

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI  
FARMACIE "IULIU HAȚIEGANU" CLUJ-NAPOCA**

**SINDROMUL OVARELOR POLICHISICE**

**REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

Doctorand Cristian-Ioan Iuhas

Coordonator Științific Prof. Dr. Nicolae Costin

Cluj-Napoca

2013

# CUPRINS

<b>INTRODUCERE</b>	13
<b>STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII</b>	
<b>1. Introducere</b>	15
1.1. Scurt istoric al sindromului de ovar polichistic	15
<b>2. Cadrul nosologic și diagnosticul sindromului de ovar polichistic</b>	16
<b>3. Etiologia sindromului de ovar polichistic</b>	19
3.1. Studii familiale	19
3.2. Studii genetice și alți factori posibil implicați în etiologie	19
<b>4. Aspecte de morfologie și mecanisme fiziopatologice</b>	21
4.1. Aspecte morfopatologice	21
4.2. Aspecte imagistice	21
4.3. Mecanisme fiziopatologice	23
<b>5. Aspecte clinice și comorbidități</b>	28
5.1. Debut	28
5.2. Semne și simptome	29
5.2.1. Tulburări menstruale	29
5.2.2. Infertilitatea sau fertilitatea redusă	29
5.2.3. Virilizarea secundară	29
5.3. Complicații cardiometabolice și alte comorbidități	30
5.3.1. Obezitatea	30
5.3.2. Scăderea toleranței la glucoză și diabetul zaharat tip 2	30
5.3.3. Dislipidemia	31
5.3.4. Hipertensiunea arterială	32
5.3.5. Bolile cardiovasculare	32
5.3.6. Sindromul metabolic	33
5.3.7. Acanthosis nigricans	33
5.3.8. Apneea în somn	34
5.3.9. Riscul neoplazic	34
5.3.10. Depresia și anxietatea	35
<b>6. Principiile managementului clinic în SOP</b>	36
6.1. Scăderea în greutate	37

6.2. Contraceptivele orale	37
6.3. Anti-androgenii	38
6.4. Antihiperglicemiantele orale	38
6.5. Clomifenul, agoniștii GnRH și glucocorticoizii	39
6.6. Tratamentul chirurgical	40
6.7. Metodele cosmetice	40
<b>CONTRIBUȚIA PERSONALĂ</b>	
<b>1. Ipoteza de lucru/obiective</b>	42
<b>2. Metodologie generală</b>	42
<b>3. Studiul 1 - Țesutul adipos visceral și cantitatea totală de țesut adipos în cazul femeilor cu ovare polichistice. Relația acestora cu parametrii metabolici</b>	47
3.1. Introducere	47
3.2. Ipoteza de lucru/obiective	47
3.3. Material și metodă	47
3.4. Rezultate	51
3.5. Discuții	69
3.6. Concluzii	74
<b>4. Studiul 2 - Testosteronul total și asocierea valorilor acestui parametru cu parametrii antropometrici și biochimici. Evaluarea parametrilor profilului lipidic la pacientele cu SOP</b>	75
4.1. Introducere	75
4.2. Ipoteza de lucru/obiective	75
4.3. Material și metodă	76
4.4. Rezultate	78
4.5. Discuții	87
4.6. Concluzii	90
<b>5. Studiul 3- Proteina C reactivă înalt sensibilă și sindromul ovarelor polichistice</b>	92
5.1. Introducere	92
5.2. Ipoteza de lucru/obiective	92
5.3. Material și metodă	93
5.4. Rezultate	95
5.5. Discuții	102
5.6. Concluzii	106
<b>6. Concluzii generale (sinteză)</b>	107

<b>7. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei</b>	109
<b>REFERINȚE</b>	112
<b>ANEXE</b>	123

## **CUVINTE CHEIE**

Sindromul Ovarelor Polichistice, analiza compoziției corporale, impedanță bioelectrică, hiperinsulinemie, dislipidemie, obezitate.

## **INTRODUCERE**

Sindromul ovarelor polichistice (SOP) reprezintă una dintre cele mai frecvente endocrinopatii care afectează femeia aflată la vârstă reproductivă.

SOP grupează multiple și variate asocieri patologice într-un tablou complex în care pot fi prezente izolat sau în asociere: tulburări ale funcției ovulatorii cu directă afectare a funcției reproductive, hiperandrogenemia cu sau fără hirsutism sau alte manifestări de hiperandrogenism, tulburări ale metabolismului glucidic, tulburări ale metabolismului lipidic, toate în prezența facultativă a transformărilor morfologice care dau numele afecțiunii: ovarele polichistice.

Obezitatea și supraponderea sunt privite în ultimele decenii ca fiind boli cronice cu un impact major la nivel populațional mondial. Obezitatea amplifică unele caracteristici ale SOP cu sunt: hiperandrogenismul, hirsutismul, infertilitatea sau complicațiile în sarcină. Atât obezitatea în sine, cât și insulinorezistența cu care se asociază în majoritatea cazurilor sunt factori de risc independenți pentru bolile cardiovasculare și diabetul zaharat tip 2. În plus, obezitatea agravează insulinorezistența și exacerbează anomalile metabolice și reproductive din SOP, fiind asociată cu lipsa ovulației, avort spontan și complicații pe parcursul sarcinii (pre-eclampsie, diabet gestațional).

## STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Structurată pe 6 capitole (25 de pagini), această primă parte a tezei de doctorat tratează aspecte teoretice legate de etiologia, fiziopatologia, diagnosticul și abordul terapeutic al pacientelor diagnosticate cu Sindromul Ovarelor Polichistice.

## CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

### Ipoteza de lucru/obiective

Aspectele clinice din SOP sunt polimorfe, ca rezultat al numeroaselor veriği etiopatogenetice implicate în această patologie. Majoritatea studiilor au demonstrat un risc crescut de boli cardiovasculare în cazul pacientelor cu SOP. Acest risc este atribuit în parte insulinorezistenței și obezității, principalii mediatori ai disfuncției endoteliale precoce, aterosclerozei carotidiene și coronariene și inflamației cronice observate în acest sindrom.

### Metodologie generală

Pentru realizarea obiectivelor cercetării am efectuat trei studii independente retrospective, cross-secționale, analitice, caz-control. Protocoalele acestor cercetări au fost realizate în conformitate cu Declarația de la Helsinki și au fost aprobate de Comisia Instituțională de Etică. Punctele comune ale acestor 3 studii din punct de vedere al metodologiei sunt prezentate în acest capitol, iar caracteristicile fiecărui studiu sunt prezentate în fiecare capitol care descrie studiul respectiv.

Astfel au fost evaluate 140 paciente diagnosticate cu SOP între 2008 și 2011, dintre care au fost incluse în fiecare studiu un număr variabil în raport cu criteriile de includere/excludere ale fiecărui studiu realizat. În lotul de control au fost incluse paciente fără SOP consultate în aceeași perioadă, care îndeplineau criteriile de includere/excludere ale fiecărui studiu și cu un IMC și vârstă similare pacientelor din lotul cu SOP.

SOP a fost diagnosticat utilizând criteriile Rotterdam pentru SOP (două din trei: oligo-ovulație sau anovulație, semne clinice sau biochimice de hiperandrogenism și/sau ovare polichistice și excluderea altor etiologii).

Valoarea IMC s-a determinat prin formula:  $IMC = \frac{\text{Greutatea (kg)}}{\text{Înălțimea (m)}^2}$ .

Rezistența la insulină a fost evaluată utilizând HOMA-IR calculat utilizând formula:  $\text{insulinemia bazală } (\mu\text{U/mL}) \times \text{FPG (mg/dl)}/405$ .

Compoziția corporală (respectiv aria grăsimii viscerale (AGV) și cantitatea totală de țesut adipos din organism - cantitatea de grăsime corporală) a fost evaluată prin impedanță bioelectrică cu ajutorul InBody (720).

În ceea ce privește analiza statistică s-a efectuat analiza distribuției variabilelor. Aceasta permite aprecierea tipurilor de teste statistice care vor putea fi utilizate pentru a testa anumite ipoteze (teste parametrice în cazul variabilelor cu distribuție normală și teste nonparametrice dacă variabilele nu prezintă distribuție normală). Testarea distribuției variabilelor s-a făcut determinând skewness și kurtosis. Variabilele a căror skewness s-a situat între -2 și 2 s-a considerat că au o distribuție normală.

Pentru analiza comparativă am aplicat, în cazul variabilelor normal distribuite testul t sau student pentru eșantioane independente, iar testul  $\chi^2$  pentru variabilele de tip nominal. Variabilelor cu o distribuție ce prezenta abateri de la distribuția normală li s-au aplicat teste neparametrice: testul U al lui Mann-Whitney. Coeficienții de corelație aplicați au fost diferiți în raport cu forma distribuției datelor: Pearson (r), în situația în care ambele variabile erau numerice și normal distribuite și coeficientul Spearman ( $\rho$ ) când una dintre cele două variabile era nominală sau avea o distribuție ce prezenta abateri semnificative de la distribuția normală. Regresia lineară a fost folosită pentru evaluarea asocierii între diverse variabile incluse în analiză. O valoare  $p \leq 0.05$  a fost considerată semnificativă statistic.

## **Studiul 1. Țesutul adipos visceral și cantitatea totală de țesut adipos în cazul femeilor cu ovare polichistice. Relația acestora cu parametrii metabolici**

### **Introducere**

SOP asociază câteva caracteristici ale sindromului metabolic, cum ar fi obezitatea abdominală și rezistența la insulină.

### **Ipoteza de lucru**

Unele cercetări au arătat că distribuția țesutului adipos reprezintă doar o imagine a adipozității corporale generale, similar IMC-ului, în timp ce alte cercetări au

arătat că SOP *per se* se asociază cu anomalii ale distribuției țesutului adipos cu acumularea viscerală-abdominală (obezitate androidă).

## Material și metodă

**Obiectivele principale** al acestui studiu au fost:

- Evaluarea distribuției țesutului adipos în cazul unui grup de paciente cu SOP comparativ cu un grup de femei sănătoase, cu vârstă și IMC similar, utilizând impedanța bioelectrică.
- Evaluarea relației între grăsimea viscerală, cantitatea totală de țesut adipos din organism, echilibru glicemic, insulinorezistență și parametrii profilului lipidic.

**Obiectivele secundare** au fost:

- Evaluarea glicemiei, HbA1c, insulinemiei și insulinorezistenței cuantificată prin HOMA-IR comparativ la femeile cu SOP și cele fără SOP, cu vârstă și IMC similar.
- Evaluare influenței pe care insulinemia și insulinorezistența o exercită asupra parametrilor profilului lipidic.

## Designul studiului. Populația studiată

Obiectivele au fost realizate printr-un studiu retrospectiv, cross-secțional, analitic, caz-control.

Criteriile de includere pentru **lotul cu SOP** au fost: diagnostic pozitiv de SOP, vârsta > 18 ani, evaluarea datelor referitoare la compoziția corporală, prezența rezultatelor analizelor de laborator: glicemie, HbA1c, insulinemie. Criterii de excludere pentru lotul cu SOP: alte endocrinopatii, boli cardiovasculare, diabet zaharat, tratament cu antipsihotice sau antidepresive. Femei sănătoase, cu vârstă și un IMC similar dar fără SOP au fost incluse în **lotul de control**. Criteriile de includere, în afara diagnosticului pozitiv de SOP au fost similare cu acelea folosite în cazul lotului cu SOP. Criterii de excludere pentru lotul de control: diagnostic de SOP, alte endocrinopatii, boli cardiovasculare, diabet zaharat, tratament cu antipsihotice sau antidepresive.

Datele colectate din fișele pacientelor au fost descrise în capitolul Metodologia generală. Aspectele legate de evaluarea biochimică, parametrii antropometrici și compoziția corporală, respectiv aria grăsimii viscerale (AGV) și cantitatea totală de țesut adipos din organism - cantitatea de grăsime corporală, precum și detaliile privind analiza ststistică au fost prezentate în subcapitolul intitulat Metodologie generală.

## **Rezultate**

### ***Grupul cu SOP***

Din cele 140 paciente cu SOP identificate, după aplicarea criteriilor de includere și excludere, în lotul cu SOP au fost incluse 102 paciente.

### ***Grupul de control***

În grupul de control au fost incluse 120 femei sănătoase comparabile ca și vârstă și IMC cu lotul cu SOP.

### ***Parametrii antropometrici, demografici și de laborator comparativ în cazul grupului cu SOP și a lotului de control***

Atât cazul lotului SOP cât și în cazul lotului de control vârsta medie și distribuția pe grupe de vârstă și IMC a prezentat valori comparabile, fără diferențe semnificativ statistic între cele două loturi.

### ***Aria grăsimii viscerale și cantitatea de grăsime corporală***

Aria grăsimii viscerale a prezentat o valoare medie de  $111.9 \pm 36.9$  cm<sup>2</sup> în cazul pacientelor cu SOP și  $112.9 \pm 32.0$  cm<sup>2</sup> la pacientele din lotul de control,  $p=0.87$ . Rezultate similare au fost observate și în cazul cantității de grăsime corporală:  $35.4 \pm 17.1$  kg în grupul cu SOP și  $36.3 \pm 11.9$  kg în grupul de control ( $p=0.75$ ).

### ***Insulinorezistența***

Femeile cu SOP au prezentat de valori ale insulinemiei și HOMA-IR mai mari comparativ cu femeile fără SOP (insulinemia:  $14.2 \pm 7.2$  μmol/ml vs.  $9.1 \pm 4.1$  μmol/ml,  $p < 0.001$ ; HOMA-IR:  $3.1 \pm 1.8$  vs.  $2.3 \pm 1.1$ ,  $p=0.01$ ). Prevalența insulinorezistenței a fost de 35.3% în cazul pacientelor cu SOP și de 11.9% în lotul de control,  $p=0.03$

### ***Valorile glicemiei bazale și ale HbA1c***

Valorile medii ale glicemiei bazale au fost de  $95.0 \pm 10.4$  mg/dl în cazul pacientelor din grupul cu SOP și de  $86.2 \pm 10.8$  mg/dl în cazul pacientelor din grupul de control ( $p < 0.001$ ). Valorile mediane ale HbA1c în lotul cu SOP și în lotul de control au fost: 5.6% (5.3%; 5.8%) respectiv 5.5% (5.4%; 5.8%),  $p=0.78$ .



### ***Corelația insulinemiei și a HOMA-IR cu profilul lipidic***

În cazul pacientelor cu SOP coeficienții de corelație sunt statistic semnificativi doar în cazul trigliceridelor. În cazul lotului de control nici un coeficient de corelație nu a fost semnificativ statistic.

### ***Corelația ariei grăsimii viscerale cu glicemia bazală, Hb1c, HOMA-IR, insulinemia și profilul lipidic***

În cazul pacientelor cu SOP, coeficienții de corelație Pearson sunt statistic semnificativi în cazul glicemiei bazale, insulinemiei bazale, HOMA-IR și trigliceridelor. De asemenea AGV s-a corelat pozitiv și semnificativ statistic cu valoarea HbA1c (coeficient de corelație Spearman). Similar lotului cu SOP, în cazul lotului de control, coeficienții de corelație Pearson sunt statistic semnificativi în cazul glicemiei bazale, insulinemiei bazale, HOMA-IR și trigliceridelor.

### ***Corelația cantității de grăsime corporală cu glicemia bazală, insulinemia și profilul lipidic***

În cazul pacientelor cu SOP, coeficienții de corelație Pearson sunt statistic semnificativi în cazul glicemiei bazale, insulinemiei bazale și trigliceridelor. Deasemenea cantitatea de grăsime corporală s-a corelat pozitiv și semnificativ statistic cu valoarea HbA1c. În lotul de control coeficienții de corelație între cantitatea de grăsime corporală și parametrii metabolici analizați au atins semnificația statistică doar în cazul glicemiei bazale.

## **Discuții**

Dintr-un total de 140 femei cu SOP identificate, în această cercetare au fost incluse 102 paciente după aplicarea criteriilor de excludere. În grupul de control au fost incluse 120 femei sănătoase. Diferențele în ceea ce privește vârsta, medie, IMC, colesterolul total, LDL colesterolul și trigliceridele au fost ne semnificative statistic.

Nivelul HDL colesterolului a fost semnificativ mai redus în cazul pacientelor cu SOP comparativ cu lotul de control ( $p=0.03$ ). Pentru a testa relația între parametrii profilului lipidic și insulinemie, HOMA-IR am calculat coeficienții de corelație. Acești coeficienți au atins semnificația statistică doar în cazul valorii trigliceridelor măsurate la pacientele cu SOP:  $r=0.32$ ,  $p=0.03$  pentru insulinemie și  $\rho=0.47$ ,  $p=0.002$  pentru HOMA-IR. Valorile acestor coeficienți denotă existența unei corelații de intensitate redusă.

Aria grăsimii viscerale și cantitatea de grăsime corporală au prezentat valori medii similare în lotul cu SOP și lotul de control ( $p=0.87$ ).

Nivelul glicemiei bazale a fost semnificativ mai crescut la femeile cu SOP comparativ cu lotul de control:  $95.0 \pm 10.4$  mg/dl vs.  $86.2 \pm 10.8$  mg/dl,  $p < 0.001$ , în timp ce echilibrul glicemic evaluat prin HbA1c a fost similar în cazul celor două loturi: ( $p=0.78$ ). De asemenea nivelul insulinemiei și HOMA-IR au fost semnificativ statistic mai mari în cazul pacientelor cu SOP comparativ cu cele fără SOP (insulinemia:  $p < 0.001$ ; HOMA-IR:  $p=0.01$ ).

Nu s-a identificat nici o corelație semnificativă statistic între cantitatea de grăsime corporală, nivelul colesterolului total, HDL colesterolului, al LDL colesterolului ( $p > 0.05$  în toate cazurile).

## Concluzii

Am demonstrat în acest prim studiu că deși pacientele cu SOP prezintă frecvent obezitate abdominală, această distribuție a țesutului adipos nu poate explica în întregime anomaliiile metabolice observate la aceste paciente.

## Studiul 2. Testosteronul total și asocierea valorilor acestui parametru cu parametrii antropometrici și biochimici. Evaluarea parametrilor profilului lipidic la pacientele cu SOP

### Introducere

Nivelul circulant al colesterolului total și liber, precum și al dehidroepiandrosteronului și profilul lipidic modificat pot fi crescute la femeile cu SOP. Efectul pe termen lung al acestui exces androgenic nu este cunoscut, dar există cercetători care afirmă că hiperandrogenismul caracteristic SOP ar reprezenta legătura fiziopatologică al acestui sindrom cu obezitatea și cu insulinorezistența.

## **Ipoteza de lucru**

Atât hiperadrogenismul cât și insulino-rezistența contribuie la dezvoltarea acestui profil lipidic modificat și poate avea consecințe cardio-vasculare pe termen lung la pacientele cu SOP.

## **Material și metodă**

### **Obiectivul studiului**

Pornind de la datele disponibile în literatura de specialitate prezentate mai sus, obiectivul acestui studiu a fost evaluarea profilului lipidic în cazul pacientelor cu SOP comparativ cu femeile fără SOP. Un alt obiectiv a fost evaluarea nivelurilor testosteronului total comparativ la persoanele cu și fără SOP și identificarea parametrilor asociați cu nivelul acestui hormon.

### **Designul studiului. Populația studiată**

Obiectivele au fost realizate printr-un studiu retrospectiv, cross-secțional, analitic, caz-control.

Criteriile de includere pentru pacientele incluse în **lotul cu SOP** au fost: diagnostic de SOP, vârsta > 18 ani, analize de laborator: glicemie, insulinemie, profil lipidic complet, prezența datelor referitoare la compoziția corporală, testosteron total determinat. Criterii de excludere pentru lotul cu SOP: alte endocrinopatii, boli cardiovasculare, diabet zaharat, tratament cu antipsihotice sau antidepresive.

Femei sănătoase, cu vârstă și un IMC similar dar fără SOP au fost incluse în **lotul de control**. Criteriile de includere, mai puțin diagnosticul pozitiv de SOP au fost similare cu acelea folosite în cazul lotului cu SOP. Criterii de excludere pentru lotul de control: diagnostic de SOP, alte endocrinopatii, boli cardiovasculare, diabet zaharat, tratament cu antipsihotice sau antidepresive

Aspectele legate de evaluarea biochimică, parametrii antropometrici și compoziția corporală, respectiv aria grăsimii viscerale (AGV) și cantitatea totală de țesut adipos din organism - cantitatea de grăsime corporală, precum și detaliile privind analiza ststistică au fost prezentate în subcapitolul intitulat Metodologie generală.

## **Rezultate**

### ***Grupul cu SOP***

Din cele 102 paciente cu SOP incluse în studiul 1, 43 paciente cu date complete privind profilul lipidic, și hormonal recoltate în interval de  $\pm 1$  lună de la analiza corporală prin bioimpedanță și fără tratament anterior pentru SOP au fost incluse în acest studiu.

### ***Grupul de control***

În grupul de control au fost incluse 45 femei sănătoase alese din grupul de control inclus în cadrul studiului 1 cu date complete privind profilul lipidic, recoltat în interval de  $\pm 1$  lună de la analiza corporală prin bioimpedanță și comparabile ca și vârstă și IMC cu lotul cu SOP.

### **Valorile antropometrice comparativ la persoanele cu SOP și grupul de control**

Nu s-a observat nici o diferență semnificativă statistic între cele două loturi în ceea ce privește IMC ( $p=0.60$ ), dar femeile cu SOP au prezentat valori mai mari ale circumferinței abdominale ( $107.6 \pm 24.7$  cm) comparativ cu lotul fără SOP ( $99.9 \pm 12.9$  cm), fără ca această diferență să atingă semnificația statistică ( $p = 0.06$ ).

### **Valorile testosteronului comparativ la persoanele cu SOP și grupul de control**

Valorile medii ale testosteronului total au variat de la 0.63 ng/ml în cazul pacientelor cu SOP la 0.32 ng/ml în lotul de control ( $p < 0.001$ ).

### **Corelația testosteronului total cu parametrii antropometrici și biochimici**

Nu s-a observat nici o corelație semnificativă statistic între nivelul testosteronului total și parametrii antropometrici sau biochimici nici în cazul pacientelor cu SOP și nici în cazul persoanelor fără SOP ( $p > 0.05$  în toate cazurile). Din această cauză testosteronul nu a fost introdus în analiza ulterioară a valorilor profilului lipidic ca și variabilă predictivă.

### **Valorile profilului lipidic comparativ la persoanele cu SOP și grupul de control**

Valoarea medie a colesterolului total a fost de  $199.3 \pm 49.2$  mg/dl în cazul lotului cu SOP vs.  $171.9 \pm 35.9$  mg/dl în cazul lotului fără SOP,  $p=0.004$ . LDL colesterolul a prezentat valori medii de  $133.7 \pm 44.9$  mg/dl în cazul lotului cu SOP vs.  $95.6 \pm 31.6$  mg/dl în cazul lotului fără SOP,  $p<0.001$ , iar valorile HDL colesterolului au fost  $44.4 \pm 12.2$  mg/dl în cazul lotului cu SOP vs.  $50.5 \pm 12.2$  mg/dl în cazul lotului fără SOP,  $p=0.02$ . Valorile trigliceridelor serice au fost  $105.8 \pm 61.2$  mg/dl în cazul lotului cu SOP și  $128.6 \pm 82.2$  mg/dl în cazul lotului fără SOP,  $p=0.15$ .

### **Relația între parametrii profilului lipidic, indicele de masă corporală, circumferința abdominală și SOP**

Regresia lineară a fost utilizată pentru evaluarea relației între colesterolul total, LDL colesterol, HDL colesterol, IMC, circumferința abdominală și prezența SOP. Interpretarea rezultatelor obținute se va face în subcapitolul Discuții.

## **Discuții**

Utilizând metoda regresiei lineare am demonstrat că atât colesterolul total cât și LDL colesterolul s-au asociat pozitiv și semnificativ statistic numai cu prezența SOP ( $p=0.01$  în cazul colesterolului total,  $p<0.001$  în cazul LDL colesterolului). Nu s-a observat prezența unei asocieri între nivelul HDL colesterolului și prezența SOP. De asemenea, nu s-a observat prezența unei asocieri între colesterolul total, LDL colesterol, sau HDL colesterol și valorile IMC sau ale circumferinței abdominale ( $p>0.05$  în toate cazurile).

## **Concluzii**

Principala concluzie a acestei cercetări este că femeile cu SOP au prezentat modificări ale profilului lipidic, cu valori semnificativ mai mari ale colesterolului total și LDL colesterolului și valori semnificativ statistic mai reduse ale HDL colesterolului comparativ cu femeile fără SOP.

Prezența SOP s-a asociat cu valori semnificativ mai crescute ale testosteronului total, dar aceste valori nu s-au corelat cu obezitatea și nici cu insulinorezistența.

## Studiul 3. Proteina C reactivă înalt sensibilă și sindromul ovarelor polichistice

### Introducere

hsPCR reprezintă un marker al inflamației sub-clinice. Niveluri crescute ale acestei proteine sunt asociate cu obezitatea abdominală, diabetul zaharat și bolile cardiovasculare. Cercetări anterioare au demonstrat asocierea SOP cu niveluri crescute ale hsPCR.

### Ipoteza de lucru

În acest context, ipoteza de lucru de la care am plecat este că în cazul persoanelor cu SOP hsPCR prezintă valori mai mari comparativ cu persoanele fără SOP.

### Material și metodă

#### Obiectivul studiului

Obiectivul acestui studiu a fost evaluarea inflamației subclinice, reprezentată de valorile hsPCR în cazul pacientelor cu SOP comparativ cu nivelul acestui marker în cazul persoanelor de sex feminin fără SOP, precum și identificarea factorilor asociați cu nivelul hsPCR.

#### Designul studiului. Populația studiată

Obiectivele acestui studiu au fost realizate printr-un studiu retrospectiv, cross-secțional, analitic, caz-control.

Dintre pacientele cu SOP identificate în Studiul 1 al acestei teze, au fost incluse în studiul de față doar cele care îndeplineau următoarele criterii de includere: diagnostic de SOP, vârsta > 18, analize de laborator: glicemie, HbA1c, insulinemie, profil lipidic complet, prezența datelor referitoare la compoziția corporală, valori ale hsPCR disponibile în fișa de consultație. Criterii de excludere pentru lotul cu SOP: alte endocrinopatii, boli cardiovasculare, diabet zaharat, tratament cu antipsihotice sau antidepresive. Femei sănătoase, cu vârstă și un IMC similar dar fără SOP au fost incluse în **lotul de control**. Criteriile de includere (mai puțin diagnosticul pozitiv de SOP) au fost similare cu acelea folosite în cazul lotului cu SOP. Criterii de excludere din lotul de control: diagnostic de SOP, alte endocrinopatii, boli cardiovasculare, diabet zaharat, tratament cu antipsihotice sau antidepresive.

Datele colectate din fișele pacientelor au fost descrise în capitolul Metodologie generală al cercetării personale. Aspectele legate de evaluarea biochimică, parametrii antropometrici și compoziția corporală, respectiv aria grăsimii viscerale (AGV) și cantitatea totală de țesut adipos din organism - cantitatea de grăsime corporală, precum și detaliile privind analiza statistică au fost prezentate în subcapitolul intitulat Metodologie generală.

## **Rezultate**

Au fost incluse 31 paciente cu SOP și 29 persoane sănătoase de sex feminin cu o vârstă și IMC similar și care îndeplineau criteriile de includere.

### **Parametrii antropometrici, demografici și de laborator comparativ în cazul grupului cu SOP și a lotului de control**

În analiză au fost incluse femeii cu vârsta, IMC, circumferință abdominală, profil glicemic și lipidic comparabile, fără diferențe semnificative statistice.

#### **Valorile hsPCR la pacientele cu SOP comparativ cu lotul de control**

Valorile medii ale hsPCR au fost de  $3.89 \pm 2.75$  mg/l la pacientele cu SOP și de  $2.61 \pm 1.81$  mg/l la persoanele din grupul de control,  $p=0.04$ . Pentru a exclude efectul altor variabile care ar putea influența valoarea medie a hsPCR, s-a realizat ajustarea pentru valoarea IMC cu ajutorul procedurii general linear model. Valorile medii ajustate ale hsPCR au fost de  $3.22 \pm 0.76$  mg/l la pacientele cu SOP și  $3.33 \pm 0.83$  mg/l la persoanele din lotul de control,  $p=0.60$ .

## **Discuții**

Valorile hsPCR în populația analizată au fost semnificativ mai mari la pacientele cu SOP comparativ cu persoanele din lotul de control:  $p=0.04$ . Pentru a exclude efectul obezității asupra valorii medii a hsPCR, s-a realizat ajustarea mediilor pentru valoarea IMC cu ajutorul procedurii general linear model. În urma acestei ajustări s-au obținut valori similare ale hsPCR:  $p=0.60$ .

Pornind de la acest rezultat am emis ipoteza ca valorile hsPCR se corelează cu parametrii asociați cu adipozitatea (circumferința abdominală, IMC, aria grăsimii viscerale, cantitatea de grăsime corporală) și că această relație este prezentă atât la

pacientele cu SOP cât și la persoanele din lotul de control. Mai mult, am încercat să demonstrez că valoarea hsPCR nu se corelează cu prezența SOP.

## Concluzii

În acest ultim studiu din cadrul tezei de doctorat am demonstrat că nivelurile hsPCR sunt crescute la pacientele cu SOP, dar aceste niveluri sunt corelate cu obezitatea și acumularea de țesut adipos și nu cu prezența SOP *per se*.

## Concluzii generale

Principalele concluzii formulate pe baza rezultatelor obținute din cercetarea personală sunt următoarele:

1. Cercetarea nu a furnizat evidențe referitoare la existența unei diferențe în distribuția adipozității între pacientele cu sindromul ovarelor polichistice și femeile fără sindrom de ovar polichistic.
2. Pacientele cu sindromul ovarelor polichistice au prezentat valori semnificativ statistic mai mari ale glicemiei, insulinemiei bazale și HOMA-IR, precum și valori mai reduse ale HDL colesterolului comparativ cu lotul de control
3. În cazul grupului cu sindrom de ovare polichistice s-au evidențiat corelații semnificative statistic între aria grăsimii viscerale și parametrii metabolici: glicemia și insulinemia bazală, hemoglobina glicozilată, HOMA-IR și trigliceride. De asemenea, s-a evidențiat existența unor corelații semnificative statistic între cantitatea de grăsime corporală și insulinemie, precum și între cantitatea de grăsime corporală și HOMA-IR, independente de valoarea ariei grăsimii viscerale.
4. Deși pacientele cu sindromul ovarelor polichistice prezintă frecvent obezitate abdominală, această distribuție a țesutului adipos nu poate explica în întregime anomaliile metabolice observate la aceste paciente
5. Femeile cu sindromul ovarelor polichistice au prezentat modificări ale profilului lipidic, cu valori semnificativ mai mari ale colesterolului total și LDL colesterolului și valori semnificativ statistic mai reduse ale HDL colesterolului comparativ cu femeile fără sindrom de ovar polichistic.
6. Valorile parametrilor lipidici s-au asociat cu prezența sindromului de ovare polichistice *per se*, independent de parametrii antropometrici care descriu obezitatea (i.e. indice de masă corporală și circumferința abdominală).



7. Prezența sindromului ovarelor polichistice s-a asociat cu valori semnificativ mai crescute ale testosteronului total, dar aceste valori nu s-au corelat cu obezitatea și nici cu insulinorezistența. Probabil relația cu obezitatea și insulinorezistența este mediată de sex hormone binding globulin care leagă o parte a testosteronului total.
8. Nivelurile hsPCR, sunt crescute la pacientele cu sindromul ovarelor polichistice, dar aceste niveluri sunt corelate cu obezitatea și acumularea de țesut adipos și nu cu prezența sindromului de ovar polichistic *per se*.

## Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei

Din rezultatele obținute în cadrul cercetării personale, există o serie de date cu certe implicații în practica medicală curentă, în special la nivelul asistenței medicale primare, deoarece vizează importanța factorilor de risc cardiometabolic la pacientele cu sindromul ovarelor polichistice.

Cele trei studii efectuate în cadrul cercetării personale aduc câteva date noi referitoare la epidemiologia și caracteristicile factorilor de risc cardiometabolic.

Faptul că tulburărie de metabolism glucidic și lipidic, exprimate prin valori crescute ale glicemiei bazale, hemoglobinei glicozilate, insulinemiei și rezistenței la insulină, respectiv prin anomalii ale profilului lipidic, sunt influențate semnificativ de prezența excesului de grăsime viscerală și totală la aceste paciente, impune obligativitatea identificării precoce și a efectuării unui management clinic corespunzător al obezității la femeile cu sindrom de ovar polichistic. Ținând cont de implicațiile profunde ale obezității abdominale în patologia cardiovasculară, acest fapt ar putea reprezenta un punct de plecare pentru extinderea screening-ului pentru alți factori de risc cardiometabolic și pentru bolile cardiovasculare la pacientele cu sindrom de ovar polichistic.

Cercetările efectuate în cadrul Tezei de Doctorat prezintă câteva puncte forte. Unul este că în analiză au fost incluse doar persoane care nu au fost tratate anterior pentru sindromul ovarelor polichistice sau alte afecțiuni concomitente, eliminându-se astfel efectul pe care unele medicamente îl au asupra parametrilor metabolic sau a statusului pro-inflamator. În al doilea rând nu s-au făcut recomandări privind restricția alimentară în cazul nici unui grup, astfel că nivelul glicemiei, hemoglobinei glicozilate, insulinemiei, componentelor profilului lipidic și a hsPCR nu a fost influențat de factori dietetici și nutriționali.

Lucrarea conține de asemenea un număr de 207 referințe, 24 de tabele și 28 de figuri.

**"IULIU HAȚIEGANU" UNIVERSITY OF MEDICINE  
AND PHARMACY CLUJ-NAPOCA**

**POLYCYSTIC OVARY SYNDROME**

**DOCTORAL THESIS ABSTRACT**

Doctoral candidate Cristian-Ioan Iuhas

Mentor Prof. Dr. Nicolae Costin

Cluj-Napoca

2013

# CONTENTS

<b>INTRODUCTION</b>	13
<b>CURRENT STATE OF KNOWLEDGE</b>	
<b>1. Brief history</b>	15
<b>2. Nosologic context and Polycystic Ovary Syndrome Diagnostic</b>	16
<b>3. Etiology of Polycystic Ovary Syndrome</b>	19
3.1. Familial studies	19
3.2. Genetic studies and other possible factors implicated with etiology	19
<b>4. Morphological aspects and physiopathological mechanisms</b>	21
4.1. Morphopathology	21
4.2. Imagistic evaluation	21
4.3. Physiopathological mechanisms	23
<b>5. Clinical aspects and comorbidities</b>	28
5.1. Debut	28
5.2. Signs and Symptoms	29
5.2.1. Menstrual irregularities	29
5.2.2. Infertility and low fertility	29
5.2.3. Secondary virilisation	29
5.3. Cardiometabolic complications and other comorbidities	30
5.3.1. Obesity	30
5.3.2. Impaired glucose tolerance and diabetes mellitus type 2	30
5.3.3. Dyslipidemia	31
5.3.4. High blood pressure	32
5.3.5. Cardiovascular disease	32
5.3.6. Metabolic Syndrome	33
5.3.7. Acanthosis nigricans	33
5.3.8. Sleep apnea	34
5.3.9. Neoplastic risk	34
5.3.10. Depression and anxiety	35
<b>6. Treatment principles in Polycystic Ovary Syndrome</b>	36
6.1. Weight loss	37
6.2. Oral contraceptives	37
6.3. Anti-androgens	38
6.4. Oral antihyperglycemics	38

6.5. Clomifen, GnRH agonists and glucocorticoids	39
6.6. Surgical treatment	40
6.7. Cosmetic options	40
<b>PERSONAL CONTRIBUTION</b>	
<b>1. Work hypothesis/ Objectives</b>	42
<b>2. General methodology</b>	42
<b>3. 1<sup>st</sup> Study – Adipose visceral tissue and total adipose tissue in women with Polycystic Ovary Syndrome. Their relations with metabolic parameters</b>	47
3.1. Introduction	47
3.2. Work hypothesis/ Objectives	47
3.3. Material and method	47
3.4. Results	51
3.5. Discussions	69
3.6. Conclusions	74
<b>4. 2<sup>nd</sup> Study – Total testosterone and its association with anthropometric and biochemical parameters. Evaluation of lipid profile in patients with Polycystic Ovary Syndrome.</b>	75
4.1. Introduction	75
4.2. Work hypothesis/ Objectives	75
4.3. Material and method	76
4.4. Results	78
4.5. Discussions	87
4.6. Conclusions	90
<b>5. 3<sup>rd</sup> Study – High sensitivity C-Reactive Protein and Polycystic Ovary Syndrome</b>	92
5.1. Introduction	92
5.2. Work hypothesis/ Objectives	92
5.3. Material and method	93
5.4. Results	95
5.5. Discussions	102
5.6. Conclusions	106
<b>6. General Conclusions</b>	107
<b>7. Originality and innovative contributions of the doctoral thesis</b>	109
<b>REFERENCES</b>	112
<b>ANNEXES</b>	123

## KEY WORDS

Polycystic Ovary Syndrome, corporeal mass analysys, bioelectric impedance, hyperinsulinemia, dyslipidemia, obesity.

## INTRODUCTION

Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) is one of the most frequent endocrinological pathologies that affect women in their reproductive age.

PCOS reunites multiple and various pathological associations in a complex clinical apparence that can associate: disovulation with direct effect on reproduction, high testosterone levels with or without hirsutism or other manifestations of hyperandrogenism, disorders in glucidic metabolism, disorders in lipid metabolism, all above in the facultative presence of morphological transformations that give this pathology its name: polycystic ovaries.

Obesity and overweight are regarded in the last decades as chronic diseases with a major impact on world population. Obesity amplifies some characteristics of PCOS like: hyperandrogenism, hirsutism, infertility or complications during pregnancy. Obesity itself and insulin resistance that is associated with obesity in most cases of PCOS are independent risk factors for cardiovascular disease and diabetes mellitus type 2. In addition obesity aggravates insulinoreistance and further exacerbates the metabolic and reproductive anomalies in PCOS cases, being associated with anovulation, spontaneous abortion and complications during pregnancy (preeclampsia, gestational diabetes).

## **CURRENT STATE OF KNOWLEDGE**

Structured on 6 chapters (25 pages), this first part of the doctoral thesis debates upon theoretical aspects on etiology, physiopathology, diagnostic and therapeutical approach on PCOS cases.

## **PERSONAL CONTRIBUTION**

### **Work hypothesis /objectives**

The clinical aspects of PCOS are various as a result of numerous etiopathogenetic links that concur on this pathology. Most studies showed an increased risk for cardiovascular disease in women with PCOS. This risk is in part attributed to insulin resistance and obesity, the most important mediators for early endothelial dysfunction, carotid and coronary atherosclerosis and chronic inflammation observed in this syndrome.

### **General methodology**

To fulfill the objectives of our research we performed three independent retrospective, cross-sectional, analytic, case-control studies. Each study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the Institutional Ethics Committee. The common methodology for the three studies is presented in this chapter and the characteristic aspects of each study are treated in its chapter.

Overall we evaluated 140 patients diagnosed with PCOS between 2008 and 2011, out of which we included a variable number in each study, in accordance with inclusion/exclusion criteria of the study. In the control group we included healthy women without PCOS from the same period which submitted to the inclusion/exclusion criteria for each study, matched for age and BMI with the women selected in the PCOS group.

PCOS was diagnosed using the Rotterdam criteria (two out of three: oligo-anovulation, clinical or biochemical signs for hyperandrogenism and/or polycystic ovaries and the exclusion of other pathologies).

BMI value was determined with the formula:  $BMI = \text{Weight (kg)} / \text{Height (m)}^2$ .

The insulin resistance was evaluated utilizing HOMA-IR calculated with the formula: basal insulinemia ( $\mu\text{U}/\text{mL}$ )  $\times$  FPG ( $\text{mg}/\text{dl}$ )/405.

Body composition (visceral fat area – VFA and total body fat mass) was evaluated using bioelectric impedance with the InBody (720) device.

Statistical analysis was carried out using the distribution analysis of variables. This allowed the correct identification of statistical tests used (parametric tests with normal distribution variables and nonparametric tests if the variables show an abnormal distribution). Variable distribution was tested using skewness and kurtosis. Variables that presented skewness between -2 and 2 were considered normal.

Regarding the comparative analysis for normal distribution variables we used the t test or student test, and  $\chi^2$  test for nominal variables. We used non-parametric tests for the variables with deviations from normal distribution: U test and Mann-Whitney. The correlation coefficients were in accordance with the distribution of data: Pearson ( $r$ ), when both variables were numeric and with normal distribution and Spearman coefficient ( $\rho$ ) when one of two variables was nominal or had a distribution that presented significant deviations from normal distribution. Linear regression was used for the evaluation of different variables association.  $p \leq 0.05$  was considered statistically significant.

## **1<sup>st</sup> Study. Visceral body fat and total body fat in women with Polycystic Ovary Syndrome. Their relationship with metabolic parameters.**

### **Introduction**

PCOS associate several characteristics of metabolic syndrome, like abdominal obesity and insulin resistance.

### **Work hypothesis**

Some studies show that body fat distribution represents only an image of total body fat, similar with BMI, whilst other research show that PCOS per se is associated with anomalies of fat tissue distribution with visceral-abdominal distribution (android obesity).

### **Material and method**

*The Main Objectives* of this study were:

- Evaluation of fat tissue distribution in a group with PCOS compared to a group of healthy women matched for age and BMI, utilizing bioelectric impedance.
- The evaluation of relationship between visceral fat, glicemic parameters, insulinoreistance and lipidic parameters.

**The secondary objectives** were:

- Evaluation of glucose levels, HbA1c, insulinemia and insulin resistance also quantified with HOMA-IR in women with PCOS and healthy subjects matched for age and BMI.
- Evaluation of the influence exerted by insulinemia and insulin resistance on parameters of lipid profile.

### **Study design. Population.**

The objectives were realized by a retrospective, cross-sectional, analytic, case-control study.

Inclusion criteria for **PCOS group** were: positive diagnosis of PCOS, age > 18 years old, evaluation of body composition, lab values for: glicemia, HbA1c, insulinemia. Exclusion criteria for PCOS group: other endocrinopathology, cardiovascular disease, diabetes mellitus, antipsycotic or antidepressants. Healthy women, matche for age and BMI but no PCOS were included in the **control group**. The inclusion criteria, aside positive diagnosis for PCOS were similar to those used for PCOS group. Exclusion criteria for control group: positive diagnosis of PCOS, other endocrine disorders, cardiovascular disease, diabetes mellitus, antipsychotic or antidepressant treatment.

Data collected from parients files were described in the General Methodology chapter. Aspects on biochemical evaluation, antropometric parameters and body composition, visceral fat area (VFA) and total body fat, along with details regarding the statistical analisis were presented in the General methodology chapter.

## **Results**

### **PCOS group**

Of 140 patients identified with PCOS, after the assessment of inclusion and exclusion criterias in the PCOS group 102 patients were included.

### **Control group**

In the control group 120 healty women matched for age and BMI were included.



***Antropometric, demographic and laboratory parameters in the two groups***

Both in PCOS and Control group the mean age, age distribution and BMI presented comparable values without statistically significant differences.

***Visceral fat area and total body fat mass***

VFA presented a mean of  $111.9 \pm 36.9$  cm<sup>2</sup> in PCOS patients and  $112.9 \pm 32.0$  cm<sup>2</sup> in patients from the control group,  $p=0.87$ . Similar results were observed with body fat mass:  $35.4 \pm 17.1$  kg in PCOS group and  $36.3 \pm 11.9$  kg in control group ( $p=0.75$ ).

***Insulin resistance***

Women with PCOS presented higher insulin and HOMA-IR levels when compared with healthy subjects (insulin:  $14.2 \pm 7.2$   $\mu$ mol/ml vs.  $9.1 \pm 4.1$   $\mu$ mol/ml,  $p < 0.001$ ; HOMA-IR:  $3.1 \pm 1.8$  vs.  $2.3 \pm 1.1$ ,  $p=0.01$ ). Insulin resistance prevalence was 35.3% for PCOS patients and 11.9% in control group,  $p=0.03$

***Basal glycemias and HbA1c***

The medium values for basal glycemias were  $95.0 \pm 10.4$  mg/dl in PCOS group and  $86.2 \pm 10.8$  mg/dl in control group ( $p < 0.001$ ). HbA1c in PCOS and in control group were: 5.6% (5.3%; 5.8%) respectively 5.5% (5.4%; 5.8%),  $p=0.78$ .

***Insulin levels and HOMA-IR compared with lipidic profile***

In patients with PCOS correlation coefficients are significant only for triglycerides. In the control group not one correlation coefficient was statistically significant.

***Correlation between VFA and basal glycemias, Hb1c, HOMA-IR, insulinemia and lipid profile***

In patients with PCOS Pearson correlation coefficients are statistically significant for basal glycemias, basal insulinemia, HOMA-IR and triglycerides. Also VFA correlated positively and statistically significant with HbA1c (Spearman correlation coefficient). Similar with the PCOS group, in the control group, Pearson correlation coefficients are statistically significant for basal glycemias, basal insulin, HOMA-IR and triglycerides.

***Correlation between body fat and glycemias, insulinemia and lipid profile***

For patients in PCOS group the Pearson correlation coefficients are significant for basal glycemia, basal insulinemia and triglycerides. The total body fat also correlated positively and significantly with HbA1c value. In the control group the correlation coefficients between body fat and metabolic parameters reached significant values only for basal glucemia.

## Discussion

From 140 women identified with PCOS in this research 102 patients were included after the excussion criteria were applied. In the control group 120 women were included. The differences between the two groups regarding age, BMI, total cholesterol, LDL cholesterol and triglycerides levels were not statistically significant.

HDL cholesterol levels were significantly lower for PCOS patients when compared wit the control group ( $p=0.03$ ). To asses the relationship between lipid parameters and insulinemia, HOMA-IR, we calculated the correlation coefficients. These were statistically significant only for triglycerides in PCOS patients:  $r=0.32$ ,  $p=0.03$  for insulinemia and  $\rho=0.47$ ,  $p=0.002$  for HOMA-IR. These values reveal a low intensity correlation.

VFA and total body fat presented similar median values in bowth, PCOS and control groups( $p=0.87$ ).

Basal glycemia was significantly higher in PCOS women when compared to controls:  $95.0\pm 10.4$  mg/dl vs.  $86.2\pm 10.8$  mg/dl,  $p<0.001$ , while glycemc equilibrium evaluated with HbA1c was similar in both groups: ( $p=0.78$ ). Also the insulin levels and HOMA-IR were significantly higher in PCOS patients when compared to controls (insulinemia:  $p<0.001$ ; HOMA-IR:  $p=0.01$ ).

No correlation was established between total body fat, total cholesterol levels, HDL cholesterol and LDL cholesterol ( $p>0.05$  for all cases).

## Conclusions

In this first study we showed that although PCOS patients are frequently obese, the distribution of body fat cannot entirely explain the metabolic abnormalities observed in these patients.

## **2<sup>nd</sup> Study. Total Testosterone and association with anthropometric and biochemical parameters. Lipid profile parameters in patients with PCOS syndrome.**

### **Introduction**

Total and free cholesterol levels and also dehydroepiandrosterone and modified lipid profile can appear in high values in women with PCOS. Long term effects of this androgenic excess are not known entirely but there are researchers that claim this hyperandrogenism characteristic for PCOS represents the physiopathological link with obesity and insulin resistance.

### **Work hypothesis**

Both high androgen levels and insulin resistance concur in the development of this modified lipid profile and can have long term cardiovascular consequences in patients with PCOS.

### **Material and method**

#### **Study objective**

Starting from data available in the medical literature presented above, the objective of this study was to evaluate the lipid profile in PCOS patients compared with non-PCOS. Another objective was to evaluate total testosterone levels in patients with and without a PCOS diagnosis and the identification of correlation parameters associated with this hormone.

#### **Study design. Study groups**

Our objectives were accomplished with a retrospective, cross-sectional, analytic, case-control study.

Inclusion criteria for **PCOS group** were: positive diagnosis of PCOS, age > 18 years old, lab values for: glycemia, insulinemia, lipid profile, body fat composition, total

testosterone. Exclusion criteria for PCOS group: other endocrine pathology, cardiovascular disease, diabetes mellitus, antipsychotic or antidepressants.

Healthy women, matched for age and BMI but no PCOS were included in the **control group**. The inclusion criteria, aside positive diagnosis for PCOS were similar to those used for PCOS group. Exclusion criteria for control group: positive diagnosis of PCOS, other endocrine disorders, cardiovascular disease, diabetes mellitus, antipsychotic or antidepressant treatment.

Data collected from patients' files were described in the General Methodology chapter. Aspects on biochemical evaluation, anthropometric parameters and body composition, visceral fat area (VFA) and total body fat, along with details regarding the statistical analysis were presented in the General methodology chapter.

## **Results**

### ***PCOS group***

Of 102 patients included in the 1<sup>st</sup> study, 43 were selected in the 2<sup>nd</sup> part of the research with lipid and hormonal profile evaluated at  $\pm 1$  month from body analysis with bioimpedance and no previous treatment for PCOS.

### ***Control group***

45 healthy women from the 1<sup>st</sup> study were included in the control group with lipid and hormonal profile evaluated at  $\pm 1$  month from body analysis with bioimpedance, matched for age and BMI with PCOS group.

### **Anthropometric parameters in PCOS and control groups**

No statistically significant difference was noted between the two groups regarding BMI ( $p=0.60$ ), but women with PCOS presented higher values for abdominal circumference ( $107.6\pm 24.7$  cm) when compared with the group without PCOS ( $99.9\pm 12.9$  cm), without a statistically significant difference ( $p = 0.06$ ).

### **Testosterone values in PCOS and control groups**

Medium levels for total testosterone spanned from 0.63 ng/ml for PCOS group to 0.32 ng/ml for control group ( $p<0.001$ ).

### **Total testosterone, anthropometric and biochemical parameters correlation**

No statistically significant correlation was observed between total testosterone, anthropometric or biochemical parameters both for PCOS patients and controls ( $p > 0.05$  for all cases). Because of these results total testosterone was not included in the subsequent lipid profile analysis as a predictive variable.

### **Lipid profile values in women with PCOS and controls**

Total cholesterol medium value was  $199.3 \pm 49.2$  mg/dl for PCOS patients vs.  $171.9 \pm 35.9$  mg/dl for controls,  $p = 0.004$ . LDL cholesterol was  $133.7 \pm 44.9$  mg/dl for PCOS patients vs.  $95.6 \pm 31.6$  mg/dl for healthy women,  $p < 0.001$ , and HDL cholesterol was  $44.4 \pm 12.2$  mg/dl for PCOS group vs.  $50.5 \pm 12.2$  mg/dl in non-PCOS group,  $p = 0.02$ . Seric triglycerides were  $105.8 \pm 61.2$  mg/dl in PCOS group and  $128.6 \pm 82.2$  mg/dl in patients without PCOS,  $p = 0.15$ .

### **Relationship between lipid profile parameters, BMI, abdominal circumference and PCOS**

Linear regression was used to evaluate the relationship between total cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol, BMI, abdominal circumference and the presence of PCOS. Results interpretation is presented in Discussion subchapter.

## **Discussion**

Utilizing linear regression method we demonstrated that both total cholesterol and LDL cholesterol were positively and statistically significant associated only with the presence of PCOS ( $p = 0.01$  for total cholesterol,  $p < 0.001$  for LDL cholesterol). No association was noted between HDL cholesterol levels and the presence of PCOS. Also no association between total cholesterol, LDL cholesterol, or HDL cholesterol and BMI or abdominal circumference values was noted ( $p > 0.05$  for all cases).

## **Conclusion**

The main conclusion of this research is that women with PCOS presented modified lipid profile values with statistically significant higher values for total cholesterol and LDL cholesterol and statistically significant lower values for HDL cholesterol when compared with controls.

PCOS associated higher total testosterone values but these values did not correlate with the presence of obesity or insulin resistance.

## 3<sup>rd</sup> Study. High sensitive C Reactive Protein and PCOS

### Introduction

hsCRP is a marker of sub-clinical inflammation. High levels of this protein are associated with abdominal obesity, diabetes mellitus and cardiovascular disease. Previous research demonstrated the association between PCOS and high levels of hsCRP.

### Work hypothesis

In this context, the work hypothesis we started with is that PCOS patients present higher levels of hsCRP compared with non-PCOS subjects.

### Material and method

#### Study objective

The objective of this study was to evaluate the subclinical inflammation with hsCRP in PCOS patients when compared with healthy subjects and the identification of various factors correlated with hsCRP.

#### Study design. Study groups

Our objectives were accomplished with a retrospective, cross-sectional, analytic, case-control study.

From PCOS patients included in the 1<sup>st</sup> study, we selected in the **PCOS group** only those who matched the following inclusion criteria: positive diagnosis of PCOS, age > 18 years old, lab values for: glycemia, HbA1c, insulinemia, lipid profile, body fat composition, hsCRP. Exclusion criteria for PCOS group: other endocrine pathology, cardiovascular disease, diabetes mellitus, antipsychotic or antidepressants.

Healthy women, matched for age and BMI but no PCOS were included in the **control group**. The inclusion criteria, aside positive diagnosis for PCOS were similar to those used for PCOS group. Exclusion criteria for control group: positive diagnosis of PCOS, other endocrine disorders, cardiovascular disease, diabetes mellitus, antipsychotic or antidepressant treatment.

Data collected from patients files were described in the General Methodology chapter. Aspects on biochemical evaluation, anthropometric parameters and body composition, visceral fat area (VFA) and total body fat, along with details regarding the statistical analysis were presented in the General methodology chapter.

## Results

31 patients with PCOS and 29 healthy women matched for age and BMI were included in the current study, patients in both groups were successfully subjected to inclusion criteria for each group.

### **Anthropometric, demographic and laboratory parameters in PCOS and control groups**

In the analysis the two groups included women matched for age, BMI, abdominal circumference, glycemie and lipid profile, without statistically significant differences.

#### **hsCRP values in PCOS and control patients**

Medium values for hsCRP were  $3.89 \pm 2.75$  mg/l in patients with PCOS and  $2.61 \pm 1.81$  mg/l for controls,  $p=0.04$ . To exclude the effect other variables could have on medium values for hsCRP, an adjustment for BMI was performed using general linear model. After this, the adjusted values for hsCRP were  $3.22 \pm 0.76$  mg/l in PCOS patients and  $3.33 \pm 0.83$  mg/l for controls,  $p=0.60$ .

## Discussion

hsCRP values was significantly higher in PCOS patients when compared with controls:  $p=0.04$ . To exclude the effect of obesity on hsCRP medium values an adjustment was performed for BMI with the help of general linear model. After this adjustment similar values were obtained for hsCRP:  $p=0.60$ .

Starting from these results we hypothesized that hsCRP values correlates with parameters associated with adiposity (abdominal circumference, BMI, VFA, TBF) and this relationship exists in patients with and without PCOS. In addition we tried to demonstrate that hsCRP doesn't correlate with the presence of PCOS.

## Conclusion

In this last study from the doctoral thesis we demonstrated that hsCRP values are elevated in PCOS patients but these levels are correlated with obesity and fat accumulation and not with the presence of PCOS *per se*.

## General conclusions

The main conclusions formulated after the results analysis from our research were the following:

9. Our research didn't reveal differences for adiposity distribution in patients with and without PCOS.
10. PCOS patients had statistically significant higher values for glicemia, basal insulinemia and HOMA-IR and also lower values for HDL cholesterol when compared with controls.
11. For PCOS group no statistically significant correlations were established between VFA and metabolic parameters: glicemia and basal insulin levels, glicosilated hemoglobin, HOMA-IR and triglycerides. Also statistically significant correlations were established between TBF and insulin levels, and also between TBF and HOMA-IR, independent of VFA values.
12. Although PCOS patients frequently present abdominal obesity this fat distribution cannot entirely explain the abnormal metabolic parameters observed with these patients.
13. Women with PCOS had a modified lipid profile with statistically significant higher values for total cholesterol and LDL cholesterol and statistically significant lower HDL cholesterol when compared to women without PCOS.
14. Lipid parameters were associated with PCOS *per se*, independent of anthropometric parameters that describe obesity (i.e. BMI and abdominal circumference).
15. The presence of PCOS associated with statistically significant higher total testosterone but these values did not correlate with obesity nor with insulin resistance. The relationship with obesity and insulin resistance is mediated by SHBG that partially binds with total testosterone.
16. hsCRP levels are high in PCOS patients but these levels are correlated with obesity and fat accumulation and not with PCOS *per se*.



## **Originality and innovative contributions of the doctoral thesis**

From the results obtained in our research there are certain implications for current medical practice, especially for primary medical care because they concern the importance of cardiovascular risk factors in patients with PCOS.

The three studies of my personal research bring a few new data regarding the epidemiology and cardiometabolic risk factors characteristics for PCOS patients.

The fact that glicemic and lipid metabolism disorders, like high basal glycemia, glicosilated hemoglobin, insulin levels and insulin resistance and also lipid disorders are significantly influenced by visceral and total body fat excess in these patients impose the mandatory early identification and treatment of obesity in women with PCOS. Taking into account the profound implications of abdominal obesity in cardiovascular pathology, this could be a starting point for an extended screening for other cardiometabolic risk factors and cardiovascular disease in PCOS patients.

Our research from the doctoral thesis presents a few strong points. One is that in our studies we only included patients with no prior treatment for PCOS or other concomitant pathologies, thus eliminating the effect of medication on metabolic parameters or pro-inflammatory state. Secondly, no dietary recommendations were made for any of the two groups and so the levels of glicemia, glicosilated hemoglobin, insulin levels, lipid parameters levels and hsCRP was not influenced by dietetic or nutritional factors.

The doctoral thesis also contains a number of 207 references, 24 tables and 28 figures.