. Spectrum of metabolic dysfunction in relationship with hyperandrogenemia in obese adolescent girls with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2010;162:1093–9. <https://doi.org/10.1530/EJE-10-0205>.
- [152] Fruzzetti F, Perini D, Fornaciari L, Russo M, Bucci F, Gadducci A. Discontinuation of modern hormonal contraceptives: an Italian survey. *Eur J Contracept Reprod Heal Care* 2016;21:449–54. <https://doi.org/10.1080/13625187.2016.1234598>.
- [153] Caprio S, Hyman LD, McCarthy S, Lange R, Bronson M, Tamborlane W V. Fat distribution and cardiovascular risk factors in obese adolescent girls: importance of the intraabdominal fat depot. *Am J Clin Nutr* 1996;64:12–7. <https://doi.org/10.1093/AJCN/64.1.12>.
- [154] Brambilla P, Manzoni P, Sironi S, Simone P, Del Maschio A, di Natale B, et al. Peripheral and abdominal adiposity in childhood obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord J Int Assoc Study Obes* 1994;18:795–800.
- [155] Daniels SR, Morrison JA, Sprecher DL, Khoury P, Kimball TR. Association of Body Fat Distribution and Cardiovascular Risk Factors in Children and Adolescents. *Circulation* 1999;99:541–5. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.99.4.541>.
- [156] Kahn HS, Imperatore G, Cheng YJ. A population-based comparison of BMI percentiles and waist-to-height ratio for identifying cardiovascular risk in youth. *J Pediatr* 2005;146:482–8. <https://doi.org/10.1016/J.JPEDS.2004.12.028>.
- [157] Bacopoulou F, Efthymiou V, Landis G, Rentoumis A, Chrousos GP. Waist circumference, waist-to-hip ratio and waist-to-height ratio reference percentiles for abdominal obesity among Greek adolescents. *BMC Pediatr* 2015;15. <https://doi.org/10.1186/s12887-015-0366-z>.
- [158] Naqvi TZ, Lee MS. Carotid Intima-Media Thickness and Plaque in Cardiovascular Risk Assessment. *JACC Cardiovasc Imaging* 2014;7:1025–38. <https://doi.org/10.1016/J.JCMG.2013.11.014>.
- [159] de Groot E, van Leuven SI, Duivenvoorden R, Meuwese MC, Akdim F, Bots ML, et al. Measurement of carotid intima-media thickness to assess progression and regression of atherosclerosis. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2008;5:280–8. <https://doi.org/10.1038/ncpcardio1163>.
- [160] Järvisalo MJ, Jartti L, Näntö-Salonen K, Irjala K, Rönnemaa T, Hartiala JJ, et al.

- Increased Aortic Intima-Media Thickness. *Circulation* 2001;104:2943–7. <https://doi.org/10.1161/HC4901.100522>.
- [161] Davis PH, Dawson JD, Riley WA, Lauer RM. Carotid Intimal-Medial Thickness Is Related to Cardiovascular Risk Factors Measured From Childhood Through Middle Age. *Circulation* 2001;104:2815–9. <https://doi.org/10.1161/HC4601.099486>.
- [162] Bots ML, Baldassarre D, Simon A, de Groot E, O’Leary DH, Riley W, et al. Carotid intima-media thickness and coronary atherosclerosis : weak or strong relations? *Eur Heart J* 2007;28:398–406. <https://doi.org/10.1093/EURHEARTJ/EHL482>.
- [163] Groot E de, Hovingh GK, Wiegman A, Duriez P, Smit AJ, Fruchart J-C, et al. Measurement of Arterial Wall Thickness as a Surrogate Marker for Atherosclerosis. *Circulation* 2004;109. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000131516.65699.BA>.
- [164] Use of Carotid Ultrasound to Identify Subclinical Vascular Disease and Evaluate Cardiovascular Disease Risk: A Consensus Statement from the ASE Carotid Intima-Media Thickness Task Force n.d. <https://www.asecho.org/document/764#page=1> (accessed October 31, 2021).
- [165] Fernández-Alvarez V, Linares Sánchez M, López Alvarez F, Suárez Nieto C, Mäkitie AA, Olsen KD, et al. Evaluation of Intima-Media Thickness and Arterial Stiffness as Early Ultrasound Biomarkers of Carotid Artery Atherosclerosis. *Cardiol Ther* 2022;11:231. <https://doi.org/10.1007/S40119-022-00261-X>.
- [166] Nagai Y, Metter EJ, Earley CJ, Kemper MK, Becker LC, Lakatta EG, et al. Increased Carotid Artery Intimal-Medial Thickness in Asymptomatic Older Subjects With Exercise-Induced Myocardial Ischemia. *Circulation* 1998;98:1504–9. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.98.15.1504>.
- [167] Tzou WS, Douglas PS, Srinivasan SR, Bond MG, Tang R, Chen W, et al. Increased Subclinical Atherosclerosis in Young Adults With Metabolic Syndrome: The Bogalusa Heart Study. *J Am Coll Cardiol* 2005;46:457–63. <https://doi.org/10.1016/J.JACC.2005.04.046>.
- [168] Li S, Chen W, Srinivasan SR, Bond MG, Tang R, Urbina EM, et al. Childhood Cardiovascular Risk Factors and Carotid Vascular Changes in Adulthood: The Bogalusa Heart Study. *JAMA* 2003;290:2271–6. <https://doi.org/10.1001/JAMA.290.17.2271>.
- [169] Urbina EM, Srinivasan SR, Tang R, Bond MG, Kieltyka L, Berenson GS. Impact of multiple coronary risk factors on the intima-media thickness of different segments of carotid artery in healthy young adults (The Bogalusa Heart Study). *Am J Cardiol* 2002;90:953–8. [https://doi.org/10.1016/S0002-9149\(02\)02660-7](https://doi.org/10.1016/S0002-9149(02)02660-7).
- [170] Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther* 2011;34:274–85. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2036.2011.04724.X>.
- [171] Marchesini G, Day CP, Dufour JF, Canbay A, Nobili V, Ratziu V, et al. EASL–EASD–EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2016;64:1388–402. <https://doi.org/10.1016/J.JHEP.2015.11.004>.

- [172] Vos MB, Abrams SH, Barlow SE, Caprio S, Daniels SR, Kohli R, et al. NASPGHAN Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Children: Recommendations from the Expert Committee on NAFLD (ECON) and the North American Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (NASPGHAN). *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2017;64:319. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000001482>.
- [173] Mavrogiannaki AN, Μαυρογιαννάκη AN, Μυγδάλης HN, Mavrogiannaki AN, Migdalis IN. Α Ν Α Σ Κ Ο Π Η Σ Η Ελληνική Επιθεώρηση Αθηροσκλήρωσης 4(2):96-103 Μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος, σακχαρώδης διαβήτης και καρδιαγγειακή νόσος Νεότερα δεδομένα Non alcoholic fatty liver disease, diabetes mellitus and cardiovascular disease Newer data. *Hell J Atheroscler* 2013;4:96–103.
- [174] Chitturi S, Farrell GC. Etiopathogenesis of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 2001;21:027–42. <https://doi.org/10.1055/S-2001-12927>.
- [175] Wu J, Yao X-Y, Shi R-X, Liu S-F, Wang X-Y. A potential link between polycystic ovary syndrome and non-alcoholic fatty liver disease: an update meta-analysis. *Reprod Health* 2018;15:77. <https://doi.org/10.1186/s12978-018-0519-2>.
- [176] Labrecque D, Abbas Z, Frank P, Usa A, Ferenci P, Aamir A, et al. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis 2012.
- [177] Monelli F, Venturelli F, Bonilauri L, Manicardi E, Manicardi V, Rossi PG, et al. Systematic review of existing guidelines for NAFLD assessment. *Hepatoma Res* 2021;7:25. <https://doi.org/10.20517/2394-5079.2021.03>.
- [178] Besutti G, Valenti L, Ligabue G, Bassi MC, Pattacini P, Guaraldi G, et al. Accuracy of imaging methods for steatohepatitis diagnosis in non-alcoholic fatty liver disease patients: A systematic review. *Liver Int* 2019;39:1521–34. <https://doi.org/10.1111/LIV.14118>.
- [179] Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology* 2018;67:328–57. <https://doi.org/10.1002/HEP.29367>.
- [180] Edenvik P, Davidsdottir L, Oksanen A, Isaksson B, Hultcrantz R, Stål P. Application of hepatocellular carcinoma surveillance in a European setting. What can we learn from clinical practice? *Liver Int* 2015;35:1862–71. <https://doi.org/10.1111/LIV.12764>.
- [181] Ekstedt M, Franzén LE, Mathiesen UL, Thorelius L, Holmqvist M, Bodemar G, et al. Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes. *Hepatology* 2006;44:865–73. <https://doi.org/10.1002/HEP.21327>.
- [182] Feldstein AE, Charatcharoenwitthaya P, Treeprasertsuk S, Benson JT, Enders FB, Angulo P. THE NATURAL HISTORY OF NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE IN CHILDREN: A FOLLOW-UP STUDY FOR UP TO 20-YEARS. *Gut* 2009;58:1538. <https://doi.org/10.1136/GUT.2008.171280>.
- [183] Schwenzer NF, Springer F, Schraml C, Stefan N, Machann J, Schick F. Non-invasive

- assessment and quantification of liver steatosis by ultrasound, computed tomography and magnetic resonance. *J Hepatol* 2009;51:433–45.
<https://doi.org/10.1016/j.jhep.2009.05.023>.
- [184] Hernaez R, Lazo M, Bonekamp S, Kamel I, Brancati FL, Guallar E, et al. Diagnostic Accuracy and Reliability of Ultrasonography for the Detection of Fatty Liver: A Meta-Analysis. *Hepatology* 2011;54:1082. <https://doi.org/10.1002/HEP.24452>.
- [185] Mottin CC, Moretto M, Padoin A V, Swarowsky AM, Toneto MG, Glock L, et al. The Role of Ultrasound in the Diagnosis of Hepatic Steatosis in Morbidly Obese Patients. *Obes Surg* 2004 145 2004;14:635–7. <https://doi.org/10.1381/096089204323093408>.
- [186] Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): assessment and management NICE guideline 2016.
- [187] Awai HI, Newton KP, Sirlin CB, Behling C, Schwimmer JB. Evidence and Recommendations for Imaging Liver Fat in Children, Based upon Systematic Review. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014;12:765. <https://doi.org/10.1016/J.CGH.2013.09.050>.
- [188] Παπαθεοδωρίδης ΓΒ, Χολόγκικας Ε, Γατσέλης Ν, Τηνιακού ΝΓ, Λαναράς Λ, Δημητριάδης Γ, et al. ΚΑΤΕΥΘΥΝΤΗΡΙΕΣ ΟΔΗΓΙΕΣ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ ΜΕΛΕΤΗΣ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ ΣΕ ΣΥΝΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ ΤΗΝ ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΙΑΒΗΤΟΛΟΓΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΙΑΤΡΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ ΜΗ ΑΛΚΟΟΛΙΚΗΣ ΛΙΠΩΔΟΥΣ ΝΟΣΟΥ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ Καθηγητής Παθολογίας-Γαστρεντερολογίας, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και n.d.
- [189] Shi K-Q, Tang J-Z, Zhu X-L, Ying L, Li D-W, Gao J, et al. Controlled attenuation parameter for the detection of steatosis severity in chronic liver disease: A meta-analysis of diagnostic accuracy. *J Gastroenterol Hepatol* 2014;29:1149–58. <https://doi.org/10.1111/JGH.12519>.
- [190] Rofsky NM, Fleishaker H. CT and MRI of diffuse liver disease. *Semin Ultrasound, CT MRI* 1995;16:16–33. [https://doi.org/10.1016/0887-2171\(95\)90012-8](https://doi.org/10.1016/0887-2171(95)90012-8).
- [191] Cho CS, Curran S, Schwartz LH, Kooby DA, Klimstra DS, Shia J, et al. Preoperative Radiographic Assessment of Hepatic Steatosis with Histologic Correlation. *J Am Coll Surg* 2008;206:480–8. <https://doi.org/10.1016/J.JAMCOLLSURG.2007.08.020>.
- [192] Szczepaniak LS, Nurenberg P, Leonard D, Browning JD, Reingold JS, Grundy S, et al. Magnetic resonance spectroscopy to measure hepatic triglyceride content: prevalence of hepatic steatosis in the general population. *Hepatology* 2005;288:462–8. <https://doi.org/10.1152/AJPENDO.00064.2004>.
- [193] Schwimmer JB, Dunn W, Norman GJ, Pardee PE, Middleton MS, Kerkar N, et al. SAFETY study: Alanine aminotransferase cutoff values are set too high for reliable detection of pediatric chronic liver disease. *Gastroenterology* 2010;138:1357. <https://doi.org/10.1053/J.GASTRO.2009.12.052>.
- [194] Bedogni G, Bellentani S, Miglioli L, Masutti F, Passalacqua M, Castiglione A, et al. The fatty liver index: A simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC Gastroenterol* 2006;6:33. <https://doi.org/10.1186/1471-230X-6-33>.

- [195] Kotronen A, Peltonen M, Hakkarainen A, Sevastianova K, Bergholm R, Johansson LM, et al. Prediction of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Liver Fat Using Metabolic and Genetic Factors. *Gastroenterology* 2009;137:865–72. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.06.005>.
- [196] Bedogni G, Kahn HS, Bellentani S, Tiribelli C. A simple index of lipid overaccumulation is a good marker of liver steatosis. *BMC Gastroenterol* 2010;10:98. <https://doi.org/10.1186/1471-230X-10-98>.
- [197] Özcabi B, Demirhan S, Akyol M, Akay HÖ, Güven A. Lipid accumulation product is a predictor of nonalcoholic fatty liver disease in childhood obesity. *Korean J Pediatr* 2019;62:450. <https://doi.org/10.3345/KJP.2019.00248>.
- [198] Simental-Mendía LE, Rodríguez-Hernández H, Rodríguez-Morán M, Guerrero-Romero F. The alanine aminotransferase to triglycerides ratio as a marker to identify nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2012;24:1173–7. <https://doi.org/10.1097/MEG.0b013e3283564ee5>.
- [199] Lee JH, Kim D, Kim HJ, Lee CH, Yang JI, Kim W, et al. Hepatic steatosis index: A simple screening tool reflecting nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Liver Dis* 2010;42:503–8. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2009.08.002>.
- [200] Tomizawa M, Kawanabe Y, Shinozaki F, Sato S, Motoyoshi Y, Sugiyama T, et al. Elevated levels of alanine transaminase and triglycerides within normal limits are associated with fatty liver. *Exp Ther Med* 2014;8:759–62. <https://doi.org/10.3892/etm.2014.1798>.
- [201] Carreau AM, Pyle L, Garcia-Reyes Y, Rahat H, Vigers T, Jensen T, et al. Clinical prediction score of nonalcoholic fatty liver disease in adolescent girls with polycystic ovary syndrome (PCOS-HS index). *Clin Endocrinol (Oxf)* 2019;91:544–52. <https://doi.org/10.1111/cen.14062>.
- [202] Amato MC, Giordano C, Galia M, Criscimanna A, Vitabile S, Midiri M, et al. Visceral adiposity index: A reliable indicator of visceral fat function associated with cardiometabolic risk. *Diabetes Care* 2010;33:920–2. <https://doi.org/10.2337/dc09-1825>.
- [203] Amato MC, Giordano C. Visceral adiposity index: An indicator of adipose tissue dysfunction. *Int J Endocrinol* 2014;2014. <https://doi.org/10.1155/2014/730827>.
- [204] Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, Sola R, Correa MC, Montaner J, et al. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology* 2006;43:1317–25. <https://doi.org/10.1002/hep.21178>.
- [205] Ishiba H, Sumida Y, Tanaka S, Yoneda M, Hyogo H, Ono M, et al. The novel cutoff points for the FIB4 index categorized by age increase the diagnostic accuracy in NAFLD: a multi-center study. *J Gastroenterol* 2018;53. <https://doi.org/10.1007/s00535-018-1474-y>.
- [206] Angulo P, Hui JM, Marchesini G, Bugianesi E, George J, Farrell GC, et al. The NAFLD fibrosis score: A noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology* 2007;45:846–54. <https://doi.org/10.1002/hep.21496>.

- [207] Angulo P, Keach JC, Batts KP, Lindor KD. Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 1999;30:1356–62. <https://doi.org/10.1002/HEP.510300604>.
- [208] Harrison SA, Oliver D, Arnold HL, Gogia S, Neuschwander-Tetri BA. Development and validation of a simple NAFLD clinical scoring system for identifying patients without advanced disease. *Gut* 2008;57:1441–7. <https://doi.org/10.1136/gut.2007.146019>.
- [209] Kruger FC, Daniels CR, Kidd M, Swart G, Brundyn K, van Rensburg C, et al. APRI: A simple bedside marker for advanced fibrosis that can avoid liver biopsy in patients with NAFLD/NASH. *South African Med J* 2011;101:477–80. <https://doi.org/10.7196/SAMJ.4268>.
- [210] Ratziu V, Giral P, Charlotte F, Bruckert E, Thibault V, Theodorou I, et al. Liver fibrosis in overweight patients. *Gastroenterology* 2000;118:1117–23. [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(00\)70364-7](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(00)70364-7).
- [211] Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley K V., McCullough A, Diehl AM, Bass NM, et al. Pioglitazone, Vitamin E, or Placebo for Nonalcoholic Steatohepatitis. *N Engl J Med* 2010;362:1675. <https://doi.org/10.1056/NEJMOA0907929>.
- [212] Armstrong MJ, Gaunt P, Aithal GP, Barton D, Hull D, Parker R, et al. Liraglutide safety and efficacy in patients with non-alcoholic steatohepatitis (LEAN): A multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled phase 2 study. *Lancet* 2016;387:679–90. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00803-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00803-X).
- [213] Aithal GP, Thomas JA, Kaye P V., Lawson A, Ryder SD, Spendlove I, et al. Randomized, Placebo-Controlled Trial of Pioglitazone in Nondiabetic Subjects With Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology* 2008;135:1176–84. <https://doi.org/10.1053/J.GASTRO.2008.06.047>.
- [214] Brown AJ, Tendler DA, McMurray RG, Setji TL. Polycystic Ovary Syndrome and Severe Nonalcoholic Steatohepatitis: Beneficial Effect of Modest Weight Loss and Exercise on Liver Biopsy Findings. *Endocr Pract* 2005;11:319–24. <https://doi.org/10.4158/EP.11.5.319>.
- [215] Brown AJ, Tendler DA, McMurray RG, Setji TL. Polycystic ovary syndrome and severe nonalcoholic steatohepatitis: beneficial effect of modest weight loss and exercise on liver biopsy findings. *Endocr Pract* 2005;11:319–24. <https://doi.org/10.4158/EP.11.5.319>.
- [216] Dunaif A. Insulin Resistance and the Polycystic Ovary Syndrome: Mechanism and Implications for Pathogenesis. *Endocr Rev* 1997;18:774–800. <https://doi.org/10.1210/EDRV.18.6.0318>.
- [217] Petersen MC, Shulman GI. Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. *Physiol Rev* 2018;98:2133–223. <https://doi.org/10.1152/physrev.00063.2017>.
- [218] Machado M, Marques-Vidal P, Cortez-Pinto H. Hepatic histology in obese patients undergoing bariatric surgery. *J Hepatol* 2006;45:600–6. <https://doi.org/10.1016/J.JHEP.2006.06.013>.
- [219] Viger RS, Guittot SM, Anttonen M, Wilson DB, Heikinheimo M. Role of the GATA

- Family of Transcription Factors in Endocrine Development, Function, and Disease. *Mol Endocrinol* 2008;22:781. <https://doi.org/10.1210/ME.2007-0513>.
- [220] Toda K, Okada T, Miyaura C, Saibara T. Fenofibrate, a ligand for PPAR α , inhibits aromatase cytochrome P450 expression in the ovary of mouse. *J Lipid Res* 2003;44:265–70. <https://doi.org/10.1194/JLR.M200327-JLR200>.
- [221] Echiburú B, Pérez-Bravo F, Maliqueo M, Sánchez F, Crisosto N, Sir-Petermann T. Polymorphism T \rightarrow C (–34 base pairs) of gene CYP17 promoter in women with polycystic ovary syndrome is associated with increased body weight and insulin resistance: a preliminary study. *Metab - Clin Exp* 2008;57:1765–71. <https://doi.org/10.1016/J.METABOL.2008.08.002>.
- [222] Glintborg D, Hermann AP, Hagen C, Jensen LT, Frystyk J, Bennett P, et al. A randomized placebo-controlled study on the effects of pioglitazone on cortisol metabolism in polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2009;91:842–50. <https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2007.12.082>.
- [223] Tomlinson JW, Finney J, Hughes BA, Hughes S V, Stewart PM. Reduced glucocorticoid production rate, decreased 5 α -reductase activity and adipose tissue insulin sensitization following weight loss. *Diabetes* 2008;57:1536. <https://doi.org/10.2337/DB08-0094>.
- [224] Westerbacka J, Yki-Järvinen H, Vehkavaara S, Häkkinen A-M, Andrew R, Wake DJ, et al. Body Fat Distribution and Cortisol Metabolism in Healthy Men: Enhanced 5 β -Reductase and Lower Cortisol/Cortisone Metabolite Ratios in Men with Fatty Liver. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:4924–31. <https://doi.org/10.1210/JC.2003-030596>.
- [225] Buchanan G, Ricciardelli C, Harris JM, Prescott J, Yu ZC-L, Jia L, et al. Control of Androgen Receptor Signaling in Prostate Cancer by the Cochaperone Small Glutamine–Rich Tetratricopeptide Repeat Containing Protein α . *Cancer Res* 2007;67:10087–96. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-1646>.
- [226] Carlström K, Eriksson S, Rannevik G. Sex steroids and steroid binding proteins in female alcoholic liver disease. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1986;111:75–9. <https://doi.org/10.1530/acta.0.1110075>.
- [227] S T, A S, OE J, S H, H L, T D, et al. Large effects on body mass index and insulin resistance of fat mass and obesity associated gene (FTO) variants in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS). *BMC Med Genet* 2010;11. <https://doi.org/10.1186/1471-2350-11-12>.
- [228] Wehr E, Schweighofer N, Möller R, Giuliani A, Pieber TR, Obermayer-Pietsch B. Association of FTO gene with hyperandrogenemia and metabolic parameters in women with polycystic ovary syndrome. *Metab - Clin Exp* 2010;59:575–80. <https://doi.org/10.1016/J.METABOL.2009.08.023>.
- [229] Mohamed-Hussein Z-A, Harun S. Construction of a polycystic ovarian syndrome (PCOS) pathway based on the interactions of PCOS-related proteins retrieved from bibliomic data. *Theor Biol Med Model* 2009;6:18. <https://doi.org/10.1186/1742-4682-6-18>.

- [230] Goodarzi MO, Maher JF, Cui J, Guo X, Taylor KD, Azziz R. FEM1A and FEM1B: novel candidate genes for polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2008;23:2842. <https://doi.org/10.1093/HUMREP/DEN324>.
- [231] Deligeoroglou E, Vrachnis N, Athanasopoulos N, Iliodromiti Z, Sifakis S, Iliodromiti S, et al. Mediators of chronic inflammation in polycystic ovarian syndrome. [Http://DxDoiOrg/103109/095135902012683082](http://DxDoiOrg/103109/095135902012683082) 2012;28:974–8. <https://doi.org/10.3109/09513590.2012.683082>.
- [232] Tziomalos K, Dimitroula H V., Katsiki N, Savopoulos C, Hatzitolios AI. Effects of Lifestyle Measures, Antiobesity Agents, and Bariatric Surgery on Serological Markers of Inflammation in Obese Patients. *Mediators Inflamm* 2010;2010:14. <https://doi.org/10.1155/2010/364957>.
- [233] Yoneda M, Mawatari H, Fujita K, Iida H, Yonemitsu K, Kato S, et al. High-sensitivity C-reactive protein is an independent clinical feature of nonalcoholic steatohepatitis (NASH) and also of the severity of fibrosis in NASH. *J Gastroenterol* 2007 427 2007;42:573–82. <https://doi.org/10.1007/S00535-007-2060-X>.
- [234] Glintborg D, Andersen M, Hagen C, Frystyk J, Hulstrøm V, Flyvbjerg A, et al. Evaluation of metabolic risk markers in polycystic ovary syndrome (PCOS). Adiponectin, ghrelin, leptin and body composition in hirsute PCOS patients and controls. *Eur J Endocrinol* 2006;155:337–45. <https://doi.org/10.1530/EJE.1.02207>.
- [235] Wickham EP, III, Cheang KI, Clore JN, Baillargeon J-P, Nestler JE. Total and High-Molecular Weight Adiponectin in Women with the Polycystic Ovary Syndrome. *Metabolism* 2011;60:366. <https://doi.org/10.1016/J.METABOL.2010.02.019>.
- [236] Matsunami T, Sato Y, Ariga S, Sato T, Shimomura T, Kashimura H, et al. Regulation of synthesis and oxidation of fatty acids by adiponectin receptors (AdipoR1/R2) and insulin receptor substrate isoforms (IRS-1/-2) of the liver in a nonalcoholic steatohepatitis animal model. *Metab - Clin Exp* 2011;60:805–14. <https://doi.org/10.1016/J.METABOL.2010.07.032>.
- [237] Siegel S, Futterweit W, Davies TF, Concepcion ES, Greenberg DA, Villanueva R, et al. A C/T single nucleotide polymorphism at the tyrosine kinase domain of the insulin receptor gene is associated with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2002;78:1240–3. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(02\)04241-3](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(02)04241-3).
- [238] Goodarzi MO, Jones MR, Chen Y-DI, Azziz R. First Evidence of Genetic Association Between AKT2 and Polycystic Ovary Syndrome. *Diabetes Care* 2008;31:2284. <https://doi.org/10.2337/DC08-0532>.
- [239] Goto M, Iwase A, Ando H, Kurotsuchi S, Harata T, Kikkawa F. PTEN and Akt expression during growth of human ovarian follicles. *J Assist Reprod Genet* 2007;24:541. <https://doi.org/10.1007/S10815-007-9156-3>.
- [240] McInnes KJ, Corbould A, Simpson ER, Jones ME. Regulation of Adenosine 5', Monophosphate-Activated Protein Kinase and Lipogenesis by Androgens Contributes to Visceral Obesity in an Estrogen-Deficient State. *Endocrinology* 2006;147:5907–13. <https://doi.org/10.1210/EN.2006-0879>.

- [241] Baranova A, Tran TP, Afendy A, Wang L, Shamsaddini A, Mehta R, et al. Molecular signature of adipose tissue in patients with both Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) and Polycystic Ovarian Syndrome (PCOS). *J Transl Med* 2013;11:133. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-11-133>.
- [242] Meex RCR, Watt MJ. Hepatokines: linking nonalcoholic fatty liver disease and insulin resistance. *Nat Rev Endocrinol* 2017;13:509–20. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.56>.
- [243] Jensen-Cody SO, Potthoff MJ. Hepatokines and metabolism: Deciphering communication from the liver. *Mol Metab* 2021;44:101138. <https://doi.org/10.1016/J.MOLMET.2020.101138>.
- [244] Dolegowska K, Marchelek-Mysliwiec M, Nowosiad-Magda M, Slawinski M, Dolegowska B. FGF19 subfamily members: FGF19 and FGF21. *J Physiol Biochem* 2019 752 2019;75:229–40. <https://doi.org/10.1007/S13105-019-00675-7>.
- [245] Ramanjaneya M, Bensila M, Bettahi I, Jerobin J, Samra TA, Aye MM, et al. Dynamic Changes in Circulating Endocrine FGF19 Subfamily and Fetuin-A in Response to Intralipid and Insulin Infusions in Healthy and PCOS Women. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2020;11:568500. <https://doi.org/10.3389/FENDO.2020.568500>.
- [246] Kuro-o M. The Klotho proteins in health and disease. *Nat Rev Nephrol* 2018 151 2018;15:27–44. <https://doi.org/10.1038/s41581-018-0078-3>.
- [247] Mutanen A, Heikkilä P, Lohi J, Raivio T, Jalanko H, Pakarinen MP. Serum FGF21 increases with hepatic fat accumulation in pediatric onset intestinal failure. *J Hepatol* 2014;60:183–90. <https://doi.org/10.1016/J.JHEP.2013.09.003>.
- [248] Zhang X, Yeung DCY, Karpisek M, Stejskal D, Zhou Z-G, Liu F, et al. Serum FGF21 Levels Are Increased in Obesity and Are Independently Associated With the Metabolic Syndrome in Humans. *Diabetes* 2008;57:1246–53. <https://doi.org/10.2337/DB07-1476>.
- [249] Chavez AO, Molina-Carrion M, Abdul-Ghani MA, Folli F, DeFronzo RA, Tripathy D. Circulating Fibroblast Growth Factor-21 Is Elevated in Impaired Glucose Tolerance and Type 2 Diabetes and Correlates With Muscle and Hepatic Insulin Resistance. *Diabetes Care* 2009;32:1542. <https://doi.org/10.2337/DC09-0684>.
- [250] Xu J, Lloyd DJ, Hale C, Stanislaus S, Chen M, Sivits G, et al. Fibroblast Growth Factor 21 Reverses Hepatic Steatosis, Increases Energy Expenditure, and Improves Insulin Sensitivity in Diet-Induced Obese Mice. *Diabetes* 2009;58:250. <https://doi.org/10.2337/DB08-0392>.
- [251] Kharitonov A, Shiyanova TL, Koester A, Ford AM, Micanovic R, Galbreath EJ, et al. FGF-21 as a novel metabolic regulator. *J Clin Invest* 2005;115:1627. <https://doi.org/10.1172/JCI23606>.
- [252] Meex RCR, Watt MJ. Hepatokines: linking nonalcoholic fatty liver disease and insulin resistance. *Nat Rev Endocrinol* 2017;13:509–20. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.56>.
- [253] Denecke B, Gräber S, Schäfer C, Heiss A, Wöltje M, Jahnen-Dechent W. Tissue

- distribution and activity testing suggest a similar but not identical function of fetuin-B and fetuin-A. *Biochem J* 2003;376:135. <https://doi.org/10.1042/BJ20030676>.
- [254] Auberger P, Falquerho L, Contreres JO, Pages G, Cam G Le, Rossi B, et al. Characterization of a natural inhibitor of the insulin receptor tyrosine kinase: cDNA cloning, purification, and anti-mitogenic activity. *Cell* 1989;58:631–40. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(89\)90098-6](https://doi.org/10.1016/0092-8674(89)90098-6).
- [255] Siddiq A, Lepretre F, Hercberg S, Froguel P, Gibson F. A Synonymous Coding Polymorphism in the α 2-Heremans-Schmid Glycoprotein Gene Is Associated With Type 2 Diabetes in French Caucasians. *Diabetes* 2005;54:2477–81. <https://doi.org/10.2337/DIABETES.54.8.2477>.
- [256] Mori K, Emoto M, Inaba M. Fetuin-A: A Multifunctional Protein. *Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov* 2012;5:124–46. <https://doi.org/10.2174/187221411799015372>.
- [257] Roos M, Eynatten M von, Heemann U, Rothenbacher D, Brenner H, Breitling LP. Serum Fetuin-A, Cardiovascular Risk Factors, and Six-Year Follow-up Outcome in Patients With Coronary Heart Disease. *Am J Cardiol* 2010;105:1666–72. <https://doi.org/10.1016/J.AMJCARD.2010.01.342>.
- [258] Stefan N, Häring H-U. The role of hepatokines in metabolism. *Nat Rev Endocrinol* 2013 93 2013;9:144–52. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2012.258>.
- [259] Mori K, Emoto M, Inaba M. Fetuin-A and the cardiovascular system. *Adv Clin Chem* 2012;56:175–95. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394317-0.00010-8>.
- [260] Dogru T, Genc H, Tapan S, Aslan F, Ercin CN, Ors F, et al. Plasma fetuin-A is associated with endothelial dysfunction and subclinical atherosclerosis in subjects with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2013;78:712–7. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2265.2012.04460.X>.
- [261] Lebensztejn DM, Flisiak-Jackiewicz M, Białokoz-Kalinowska I, Bobrus-Chociej A, Kowalska I. Hepatokines and non-alcoholic fatty liver disease. *Acta Biochim Pol* 2016;63:459–67. https://doi.org/10.18388/abp.2016_1252.
- [262] Heinrichsdorff J, Olefsky JM. Fetuin-A: the missing link in lipid-induced inflammation. *Nat Med* 2012 188 2012;18:1182–3. <https://doi.org/10.1038/nm.2869>.
- [263] Reinehr T, Roth CL. Fetuin-A and Its Relation to Metabolic Syndrome and Fatty Liver Disease in Obese Children Before and After Weight Loss. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:4479–85. <https://doi.org/10.1210/JC.2008-1505>.
- [264] Haukeland JW, Dahl TB, Yndestad A, Gladhaug IP, Løberg EM, Haaland T, et al. Fetuin A in nonalcoholic fatty liver disease: in vivo and in vitro studies. *Eur J Endocrinol* 2012;166:503–10. <https://doi.org/10.1530/EJE-11-0864>.
- [265] Burk RF. Effect of dietary selenium level on Se binding to rat plasma proteins. *Proc Soc Exp Biol Med Soc Exp Biol Med (New York, NY)* 1973;143:719–22. <https://doi.org/10.3181/00379727-143-37399>.
- [266] Burk RF, Hill KE. Selenoprotein P. A Selenium-Rich Extracellular Glycoprotein. *J Nutr*

- 1994;124:1891–7. <https://doi.org/10.1093/JN/124.10.1891>.
- [267] Persson Moschos M. Selenoprotein P. *Cell Mol Life Sci C* 2000 5713 2000;57:1836–45. <https://doi.org/10.1007/PL00000665>.
- [268] Hariharan S, Dharmaraj S. Selenium and selenoproteins: it's role in regulation of inflammation. *Inflammopharmacology* 2020;28:1. <https://doi.org/10.1007/S10787-020-00690-X>.
- [269] Yang SJ, Hwang SY, Choi HY, Yoo HJ, Seo JA, Kim SG, et al. Serum selenoprotein P levels in patients with type 2 diabetes and prediabetes: Implications for insulin resistance, inflammation, and atherosclerosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96. <https://doi.org/10.1210/jc.2011-0620>.
- [270] Choi HY, Hwang SY, Lee CH, Hong HC, Yang SJ, Yoo HJ, et al. Increased selenoprotein P levels in subjects with visceral obesity and nonalcoholic fatty liver disease. *Diabetes Metab J* 2013;37:63–71. <https://doi.org/10.4093/dmj.2013.37.1.63>.
- [271] Misu H, Takamura T, Takayama H, Hayashi H, Matsuzawa-Nagata N, Kurita S, et al. A liver-derived secretory protein, selenoprotein P, causes insulin resistance. *Cell Metab* 2010;12:483–95. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2010.09.015>.
- [272] Misu H, Ishikura K, Kurita S, Takeshita Y, Ota T, Saito Y, et al. Inverse Correlation between Serum Levels of Selenoprotein P and Adiponectin in Patients with Type 2 Diabetes. *PLoS One* 2012;7. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0034952>.
- [273] Khan MS, Knowles BB, Aden DP, Rosner W. Secretion of testosterone-estradiol-binding globulin by a human hepatoma-derived cell line. *J Clin Endocrinol Metab* 1981;53:448–9. <https://doi.org/10.1210/jcem-53-2-448>.
- [274] Bérubé D, Séralini GE, Gagné R, Hammond GL. Localization of the human sex hormone-binding globulin gene (SHBG) to the short arm of chromosome 17 (17p12---p13). *Cytogenet Cell Genet* 1990;54:65–7. <https://doi.org/10.1159/000132958>.
- [275] Ding EL, Song Y, Manson JE, Hunter DJ, Lee CC, Rifai N, et al. Sex Hormone–Binding Globulin and Risk of Type 2 Diabetes in Women and Men. <http://DxDoiOrg/101056/NEJMoa0804381> 2009;361:1152–63. <https://doi.org/10.1056/NEJMOA0804381>.
- [276] Perry JRB, Weedon MN, Langenberg C, Jackson AU, Lyssenko V, Sparsø T, et al. Genetic evidence that raised sex hormone binding globulin (SHBG) levels reduce the risk of type 2 diabetes. *Hum Mol Genet* 2010;19:535–44. <https://doi.org/10.1093/HMG/DDP522>.
- [277] Simó R, Barbosa-Desongles A, Lecube A, Hernandez C, Selva DM. Potential Role of Tumor Necrosis Factor- α in Downregulating Sex Hormone–Binding Globulin. *Diabetes* 2012;61:372–82. <https://doi.org/10.2337/DB11-0727>.
- [278] Mattijssen V, De Mulder PH, Schalkwijk L, Manni JJ, Van 't Hof-Grootenboer B, Ruiters DJ. HLA antigen expression in routinely processed head and neck squamous cell carcinoma primary lesions of different sites. *Int J Cancer Suppl = J Int Du Cancer Suppl* 1991;6:95–100. <https://doi.org/10.1002/ijc.2910470719>.

- [279] Saéz-López C, Rivera-Giménez M, Hernández C, Simó R, Selva DM. SHBG-C57BL/ksJ-db/db: A New Mouse Model to Study SHBG Expression and Regulation During Obesity Development. *Endocrinology* 2015;156:4571–81. <https://doi.org/10.1210/en.2015-1677>.
- [280] Peter A, Kantartzis K, Machann J, Schick F, Staiger H, Machicao F, et al. Relationships of Circulating Sex Hormone–Binding Globulin With Metabolic Traits in Humans. *Diabetes* 2010;59:3167–73. <https://doi.org/10.2337/DB10-0179>.
- [281] Polyzos SA, Kountouras J, Tsatsoulis A, Zafeiriadou E, Katsiki E, Patsiaoura K, et al. Sex steroids and sex hormone-binding globulin in postmenopausal women with nonalcoholic fatty liver disease. *Hormones (Athens)* 2013;12:405–16. <https://doi.org/10.1007/BF03401306>.
- [282] Simó R, Sáez-López C, Barbosa-Desongles A, Hernández C, Selva DM. Novel insights in SHBG regulation and clinical implications. *Trends Endocrinol Metab* 2015;26:376–83. <https://doi.org/10.1016/J.TEM.2015.05.001>.
- [283] Diehl AM, Farpour-Lambert NJ, Zhao L, Tilg H. Why we need to curb the emerging worldwide epidemic of nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Metab* 2019 111 2019;1:1027–9. <https://doi.org/10.1038/s42255-019-0140-x>.
- [284] Wild RA, Carmina E, Diamanti-Kandarakis E, Dokras A, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, et al. Assessment of Cardiovascular Risk and Prevention of Cardiovascular Disease in Women with the Polycystic Ovary Syndrome: A Consensus Statement by the Androgen Excess and Polycystic Ovary Syndrome (AE-PCOS) Society. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:2038–49. <https://doi.org/10.1210/JC.2009-2724>.
- [285] Carmina E. Cardiovascular risk and events in polycystic ovary syndrome. <https://doi.org/10.1080/136971309033003842> 2009;12:22–5. <https://doi.org/10.1080/136971309033003842>.
- [286] Katzenellenbogen R. HeadSS: The “review of systems” for adolescents. *Virtual Mentor* 2005;7:231–3. <https://doi.org/10.1001/VIRTUALMENTOR.2005.7.3.CPRL1-0503>.
- [287] Doshi A, Zaheer A, Stiller MJ. A comparison of current acne grading systems and proposal of a novel system. *Int J Dermatol* 1997;36:416–8. <https://doi.org/10.1046/J.1365-4362.1997.00099.X>.
- [288] Alsulaimani H, Kokandi A, Khawandanh S, Hamad R. Severity of Acne Vulgaris: Comparison of Two Assessment Methods. *Clin Cosmet Investig Dermatol* 2020;13:711. <https://doi.org/10.2147/CCID.S266320>.
- [289] Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28:412–9. <https://doi.org/10.1007/BF00280883>.
- [290] Ratziu V, Giral P, Charlotte F, Bruckert E, Thibault V, Theodorou I, et al. Liver fibrosis in overweight patients. *Gastroenterology* 2000;118:1117–23. [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(00\)70364-7](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(00)70364-7).

- [291] Polak JF, Pencina MJ, O’Leary DH, D’Agostino RB. Common carotid artery intima-media thickness (IMT) progression as a predictor of stroke in MESA (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis). *Stroke* 2011;42:3017. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.111.625186>.
- [292] Drole Torkar A, Plesnik E, Groselj U, Battelino T, Kotnik P. Carotid Intima-Media Thickness in Healthy Children and Adolescents: Normative Data and Systematic Literature Review. *Front Cardiovasc Med* 2020;0:250. <https://doi.org/10.3389/FCVM.2020.597768>.
- [293] Tokuhara D, Cho Y, Shintaku H. Transient Elastography-Based Liver Stiffness Age-Dependently Increases in Children. *PLoS One* 2016;11. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0166683>.
- [294] Petta S, Ciresi A, Bianco J, Geraci V, Boemi R, Galvano L, et al. Insulin resistance and hyperandrogenism drive steatosis and fibrosis risk in young females with PCOS. *PLoS One* 2017;12:e0186136. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186136>.
- [295] Rocha ALL, Faria LC, Guimarães TCM, Moreira G V., Cândido AL, Couto CA, et al. Non-alcoholic fatty liver disease in women with polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. *J Endocrinol Invest* 2017;40:1279–88. <https://doi.org/10.1007/s40618-017-0708-9>.
- [296] Suzuki A, Angulo P, Lymp J, Sauver J St., Muto A, Okada T, et al. Chronological development of elevated aminotransferases in a nonalcoholic population. *Hepatology* 2005;41:64–71. <https://doi.org/10.1002/HEP.20543>.
- [297] Wu J, Yao X-Y, Shi R-X, Liu S-F, Wang X-Y. A potential link between polycystic ovary syndrome and non-alcoholic fatty liver disease: an update meta-analysis. *Reprod Health* 2018;15:77. <https://doi.org/10.1186/s12978-018-0519-2>.
- [298] Markou A, Androulakis II, Mourmouris C, Tsikkini A, Samara C, Sougioultzis S, et al. Hepatic steatosis in young lean insulin resistant women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2010;93:1220–6. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.12.008>.
- [299] Ayonrinde OT, Adams LA, Doherty DA, Mori TA, Beilin LJ, Oddy WH, et al. Adverse metabolic phenotype of adolescent girls with non-alcoholic fatty liver disease plus polycystic ovary syndrome compared with other girls and boys. *J Gastroenterol Hepatol* 2016;31:980–7. <https://doi.org/10.1111/jgh.13241>.
- [300] Cree-Green M, Bergman BC, Coe G V., Newnes L, Baumgartner AD, Bacon S, et al. Hepatic Steatosis is Common in Adolescents with Obesity and PCOS and Relates to De Novo Lipogenesis but not Insulin Resistance. *Obesity* 2016;24:2399–406. <https://doi.org/10.1002/oby.21651>.
- [301] Falzarano C, Lofton T, Osei-ntansah A, Oliver T, Southward T, Stewart S, et al. Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Women and Girls With Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2021. <https://doi.org/10.1210/CLINEM/DGAB658>.
- [302] Saad V, Wicklow B, Wittmeier K, Hay J, MacIntosh A, Venugopal N, et al. A clinically relevant method to screen for hepatic steatosis in overweight adolescents: a cross

- sectional study. *BMC Pediatr* 2015 151 2015;15:1–8. <https://doi.org/10.1186/S12887-015-0465-X>.
- [303] Barfield E, Liu YH, Kessler M, Pawelczak M, David R, Shah B. The Prevalence of Abnormal Liver Enzymes and Metabolic Syndrome in Obese Adolescent Females with Polycystic Ovary Syndrome. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 2009;22:318–22. <https://doi.org/10.1016/J.JPAG.2009.03.003>.
- [304] Michaliszyn SF, Lee S, Tfayli H, Arslanian S. Polycystic Ovary Syndrome and Nonalcoholic Fatty Liver in Obese Adolescents: Association with Metabolic Risk Profile. *Fertil Steril* 2013;100:1745–51. <https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2013.08.015>.
- [305] Won Y Bin, Seo SK, Yun BH, Cho SH, Choi YS, Lee BS. Non-alcoholic fatty liver disease in polycystic ovary syndrome women. *Sci Rep* 2021;11:7085. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86697-y>.
- [306] Goodman NF, Cobin RH, Futterweit W, Glueck JS, Legro RS, Carmina E. American Association of Clinical Endocrinologists, American College of Endocrinology, and Androgen Excess and PCOS Society Disease State Clinical Review: Guide to the Best Practices in the Evaluation and Treatment of Polycystic Ovary Syndrome - Part 1. *Endocr Pract* 2015;21:1291–300. <https://doi.org/10.4158/EP15748.DSC>.
- [307] Sahin SB, Ayaz T, Cure MC, Sezgin H, Ural UM, Balik G, et al. Fibroblast growth factor 21 and its relation to metabolic parameters in women with polycystic ovary syndrome. <https://doi.org/10.3109/003655132014900821> 2014;74:465–9. <https://doi.org/10.3109/00365513.2014.900821>.
- [308] Kahraman S, Altinova AE, Yalcin MM, Gulbahar O, Arslan B, Akturk M, et al. Association of serum betatrophin with fibroblast growth factor-21 in women with polycystic ovary syndrome. *J Endocrinol Investig* 2018 419 2018;41:1069–74. <https://doi.org/10.1007/S40618-018-0831-2>.
- [309] Martínez-García MÁ, Moncayo S, Insenser M, Álvarez-Blasco F, Luque-Ramírez M, Escobar-Morreale HF. Metabolic Cytokines at Fasting and During Macronutrient Challenges: Influence of Obesity, Female Androgen Excess and Sex. *Nutrients* 2019;11. <https://doi.org/10.3390/NU11112566>.
- [310] Gorar S, Culha C, Uc ZA, Dellal FD, Serter R, Aral S, et al. Serum fibroblast growth factor 21 levels in polycystic ovary syndrome. <http://dx.doi.org/10.3109/095135902010487587> 2010;26:819–26. <https://doi.org/10.3109/09513590.2010.487587>.
- [311] Olszanecka-Glinianowicz M, Madej P, Wdowczyk M, Owczarek A, Chudek J. Circulating FGF21 levels are related to nutritional status and metabolic but not hormonal disturbances in polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2015;172:173–9. <https://doi.org/10.1530/EJE-14-0539>.
- [312] Bednarska S, Fryczak J, Siejka A. Serum β -Klotho concentrations are increased in women with polycystic ovary syndrome. *Cytokine* 2020;134:155188. <https://doi.org/10.1016/J.CYTO.2020.155188>.

- [313] Cheng F, Ng NYH, Tam CHT, Zhang Y, Lim CKP, Jiang G, et al. Association between FGF19, FGF21 and lipocalin-2, and diabetes progression in PCOS. *Endocr Connect* 2021;10:1243. <https://doi.org/10.1530/EC-21-0082>.
- [314] Abali R, Celik C, Tasdemir N, Guzel S, Alpsoy S, Yuksel A, et al. The serum protein α 2-Heremans-Schmid glycoprotein/fetuin-a concentration and carotid intima-media thickness in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2013;169:45–9. <https://doi.org/10.1016/J.EJOGRB.2013.01.023>.
- [315] Enli Y, Fenkci SM, Fenkci V, Oztekin O. Serum Fetuin-A levels, insulin resistance and oxidative stress in women with polycystic ovary syndrome. <Http://DxDoiOrg/103109/095135902013829442> 2013;29:1036–9. <https://doi.org/10.3109/09513590.2013.829442>.
- [316] Sak S, Uyanikoglu H, Incebiyik A, Incebiyik H, Hilali NG, Sabuncu T, et al. Associations of serum fetuin-A and oxidative stress parameters with polycystic ovary syndrome. *Clin Exp Reprod Med* 2018;45:116. <https://doi.org/10.5653/CERM.2018.45.3.116>.
- [317] Liu S, Hu W, He Y, Li L, Liu H, Gao L, et al. Serum Fetuin-A levels are increased and associated with insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome. *BMC Endocr Disord* 2020;20. <https://doi.org/10.1186/S12902-020-0538-1>.
- [318] Gulhan I, Bozkaya G, Oztekin D, Uyar I, Kebapcilar AG, Pamuk B. Serum Fetuin-A levels in women with polycystic ovary syndrome. *Arch Gynecol Obstet* 2012 2866 2012;286:1473–6. <https://doi.org/10.1007/S00404-012-2494-0>.
- [319] Kozakowski J, Jeske W, Zgliczyński W. Fetuin-A levels in lean and obese women with polycystic ovary syndrome. *Endokrynol Pol* 2014;65:371–6. <https://doi.org/10.5603/EP.2014.0051>.
- [320] Díaz M, Gallego-Escuredo JM, López-Bermejo A, Zegher F de, Villarroya F, Ibáñez L. Low-Dose Spironolactone-Pioglitazone-Metformin Normalizes Circulating Fetuin-A Concentrations in Adolescent Girls with Polycystic Ovary Syndrome. *Int J Endocrinol* 2018;2018. <https://doi.org/10.1155/2018/4192940>.
- [321] Domingues TS, Bonetti TC, Pimenta DC, Mariano DOC, Barros B, Aquino AP, et al. Proteomic profile of follicular fluid from patients with polycysticovary syndrome (PCOS) submitted to in vitro fertilization (IVF)compared to oocyte donors. *JBRA Assist Reprod* 2019;23:367. <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20190041>.
- [322] Temur M, Taşgöz FN, Ertürk NK. Elevated circulating Selenoprotein P levels in patients with polycystic ovary syndrome. <Https://DoiOrg/101080/0144361520211887112> 2021. <https://doi.org/10.1080/01443615.2021.1887112>.
- [323] Zagrodzki P, Krzyczkowska-Sendrakowska M, Nicol F, Wietecha-Posłuszny R, Milewicz T, Kryczyk-Kozioł J, et al. Selenium status parameters in patients with polycystic ovary syndrome. *J Trace Elem Med Biol* 2017;44:241–6. <https://doi.org/10.1016/J.JTEMB.2017.08.012>.
- [324] Renko K, Hofmann PJ, Stoedter M, Hollenbach B, Behrends T, Köhrle J, et al. Down-regulation of the hepatic selenoprotein biosynthesis machinery impairs selenium metabolism during the acute phase response in mice. *FASEB J* 2009;23:1758–65.

<https://doi.org/10.1096/FJ.08-119370>.

- [325] Ko BJ, Kim SM, Park KH, Park HS, Mantzoros CS. Levels of circulating selenoprotein P, fibroblast growth factor (FGF) 21 and FGF23 in relation to the metabolic syndrome in young children. *Int J Obes* 2014 3812 2014;38:1497–502. <https://doi.org/10.1038/ijo.2014.45>.
- [326] Tsutsumi R, Saito Y. Selenoprotein P; P for Plasma, Prognosis, Prophylaxis, and More. *Biol Pharm Bull* 2020;43:366–74. <https://doi.org/10.1248/BPB.B19-00837>.
- [327] Simons PIHG, Valkenburg O, Stehouwer CDA, Brouwers MCGJ. Sex hormone–binding globulin: biomarker and hepatokine? *Trends Endocrinol Metab* 2021;32:544–53. <https://doi.org/10.1016/J.TEM.2021.05.002>.
- [328] Xing C, Zhang J, Zhao H, He B. Effect of Sex Hormone-Binding Globulin on Polycystic Ovary Syndrome: Mechanisms, Manifestations, Genetics, and Treatment. *Int J Womens Health* 2022;14:91. <https://doi.org/10.2147/IJWH.S344542>.