



Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ во Скопје

Медицински факултет - Скопје

АПЛИКАБИЛНОСТ НА АНТИМИЛЕРИАНОВИОТ ХОРМОН КАКО МАРКЕР ВО
ДИЈАГНОЗАТА НА ПОЛИЦИСТИЧНИОТ ОВАРИЈАЛЕН СИНДРОМ И НЕГОВАТА
АСОЦИЈАЦИЈА СО ИНДЕКСИТЕ НА ИНСУЛИНСКА РЕЗИСТЕНЦИЈА

- Докторска дисертација -

Автор: ас. д-р Саша Јовановска-Мишевска

Ментор: проф. д-р Гордана Пемовска

Скопје, мај 2017 година

“Somewhere, something incredible is waiting to be known”

„Некаде, нешто неверојатно чека да биде сознаено“

Carl Sagan

За изработка на овој труд, голема благодарност ѝ должам на мојата менторка, проф. д-р Гордана Пемовска, која со своите совети ми пружи драгоцен помош во тек на работата.

Сакам да изразам посебна благодарност на мојата професорка д-р Бранкица Крстевска, која имаше решавачки удел во моето усмерување и избор на тезата и која ме научи како да ги расплетам густо испреплетените нишки на комплексната ендокринологија.

Им се заблагодарувам на сите колеги од мојата клиника, воедно и на сестрите и колегите од лабораторијата за техничката организација окулу изведувањето на хормонските тестирања, помошта и моралната поддршка додека ја изработував дисертацијата.

Содржина

Апстракт	I
Abstract	II
Список на кратенки	III
1. ВОВЕД	1
1.1. Дефиниција на PCOS	2
1.2. Клинички симптоми и знаци кај PCOS	4
2. ПАТОФИЗИОЛОШКИ МЕХАНИЗМИ НА ПОЛИЦИСТИЧНИОТ ОВАРИЈАЛЕН СИНДРОМ	6
2.1. Неадекватна гонадотропинска секреција на хипоталамо-хипофизно ниво	6
2.2. Локални ензимски дефекти во оваријалното ткиво	9
2.3. Хиперинсулинемија и инсулинска резистенција во склоп на PCOS	11
2.3.1. Хиперинсулинемија	11
2.3.2. Инсулинска резистенција	12
2.3.2.1. Молекуларни механизми на дејство на инсулиноот	12
2.3.2.2. Молекуларни дефекти во инсулинското дејство кај PCOS	13
2.3.3. Клиничка дијагноза на инсулинска резистенција	14
3. МОТИВ ЗА ИЗРАБОТКА	16
4. ЦЕЛИ НА ДИСЕРТАЦИЈАТА	17
5. МЕТОДОЛОГИЈА НА ИСТРАЖУВАЊЕТО	18
5.1. Дизајн на истражувањето	18
5.2. Избор на пациенти	18
5.3. Критериуми за вклучување во испитувањето	19
5.4. Критериуми за исклучување од испитувањето	20
5.5. Протокол на студијата	20
5.6. Статистичка обработка на податоците	23
6. РЕЗУЛТАТИ	25
6.1. Антимилеријановиот хормон кај полицистичен оваријален синдром	25
6.1.1. Клинички и антропометриски параметри кај PCOS	26
6.1.2. Анализа на хормоналните параметри кај PCOS	34
6.1.3. Анализа на метаболните параметри кај PCOS	36
6.1.4. Сензитивност и специфичност на антимилеријановиот хормон (AMH)	41
6.2. Индекси на инсулинска резистенција кај полицистичен оваријален синдром	47
6.2.1. Анализа на антропометриските параметри во групите	48
6.2.2. Анализа на хормоналните параметри во групите	52

6.2.3.	Анализа на метаболните параметри добиени во тек на оралниот глукоза толеранс тест	56
6.2.4.	Анализа на липидни параметри помеѓу групите	65
6.2.5.	Сензитивност и специфичност на НОМА-IR	70
7.	ДИСКУСИЈА.....	76
7.1.	Клинички карактеристики на PCOS	76
7.2.	Хиперандрогенизам кај PCOS.....	79
7.3.	Хипоталамично-хипофизно-оваријална оска кај PCOS	81
7.4.	Антимилеријановиот хормон како дијагностички критериум кај PCOS	83
7.5.	Инсулинска резистенција и хиперинсулинемија кај PCOS	89
7.6.	НОМА-IR како дијагностички критериум за инсулинска резистенција кај PCOS	93
8.	ЗАКЛУЧОК.....	96
9.	ЛИТЕРАТУРА.....	98

Апстракт

Предмет на истражувањето: Студијата ја испитува улогата на антимилеријановиот хормон (AMH) во нарушената оваријална стероидогенеза кај жените со полицистичен оваријален синдром (PCOS) и дисфункциите во инсулинското делување кои имаат битно влијание врз метаболните абнормалности кај PCOS.

Цел: Да се оцени дијагностичкиот потенцијал на AMH како маркер во дијагнозата кај пациентките со PCOS, да се одреди поврзаноста помеѓу нивото на AMH, андрогените и индексите на инсулинска резистенција, како и да се утврди дијагностичкиот потенцијал на хомеостатскиот модел на инсулинска резистенција (НОМА-IR) во одредување на хиперинсулинемија кај PCOS.

Материјал и методи: Во оваа пресечна студија беа вклучени 187 испитанички, од кои 108 жени со PCOS и 79 здрави жени во репродуктивен период како контролна група. Кај сите испитанички беа одредени базалните хормонски, метаболни, антропометриски и клинички параметри за PCOS. Кај првата група од 60 испитанички со PCOS и 31 контрола дополнително беше одредено плазматското ниво на AMH. Кај втората група од 78 жени со хиперинсулинемичен PCOS и 80 жени со нормоинсулинемија беа утврдени базалните и стимулирани вредности на инсулинемија и гликемија во тек на 75 gr орален гликоза толеранс тест (OGTT) и беше одредена вредноста на НОМА-IR.

Резултати: Групите не се разликуваа меѓу себе во возраста ($p = 0,057$), индексот на телесна тежина ($p = 0,057$), обемот на струк ($p = 0,026$), обемот на колкови ($p = 0,691$), вредностите за систолен ($p = 0,716$) и дијастолен крвен притисок ($p = 0,571$). Утврдивме сигнификантно повисоки вредности на класичните хормонски параметри за PCOS во PCOS групата: вкупен тестостерон ($p < 0,001$), слободен андроген индекс ($p < 0,001$), LH ($p < 0,001$), LH/FSH ($p < 0,001$), DHEA-S ($p < 0,001$) и андростенедион ($p < 0,001$), со сигнификантно пониски вредности на SHBG ($p < 0,001$). Не се утврди статистички сигнификантна разлика во вредностите на FSH ($p = 0,118$), естроген ($p = 0,050$) и пролактин ($0,952$) помеѓу групите. Плазматскиот AMH беше сигнификантно повисок во PCOS групата ($p < 0,001$). Највисоки вредности на AMH имаше кај фенотипот А, потоа кај фенотипот В и кај фенотипот D, а најниска средна вредност на AMH беше утврдена кај фенотипот С. Вредноста на AUC-ROC за AMH изнесуваше 0,961 (95 % CI 0,926-0,996). При вредност за AMH од 4,7 ng/ml добивме сензитивност од 90,0 %, специфичност од 90,3 %, позитивна предиктивна вредност од 94,7 % и негативна предиктивна вредност од 82,4 % за методот. Утврдивме позитивна корелација помеѓу AMH и времетраењето на менструалниот циклус ($p < 0,001$), LH ($p = 0,025$), LH/FSH-односот ($p < 0,001$), вкупен тестостерон ($p = 0,034$) и слободниот андроген индекс ($p = 0,034$), како и негативна корелација на AMH со FSH ($p = 0,011$) и со базалниот инсулин ($p = 0,034$). Кај метаболните параметри имаше сигнификантна разлика во базалната инсулинемија ($p < 0,001$), инсулинемија на 60' ($p < 0,001$) и инсулинемија на 120' во тек на OGTT ($p < 0,001$) помеѓу групите. Само вредностите на базална гликемија беа споредбени помеѓу групите ($p = 0,119$), додека гликемијата на 60' ($p < 0,001$) и на 120' ($p < 0,001$) беше повисока. Вредностите на НОМА-IR беа повисоки ($p < 0,001$) во групата со хиперинсулинемија, во споредба со контролите со нормоинсулинемија. AUC-ROC вредноста за НОМА-IR изнесуваше 0,830 (95 % CI 0,762-0,899). При вредност на НОМА-IR од 2,5 се доби сензитивност на методот од 82,89 % во одредување на хиперинсулинемија кај PCOS, со специфичност од 85,90 %, позитивна предиктивна вредност од 85,14 % и негативна предиктивна вредност од 83,75 %. Покажавме позитивна корелација помеѓу НОМА-IR не само со базалните концентрации на серумски инсулин, туку и со стимулираните инсулински концентрации. Исто така, покажавме присуство на дислипидемија карактеристична за инсулинска резистенција (намален HDL и покачени триглицериди) кај пациентките со PCOS.

Заклучок: Високата сензитивност и специфичност која ја утврдивме за антимилеријановиот хормон кај жените со PCOS и неговата асоцијација со хиперандрогенизмот, го позиционира методот како дополнителен маркер во дијагнозата на тежината на синдромот. Корелацијата помеѓу НОМА-IR не само со базалните концентрации на серумски инсулин, туку и со стимулираните инсулински концентрации, отвора можност за клиничка примена на НОМА-IR како параметар на инсулинската резистенција кај жени со PCOS со висока сензитивност и специфичност на методот.

Клучни зборови: полицистичен оваријален синдром, антимилеријанов хормон, инсулинска резистенција, хомеостатски модел на инсулинска резистенција

Abstract

Research focus: The study researches the role of anti-müllerian hormone (AMH) in the impaired ovarian steroidogenesis in women with polycystic ovary syndrome (PCOS) and the disfunctions in the insulin action that have impact on the metabolic abnormalities in PCOS.

Objective: To evaluate the diagnostic potential of the anti-müllerian hormone as a marker in the diagnosis of the polycystic ovary syndrome, to evaluate the association between AMH, androgens and indexes of insulin resistance in PCOS and to evaluate the diagnostic potential of HOMA-IR in determining insulin resistance in PCOS.

Material and methods: This cross-sectional study included 187 participants, out of which 108 women with PCOS and 79 healthy women in the reproductive period as controls. Basal hormonal, metabolic, antropometric and clinical parameters for PCOS were obtained for all participants. For the first group of 60 women with PCOS and 31 controls, the levels of AMH were additionally measured. For the second group of 78 women with hyperinsulinemic PCOS and 80 normoinsulinemic controls, basal and stimulated values of insulin and glycemia during oral glucose tolerance test (OGTT) were measured, and the value of HOMA-IR was determined for all.

Results: The researched groups did not differ in the mean age ($p=0,057$), body mass index ($p=0,057$), waist circumference ($p=0,026$), hips circumference ($p=0,691$), systolic ($p=0,716$) and diastolic blood pressure ($p=0,571$). Significantly higher values of classical hormonal parameters for PCOS were observed in the PCOS group: total testosterone ($p<0,001$), free androgen index ($p<0,001$), LH ($p<0,001$), LH/FSH ($p<0,001$), DHEA-S ($p<0,001$) and androstenedione ($p<0,001$), with significantly lower values of SHBG ($p<0,001$). There was no statistically significant difference in the values of FSH ($p=0,118$), estrogen ($p=0,050$) and prolactin (0,952) between the groups. AMH values were significantly higher in the PCOS group ($p<0,001$), with highest values observed in the phenotype A, than phenotype B and phenotype D, and lowest values observed in phenotype C. The value of AUC-ROC for AMH was 0,961 (95% CI 0,926-0,996). At a cut-off value for AMH of 4,7 ng/ml we determined sensitivity of 90,0% and specificity of 90,3%, positive predictive value of 94,7% and negative predictive value of 82,4% for the method. Significant correlations between AMH and duration of menstrual cycle ($p<0,001$), LH ($p=0,025$), LH/FSH ($p<0,001$), total testosterone ($p=0,034$), and free androgen index ($p=0,034$) were observed, as well as negative correlation of AMH with FSH ($p=0,011$) and basal insulin ($p=0,034$). In the metabolic parameters, there was significant difference between the values of both basal ($p<0,001$), stimulated insulin at 60' ($p<0,001$) and stimulated insulin at 120' during OGTT ($p<0,001$) between groups. Only the values of basal glycemia were comparable between the groups ($p=0,119$), while higher stimulated values of glycemia at 60' ($p<0,001$) and at 120' ($p<0,001$) were observed. HOMA-IR values were higher ($p<0,001$) in the hyperinsulinemic PCOS group in comparison to the HOMA-IR values in the normoinsulinemic group. AUC-ROC for HOMA-IR in determination of hyperinsulinemia in PCOS was 0,830 (95% CI 0,762-0,899). At a cut-off value for HOMA-IR of 2,5 we obtained sensitivity of 82,89% of the method for determining insulin resistance in PCOS, with specificity of 85,90%, positive predictive value of 85,14% and negative predictive value of 83,75%. We demonstrated positive correlation of HOMA-IR not only with basal insulin concentrations, but also with the stimulated insulin concentrations. Presence of dyslipidemia characteristic of insulin resistance (low HDL and high triglycerides) was determined in the PCOS group.

Conclusion: The high sensitivity and specificity obtained for AMH, as well as the association of AMH with hyperandrogenism, positions this method as an additional marker in diagnosing the severity of PCOS. The correlation of HOMA-IR not only with the basal but also with the stimulated insulin values opens possibilities for broader use of the method for assessing insulin resistance in women with PCOS in a clinical setting, with high sensitivity and specificity.

Key words: polycystic ovary syndrome, anti-müllerian hormone, insulin resistance, homeostasis model of insulin resistance

Список на кратенки

PCOS – полицистичен оваријален синдром
AMH – антимилеријанов хормон
GnRH – гонадотропин-ослободувачки хормон
LH – лутеинизирачки хормон
FSH – фоликулостимулирачки хормон
SHBG – секс-хормон врзувачки глобулин
NIH – National Institute of Health
IGF – фактор на раст сличен на инсулиноот
TGF – трансформирачки фактор на раст
AMHR – рецептор на антимилеријановиот хормон
IGFBP – врзувачки протеин за факторот на раст сличен на инсулиноот
OGTT – орален глюкоза толеранс тест
WHO – World Health Organisation
IRS – инсулински рецепторски супстрат
TNF – туморски фактор на некроза
GLUT – глюкозен клеточен транспортер
HOMA-IR – хомеостатски модел за оцена на инсулинската резистенција
BMI – индекс на телесна маса
T – вкупен тестостерон
E2 – естрадиол
A – андростенедион
DHEA-s – дехидроепиандростерон сулфат
PRL – пролактин
TSH – тиростимулирачки хормон
FAI – слободен андроген индекс
QUICKI – квантитативен индекс на инсулинска сензитивност
ECLIA – Electrochemiluminescence Immunoassay
ELISA – Enzyme Linked Immunosorbent Assay
MEA – Microparticle Enzyme Immunoassay
ROC – Receiver Operating Characteristic
AUC – Area Under the Curve
F-G скор – Ferriman-Gallwey скор
HOL – вкупен холестерол
TG – триглицериди
HDL – high density lipoproteins
LDL – low density lipoproteins
ANOVA – еднонасочна анализа на варијанси
PCOS-NI – нормоинсулинемичен PCOS
PCOS-HI – хиперинсулинемичен PCOS
IR – инсулинска резистенција

1. ВОВЕД

Полицистичниот оваријален синдром (PCOS) е едно од најчестите ендокрини нарушувања кај жените во репродуктивниот период кое се карактеризира со асоцијација на полицистични овариуми, хиперандрогенизам и хронична ановулација.^{1,2,3} Инциденцијата на PCOS е од 5 % до 10 % кај жените во пременопаузалниот период.⁴ Клиничките и биохемиските карактеристики на синдромот се хетерогени. Хиперандрогенизмот клинички може да се манифестира со хирзутизам, акни или андрогено зависна алопеција, а биохемиски со покачени серумски концентрации на андрогени, посебно тестостерон и андростенедион.⁵ Ановулацијата се манифестира со нарушувања на менструалниот циклус (аменореја, олигоменореја или дисфункционални утерини крвавења) и со ановулаторен инфертилитет.²

Полицистичниот оваријален синдром претставува хетерогено нарушување со мултифакториелна етиологија. Ризикот од PCOS значително се зголемува со позитивната семејна историја за хронична ановулација и вишок на андрогени. Се смета дека наследувањето е полигенетско, но и под влијание на повеќе фактори на околината (пред сè оние кои придонесуваат за обезноста).⁶ Во репродуктивниот период, PCOS е поврзан со значаен репродуктивен морбидитет, вклучувајќи ја неплодноста, нередовните менструални циклуси и зачестените абортуси. Студиите укажуваат дека вродените абнормалности на оваријалната стероидогенеза и фоликуларниот развој играат битна улога во развојот на полицистичниот оваријален синдром.⁷ Синдромот е исто така асоциран со перзистентни, рапидни пулсеви на гонадотропин-ослободувачкиот хормон (GnRH), вишок на лутеинизирачки хормон (LH) и инсуфициентна секреција на фоликулостимулирачки хормон (FSH), кои придонесуваат за ексцесивна оваријална продукција на андрогени.⁸ Од друга страна, многу жени со полицистичен оваријален синдром имаат и инсулинска резистенција со компензаторна хиперинсулинемија која ја компромитира оваријалната (и адреналната) стероидогенеза и ја зголемува биорасположивоста на андрогените преку намалени нивоа на секс-хормон врзувачкиот глобулин (SHBG). Инсулинската резистенција

клинички може да се манифестира со *acanthosis nigricans*. Обезноста е присутна кај 50 % до 60 % од пациентките со PCOS, но не секогаш.⁹

Метаболните аспекти играат битна улога како во патогенезата така и во долгорочните коморбидитети на синдромот. Полицистичниот оваријален синдром е асоциран со кардиометаболни абнормалности и зголемен ризик од кардиоваскуларна болест.¹⁰ Во последнава декада се вршат екстензивни истражувања и за улогата на антимилеријановиот хормон (AMH) во патогенезата на полицистичниот оваријален синдром.

1.1. Дефиниција на PCOS

Заболувањето за првпат е опишано во 1935 година од Stein и Lewental, како клинички комплекс на аменореја и хирзутизам кај жена со полицистични овариуми.¹¹ Во текот на последниве 20 години беа предложени повеќе различни дефиниции, бидејќи стана јасно дека дефиницијата на Stein и Lewental претставува само еден аспект на широкиот спектар на заболувањето. Консензус-дефиниција на PCOS беше постигната во 1990 година под покровителство на Националниот институт за здравје (NIH), која опфаќаше два критериума:

1. Присуство на овулаторна дисфункција (од олигоовулација со должина на менструалниот циклус > 35 дена или < 8 циклуси годишно до ановулација со аменореја).
2. Присуство на хиперандрогенизам од оваријално потекло – клинички (хирзутизам, акни, алопеција, *acanthosis nigricans*) или преку биохемиски хормонални маркери.

При тоа е потребно исклучување на други причини за ановулација и/или хиперандрогенизам од страна на хипофизата, адреналните жлезди или овариумите (хиперпролактинемија, хипотироидизам, конгенитална адренална хиперплазија, Кушингов синдром или андроген секретирачки оваријални и адренални неоплазми).¹

Во 2003 година, во Ротердам, по препорака на Европското здружение за хумана репродукција и ембриологија и Американското здружение за репродуктивна

медицина беше направена ревизија на дијагностичките критериуми за PCOS.³ Ревидираните дијагностички критериуми за PCOS постигнати на ротердамскиот консензус вклучуваат присуство на два од трите наведени критериуми:

1. Присуство на овулаторна дисфункција (олиго и/или ановулација);
2. Клинички и/или биохемиски знаци на хиперандрогенизам;
3. Полицистични овариуми.

Потребно е исклучување на други ендокринопатии како етиолошки фактори за хиперандрогенизам.

Со вклучување на полицистичниот овариум во дијагнозата, ротердамската дефиниција ја прошири дијагнозата на PCOS на жени со полицистични овариуми и олигоановулација (нехиперандроген PCOS), како и на жени со хиперандрогенизам и полицистични овариуми (овулаторен PCOS), две категории кои не беа опфатени со претходната NIH-класификација. Ова иницираше повеќе дискусии околу тоа дали различните PCOS-фенотипови имаат подеднаков ризик од долгорочните метаболни коморбидитети асоцирани со синдромот.

Во 2009 година, здружението Androgen Excess and PCOS (AE-PCOS) објави здружен извештај во кој се потенцира дека PCOS е примарно хиперандрогено нарушување и препорача ревизија на дефиницијата која треба да вклучува хиперандрогенизам (хирзутизам и/или хиперандрогенемија) и оваријална дисфункција (олигоановулација и/или полицистични овариуми).¹² Оваа дефиниција во себе го вклучува ротердамскиот критериум за полицистични овариуми, но потенцира дека хиперандрогенизмот е неопходен за дијагнозата (табела 1).

Табела 1. Дефиниции на полицистичен оваријален синдром

Дефиниција на PCOS	Клинички хиперандрогенизам (Ferriman-Gallwey скор ≥ 8)	Олигоменореја (помалку од 6 до 9 менструални циклуси годишно)	Полицистични овариуми на ултразвук (≥ 12 антрални фоликули во овариум)
	или биохемиски хиперандрогенизам (покачен вкупен/слободен тестостерон)	или олигоовулација	или оваријален волумен ≥ 10 cm ³
NIH (1990)	да	да	не
Ротердам (2003)	да	да	да
		2 од 3 критериуми за дијагноза	
AE-PCOS Society (2009)	да	да	да
		еден од два критериуми за дијагноза	

1.2. Клинички симптоми и знаци кај PCOS

Хетерогеноста на клиничките карактеристики, како и различниот степен на нивна експресија долго време поттикнуваа дебати дали тие претставуваат едно нарушување или мултипни асоцирани патолошки состојби. Во последниве декади станува јасно дека хиперандрогената хронична ановулација во склоп на полицистичниот оваријален синдром е одговорна за повеќе од 20 % од сите случаи со секундарна аменореја и е водечка причина, во дури 75 % од случаите, за ановулаторен инфертилитет.¹³

Клиничките манифестации на PCOS се олигоменореја или аменореја, дисфункционални утерини крвавења и инфертилитет, со знаци кои сугерираат хиперандрогенизам, како акни, хирзутизам или андроген-зависна алопеција. Окулу 50 % од жените дијагностицирани со PCOS се обезни, а најголем број од нив имаат полицистични овариуми на ултрасонографија. Кај многу случаи, анамнезата за менструални нарушувања датира уште во менархата и честопати пациентките се презентираат со задоцнета менарха. Хирзутизмот и обезноста можат да бидат присутни кај адолесцентки уште пред менархата.² Карактеристичните клинички карактеристики на PCOS и нивната фреквенција се дадени во табела 2.

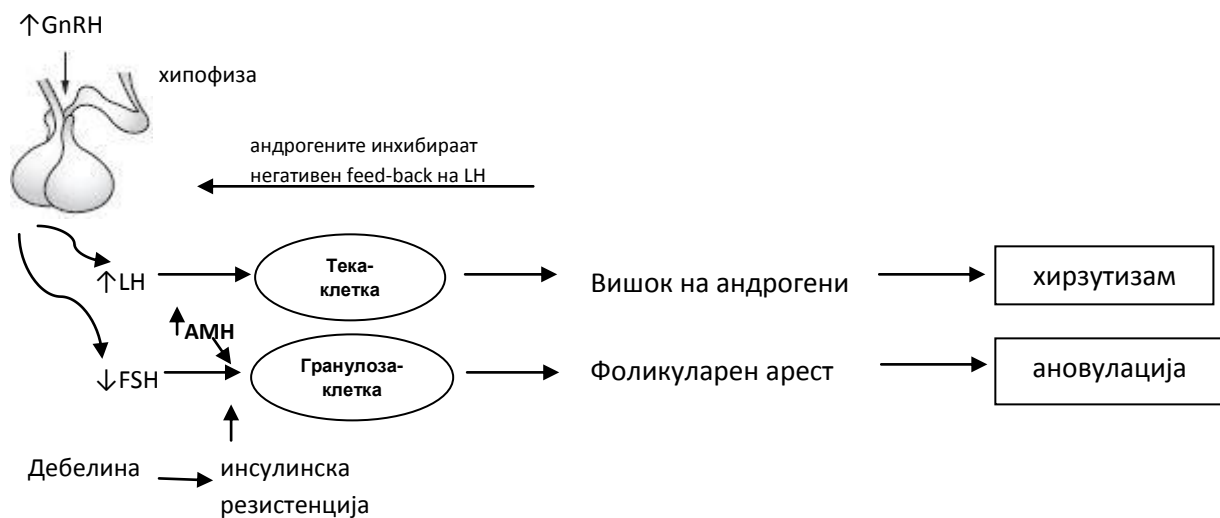
Табела 2. Клинички знаци и симптоми во склоп на PCOS

Клинички знак/симптом	Фреквенција (%)
Хирзутизам	60-90
Акни	24-27
Алопеција	8
Олигоменореја	50-90
Аменореја	26-51
Дисфункционално утерусно крвање	29
Инфертилитет	55-75
Полицистични овариуми на ултрасонографија	50-75
Обезност	40-60
Нормален менструален циклус	22
Вирилизација	0-28

Анамнезата и физичкиот преглед кај пациентка со PCOS треба да бидат фокусирани на проценката на абнормалностите во репродуктивната оска, како и на проценка на ризикот од кардиоваскуларни и метаболни болести. Анамнезата треба да го прецизира времето на појавување на симптомите, стапката на прогресија, видот на менструалната абнормалност и природата на абнормалните крвавења, степенот на изразеност на андрогените симптоми и да ги открие другите потенцијални ризик-фактори. Рапидна прогресија на андрогените симптоми сугерира вирилизирачки синдром. Постепен почеток на појавување на симптомите или почеток во пубертетот, заедно со фамилијарна историја за хирзутизам, ирегуларни циклуси, алопеција или инфертилитет повеќе сугерираат PCOS. Со физички преглед, пациентката треба да се евалуира за хипертензија, дистрибуција на масното ткиво, степен на маскулинизација, карактеристични кожни промени (хирзутизам, акни, алопеција, acanthosis nigricans), пелвични маси и знаци за Кушингов синдром. Хирзутизмот може да се процени семиквантитативно со Ferriman-Gallwey скор-табелата. Андроината (центрипетална) обезност (однос струк/колк $\geq 0,85$) е асоцирана со ризик-фактори за кардиоваскуларни заболувања. Присуството на acanthosis nigricans е маркер на инсулинска резистенција. Маскулинизацијата не е чест наод и повеќе сугерира конгенитална адренална хиперплазија или андрогено-секретирачки оваријални или адренални тумори.¹

2. ПАТОФИЗИОЛОШКИ МЕХАНИЗМИ НА ПОЛИЦИСТИЧНИОТ ОВАРИЈАЛЕН СИНДРОМ

Патофизиологијата на PCOS е комплексна. Постојат неколку патофизиолошки механизми кои водат до зголемена продукција на андрогени кај PCOS. Некои истражувачи се фокусираат на неадекватна гонадотропинска (GnRH) секреција на хипоталамо-хипофизно ниво која резултира со зголемена или нарушена пулсна секреција на лутеинизирачки хормон (LH), а нормални или ниски серумски концентрации на фоликулостимулирачки хормон (FSH) што води до покачување на LH/FSH-индексот,¹⁴ додека други претпоставуваат дека абнормалниот ексцес на андрогени се должи на локални ензимски дефекти во оваријалното ткиво.¹⁵ Акцент е ставен на улогата на антимиљеријановиот хормон во супресијата на дејството на FSH врз растечката фоликула преку инхибиција на експресијата на рецепторите за ароматаза и LH во тек на фоликуларната селекција.¹⁶ Најновите истражувања сугерираат дека намалената инсулинска сензитивност и инсулинската резистенција која резултира со хиперинсулинемија индуцира абнормална оваријална андрогена секреција и манифестира локални и системски ефекти во склоп на PCOS (слика 1).¹⁷



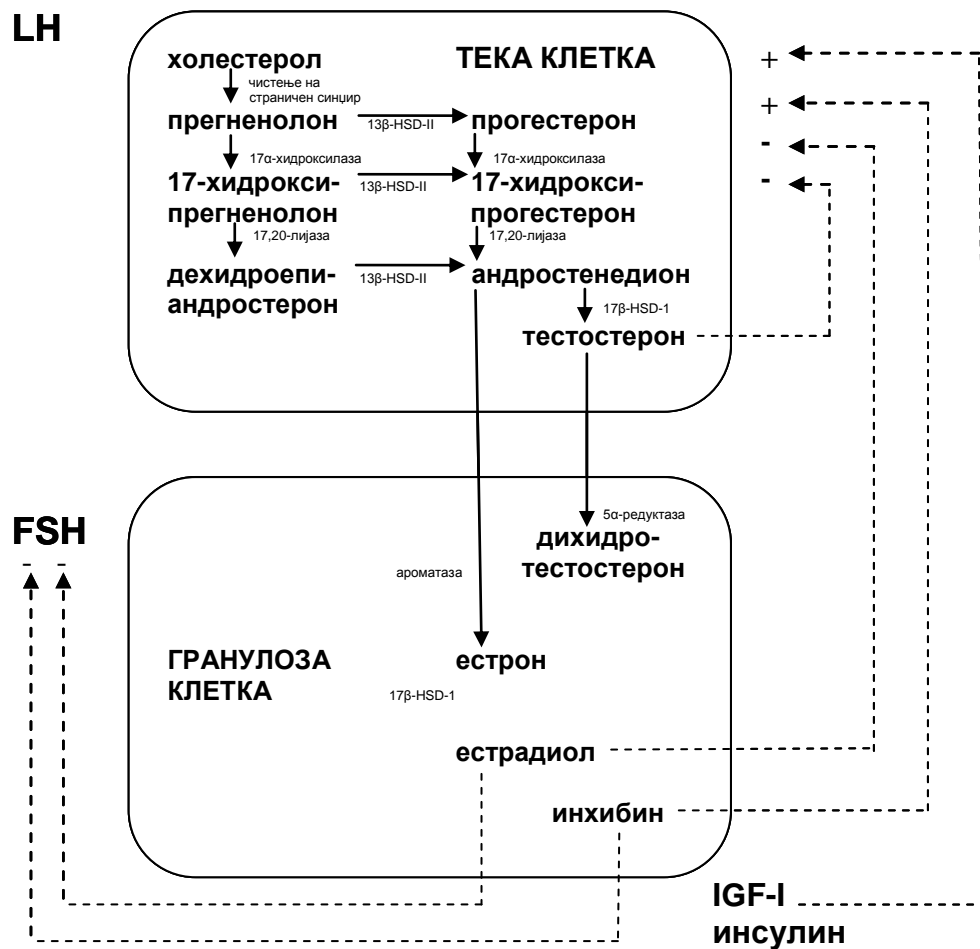
Слика 1. Патофизиолошки механизми кои водат до зголемена продукција на андрогени кај PCOS

2.1. Неадекватна гонадотропинска секреција на хипоталамо-хипофизно ниво

Како одговор на стимулацијата со LH и FSH, фоликулата која расте секретира андрогени и естрогени: LH индуцира синтеза на андрогени од тека-оваријалните

клетки, додека во гранулоза-клетките се одвива процес на ароматизација на андрогените во естрогени како одговор на FSH.¹⁸ Во услови на GnRH посредувана засилена и изменета LH-пулсатилна секреција што е присутна кај полицистичниот оваријален синдром, оваријалната синтеза е поместена кон продукција на андрогени, која се манифестира со нарушена фоликуларна матурација.¹⁴ Евидентно е дека популацијата на преантрални фоликули е зголемена и дека постои застој во фоликуларната матурација кај полицистичниот оваријален синдром. Многу од акумулираните фоликули кај PCOS се стероидогено компетентни и се способни за продукција на естроген и прогестерон. Всушност, интересно е дека жените со PCOS продуцираат и андрогени и естрогени во вишок. Во нормални услови, фоликулите одговараат на LH откако ќе достигнат дијаметар од 10 mm, додека фоликулите кај полицистичните овариуми стануваат осетливи кон LH со многу помал дијаметар, што може да води кон неадекватна терминална диференцијација на гранулоза-клетките и резултира со дезорганизиран фоликуларен развој. Покачените LH-нивоа и релативната хиперинсулинемија која постои кај некои пациентки со PCOS може синергистички да потенцираат нарушена фоликулогенеза. Андрогените пак, од своја страна, придонесуваат за ефектите на LH и инсулинот во фоликуларната матурација. Исто така и вишокот на естрогени може да делува негативно на механизмот на повратна спrega, инхибирајќи ослободување на FSH, а со тоа и неможност за понатамошен развој на фоликулата (шема 1). Најверојатно е дека абнормалната гонадотропинска секреција е повеќе резултат, отколку причина на оваријалната дисфункција.⁵

Кај жените со PCOS е покажана хиперреактивност на 17α -хидроксипрогестеронот кон агонисти на GnRH, што беше протолкувано како индикација на хиперреактивност на оваријалната цитохром P450c17 α , клучен ензим во продукцијата на андрогените.¹⁹ Исто така, во култури на тека-оваријални клетки, акумулацијата на андростенедион и 17-хидроксипрогестерон била повисока во полицистичните овариуми отколку во нормални овариуми, сугерирајќи зголемена активност на 17α -хидроксилаза и 17,20-лијаза како интринзична карактеристика на тека-клетките кај полицистичните овариуми.²⁰



Шема 1. Двоклеточна теза за стероидогенеза на ниво на овариумот

Студиите изведувани на култивирани гранулоза-клетки покажаа дека и инсулинот стимулира синтеза на андрогени од една страна, а од друга страна ја зголемува ароматазната активност преку засилување на ефектите на FSH и LH ин витро.²¹ LH-индуцираната продукција на андрогени во тека-оваријалните клетки е засилена од инсулинот и факторите на раст слични на инсулинот (IGFs).^{22,23}

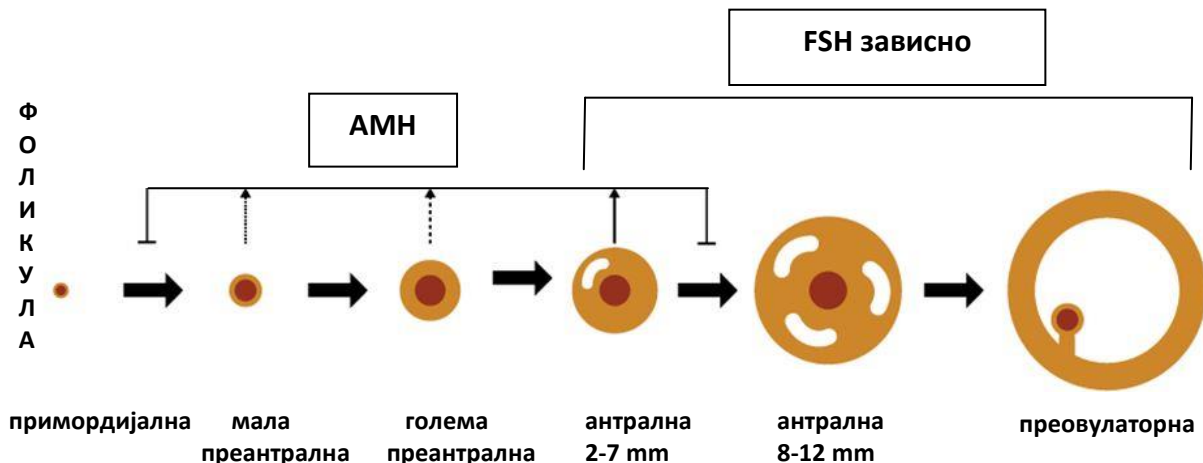
Патофизиолошките промени во нормалната хормонална секреција кај полицистичниот оваријален синдром водат до зголемени серумски концентрации на слободен тестостерон и андростенедион преку зголемена оваријална секреција на андрогени (посредувана од покачен IGF-II и LH) и намалено врзување на андрогените

од страна на SHBG, како и зголемени концентрации на слободен естрадиол (како резултат на ниски концентрации на SHBG), но и зголемени концентрации на естрон (од периферната конверзија на андрогените од страна на адипоцитите). Алтерираната пулсна секреција на Gn-RH која резултира со зголемена секреција на LH од една страна и со нормални или ниски концентрации на FSH од друга страна, се манифестира со фоликуларна регрутација без фоликуларна селекција за развој во зрела и доминантна фоликула.¹

2.2. Локални ензимски дефекти во оваријалното ткиво

И покрај хетерогеноста на PCOS, многубројните предложени модели за развитокот на синдромот го вклучуваат оваријалниот хиперандрогенизам како основна нишка, бидејќи базична константа кај PCOS е абнормалниот овариум кој ексцесивно секретира андрогени.⁵ Во последниве дваестина години расте бројот на докази за улогата на антимиљеријановиот хормон (AMH) во патофизиологијата на PCOS. Антимиљеријановиот хормон е димерен гликопротеин кој припаѓа на фамилијата на трансформирачки фактори на раст β (TGF- β).²⁴ Хормонот се врзува за својот рецептор (AMHR), единечен трансмембрански протеин со серин-треонин киназна активност.²⁵ Овие рецептори се експримирани на целните органи, како што се милиериановите дуктуси, серолиевите и лајдиговите клетки во тестисите и на гранулоза-клетките во овариумите. Фоликуларните гранулоза-клетки, кои ги опкружуваат преантралните и антралните фоликули, произведуваат антимиљеријанов хормон (AMH) од стадиумот на примарна фоликула до иницијалната формација на антрална фоликула (слика 2). Кај женските новороденчиња AMH е недетектибилен, па се следи минимален постепен пораст до пубертетот, по што нивото на хормонот станува релативно стабилно во тек на репродуктивниот период.²⁶ Покажано е дека серумските концентрации на AMH се пропорционални на бројот на фоликули во развој во овариумот.²⁷ Оваријалната дисфункција кај жени со полицистичен оваријален синдром се карактеризира со арест во фоликуларната матурација и нарушување во селекцијата на доминантна фоликула. Последователно на ова, кај PCOS се утврдени 2-3 пати повисоки серумски концентрации на антимиљеријановиот хормон, како директен одраз на зголемениот број на рани антрални фоликули.²⁸ Жените со PCOS имаат два до шест пати поголем

број фоликули (примарни, секундарни и антрални) во овариумите, што се должи на хроничната хиперандрогенемична состојба.⁶ Кај ановулаторните жени со PCOS, фоликуларниот развој сопира кога фоликуларниот дијаметар ќе достигне 6-9 mm, непосредно пред преминот и селекцијата на доминантна фоликула.²⁹



Слика 2. Ефекти на антимиљеријановиот хормон на фоликулата во раст од примордијална до примарна фоликула

Сугерирано е дека AMH ја инхибира регрутацијата на примарната фоликула и го намалува одговорот на избраната фоликула на FSH-стимулација, оневозможувајќи ја матурацијата во доминантна фоликула.³⁰ Подоцнежните студии го потврдија овој наод и укажаа дека покачените нивоа на AMH се поврзани со зголемениот број на фоликули со дијаметар од 2 до 5 mm кај жени со PCOS.³¹ Овие високи нивоа на AMH, поврзани со фоликуларниот арест, покажуваат негативна интеракција со FSH. На овој начин AMH ја инхибира синтезата на ароматаза која се активира со присуство на FSH и го супримира нејзиното дејство во гранулоза-клетките.³²

Во 2007 година, Пелат и сортаботниците известија дека кај жените со PCOS, продукцијата на AMH од гранулоза-клетките е покачена за 75 % во споредба со контролната група.³³ Според авторите, повисоките нивоа се должат како на зголемениот број на фоликули, така и на интринзична аберантна фоликуларна функција. Вишокот на AMH, преку ендокрини и најверојатно паракрини патишта, игра улога во процесот на фоликуларен арест. На ниво на цистичната фоликула, постои

зголемена продукција на инхибин и намалена продукција на активин која резултира со паракрино поттикнување на оваријалната андрогена продукција.¹ Концентрациите на AMH кај жени со PCOS корелираат независно и позитивно со тестостеронот, андростенедионот и слободниот андроген-индекс.³¹

2.3. Хиперинсулинемија и инсулинска резистенција во склоп на PCOS

Асоцијацијата помеѓу нарушувањето во метаболизмот на јаглехидратите и хиперандрогенизмот за првпат беше опишана во 1921 година од Achard и Thiers како Achard-Thiers-синдром или „дијабетес на брадати жени“.³⁴ Kierland, во 1947 година, ја опиша карактеристичната кожна лезија, acanthosis nigricans, која се јавува кај жени со хиперандрогенизам и кај пациенти со дијабетес мелитус, како епифеномен на инсулинска резистенција.³⁵

2.3.1. Хиперинсулинемија

Во 1980 година, Vurgen и соработниците известија дека жените со PCOS имаат базална хиперинсулинемија, како и хиперинсулинемија стимулирана од гликоза.⁹ Тие нотираа сигнификантна позитивна линеарна корелација помеѓу инсулинските и андрогените концентрации, од што стана јасно дека една од централните улоги во патогенезата на PCOS игра хиперинсулинемијата.

Беза постулирани неколку механизми за да се објасни корелацијата помеѓу хиперинсулинемијата и хиперандрогенизмот кај PCOS. Инсулинот може да делува на ниво на хипофизата, овариумите и/или на хепарот преку зголемување на синтезата на андрогени и/или намалување на андрогениот метаболизам и намалена синтеза на SHBG. Ин витро студии покажаа дека инсулинот стимулира андрогена синтеза од стромалните и тека-оваријални ткива.³⁶ И кај обезни и кај необезни хиперинсулинемични пациентки со PCOS беше утврдена зголемена активност на оваријалниот ензим P450c17 α која е директно стимулирана од инсулинот.³⁷ Инсулинот го засилува како базалното така и GnRH-стимулираното ослободување на LH, со што

последователно се зголемува концентрацијата на циркуирачки слободен тестостерон.³⁸

Хиперинсулинемијата резултира со намалена синтеза на два битни врзувачки протеина од хепарот: врзувачки протеин за факторот на раст сличен на инсулинот I (IGFBP-I) и врзувачки протеин за секс-хормоните (SHBG). IGFBP-I ги врзува факторите на раст слични на инсулинот I и II (IGF-I и IGF-II), а SHBG ги врзува претежно андрогените. Намалената синтеза на овие два врзувачки протеина резултира со зголемување на концентрацијата на слободните (физиолошки активни) лиганди. И IGF-I и IGF-II можат да ја модифицираат и засилат LH-стимулираната андрогена продукција преку нивното дејство на IGF-I-рецепторот (1). Кога е присутен во повисоки концентрации, и самиот инсулин може да го активира IGF-I-рецепторот.³⁹ Обезноста, присутна кај 50 % до 60 % од пациентките со PCOS може исто така да ја засили инсулинската резистенција и хиперинсулинемијата.²¹ Овие опсервации сугерираат дека инсулинот има директна патогенетска улога во појавувањето на хиперандрогенизам кај некои пациентки со PCOS.

2.3.2. Инсулинска резистенција

Во 1987 година, Dunaif и соработниците, испитувајќи ги карактеристиките на група хиперандрогени жени со acanthosis nigricans, најдоа нарушена гликозна толеранција кај 20 % од пациентките со PCOS, кај кои беше направен орален глукоза толеранс тест (OGTT).⁴⁰ Во понатамошните студии за преваленција на нарушена гликозна толеранција, користејќи ги ревидираните критериуми на Светската здравствена организација (WHO), беше утвредна преваленција од 20 % до 40 % кај жени со PCOS, наспроти 5,3 % преваленција на нарушена гликозна толеранција кај контролната популација.⁴¹ Оваа висока инциденција го насочи испитувањето кон улогата на инсулинската резистенција во патогенезата на PCOS.

2.3.2.1. Молекуларни механизми на дејство на инсулинот

Инсулинот делува на целните клетки преку врзување со клеточниот инсулински рецептор кој е експримиран на клеточната мембрана.⁴² Инсулинскиот

рецептор е хетеротетрамер, составен од два α,β -димери поврзани со дисулфидни врски. Алфа-подединицата е екстрамембранскиот дел кој го содржи врзното место за лигандите, а подединицата е интрамембранска и содржи интринзична протеинска тирозин-киназна активност, која се активира преку лиганд-медирана фосфорилација. Тирозинската автофосфорилација ја зголемува тирозин-киназната активност на рецепторот. Активираниот инсулински рецептор понатаму врши фосфорилација на интрацелуларни супстрати кои иницираат трансдукција на сигналот преку низа каскадни фосфорилации и внес на глукозта во клетката. Серинската фосфорилација ја инхибира активноста на рецепторот. Инсулинскиот рецептор припаѓа на фамилијата на протеински тирозин-киназни рецептори, како што е и IGF-I-рецепторот, со којшто има значителна секвенционална и структурална хомологија.⁴³ Инсулинот има бројни ефекти на целните ткива, меѓу кои се стимулација на глукозниот внес, регулацијата на гени, DNK-синтезата и внесот на аминокиселини.⁴²

2.3.2.2. Молекуларни дефекти во инсулинското дејство кај PCOS

Поставени се неколку хипотези за молекуларните дефекти во инсулинското дејство кај PCOS. Серинската фосфорилација на инсулинскиот рецептор медирана преку протеинската киназа C е битна во патогенезата на инсулинската резистенција индуцирана од хипергликемија.⁴⁴ Неодамнешните докази сугерираат дека серинската фосфорилација на инсулинскиот рецепторски супстрат-1 (IRS-1), медирана преку туморскиот фактор на некроза- α (TNF- α), ја инхибира трансдукцијата на сигналот од инсулинскиот рецептор, што укажува на постоење на дефект во спроведувањето на инсулинскиот сигнал на пострецепторско ниво.⁴⁵

Студии правени врз култури од изолирани PCOS адипоцити покажале значително намалување во инсулинската сензитивност, заедно со не толку изразено, но сепак сигнификантно намалување на максималните стапки на инсулин-стимулираниот глукозен транспорт.⁴⁶ Постојат докази за намалување на нивото на аденозин во адипоцитите кај PCOS.⁴⁷ Намалувањето на максималните стапки на глукозен внес од страна на адипоцитите се јавува како резултат на намалената концентрација на GLUT 4-глукозните клеточни транспортери.⁴⁸ Во студии изведувани врз клутури од изолирани

PCOS-фибробласти, кај окулу 50 % била утвредна намалена автофосфорилација на инсулинскиот рецептор, а кај останатите 50 % и покрај нормалната фосфорилација на инсулинскиот рецептор, сепак постоела инсулинска резистенција, што повторно укажува на дефект во пострецепторското инсулинско сигнализирање.⁴⁹

Инсулинската резистенција резултира со хиперинсулинемија преку зголемената панкреатична инсулинска секреција, во обид да се надмине резистенцијата и да се одржи нормогликемија. Полицистичните овариуми се стимулирани да секретираат повисоки концентрации на андрогени во хиперинсулинемично и инсулин резистентно опкружување. Инсулинската резистенција придонесува за зголемен ризик од развој на нарушена гликозна толеранција и тип 2 дијабетес мелитус кај пациентки со PCOS. Хиперинсулинемијата стимулира промени во липопротеинскиот метаболизам и во метаболизмот на холестеролот, што од своја страна води до алтериран липопротеински профил и зголемен ризик од коронарна артериска болест кај жените со PCOS. Жените со PCOS имаат седум пати зголемен ризик од миокарден инфаркт и коронарна артериска болест, а по четириесетата година дури 40 % можат да развијат нарушена гликозна толеранција или тип 2 дијабетес.⁵⁰

2.3.3. Клиничка дијагноза на инсулинска резистенција

Во истражувачки цели, за одредување на инсулинската резистенција се користи хиперинсулинемична-еугликемична кламп-техника. Хиперинсулинемичната-еугликемична кламп-техника е „златен стандард“ за квантификација на инсулинската сензитивност ин виво бидејќи директно го мери ефектот на инсулинот во промоција на глукозната утилизација во стабилни услови.⁵¹ Но сепак, иако овој метод е високо сензитивен, неговата примена во клиничката практика е ограничена поради долгото времетраење и комплексноста на изведување, а и поради високата цена. Во клиничката практика би бил погоден брз, прецизен и едноставен метод за оцена на инсулинската резистенција. Предложени се повеќе методи за евалуација на инсулинската резистенција кои се базираат врз калкулирање на индекси на инсулинска резистенција врз основа само на базалните серумски вредности на инсулин и гликоза,

или пак предвид се земени и стимулираните вредности на инсулинемија и гликемија во тек на OGTT.⁵²

Хомеостатски модел како индекс на инсулинска резистенција. Во последно време во фокусот на внимание е хомеостатскиот модел за оцена на инсулинската резистенција (НОМА-IR) како едноставен, прецизен и клинички применлив индикатор за оцена на инсулинската резистенција. НОМА-IR се базира врз калкулирање на односот на базалните вредности на серумски инсулин и гликоза со користење на факторот на корекција (инсулински индекс).⁵³ Повеќе студии покажале сигнификантна корелација помеѓу НОМА-IR и хиперинсулинемична-еугликемична кламп-техника, што потврдува дека НОМА-IR може да даде адекватен одраз на инсулинската резистенција.^{54,55,56} Апликабилноста на хомеостатскиот модел ја потврдува и високата сензитивност на овој метод од 95 % и специфичност од 84 %.⁵⁷ Методот има позитивна предиктивна вредност од 87 % и негативна предиктивна вредност од 94 %.⁵⁷ Некои досегашни испитувања одат во прилог на воведување на НОМА-IR во клиничката практика како метод за дијагностицирање и евалуација на инсулинската резистенција.^{54,55,57}

3. МОТИВ ЗА ИЗРАБОТКА

Полицистичниот оваријален синдром е едно од најчестите ендокрини нарушувања кај жените во репродуктивниот период, со комплексна патофизиологија и е асоциран со бројни метаболни ризици за жената. PCOS предизвикува абнормална оваријална стероидогенеза и се карактеризира со присуство на бројни мали фоликули во овариумот. Бидејќи нивото на антимилеријановиот хормон го одразува бројот на развојни фоликули, неговото одредување може да се користи како маркер на степенот на оваријално фоликуларно нарушување. Еден од главните мотиви на оваа студија е да се позиционира местото на антимилеријановиот хормон во протоколот за дијагноза на PCOS, како и да се утврди неговата асоцираност со другите компоненти на синдромот.

Една од централните улоги во патогенезата на PCOS имаат хиперинсулинемијата и инсулинската резистенција. Инсулинската резистенција придонесува за зголемен ризик од развој на нарушена гликозна толеранција и тип 2 дијабетес мелитус кај пациентки со PCOS. Хиперинсулинемијата стимулира промени во липопротеинскиот метаболизам и во метаболизмот на холестеролот, што од своја страна води до алтериран липопротеински профил и зголемен ризик од коронарна артериска болест кај жените со PCOS. За навремено да се дијагностицира инсулинската резистенција и да се отпочне адекватен третман, потребен е брз, прецизен и едноставен метод за оцена на инсулинската резистенција, кој ќе биде применлив во клиничката практика. Втор главен мотив на оваа студија е да се оцени сензитивноста и клиничката применливост на хомеостатскиот модел како индекс на инсулинската резистенција (HOMA-IR) кај жените со полицистичен оваријален синдром, како и неговата асоцијација со метаболните карактеристики на испитуваната група со PCOS.

4. ЦЕЛИ НА ДИСЕРТАЦИЈАТА

Полицистичниот оваријален синдром има растечки тренд и сè поголем број пациентки се јавуваат за клиничка евалуација. Ова наметна потреба од подетално прецизирање на потребните анализи за клиничка евалуација на синдромот и за оцена на метаболниот статус кај пациентките, од каде што произлегоа и главните цели на дисертацијата:

1. Да се оцени дијагностичкиот потенцијал на антимиљеријановиот хормон (АМН), како маркер во дијагнозата кај пациентките со полицистичен оваријален синдром.
2. Да се одредат пресечни вредности на антимиљеријановиот хормон кои ќе направат дистинкција помеѓу жените со полицистичен оваријален синдром и здрави жени во репродуктивен период во нашата земја.
3. Да се оцени сензитивноста и специфичноста на АМН во дијагноза на полицистичниот оваријален синдром.
4. Да се евалуира поврзаноста помеѓу нивото на антимиљеријановиот хормон, андрогените и индексите на инсулинска резистенција кај жени со PCOS.
5. Да се позиционира местото на антимиљеријановиот хормон во протоколот за дијагноза на PCOS.
6. Да се оцени дијагностичкиот потенцијал на хомеостатскиот модел на инсулинска резистенција (НОМА-IR) во дијагностицирање на инсулинската резистенција кај пациентките со полицистичен оваријален синдром.
7. Да се одредат пресечни вредности на НОМА-IR кои ќе направат дистинкција помеѓу жените со хиперинсулинемичен полицистичен оваријален синдром и здрави жени во репродуктивен период во нашава земја.
8. Да се оцени сензитивноста и специфичноста на НОМА-IR во дијагноза на инсулинската резистенција кај полицистичниот оваријален синдром.
9. Да се оцени клиничката применливост на методот во евалуација на инсулинската резистенција кај жени со полицистичен оваријален синдром.

5. МЕТОДОЛОГИЈА НА ИСТРАЖУВАЊЕТО

5.1. Дизајн на истражувањето

Студијата беше клинички ориентирана, пресечна (cross-sectional) клиничка студија, која опфати пациентки со полицистичен оваријален синдром кои биле хоспитализирани и/или амбулантски третирани на ЈЗУ „Универзитетската клиника за ендокринологија, дијабетес и болести на метаболизмот“.

5.2. Избор на пациенти

Целна популација на истражувањето беа жени во репродуктивен период од 16 до 49 години, кои се јавиле за преглед на поради нарушувања во менструалниот циклус, хирзутизам и/или инфертилност. Истражувањето опфати вкупно 187 испитанички, од кои 108 пациентки со полицистичен оваријален синдром и контролна група од 79 жени. Сите учеснички беа запознаени со целта на студијата, информирани за сите моменти кои се од нивни интерес и потпишаа информирана согласност, пред да бидат започнати какви било процедури поврзани со студијата.

Пациентките со полицистичен оваријален синдром беа регрутирани од амбулантните и хоспиталните болни кои се јавиле на ЈЗУ „Универзитетска клиника за ендокринологија, дијабетес и болести на метаболизмот“. Контролната група ја сочинуваа 79 здрави, нормоовулаторни жени со редовен менструален циклус, без клинички и биохемиски знаци за хиперандрогенизам, кои беа регрутирани од персоналот на клиниката и од студентките на Медицинскиот факултет. Кај сите испитанички беа одредени базалните хормонални, метаболни, антропометриски и клинички параметри за PCOS. За првата група од 60 консекутивни испитанички со PCOS и 31 испитаничка во контролната група беше одредено плазматското ниво на антимилеријановиот хормон (AMH). За втората група од 76 испитанички со хиперинсулинемичен полицистичен оваријален синдром и 80 испитанички во контролната група со нормоинсулинемија беа утврдени базалните и стимулирани вредности на инсулинемија и гликемија во тек на 75 gr орален гликоза толеранс тест

(OGTT) и беше одредена вредноста на хомеостатскиот индекс на инсулинска резистенција (HOMA-IR).

Дијагнозата на PCOS беше поставувана по ревидираните дијагностички критериуми постигнати на ротердамскиот консензус по препорака на Европското здружение за хумана репродукција и ембриологија и Американското здружение за репродуктивна медицина, кои вклучуваат присуство на два од трите наведени критериуми:

1. Присуство на овулаторна дисфункција (олиго- и/или ановулација: од олигоовулација со должина на менструалниот циклус > 35 дена или < 8 циклуси годишно до ановулација со аменореја).
2. Клинички и/или биохемиски знаци на хиперандрогенизам (клинички: хирзутизам, акни, алопеција, или преку нарушени биохемиски хормонални маркери: покачен вкупен/слободен тестостерон).
3. Полицистични овариуми (ултрасонографски наод на 12 или повеќе фоликули во секој овариум со дијаметар од 2 до 9 mm и/или зголемен оваријален волумен $> 10\text{ml}$).

Претходно беа исклучени други причини за ановулација и/или хиперандрогенизам од страна на хипофизата, адреналните жлезди или овариумите (хиперпролактинемија, хипотироидизам, конгенитална адренална хиперплазија, Кушингов синдром или андроген секретирачки оваријални и адренални неоплазми).

5.3. Критериуми за вклучување во испитувањето

- Возраст помеѓу 16 и 49 години;
- Потпишана информирана согласност;
- Дијагностициран полицистичен оваријален синдром спрема ревидираните дијагностички критериуми постигнати на ротердамскиот консензус;
- Присуство на хиперинсулинемија за испитаничките од втората група.⁵²

За присутна базална или стимулирана хиперинсулинемија, потребно беше да биде задоволен барем еден од следниве критериуми:

- концентрација на инсулин во плазма $> 17 \mu\text{U/ml}$ на гладно;
- концентрација на инсулин во плазма $> 150 \mu\text{U/ml}$ на 60-та минута во тек на OGTT со 75 gr гликоза;
- концентрација на инсулин во плазма $> 60 \mu\text{U/ml}$ на 120-та минута во тек на OGTT со 75 gr гликоза.

5.4. Критериуми за исклучување од испитувањето

- Претходно дијагностициран дијабетес мелитус;
- Заболувања на тироидната жлезда;
- Хиперпролактинемија која се должи на питуитарен аденом;
- Кушингов синдром;
- Андроген секретирачки оваријални и адренални неоплазми;
- Гравидитет;
- Користење на хормонска терапија пред помалку од три месеци од почетокот на студијата;
- Користење на други лекови кои влијаат врз метаболизмот на глукозата пред помалку од три месеци од почетокот на студијата.

5.5. Протокол на студијата

За сите испитанички беше направена клиничка процена и беа иследени антропометриските, хормоналните и метаболните параметри. Клиничка процена се вршеше со помош на стандарден анкетен прашалник за социјално-демографските податоци за пациентката, детални податоци за фамилијарни заболувања, репродуктивно здравје, должина на менструален циклус, како и податоци за здравјето по системи.

Клиничката процена опфати: комплетна историја на болеста со посебен осврт на менарха, времетраење на менструален циклус, присутни нарушувања во

менструалниот циклус (олигоменореја, аменореја, дисменореја, метрорагија, полименореја); детален клинички преглед со осврт на појава на хирзутизам, алопеција, акни и acanthosis nigricans; одредување на крвен притисок (mmHg); одредување на Ferriman Gallwey-индекс за степенот на хирзутизам, кој е семиквантитативната индексна скала за степенот на хирзутизам и трансвагинална ултрасонографија на овариуми.

Од антропометриските параметри беа опфатени телесната тежина (kg) и телесната висина (m), со цел да се добие вредност на индексот на телесна маса (kg/m^2); обем на струк (cm) и обем на колкови (cm) и одредување на индекс струк/колк. Мерењето на обем на струк се вршеше во висина на долната точка на умбиликусот, а мерењето на колкови - на најширокиот обем на колковите, по што беше пресметан односот струк/колк. Индексот на телесна маса (BMI) беше одреден според формулата: телесна тежина во килограми поделена со квадрат на телесната висина во метри. Нормален индекс на телесна тежина беше дефиниран како вредности на BMI помеѓу 18,5–25 kg/m^2 .

Од хормоналните параметри кај испитаничките беа одредени: фоликулостимулирачки хормон (FSH); лутеинизирачки хормон (LH); естрадиол (E2); вкупен тестостерон (T); андростенедион (A); дехидроепиандростерон сулфат (DHEA-s); секс-хормон врзувачки глобулин (SHBG); пролактин (PRL); тиростимулирачки хормон (TSH); кортизол и антимиљеријановиот хормон (AMH). За сите испитанички беше одреден LH/FSH-индексот, како однос на LH врз FSH, а беше калкулиран и слободниот андроген индекс (free androgen index - FAI) според формулата [вкупен тестостерон(nmol/l)/секс-хормон врзувачки глобулин(nmol/l)]*100.

Метаболниот статус опфати одредување на: базални и стимулирани вредности на гликемија (на 0', 60' и 120' во тек на OGTT); базални и стимулирани вредности на инсулинемија (на 0', 60' и 120' во тек на OGTT); хомеостатски модел како индекс на инсулинска резистенција (HOMA-IR); квантитативен индекс на инсулинска сензитивност (QUICKI) и липиден статус (вкупен холестерол, триглицериди, HDL-холестерол, LDL-холестерол). HOMA-IR беше пресметан според формулата: [базална инсулинемија

(mU/ml)* базална гликемија (mmol/l)]/22,5. Квантитативниот индекс на инсулинска сензитивност (QUICKI) беше пресметуван според формулата: $1/[\log(\text{базална инсулинемија } \mu\text{U/ml}) + \log(\text{базална гликемија mmol/l})]$.

Хормоналните параметри се испитуваа во фоликуларната фаза на менструалниот циклус, меѓу вториот и осмиот ден или во кое било време, кај пациентки со два или повеќе месеци аменореја. За анализите се вадеше венска крв од 8 до 10 часот наутро, по 12 часа ноќно гладување. Примероците на крв беа оставени на собна температура во период од 60 минути со цел крвта да коагулира, потоа истите се центрифугираа 10 минути на 3 000 вртежи во минута. За анализите беше користен серум. Серумот за АМН беше издвоен во епандорфи за еднократна употреба и беше замрзнат на -40 °C. Останатите анализи по протокол беа веднаш изработени во ендокринолошката лабораторија при Клиниката за ендокринологија. Анализите за FSH, LH, TSH, кортизол, E2, T, A, DHEA-s и PRL се изведуваа со електрохемилуминисцентен имунолошки есеј (electrochemiluminescence immunoassay - ECLIA) на автоматскиот анализатор Roche Elecsys 1010/2010. Анализите на SHBG се изведуваа со ELISA-метод (enzyme-linked immunosorbent assay) на полуавтоматскиот анализатор IMX Abbott. Анализите на АМН беа изработени во Клиничко-биохемиската лабораторија на Клиниката за гинекологија и акушерство со АМН Gen II ELISA-техника, која е ензиматски амплифициран двостран имуноесеј. Примероците беа инкубирани во микротитрациски велчиња, обложени со анти-АМН антителиа и беше измерена апсорбанцата преку одредување на степенот на ензиматски турновер.

Трансвагинална ултрасонографија на овариумите беше изведена на ЈЗУ УК „Клиника за гинекологија и акушерство“, со сонда 6,5 MHz, со цел да се утврдат оваријалните волумени и бројот на фоликулите. Волуменот беше детерминиран според формулата за волумен на елипсоида: $0,523 \times \text{должина} \times \text{ширина} \times \text{дебелина}$.

Метаболните параметри беа испитани во тек на двочасовен OGTT со 75 gr гликоза. Три дена пред изведување на тестот секоја испитаничка имаше дополнителен внес на 150 gr јаглехидрати дневно. По гладување од 8 до 14 часа во текот на ноќта, во 8 часот наутро беше земена венска крв за одредување базална гликемија и инсулинемија. По

оптоварување со 75 gr гликоза, во тек на OGTT беше земена венска крв на 60-та минута и на 120-та минута за одредување на стимулираните вредности на гликоза и инсулин. Гликемијата се одредуваше во венска плазма со гликозно-оксидазен метод на гликемискиот анализатор Beckmann. Инсулинот се одредуваше во серум со ензимски есеј со микрочестички (microparticle enzyme immunoassay – MEA) на полуавтоматскиот анализатор IMX Abbott. Липидниот статус беше одреден со спектрофотометриски методи на автоматски анализатори (Cobas-C111 Roche).

5.6. Статистичка обработка на податоците.

Податоците од испитаните групи беа внесени во евидентни листи и пренесени во компјутерска база на податоци. За статистичка анализа на податоците се користеше компјутерска програма SPSS Statistics 17.0. Обработката на податоците беше извршена со помош на стандардни дескриптивни и аналитички биваријатни и мултиваријатни методи.

- Атрибутивните статистички серии беа анализирани со одредување на коефициент на односи, пропорции, стапки и беше утврдена статистичката значајност меѓу откриените разлики со помош на Pearson Chi-square (χ^2 -тест).
- Нумеричките серии беа анализирани со мерки на централна тенденција (просек, медијана и мод) и со мерки на дисперзија на податоците (стандардна девијација). Кај нумеричките серии кај кои не постоеше отстапување од нормалната дистрибуција, сигнификантноста на разликата се тестираше со Student t-тест. Кај оние кај кои постоеше отстапување од нормалната дистрибуција, сигнификантноста на разликата меѓу две нумерички варијабли се тестираше со Mann-Whitney U-тест.
- Статистичката сигнификантност на разликите помеѓу повеќе од три нумерички варијабли беше анализирана со ANOVA-тест за варијаблите со нормална дистрибуција и со Kruskal-Wallisov мултиплата регресиона анализа за непараметриски дистрибуираните варијабли.
- За испитување на корелацијата, односно поврзаноста меѓу одредени параметри се користеа параметарски и непараметарски методи на корелација (коефициент

на линеарна корелација на Pearson, коефициент на ранк корелација на Spearman и Kruskal-Wallisov мултиплата регресиона анализа).

Нивото на сигнификантност, односно статистичка значајност, беше одредено преку пресметување на вредноста на p , со граници на доверба окулу проценетите вредности CI (confidence interval $\pm 95\%$ CI) и беше дефинирана статистичката значајност за ниво на грешка помало од 0,05 ($p < 0,05$). Како статистички значајни беа земени вредностите на $p < 0,05$; високо статистички значајни вредности на $p < 0,001$; статистички несигнификантни вредности на $p > 0,05$.

За утврдување на дијагностичкиот потенцијал на испитуваните параметри ја користевме кривата Receiver Operating Characteristic (ROC), која е фундаментална алатка за евалуација на дијагностичките тестови. Кај ROC-кривата, вистинската позитивна стапка (сензитивност) е споредена во функција наспроти лажната негативна стапка (100 - специфичност) за различни референтни вредности на испитуваниот параметар. Секоја точка на ROC-кривата претставува пар на сензитивност/специфичност што кореспондира на дадената вредност на испитуваниот параметар. Областа под ROC-кривата (Area Under the Curve - AUC) претставува мерка за тоа колку добро испитуваниот параметар прави дистинкција помеѓу испитуваните групи. Вредност на AUC-ROC од 1 би претставувала идеален дијагностички показател, додека вредност на AUC-ROC од 0,5 укажува на отфрлање на испитуваниот показател како дијагностички параметар. Вредностите на AUC-ROC кои укажуваат на дијагностичкиот потенцијал на параметарот (тестот) се:

- 0,90-1 = одличен (A)
- 0,80-0,90 = добар (B)
- 0,70-0,80 = задоволителен (C)
- 0,60-0,70 = слаб (D)
- 0,50-0,60 = недоволен, се отфрла (F)

6. РЕЗУЛТАТИ

Со истражувањето беа опфатени вкупно 187 испитанички, од кои 108 пациентки со полицистичен оваријален синдром и контролна група од 79 нормоовулаторни нехирзутни жени кај кои немаше клинички и хормонални позитивни показатели за PCOS.

За целите на студијата беа анализирани две групи на испитанички. Првата група ја сочинуваа 60 консекутивни пациентки со полицистичен оваријален синдром и 31 испитаничка во контролната група, за кои покрај класичните клинички, хормонски и метаболни параметри за PCOS беа одредени и плазматските нивоа на антимиљеријановиот хормон (AMH).

Втората група во која се иследуваше инсулинската резистенција кај жените со PCOS ја сочинуваа 76 жени со хиперинсулинемичен полицистичен оваријален синдром и 80 жени со нормоинсулинемија (од кои 48 здрави испитанички и 32 испитанички со нормоинсулинемичен полицистичен оваријален синдром).

6.1. Антимиљеријановиот хормон кај полицистичен оваријален синдром

За детерминирање на сензитивноста и специфичноста на антимиљеријановиот хормон (AMH) како маркер за дијагноза на полицистичниот оваријален синдром беа анализирани 60 пациентки со полицистичен оваријален синдром, дијагностицирани спрема ревидираните дијагностички критериуми постигнати на ротердамскиот консензус и 31 случај во контролната група. Кохортата опфаќаше испитанички на средна вредност за возраста од $23,45 \pm 4,4$ години во групата со PCOS и средна вредност за возраста од $25,63 \pm 5,24$ години во контролната група, со нормална дистрибуција на возраста во двете групи која не покажа статистички сигнификантна разлика помеѓу групите ($t = -1,950$; $p = 0,057$).

Спрема дефиницијата постигната на ротердамскиот консензус се издвојуваат 4 различни фенотипови на полицистичен оваријален синдром, во зависност од тоа дали

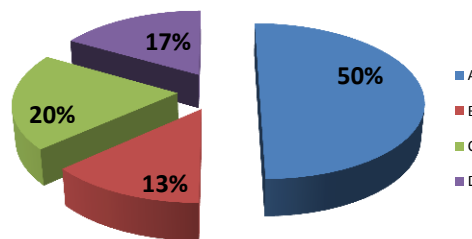
кај пациентките ги има сите три дијагностички критериуми, или се задоволени два од трите дијагностички критериуми. Дефинирани се:

- **фенотип А**, кај кој се присутни сите три дијагностички критериуми (олиго/ановулација, хиперандрогенизам и присуство на полицистични овариуми на ултразвук);
- **фенотип В**, кај кој се присутни олиго/ановулација и хиперандрогенизам;
- **фенотип С**, кај кој се присутни хиперандрогенизам и полицистични овариуми на ултразвук; и
- **фенотип D**, кај кој се присутни олиго/ановулација и полицистични овариуми на ултразвук.

Во нашата група на испитанички со полицистичен оваријален синдром, најзастапен беше фенотипот А кој беше утврден кај 50 % од женита со PCOS. Кај 13 % од испитаничките беше застапен фенотипот В, кај 20 % беше утврден фенотипот С, а кај 17 % беше утврден фенотипот D (табела 1).

Табела 1. Различни фенотипови на PCOS

фенотип	ОА	НА	PCO	фреквенција
A	+	+	+	50 %
B	+	+	-	13 %
C	-	+	+	20 %
D	+	-	+	17 %



ОА олиго/ановулација; **НА** хиперандрогенизам; **PCO** полцистичен овариум на ултрасонографија

6.1.1. Клинички и антропометриски параметри кај PCOS

Од базалните клинички параметри беа иследувани возраста и вредностите на крвен притисок кај испитаничките, а од клиничките знаци на хиперандрогенизам, посебен осврт се стави на анализа на појавата на хирзутизам, акни и андрогена алопеција. Абнормалностите во менструалниот циклус и присуството на олигоменореја беше исто така испитувано во двете групи. Од антропометриските параметри беше иследувана телесната тежина и висина на испитаничките, со цел да се добие вредност

за индексот на телесна маса (BMI), како и мерење на обемот на струк и обемот на колкови со цел да се добие вредност за индексот струк/колк. Споредбата на основните клинички и антропометриските параметри помеѓу групата со полицистичен оваријален синдром и контролната група се прикажани на табела 2.

Табела 2. Споредба на клинички и антропометриски параметри во групите

Варијабла	PCOS (n = 60)	Контрола (n = 31)	p-вредност
Возраст (години)	23,45 ± 4,4	25,63 ± 5,24	0,057 ^a
BMI (kg/m ²)	26,87 ± 6,68	24,17 ± 5,39	0,057 ^a
Обем на струк (cm)	91,16 ± 17,60	86,20 ± 18,18	0,268 ^a
Обем на колкови (cm)	105,60 ± 13,62	107,06 ± 16,21	0,691 ^a
Однос струк/колк	0,858 ± 0,082 (0,67-1,05)	0,801 ± 0,795 (0,62-0,98)	0,003 ^{b,*}
Систолен крвен притисок (mmHg)	113,93 ± 17,34 (90-155)	116,25 ± 7,07 (105-120)	0,716 ^b
Дијастолен крвен притисок (mmHg)	71,43 ± 10,995 (60-90)	75,00 ± 7,07 (65-80)	0,571 ^b

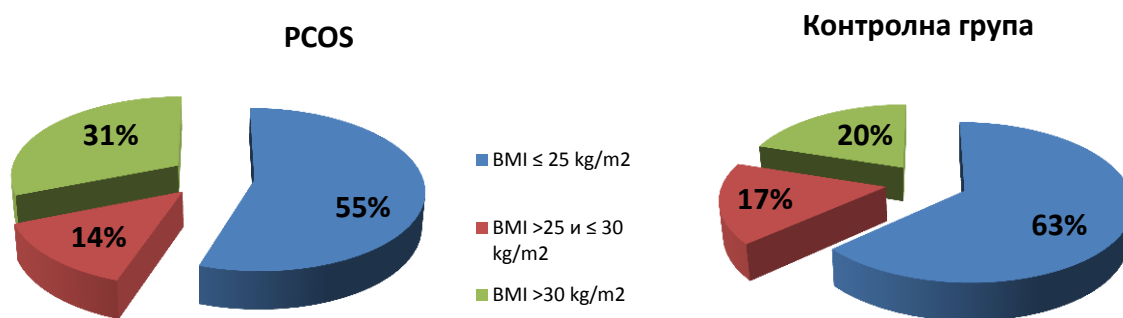
^a параметриски t-test за независни примероци; ^b непараметриски Mann-Whitney U-тест

* нормално дистрибуираните податоци се претставени како средна вредност ± стандардна девијација, а за непараметриски дистрибуираните податоци се дадени и минималната и максималната вредност (минимум-максимум)

• статистички сигнификантно

Компарираниите групи не се разликуваа помеѓу себе во однос на возраста ($t = -1,950$; $p = 0,057$), индексот на телесна маса ($t = -1,929$; $p = 0,057$), обемот на струк ($t = -1,116$; $p = 0,268$), обемот на колкови ($t = -0,399$; $p = 0,691$), вредностите за систолен ($Z = -0,363$; $p = 0,716$) и дијастолен крвен притисок ($Z = -0,567$; $p = 0,571$), параметри кои укажуваат на хомогеноста на испитуваните групи и добрите можности за нивна споредба.

Од антропометриските параметри, единствено односот струк/колк покажа статистички значајно повисоки вредности во групата со PCOS ($Z = -0,567$; $p = 0,003$). Подеталната анализа на индексот на телесна маса во групата со PCOS покажа дека 55 % од испитаничките се со нормален индекс на телесна маса, 14 % имаат вредност на BMI помеѓу 25 и 30 kg/m², а обезни со BMI > 30 kg/m² се 31 % од пациентките со PCOS. Нормална вредност на индекс на телесна маса ≤ 25 kg/m² имаше кај 63 % од контролите, вредност на BMI помеѓу 25 и 30 kg/m² имаше кај 17 %, а обезни беа 20 % од испитаничките во контролната група (графикон 1).



Графикон 1. Процентуална застапеност на различни индекси на телесна маса во групата на PCOS и во контролната група

Во контролната група имаше слична застапеност на различните индекси на телесна маса, фреквенции кои не покажаа статистички сигнификантна разлика помеѓу групите (табела 3). Вредноста на Pearson χ^2 изнесуваше 1,221, со два степена на слобода, давајќи статистички несигнификантна вредност за p од 0,543.

Табела 3: Поданализа на индекси на телесна тежина помеѓу групите

	PCOS (n = 60)	Контрола (n = 31)	χ^2 -тест ^a
BMI ≤ 25 kg/m ²	32 (33,61) [0,08]*	19 (17,39) [0,15]	χ^2 -вредност: 1,221 степен на слобода: 2 p-вредност: 0,543
BMI > 25 и ≤ 30 kg/m ²	8 (8,57) [0,04]	5 (4,43) [0,07]	
BMI > 30 kg/m ²	18 (15,82) [0,30]	6 (8,18) [0,58]	

^a Pearson Chi-square (χ^2 -тест)

*резултатите се претставени како: опсервирани вредности (очекувани вредности) [поединечна p-вредност на χ^2]

Застапеноста на клиничките показатели на хиперандрогенизам (хирзутизам, акни, андрогена алопеција) и присуството на олигоменореја беа анализирани помеѓу групата испитанички со полицистичен оваријален синдром и контролната група како атрибутивни параметри. Резултатите од тестирањето на статистичката сигнификантност на разликата на фреквенциите помеѓу групите е прикажана на табела 4.

Табела 4. Споредба на клинички знаци за хиперандрогенизам помеѓу групите

Варијабла	PCOS (n = 60)	Контрола (n = 31)	χ^2 -тест ^a	степен на слобода	p-вредност
Хирзутизам	61,7 %	12,9 %	20,958	2	< 0,001 ^a
Акни	20,0 %	9,7 %	15,961	2	< 0,001 ^a
Олигоменореја	76,7 %	9,7 %	38,506	2	< 0,001 ^a
Андрогена алопеција ^b	3,3 %	0 %			
Инфертилитет ^b	3,3 %	0 %			

^a Pearson Chi-square (χ^2 -тест)

^b поради ниската фреквенција на испитуваниот параметар во групите не е можна статистичка анализа

Хирзутизам беше регистриран кај 61,7 % од пациентките со полицистичен оваријален синдром, наспроти 12,9 % застапеност кај контролната група ($\chi^2 = 20,958$; $p < 0,001$). Присуство на акни имаше кај 20 % од испитаничките со PCOS, наспроти 9,7 % испитанички со акни во контролната група ($\chi^2 = 15,961$; $p < 0,001$). Андрогена алопеција беше регистрирана само кај две пациентки (3,3 %) од групата со полицистичен оваријален синдром, наспроти ниту еден случај во контролната група, па малиот број на опсервирани фреквенции резултираше со неможност за статистичко тестирање на разликите помеѓу групите.

Седумдесет и шест проценти од пациентките со PCOS дадоа податок за нарушување во менструалниот циклус, од олигоменореја до аменореја, наспроти 9,7 % на регистрирана олигоменореја кај испитаничките во контролната група ($\chi^2 = 38,506$; $p < 0,001$). Само две пациентки (3,3 %) од групата со полицистичен оваријален синдром иницијално консултираа поради иследување на инфертилитет, наспроти ниту еден случај во контролната група, па и за овој параметар малиот број на опсервирани фреквенции резултираше со неможност за статистичко тестирање на разликите помеѓу групите.

Од нумеричките варијабли за клиничките знаци за хиперандрогенизам и за нарушувањата во менструалниот циклус беа анализирани добиените вредности на Ferriman-Gallwey скорот (F-G скор) за хирзутизам и времетраењето на менструалниот циклус во денови.

Кај сите испитанички беше направена анализа на вредноста на Ferriman Gallwey скорот (F-G скор) добиен со анализа на семиквантитативната индексна скала за степенот на хирзутизам. Како позитивен хирзутизам скор беше земена вредноста на F-G скор > 8. Средната вредност на F-G скорот во групата со полицистичен оваријален синдром изнесуваше $14,88 \pm 3,82$. Добиените мерки на централна тенденција, просечна вредност, стандардна девијација, најниски и највисоки вредности на F-G скорот кај испитаничките со PCOS се прикажани во табела 5.

Табела 5. Дескриптивна анализа на мерки на централна тенденција за F-G скор

параметар	група		вредност	ст. грешка	
F-G скор	PCOS	средна вредност	14,88	0,676	
		95 % интервал на доверливост	долна граница горна граница	13,50 16,25	
		медијана	15,00		
		варијанса	14,629		
		стандардна девијација	3,825		
		минимум	6		
		максимум	22		

Благ степен на хирзутизам, со F-G скор помеѓу 8 и 13 беше утврден кај 16 % од пациентките со полицистичен оваријален синдром, наспроти 7 % кај контролната група. Умерен степен на хирзутизам, со F-G скор помеѓу 14 и 18 имаа 22 % од пациентките со PCOS, а 7 % од испитаничките во контролната група. Кај 20 % од жените со полицистичен оваријален синдром беше утврден потежок степен на хирзутизам, со F-G скор повисок од 18 (графикон 2).



Графикон 2. Процентуална застапеност на различен степен на хирзутизам во групата на PCOS и во контролната група

Во контролната група имаше статистички сигнификантно пониска регистрирана стапка на хирзутизам. Анализата на опсервираните фреквенции покажа статистички сигнификантна разлика помеѓу групите (табела 6). Вредноста на Pearson χ^2 изнесуваше 19,3601; давајќи статистички сигнификантна вредност за p од 0,00023.

Табела 6: Опсервирани наспроти очекувани вредности за различен степен на хирзутизам помеѓу групите

F-G скор	PCOS (n = 60)	Контрола (n = 31)	χ^2 -тест ^a
F-G скор < 8	21 (30,31) [2,86]*	25 (15,69) [5,52]	χ^2 -вредност: 19,3601
Благ степен на хирзутизам	12 (9,88) [0,45]	3 (5,12) [0,88]	
Умерен степен на хирзутизам	16 (11,20) [2,06]	1 (5,80) [3,97]	p-вредност: 0,00023
Тежок степен на хирзутизам	7 (4,61) [1,24]	0 (2,39) [2,39]	

^a Pearson Chi-square (χ^2 -тест),

*резултатите се претставени како: опсервирани вредности (очекувани вредности) [поединечна p-вредност на χ^2]

Кај сите испитанички беше направена анализа на должината на менструалниот циклус во денови. Времетраењето на менструалниот циклус од 21 до 35 дена (до 45 дена кај млади адолесцентки) беше дефинирано како нормален менструален циклус (еуменореја), испитаничките со времетраење на менструалниот циклус од 35 до 180 дена беа дефинирани како пациентки со олигоменореја, а како секундарна аменореја беше дефинирано отсуство на менструален циклус повеќе од 180 дена (6 месеци).

Постоеше сигнификантно поголема должина на траење на менструалниот циклус во групата со полицистичен оваријален синдром (средна должина на менструален циклус $107,18 \pm 104,508$ дена), наспроти контролната група (средна должина на менструален циклус $32,00 \pm 10,346$ дена), што се должи на поголемиот процент на пациентки со олигоменореја и секундарна аменореја во групата со PCOS. Високата статистичка сигнификантност добиена со тестирање на разликите во должината на менструалниот циклус во двете групи ($Z = -5,332$; $p < 0,001$) укажува на фактот дека нарушувањата во менструалниот циклус се еден од главните клинички симптоми кои се сретнуваат кај полицистичниот оваријален синдром, додека во контролната популација овој клинички ентитет не се сретнува често (само три испитанички дадоа податок за подолго времетраење на менструалниот циклус од нормално). Во табела 7 и табела 7.1 се

дадени просечните времетраења на менструалниот циклус во двете групи и анализа на бројот на пациентки со нормален менструален циклус (еуменореја), олигоменореја и секундарна аменореја во испитуваните групи.

Табела 7. Споредба на должина на менструален циклус во групите

Варијабла	PCOS (n = 60)	Контрола (n = 31)	p
Времетраење на менструален циклус (денови)	107,18 ± 104,508 (28-365)	32,00 ± 10,346 (27-45)	< 0,001 ^{б,*}

^б непараметриски Mann-Whitney U-тест

*податоците се непараметриски дистрибуирани, претставени како средна вредност ± стандардна девијација (минимум-максимум)

•статистички сигнификантно

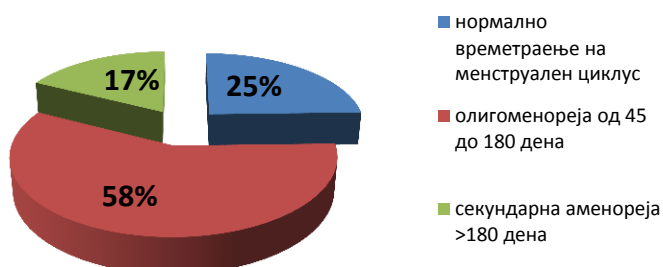
Табела 7.1 Споредба на должина на менструален циклус во групите

Времетраење на менструален циклус (денови)	PCOS (n = 60)	Контрола (n = 31)
Еуменореја	34,64 ± 16,56 (n = 14) [25 %]	28,89 ± 1,25 (n = 27) [90 %]
Олигоменореја	76,64 ± 26,46 (n = 33) [58 %]	41,23 ± 4,31 (n = 3) [10 %]
Секундарна аменореја	309,50 ± 28,25 (n = 10) [17 %]	(n = 0) [0 %]

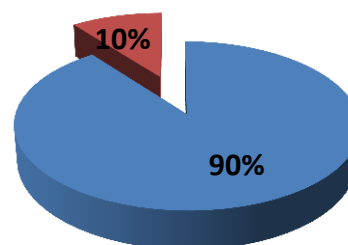
*податоците се претставени како средна вредност ± стандардна девијација (број на случаи) [фреквенција]

Дистрибуцијата на фреквенцијата на еуменороични, олигоменороични и секундарно аменороични жени со полицистичен оваријален синдром и истите фреквенции кај контролната група се прикажани на графикон 3.

PCOS



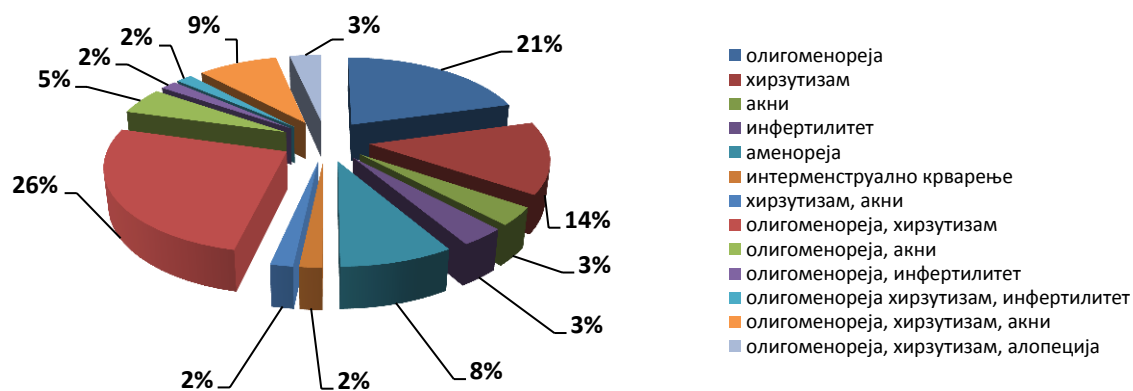
Контролна група



Графикон 3. Процентуална застапеност на нарушувања во менструалниот циклус во групата на PCOS и во контролната група

Само 25 % од жените со полицистичен оваријален синдром имаа нормално времетраење на менструалниот циклус, наспроти 90 % еуменороични жени во контролната група. Најголем процент (58 %) од испитаничките со PCOS има олигоменореја, а кај 17 % беше утврдена секундарна аменореја. Само кај три пациентки од контролната група се доби податок за подолго времетраење на менструалниот циклус од 35 дена.

Анализираните дистрибуции на фреквенции на испитуваните клинички показатели на хиперандрогенизам и нарушувања во менструалниот циклус покажаа висока статистичка сигнификантност помеѓу групите ($p < 0,001$), укажувајќи дека клиничките дијагностички критериуми за хиперандрогенизам и за нарушувања во менструалниот циклус даваат добра клиничка слика на ендогениот андроген вишок кај PCOS (табела 4). Кај поголем број од испитаничките (34 %), клиничките знаци на хиперандрогенизам беа асоцирани со нарушување во менструалниот циклус, а 14 % од испитаничките имаа три позитивни клинички показатели (графикон 4). Овие клинички знаци многу поретко се сретнуваа во контролната група, најчесто поединечно и спорадично.



PCOS	застапеност	најчесто застапени	%
Еден клинички симптом	52%	олигоменореја хирзутизам аменореја	40% 27% 17%
Два клинички симптома	34%	олигоменореја + хирзутизам олигоменореја + акни	75% 15%
Три клинички симптома	14%	олигоменореја + хирзутизам + акни олигоменореја + хирзутизам + алопеција	63% 25%

Графикон 4. Застапеност на клинички симптоми на хиперандрогенизам и нарушувања во менструалниот циклус во групата со PCOS

Со цел да се утврди дијагностичкиот потенцијал на хирзутизмот и нарушувањата во менструалниот циклус во дијагноза на PCOS, беше анализирана областа под кривата (AUC-ROC) добиена со одредување на ROC-крива за обата клинички индикатора, која покажа само задоволителен резултат за хирзутизмот (AUC-ROC = 0,733) и добар резултат за времетраењето на менструалниот циклус (AUC-ROC = 0,841).

6.1.2. Анализа на хормоналните параметри кај PCOS

Од базалните хормонски параметри, како показатели на интризичниот хормонален дисбаланс кај полицистичниот оваријален синдром беа одредени базалните нивоа на фоликулостимулирачки хормон (FSH), лутеинизирачки хормон (LH), естрадиол (E2), вкупен тестостерон (T), андростенедион (A), дехидроепиандростерон сулфат (DHEA-s), секс-хормон врзувачки глобулин (SHBG) и пролактин (PRL), а беше калкулиран LH/FSH-односот и слободниот андроген индекс (FAI) според формулата [(вкупен тестостерон/секс-хормон врзувачки глобулин)*100] за сите испитанички. Споредбата помеѓу базалните хормонски параметри кои беа одредувани кај групите е прикажана во табела 8.

Табела 8. Споредба на базалните хормонски параметри во групите

Варијабла	PCOS (n = 60)	Контрола (n = 31)	p ² -вредност
FSH (mU/ml)	5,74 ± 1,98	6,50 ± 1,47	0,118 ^a
LH (mU/ml)	11,08 (1,65-53,17)	4,15 (1,00-13,39)	< 0,001 ^{б,•}
LH/FSH	1,77 (0,37-5,92)	0,71 ± 0,25	< 0,001 ^{б,•}
E2 (pg/ml)	56,37 (27,05-340)	42,60 ± 10,35	0,050 ^б
PRL (ng/ml)	12,95 ± 5,94	13,27 ± 5,36	0,952 ^a
T (nmol/l)	2,19 ± 0,70	0,85 (0,69-2,16)	< 0,001 ^{б,•}
SHBG (nmol/l)	40,91 (7,26-139,80)	61,29 ± 29,42	< 0,001 ^{б,•}
FAI	5,37 (1,01-44,08)	1,47 (0,63-6,99)	< 0,001 ^{б,•}
DHEA-s (µmol/l)	9,14 ± 2,84	6,09 ± 2,54	< 0,001 ^{а,•}
A (ng/ml)	3,1 (0,55-10,00)	2,27 (1,3-6,1)	< 0,001 ^{б,•}

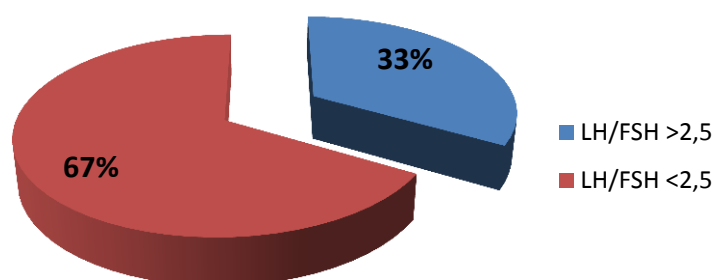
^a параметриски t-test за независни примероци; ^б непараметриски Mann-Whitney U-тест

* нормално дистрибуираните податоци се претставени како средна вредност ± стандардна девијација, а непараметриски дистрибуираните податоци се претставени како медијана (минимум - максимум)

• статистички сигнификантно

Постоеше статистички високо сигнификантна разлика помеѓу групите во одредените плазматски концентрации на лутеинизиращки хормон ($Z = -5,937$; $p < 0,001$), вкупен тестостерон ($Z = -6,164$; $p < 0,001$), дехидроепиандростерон сулфат ($t = 5,077$; $p < 0,001$) и андростенедион ($Z = -3,232$; $p < 0,001$), со утврдени повисоки плазматски концентрации на одредените хормони во групата на пациентки со полицистичен оваријален синдром. Вредностите на естрадиол беа исто така повисоки во групата со полицистичен оваријален синдром ($Z = -1,962$; $p = 0,05$) но оваа опсервирана разлика не достигна статистичка сигнификантност, иако вредноста на p беше гранична за сигнификантност. Вредностите за одредената плазматска концентрација на секс-хормон врзувачкиот глобулин беа пониски во групата со PCOS наспроти контролната група и оваа разлика беше анализирана како статистички високо сигнификантна ($Z = -3,543$; $p < 0,001$). Опсервирани беа статистички сигнификантно повисоки вредности за калкулираните LH/FSH ($Z = -6,641$; $p < 0,001$) и FAI ($Z = -5,966$; $p < 0,001$) индекси во групата со полицистичен оваријален синдром, наспроти пониски утврдени вредности во контролната група. Не беше утврдена статистички сигнификантна разлика помеѓу вредностите на измерени плазматски концентрации на фоликулостимулиращки хормон ($t = -1,580$; $p = 0,118$) и вредностите на пролактин ($t = -0,06$; $p = 0,952$) помеѓу групите.

Кај 30 % ($n = 20$) од испитаничките со полицистичен оваријален синдром беше утврдена вредност на LH/FSH-индексот $> 2,5$, додека во контролната група ваква LH/FSH-инверзија не беше детектирана (графикон 5). Сите испитанички од контролната група имаа вредности за LH/FSH-индексот помали од 2,5.

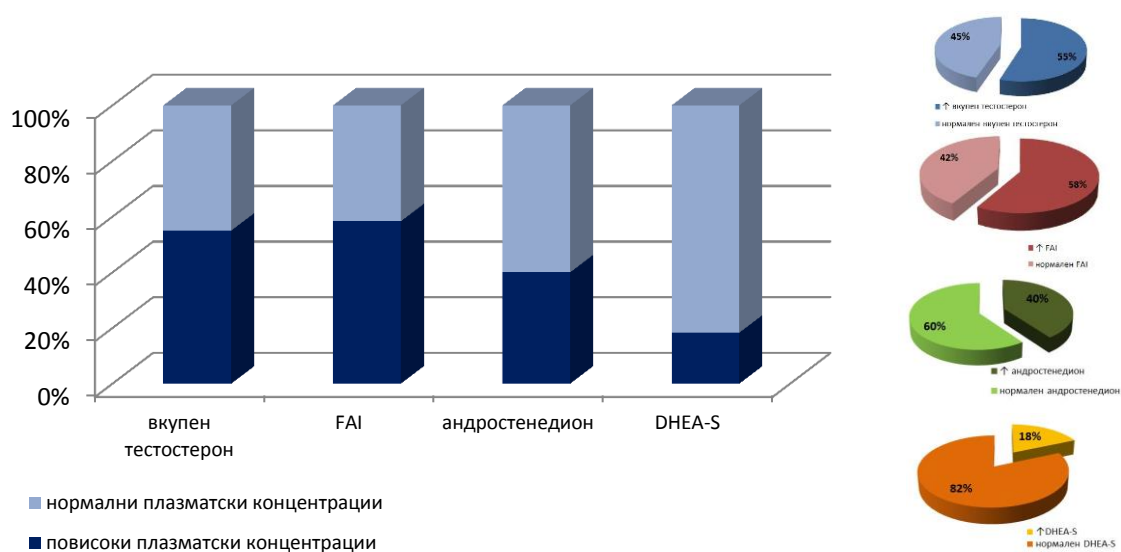


Графикон 5. Застапеност на инверзен LH/FSH однос во групата со PCOS

Од аспект на хиперандрогенизмот беше направена поданлиза на вредностите на вкупен тестостерон, слободен андроген индекс (FAI), андростенедион и

дехидроепиандростерон сулфат (DHEA-S) во групата со полицистичен оваријален синдром. Резултатите од поданализата на андрогенте во групата се претставени на графикон 6.

Во целата група, највисока дистрибуција на фреквенции повисоки од референтните вредности имаше кај слободниот андроген индекс, кој беше покачен кај 58 % од пациентките, наспроти 42 % со нормален FAI, потоа кај вкупниот тестостерон, со утврдени повисоки плазматски концентрации кај 55 % од пациентките, наспроти 45 % со нормални плазматски концентрации на хормонот. Андростенедионот и дехидроепиандростерон сулфатот не покажаа толку висока дистрибуција на фреквенции повисоки од референтните во PCOS-групата, кај 40 % од пациентките беа одредени повисоки вредности за андростенедионот и кај 18 % од пациентките беа утврдени повисоки плазматски концентрации за DHEA-S.



Графикон 6. Застапеност на високи наспроти нормални концентрации на андрогени во групата со PCOS

6.1.3. Анализа на метаболните параметри кај PCOS

Од метаболните параметри беа анализирани нивото на базална серумска гликемија и инсулинемија помеѓу групите, како и липидниот статус кој вклучуваше одредување серумски вредности на вкупен холестерол (HOL), триглицериди (TG), HDL-холестерол (HDL) и LDL-холестерол (LDL). И за групата со полицистичен оваријален

синдром и за контролната група беше калкулирана вредноста на хомеостатскиот модел како индекс на инсулинска резистенција (НОМА-IR), како и вредноста на квантитативниот индекс на инсулинска сензитивност (QUICKI). Споредбата на метаболните параметри помеѓу групите е дадена на табела 9.

Табела 9. Споредба на метаболни параметри во групите

Варијабла	PCOS (n = 60)	Контрола (n = 31)	p-вредност
Базален инсулин ($\mu\text{U/ml}$)	15,68 \pm 17,51 (3,06-123,4)	7,69 \pm 5,08 (2-24)	< 0,001 ^{6,*}
Базална гликемија (mmol/l)	5,39 \pm 1,63 (3-14)	4,98 \pm 0,49 (3,7-5,8)	0,374 ⁶
HOL (mmol/l)	4,34 \pm 0,96 (2,44-6,9)	4,37 \pm 0,69 (3,14-5,6)	0,882 ^a
TG (mmol/l)	1,32 \pm 0,98 (0,4-6,68)	0,75 \pm 0,21 (0,38-1,30)	0,002 ^{a,*}
HDL (mmol/l)	1,23 \pm 0,47 (0,5-2,5)	1,41 \pm 0,27 (0,87-1,94)	0,059 ^a
LDL (mmol/l)	2,64 \pm 0,79 (1,06-4,49)	2,63 \pm 0,65 (1,47-3,90)	0,745 ^a
НОМА-IR	4,19 \pm 6,8 (0,63-47,17)	1,74 \pm 1,25 (0,42-6,21)	< 0,001 ^{6,*}
QUICKI	0,25 \pm 0,47 (0,14-0,38)	0,29 \pm 0,60 (0,13-0,45)	0,002 ^{a,*}

^a параметриски *t*-test за независни примероци; ⁶ непараметриски Mann-Whitney U-тест

*податоците се претставени како средна вредност \pm стандардна девијација (минимум-максимум)

•статистички сигнификантно

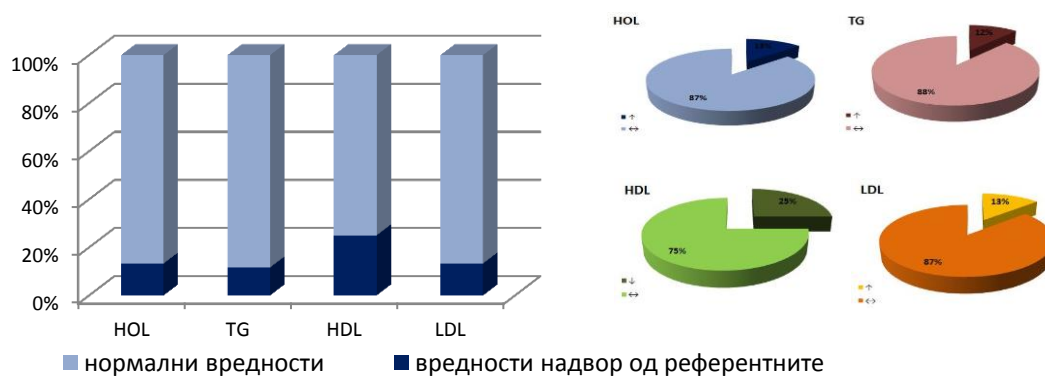
На ниво на целата група со полицистичен оваријален синдром беа добиени сигнификантно повисоки вредности на базалниот инсулин во споредба со вредностите на базален инсулин во контролната група ($Z = -3,601$; $p < 0,001$), додека вредностите на базална гликемија беа споредбени во двете групи и анализата на вредностите на базална гликемија не покажа статистички сигнификантна разлика помеѓу групите ($Z = -0,890$; $p = 0,374$).¹

Компарираниите серумски вредности на липидните фракции за вкупен холестерол ($t = -0,149$; $p = 0,882$), HDL-холестерол ($t = -1,914$; $p = 0,059$) и LDL-холестерол ($t = 0,326$; $p = 0,745$) не покажаа статистички сигнификантни разлики во опсервираните вредности помеѓу групата со PCOS и контролната група. Од липидните фракции, единствено

¹ Подетална анализа на базалните и стимулирани вредности на инсулинемија и гликемија добиени во тек на оралниот глюкоза толеранс тест е направена на ниво на целата група од 108 испитанички со PCOS и контролната група е дадена во поглавието 6.2.3.

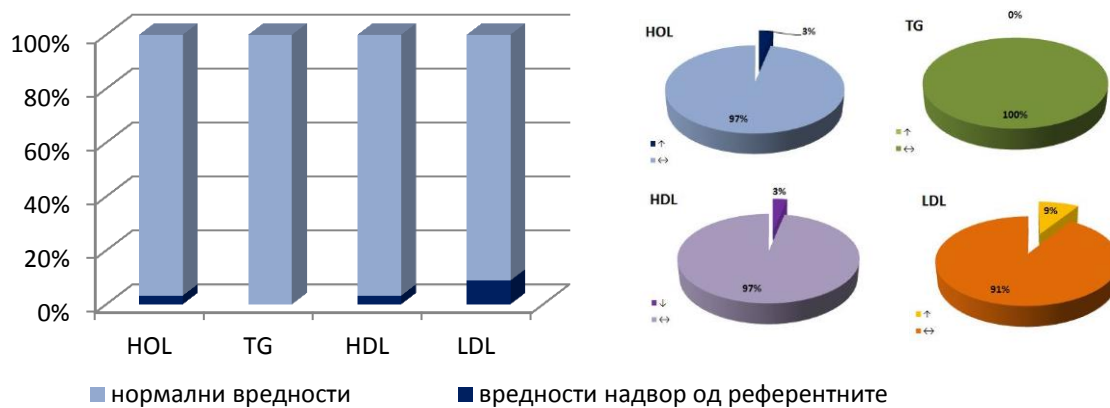
нивото на триглицеридите беше повисоко во групата со полицистичен оваријален синдром, наспроти нивоата измерени во контролната група ($t = -3,225$; $p = 0,002$).

Анализата на регистрирани повисоки вредности на липидните параметри покажа дека во групата со полицистичен оваријален синдром (графикон 7), кај 13 % од испитаничките определените серумски концентрации на вкупниот холестерол беа повисоки од референтните, во истата група кај 12 % имаше измерени покачени вредности на триглицериди, пониски вредности на HDL-холестерол беа оосервирани кај 25 % од пациентките, а кај 13 % имаше покачени вредности на LDL-холестерол.



Графикон 7. Процентуална застапеност на абнормални липидни фракции во групата со PCOS

Наспроти ова, во контролната група (графикон 8) кај 3 % од испитаничките, определените серумски концентрации на вкупниот холестерол беа повисоки од референтните, во групата немаше измерени покачени вредности на триглицериди, пониски вредности на HDL-холестерол беа опсервирани кај 3 % од пациентките, а кај 9 % имаше покачени вредности на LDL-холестерол.



Графикон 8. Процентуална застапеност на абнормални липидни фракции во контролната група

Разликата во процентуалната застапеност на абнормални липидни фракции беше анализирана помеѓу групите (табела 10). Не се утврди сигнификантна разлика во застапеноста на повисоки плазматски концентрации на слободен холестерол и LDL-холестерол помеѓу групите. Во групата со полицистичен оваријален синдром имаше статистички сигнификантно поголем процент на испитанички со покачени серумски концентрации на триглицериди ($\chi^2 = 0,047$; $p = 0,047$), како и поголем процент на пациентки со пониска вредност на HDL-холестерол ($\chi^2 = 0,427$; $p = 0,513$).

Табела 10. Споредба на процентуална застапеност на абнормални липидни фракции помеѓу групите

Варијабла	PCOS (n = 60)	Контрола (n = 31)	χ^2 -тест ^a	p- вредност	(S/NS)
Покачен вкупен холестерол	13 %	3 %	2,343	0,125	NS
Покачени триглицериди	12 %	0 %	0,047	0,047	S
Понизок HDL-холестерол	25 %	3 %	6,687	0,009	S
Повисок LDL-холестерол	12 %	9 %	0,427	0,513	NS

^a Pearson Chi-square (χ^2 -тест); **S** - сигнификантно; **NS** - несигнификантно

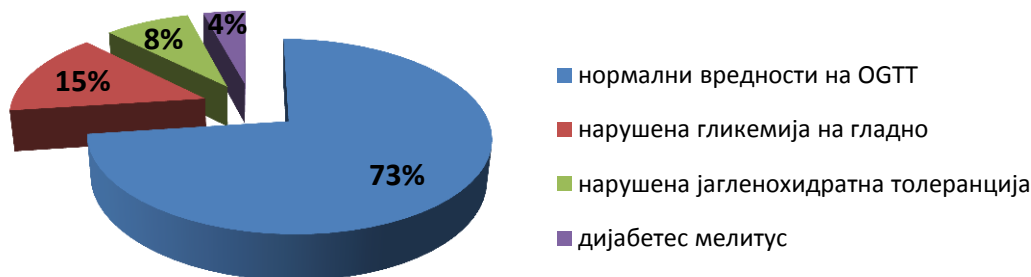
Кај 7 % од пациентките со полицистичен синдром имаше класичен тријас на дислипидемија, со покачени триглицериди и LDL-холестерол и ниски вредности на HDL-холестеролот (графикон 9).



Графикон 9. Класичен атероген тријас (↑TG, ↑LDL, ↓HDL) кај 7 % од пациентките

Индексите за инсулинска резистенција (HOMA-IR) и инсулинска сензитивност (QUICKI) покажаа статистички високо сигнификантни разлики во добиените вредности помеѓу групите, со наод на повисоки вредности на HOMA-IR во групата на жени со полицистичен оваријален синдром ($Z = -3,537$; $p < 0,001$) и пониски калкулирани вредности за QUICKI во истата група ($t = -3,138$; $p = 0,002$), што укажува на присуство на зголемена инсулинска резистенција и намалена инсулинска сензитивност кај испитуваната група на жени со полицистичен оваријален синдром (табела 9). Хиперинсулинемија беше утврдена кај 50,8 % од пациентките, додека 49,2 % имаа нормоинсулинемија.

Со анализа на вредностите добиени во тек на оралниот гликоза толеранс тест, во групата со PCOS докажавме присуство на нарушена гликемија на гладно кај 15 % од пациентките, нарушена јаглехидратна толеранција кај 8 % од испитаничките, а кај 4 % беше дијагностициран дијабетес мелитус. Нормални вредности на гликемија во тек на оралниот гликоза толеранс тест имаше кај 73 % од пациентките со полицистичен оваријален синдром (графикон 10).



Графикон 10. Застапеност на различни степени на нарушен гликозен метаболизам во групата со PCOS

6.1.4. Сензитивност и специфичност на антимилеријановиот хормон (AMH)

Со цел да се истражи дијагностичкиот потенцијал на антимилеријановиот хормон (AMH) како маркер во дијагнозата на полицистичниот оваријален синдром, беа направени анализи на вредностите на AMH во групата со PCOS и во контролната група, анализа на разликите на одредените серумски вредности на AMH помеѓу групите, како и анализа на дијагностичкиот потенцијал на AMH преку одредување на ROC-крива и калкулирање на областа под кривата (AUC).

Во групата со полицистичен оваријален синдром, вредностите на AMH беа повисоки отколку вредностите на AMH во контролната група и оваа разлика беше анализирана како високо статистички значајна ($Z = -7,177$; $p < 0,001$). Во групата со полицистичен оваријален синдром, средната вредност на AMH беше $13,32 \pm 6,96$ ng/ml, и медијана од $12,55$ ng/ml, наспроти многу пониски вредности на AMH во контролната група, каде што средната вредност на AMH изнесуваше $2,95 \pm 1,73$ ng/ml со медијана од $2,5$ ng/ml. Резултатите од статистичката анализа на разликите во вредноста на AMH во групата со полицистичен оваријален синдром наспроти вредностите на AMH во контролантата група се дадени во табела 11.

Табела 11. Споредба на вредностите на AMH во групите

Варијабла	PCOS (n = 60)	Контрола (n = 31)	р-вредност
AMH (ng/ml)	$13,32 \pm 6,96$	$2,95 \pm 1,73$	$< 0,001^{a,*}$
медијана (мин.-максимум)	12,55 (2,62-25,00)	2,5 (0,67-8,45)	

^a непараметриски Mann-Whitney U-тест

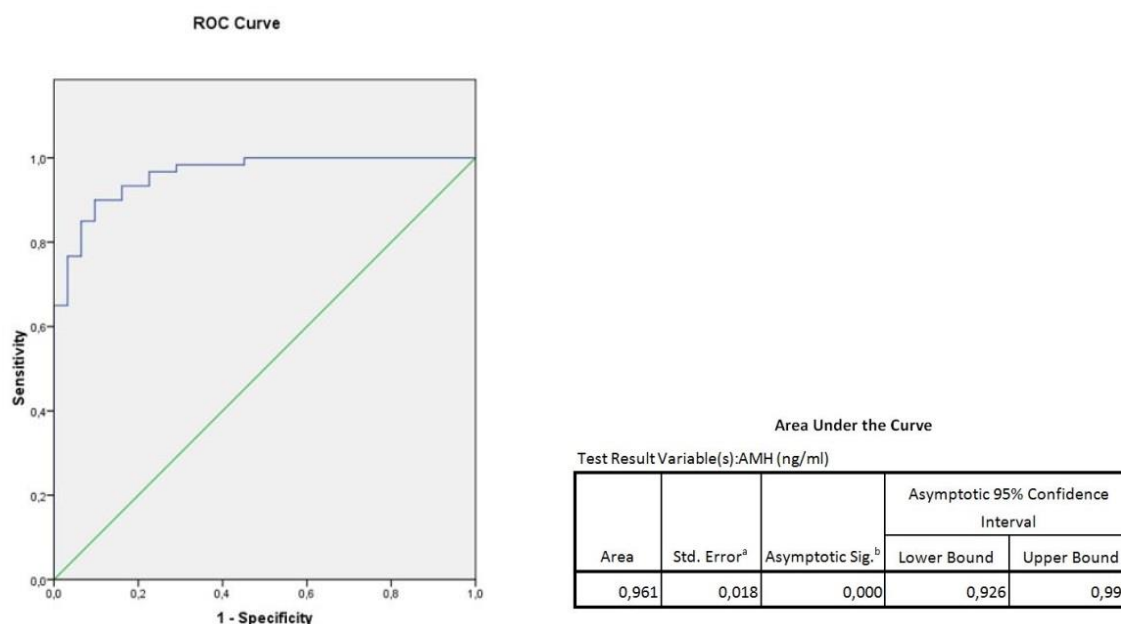
*податоците се претставени како средна вредност \pm стандардна девијација, медијана (минимум-максимум)

•статистички сигнификантно

Кај пациентките со полицистичен оваријален синдром, дури кај 81,9 % од пациентките беа утврдени 2 пати повисоки вредности на AMH, а кај 35 % вредностите на AMH беа тројно повисоки. Исто така беше утврдено дека кај сите (освен две) испитанички во контролната група измерените серумски концентрации на AMH беа пониски од референтните дадени од лабораторијата. Со пониски измерени вредности на антимилеријановиот хормон беа 93,5 % ($n = 29$) од испитаничките во контролната

група, а само кај две (6,5 %), вредноста на АМН беше во референтните предложени од лабораторијата.

За да се утврди сензитивноста и специфичноста на антимилеријановиот хормон во дијагноза на PCOS беше направена ROC-крива и беа анализирани вредностите на областа под кривата AUC-ROC, за секоја поединечна вредност на АМН (графикон 11). Вредноста на AUC-ROC за АМН изнесуваше 0,961 (95 % CI 0,926-0,996), што го класифицираше дијагностичкиот потенцијал АМН како одличен во дефинирањето на пациентките со полицистичен оваријален синдром.



Графикон 11. ROC-крива и AUC-ROC-вредност за дијагностичкиот потенцијал на АМН во дијагноза на PCOS

Поданализата на поединечните координати на ROC-кривата ги издвои вредностите на АМН од 4,7 ng/ml до 5,1 ng/ml како добри пресечни вредности. Доколку ја земеме вредноста за АМН од 4,7 ng/ml како пресечна, добиваме висока сензитивност и специфичност на методот, со сензитивност од 90,0 % и специфичност од 90,3 %, позитивна предиктивна вредност од 94,7 % и негативна предиктивна вредност од 82,4 % (табела 12).

Табела 12. Сензитивност и специфичност при вредност на АМН од 4,7 ng/ml

АМН 4,7 ng/ml	PCOS	контрола
позитивни	90,0 % (n = 54)	9,7 % (n = 3)
негативни	10,0 % (n = 6)	90,3 % (n = 28)

Статистика	вредност	95% CI
Сензитивност	90,00 %	79,49 % до 96,24 %
Специфичност	90,32 %	74,25 % до 97,96 %
Позитивен однос на веројатност	9,30	3,16 до 27,35
Негативен однос на веројатност	0,11	0,05 до 0,24
Преваленција	65,93 %	55,25 % до 75,55 %
Позитивна предиктивна вредност	94,74 %	85,96 % до 98,15 %
Негативна предиктивна вредност	82,35 %	68,41 % до 90,96 %

Доколку ја земеме вредноста за АМН од 5,0 ng/ml како пресечна добиваме нешто пониска сензитивност на методот од 85,0 %, со висока специфичност од 93,5 %, со позитивна предиктивна вредност од 96,2 % и пониска негативна предиктивна вредност од 76,3 % (табела 13).

Табела 13. Сензитивност и специфичност при вредност на АМН од 5,0 ng/ml

АМН 5,0 ng/ml	PCOS	контрола
позитивни	85,0 % (n = 51)	6,5 % (n = 2)
негативни	15,0 % (n = 9)	93,5 % (n = 29)

Статистика	вредност	95% CI
Сензитивност	85,00 %	73,43 % до 92,90 %
Специфичност	93,55 %	78,58 % до 99,21 %
Позитивен однос на веројатност	13,17	3,43 до 50,55
Негативен однос на веројатност	0,16	0,09 до 0,29
Преваленција	65,93 %	55,25 % до 75,55 %
Позитивна предиктивна вредност	96,23 %	86,92 % до 98,99 %
Негативна предиктивна вредност	76,32 %	63,66 % до 85,56 %

Бидејќи ни беше потребен тест со висока сензитивност и специфичност, ја утврдивме вредноста на АМН од 4,7 ng/ml како оптимална пресечна вредност.

Беше направена поданализа на вредноста на АМН кај различните фенотипови на PCOS. Највисоки вредности на АМН имаше кај фенотипот А, со утврдени средни

вредности за АМН од $14,23 \pm 7,05$ ng/ml, потоа кај фенотипот В со утврдени средни вредности за АМН од $13,04 \pm 8,56$ ng/ml. Средните вредности на АМН кај фенотипот D беа $12,68 \pm 5,71$ ng/ml, а најниска средна вредност на АМН ($11,78 \pm 7,07$ ng/ml) беше утврдена кај фенотипот С (нормоовулаторен PCOS). Анализираниите податоци се дадени на табела 14. Статистичката анализа на разлики во вредноста на АМН кај различни фенотипови на PCOS не покажа статистички сигнификантна разлика помеѓу групите ($F = 0,386$; $p = 0,763$). Поданализата на вредностите на АМН во различните возрастни групи ($F = 0,212$; $p = 0,809$) и различните BMI ($F = 2,745$; $p = 0,073$) во рамки на PCOS-групата исто така не покажа статистички сигнификантни разлики во вредностите на АМН помеѓу овие подгрупи. Вредностите на АМН во групата на пациентки со нормален BMI беа повисоки ($15,57 \pm 7,03$ ng/ml) наспроти вредностите на АМН во групата на натхранети ($11,30 \pm 6,24$ ng/ml) и обезни пациентки ($11,48 \pm 6,47$ ng/ml), но без статистичка сигнификантност ($p = 0,073$).

Табела 14. Вредност на АМН кај различни фенотипови на PCOS

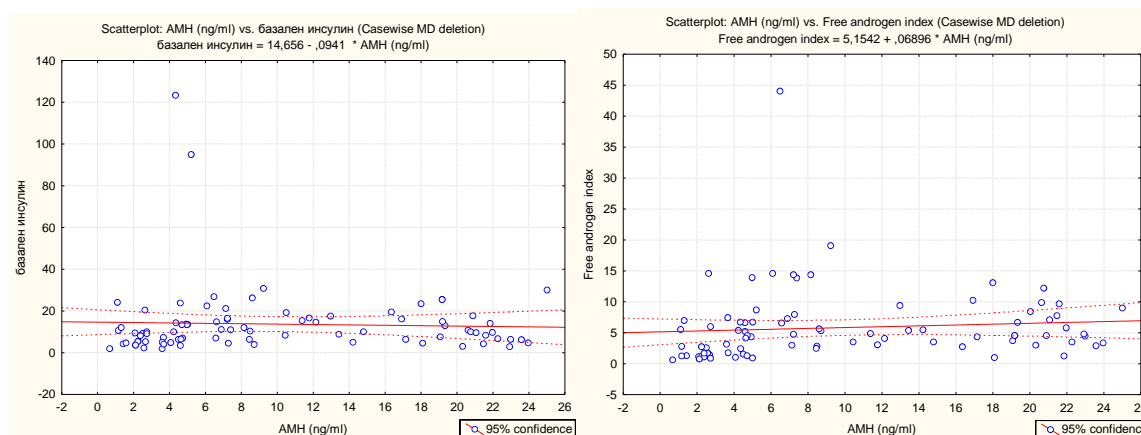
фенотип	ОА	НА	PCO	АМН	тестирана разлика ^a
A	+	+	+	$14,23 \pm 7,05$	$F = 0,386$; $p = 0,763$
B	+	+	-	$13,04 \pm 8,56$	
C	-	+	+	$11,78 \pm 7,07$	
D	+	-	+	$12,68 \pm 5,71$	

ОА олиго/ановулација; **НА** хиперандрогенизам; **PCO** полцистичен овариум на ултрасонографија

^a еднонасочна анализа на варијанси (one-way ANOVA-тест)

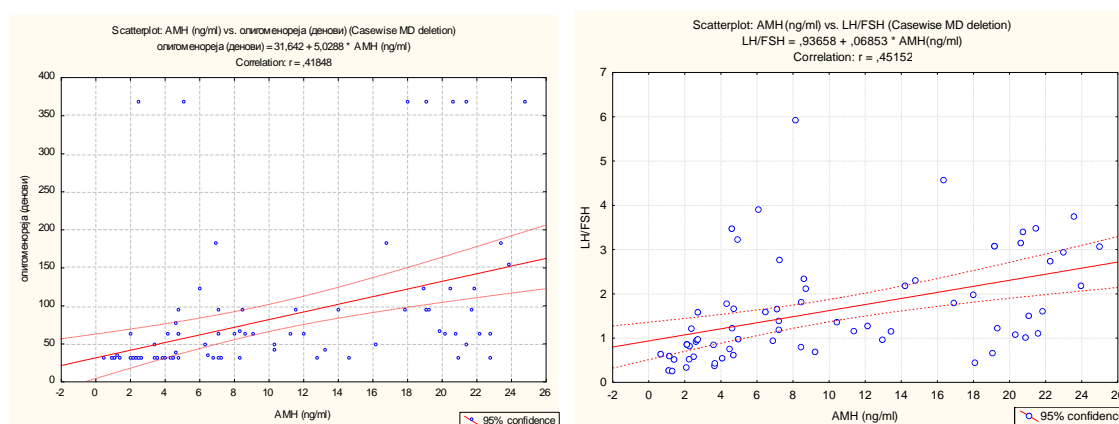
Со цел да се одреди поврзаноста и насоката на поврзаност на антимиљеријановиот хормон со другите индикатори во дијагнозата на PCOS, направивме непараметриска корелација (Spearman r_s) помеѓу вредноста на АМН и останатите маркери на PCOS. Се утврди постоење на позитивна корелација помеѓу АМН и времетраењето на менструалниот циклус во денови ($r_s = 0,4432$; $p < 0,001$), вредностите на LH ($r_s = 0,2796$; $p = 0,025$), LH/FSH-односот ($r_s = 0,4515$; $p < 0,001$), вредностите на вкупен тестостерон ($r_s = 0,2558$; $p = 0,034$), и вредностите на слободниот андроген индекс ($r_s = 0,279$; $p = 0,034$), како и постоењето на негативна корелација на вредностите на АМН со вредностите на FSH ($r_s = -0,3041$; $p = 0,011$). Од маркерите за инсулинска резистенција АМН покажа

негативна корелација со вредностите на базалниот инсулин ($r_s = -0,277$; $p = 0,034$). Корелацијата на AMH со FAI и базалниот инсулин е прикажана на графикон 12.



Графикон 12. Корелација на AMH со базална инсулинемија и FAI

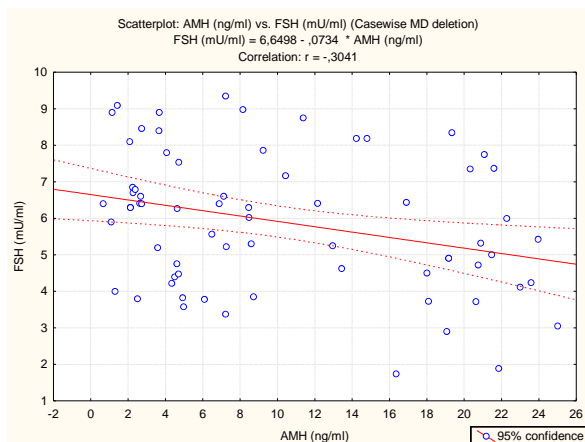
Поврзаноста на AMH со времетраењето на менструалниот циклус и LH/FSH-односот покажаа силна позитивна корелација (графикон 13). Овој тип на директна или позитивна корелација покажува дека со зголемување на времетраењето на менструалниот циклус се зголемува и AMH, и обратно, пократко времетраење на менструалниот циклус е асоцирано со пониски вредности на AMH, како и дека со зголемување на LH/FSH-односот се зголемува вредноста на AMH и обратно, со намалување на LH/FSH-односот и вредноста на AMH се намалува.



Графикон 13. Силни позитивни корелации на AMH со времетраење на менструален циклус и со LH/FSH-однос

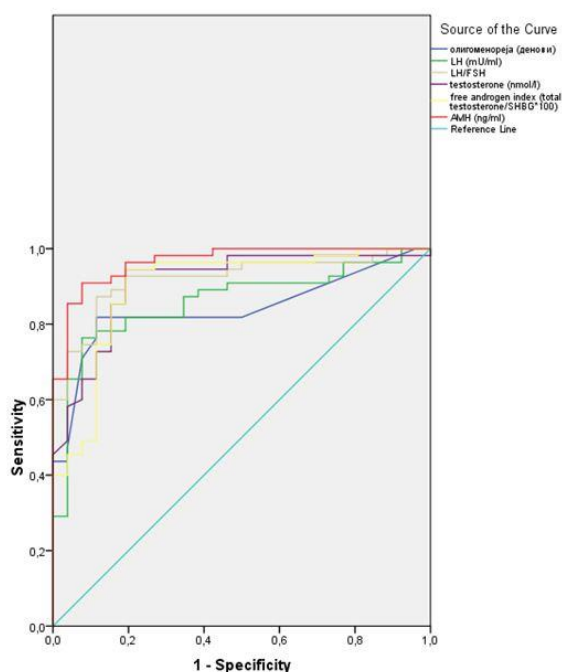
Постоењето на негативна корелација на вредностите на AMH со вредностите на FSH е прикажано на графикон 14. Овој тип на директна негативна корелација покажува

дека со зголемување на вредноста на FSH се намалуваат вредностите на AMH, и обратно, пониски вредности на AMH се асоцирани со повисоки вредности на FSH.



Графикон 14. Негативна корелација на AMH со FSH

За сите параметри за кои утврдивме дека позитивно корелираат со AMH, направивме анализа на нивниот дијагностички потенцијал во детерминирање на пациентките со дијагноза на PCOS. Поединечните вредности на AUC-ROC за секој од испитуваните параметри се прикажани на графикон 15. Се потврди претходната опсервација дека во споредба со останатите испитувани параметри, AMH има највисок дијагностички потенцијал (AUC-ROC = 0,96).



Area Under the Curve	
Test Result Variable(s)	Area
олигоменореја (денови)	0,841
LH (mU/ml)	0,859
LH/FSH	0,920
testosterone (nmol/l)	0,899
free androgen index	0,910
AMH (ng/ml)	0,966

Графикон 15. ROC-криви и AUC-ROC-вредности за дијагностичкиот потенцијал на испитуваните варијабли во дијагноза на PCOS

6.2. Индекси на инсулинска резистенција кај полицистичен оваријален синдром

За анализа на индексите на инсулинска резистенција кај полицистичниот оваријален синдром беа анализирани вкупно 156 испитанички, од кои 76 жени со хиперинсулинемичен полицистичен оваријален синдром на средна возраст од $24,21 \pm 6,34$ години, со хронолошка возраст од 16 до 40 години и 80 жени со нормоинсулинемија (од нив 48 здрави испитанички и 32 испитанички со нормоинсулинемичен полицистичен оваријален синдром) на средна возраст од $25,51 \pm 5,98$ години, со хронолошка возраст од 17 до 43 години. На табела 15 е прикажана статистичката анализа на разлики во возраста помеѓу групите, која не покажа статистички сигнификантни разлики во возраста помеѓу жените со хиперинсулинемија во склоп на полицистичен оваријален синдром и жените со нормални базални и стимулирани вредности на инсулинемија ($Z = -1,348$; $p = 0,178$).

Табела 15. Несигнификантна разлика на возраста во групите

Варијабла	Хиперинсулинемија (n = 76)	Нормоинсулинемија (n = 80)	P- вредност
Возраст (години)	$24,21 \pm 6,34$ (16-40)	$25,51 \pm 5,98$ (17-43)	0,178 ^б

^б непараметриски Mann-Whitney U-тест

*податоците се претставени како средна вредност \pm стандардна девијација (минимум-максимум)

Кај сите испитанички беа иследени базалните клинички хормонални и антропометриски параметри, со посебен осврт на метаболните параметри добиени во тек на оралниот глукоза толеранс тест (OGTT). Испитаничките со полицистичен оваријален синдром беа поделени во две подгрупи: PCOS HI, група со докажана базална и/или стимулирана хиперинсулинемија во тек на оралниот гликоза толеранс тест (n = 76) и PCOS NI, група жени со полицистичен оваријален синдром со нормални вредности на базална и стимулирана инсулинемија во тек на оралниот гликоза толеранс тест (n = 32). Контролната група ја сочинуваа нормоовулаторни нехирзутни жени кај кои немаше клинички и хормонални позитивни показатели за PCOS и кај кои беа утврдени нормални вредности на базална и стимулирана инсулинемија во тек на оралниот гликоза толеранс тест (n = 48).

6.2.1. Анализа на антропометриските параметри во групите

Од антропометриските параметри беа анализирани индексот на телесна маса (BMI), обем на струк, обем на колкови и односот струк/колк. Мерките на централна тенденција и статистичките анализи за постоење на статистички сигнификантна разлика во антропометриските показатели помеѓу групата се дадени на табела 16.

Табела 16. Споредба на клинички и антропометриски параметри во групите

Варијабла	Хиперинсулинемија (n = 76)	Нормоинсулинемија (n = 80)	P-вредност
BMI (kg/m²)	29,72 ± 6,91 (19,94-48,08)	24,33 ± 4,86 (17,78-39,74)	< 0,001 ^{6,*}
Обем на струк (cm)	92,14 ± 14,86 (65,5-123,0)	83,33 ± 15,64 (60,0-124,0)	0,007 ^{6,*}
Обем на колкови (cm)	110,82 ± 16,51 (78,0-167,0)	101,72 ± 11,89 (80,5-129,0)	0,004 ^{6,*}
Однос струк/колк	0,83 ± 0,08 (0,71-1,05)	0,81 ± 0,076 (0,67-0,97)	0,423 ⁶

⁶ непараметриски Mann-Whitney U-тест

*податоците се претставени како средна вредност ± стандардна девијација (минимум-максимум)

•статистички сигнификантно

Тестирани разлики ^a				
	BMI (kg/m ²)	обем на струк (cm)	обем на колкови (cm)	однос струк/колк
Mann-Whitney U	1318,000	677,500	636,500	890,000
Z	-4,698)	-2,699)	-2,873)	-,801)
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,000	0,007	0,004	0,423
a. Групирачка варијабла: хиперинсулинемија/нормоинсулинемија				

Статистичката анализа на индексот на телесна маса откри високо статистички сигнификантна разлика во вредностите на BMI помеѓу групите (Z = -4,698; p < 0,001). Групата со хиперинсулинемија имаше средна вредност на BMI од 29,72 ± 6,91 kg/m² наспроти групата со нормоинсулинемија во која беше регистрирана пониска средна вредност на BMI од 24,33 ± 4,86 kg/m². Ова ја водеше понатамошната анализа во потребата да се поделат групите спрема различните вредности на индекс на телесна маса, со цел да се одредат поспецифичните разлики во застапеност на различни индекси на телесна маса помеѓу групите. Поданализата на BMI во групите со хиперинсулинемичен PCOS, нормоинсулинемичен PCOS и контролната група е дадена

на табела 17. Анализа за статистичка сигнификантност помеѓу групите беше направена со еднонасочна анализа на варијанси (ANOVA-тест).

Табела 17. Споредба на индексот на телесна маса во групите

Варијабла	PCOS HI (n = 76)	PCOS NI (n = 32)	Контрола (n = 48)	p
BMI (kg/m²)	29,72 ± 6,91 (19,94-48,08)	24,19 ± 5,06 (17,78-39,74)	24,42 ± 4,77 (18,51-35,99)	< 0,001 ^{a,*}

^a еднонасочна анализа на варијанси (one-way ANOVA-тест)

* податоците се претставени како средна вредност ± стандардна девијација (минимум-максимум)

• статистички сигнификантно

Постоеше статистички сигнификантна разлика помеѓу групите, детерминирана со ANOVA ($F = 14,691$; $p < 0,001$). Поданализата на разликите меѓу групите со тестот *post-hoc* Sheffe покажа дека највисок BMI има во PCOS HI-групата и оваа вредност е статистички сигнификантно повисока и во споредба со вредноста на BMI во PCOS NI-групата ($p < 0,001$) и во споредба со вредноста на BMI во контролната група ($p < 0,001$). Не беше утврдена статистички сигнификантна разлика во вредностите на BMI помеѓу PCOS NI и контролната група ($p = 0,986$).

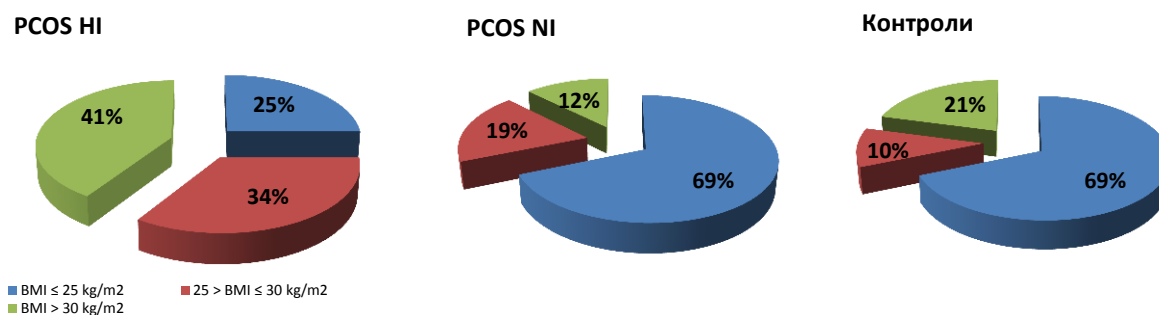
Подеталната анализа на индексот на телесна маса во PCOS HI-групата покажа дека само 25 % од испитаничките се со нормален индекс на телесна маса ($BMI \leq 25 \text{ kg/m}^2$), 34,22 % имаат вредност на BMI помеѓу 25 и 30 kg/m^2 , а обезни со $BMI > 30 \text{ kg/m}^2$ се 40,78 % проценти од пациентките со хиперинсулинемичен PCOS. Наспроти ова, нормална вредност на индекс на телесна маса имаше кај 68,75 % од пациентките со нормоинсулинемичен PCOS, вредност на BMI помеѓу 25 и 30 kg/m^2 имаше кај 18,75 %, а обезни беа 12,5 % од испитаничките. Во контролната група нормален BMI имаа 72,92 % испитанички, BMI помеѓу 25 и 30 kg/m^2 имаа 10,42 % од испитаничките, а обезни беа 20,84 % (табела 18, графикон 16).

Табела 18: Застапеност на различни индекси на телесна маса помеѓу групите

BMI	PCOS HI (n = 76)	PCOS NI (n = 32)	Контрола (n = 48)
BMI ≤ 25 kg/m ²	19 (25 %)	22 (68,75 %)	35 (72,92 %)
BMI >25 и ≤ 30 kg/m ²	26 (34,22 %)	6 (18,75 %)	5 (10,42 %)
BMI >30 kg/m ²	31 (40,78 %)	4 (12,50 %)	10 (20,84 %)

* податоците се претставени како број на обсервирани фреквенции (процент на застапеност во групата)

Највисок процент на обезни пациентки имаше во групата со PCOS HI. Дистрибуцијата на фреквенции во оваа група беше статистички сигнификантно значајна во споредба со PCOS NI-групата ($\chi^2 = 15,2967$; $p = 0,000477$) и во споредба со контролната група ($\chi^2 = 17,292$; $p = 0,000176$). Не се утврди статистички сигнификантна разлика во дистрибуцијата на фреквенции помеѓу групата со нормоинсулинемичен PCOS и контролната група ($\chi^2 = 1,1424$; $p = 0,564845$).

**Графикон 16. Процентуална застапеност на различни индекси на телесна маса во групите**

Анализата на односот струк/колк не покажа статистички сигнификантна разлика помеѓу групите со хиперинсулинемија и групата со нормоинсулинемија. И поданализата на односот струк/колк помеѓу трите групи не покажа статистички сигнификантна разлика (табела 19).

Табела 19. Споредба на однос струк/колк во групите

Варијабла	PCOS NI (n = 76)	PCOS NI (n = 32)	Контрола (n = 48)	p
Однос струк/колк	0,83 ± 0,08 (0,71-1,05)	0,83 ± 0,07 (0,67-0,96)	0,81 ± 0,08 (0,67-0,97)	0,358 ^a

^a еднонасочна анализа на варијанси (one-way ANOVA-тест)

* податоците се претставени како средна вредност ± стандардна девијација (минимум-максимум)

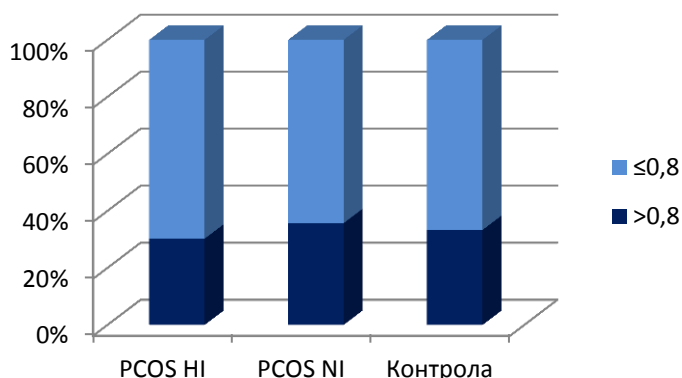
Не постоеше статистички сигнификантна разлика во односот струк/колк помеѓу групите, детерминирана со ANOVA ($F(2,87) = 1,038$; $p < 0,001$). Поданализата на разликите меѓу групите со тестот post-hoc Sheffe покажа дека и покрај тоа што во PCOS NI-вредноста на однос струк/колк е највисока ($0,83 \pm 0,08$), не постои статистички сигнификантна разлика на вредностите во споредба со вредностите за односот струк/колк во PCOS NI-групата ($p = 0,998$) и во споредба со вредноста на обемот струк/колк во контролната група ($p = 0,405$). Не беше утврдена статистички сигнификантна разлика во вредностите на односот струк/колк помеѓу PCOS NI и контролната група ($p = 0,591$).

Кога ја земавме вредноста на однос струк/колк $\leq 0,85$ како референтна за групите, поданализата укажа дека во групата со хиперинсулинемичен полицистичен оваријален синдром има 31,58 % од испитаничките со однос струк/колк повисок од 0,85. Во групата пациентки со нормоинсулинемичен полицистичен оваријален синдром дури 46,87 % од испитаничките се со однос струк/колк $> 0,85$, а во контролната група овој параметар е повисок од 0,85 кај 31,25 % од испитаничките и овие дистрибуции на фреквенции покажаа статистички сигнификантна разлика помеѓу групите ($\chi^2 = 10,302$; $df = 4$; $p = 0,036$) (табела 20, графикон 17).

Табела 20: Застапеност на однос струк/колк $> 0,8$ во групите

Однос струк/колк	PCOS NI (n = 76)	PCOS NI (n = 32)	Контрола (n = 48)
однос струк/колк $> 0,8$	24 (30,3 %)	14 (43,8 %)	16 (33,3 %)
однос струк/колк $\leq 0,8$	52 (69,7 %)	28 (56,3 %)	32 (66,7 %)

* податоците се претставени како број на obserвирани фреквенции (процент на застапеност во групата)



Графикон 17. Процентуална застапеност на однос струк/колк >0,85 во групите

6.2.2. Анализа на хормоналните параметри во групите

Од хормоналните параметри беа анализирани базалните плазматски нивоа на фоликулостимулирачки хормон (FSH), лутеинизирачки хормон (LH), естрадиол (E2), вкупен тестостерон (T), дехидроепиандростерон сулфат (DHEA-s), секс-хормон врзувачки глобулин (SHBG) и пролактин (PRL), а беше калкулиран LH/FSH-односот и слободниот андроген индекс (FAI) за испитаничките. Споредбата помеѓу базалните хормонски параметри кои беа одредувани кај групите, мерките на централна тенденција и статистичките анализи за постоење на интергрупна разлика во хормонските показатели помеѓу групите се дадени на табела 21.

Табела 21. Споредба на базалните хормонски параметри во групите

Варијабла	PCOS HI (n = 76)	PCOS NI (n = 32)	Контрола (n = 48)	p	PCOS HI /PCOS NI ^a	PCOS NI /контрола	PCOS NI /контрола
FSH (mU/ml)	5,35 ± 2,00	6,03 ± 1,93	6,52 ± 2,09	0,015 ^{a,*}	0,292	0,019 [*]	0,603
LH (mU/ml)	10,18 ± 10,54	12,52 ± 7,37	8,42 ± 4,27	0,012 ^{b,*}	0,007 [*]	0,872	0,008 [*]
LH/FSH	1,89 ± 1,27	2,14 ± 1,16	1,34 ± 0,71	0,009 ^{a,*}	0,565	0,057	0,014 [*]
E2 (pg/ml)	71,69 ± 68,55	61,79 ± 37,14	89,68 ± 51,29	0,037 ^b	0,361	0,017 [*]	0,053
PRL (ng/ml)	14,72 ± 6,00	14,14 ± 6,20	17,27 ± 9,64	0,207 ^a	0,932	0,312	0,249
T (nmol/l)	2,52 ± 0,89	2,21 ± 0,59	1,56 ± 0,53	< 0,001 ^{a,*}	0,144	< 0,001 [*]	0,002 [*]
SHBG (nmol/l)	33,26 ± 20,58	47,87 ± 25,46	61,85 ± 25,72	< 0,001 ^{a,*}	0,048 [*]	< 0,001 [*]	0,090
FAI	10,14 ± 8,30	5,55 ± 2,75	3,37 ± 1,68	< 0,001 ^{a,*}	0,004 [*]	< 0,001 [*]	0,318
DHEA-s (μmol/l)	8,59 ± 3,99	9,34 ± 2,21	4,52 ± 2,77	< 0,001 ^{a,*}	0,600	< 0,001 [*]	< 0,001 [*]

^a еднонасочна анализа на варијанси (one-way ANOVA-тест); ^b Kruskal Wallis ANOVA-тест; ^{*} post-hoc Sheffe-тест

*податоците се претставени како средна вредност ± стандардна девијација

•статистички сигнификантно

Фоликулостимулирачки хормон (FSH): Постоеше статистички сигнификантна разлика во плазматските вредности на FSH помеѓу групите, детерминирана со ANOVA ($F = 4,318$; $p = 0,015$). Поданализата на разликите меѓу групите покажа дека најниска средна вредност на FSH ($5,35 \pm 2,00$ mU/ml) има во PCOS HI-групата и оваа вредност е статистички сигнификантно пониска во споредба со средната вредност на FSH ($6,52 \pm 2,09$ mU/ml) во контролната група ($p = 0,019$). Не беше утврдена статистички сигнификантна разлика во вредностите на FSH помеѓу PCOS HI и PCOS NI-групите ($p = 0,292$), ниту статистички сигнификантна разлика во вредноста на FSH помеѓу PCOS NI и контролната група ($p = 0,603$).

Лутеинизирачки хормон (LH): Во однос на вредностите на LH исто така постоеше статистички сигнификантна разлика во средните рангови помеѓу групите детерминирани со Kruskal Wallis ANOVA ($H(2) = 8,852$; $df = 2$; $p = 0,012$). Поданализата на вредностите на LH помеѓу групите покажа дека средниот ранг на LH беше највисок во PCOS NI-групата и постоеше статистички сигнификантна разлика во однос на средниот ранг за вредности на LH во PCOS NI ($90,50$) и во контролната група ($64,89$; $p = 0,008$), а исто така и статистички сигнификантна разлика во однос на средниот ранг за вредностите на LH во PCOS HI-групата ($66,52$; $p = 0,007$). Не се утврди постоење на сигнификантна разлика помеѓу средниот ранг за LH во PCOS HI-групата и контролната група ($66,52$ vs. $64,89$; $p = 0,872$).

LH/FSH-однос: Постоеше статистички сигнификантна разлика во калкулираните вредности на односот LH/FSH помеѓу групите, детерминирана со ANOVA ($F = 4,850$; $p = 0,009$). Поданализата на разликите меѓу групите покажа дека највисока средна вредност на LH/FSH-индексот ($2,14 \pm 1,16$) има во PCOS NI-групата и оваа вредност е статистички сигнификантно повисока во споредба со средната вредност на LH/FSH ($1,34 \pm 0,71$) во контролната група ($p = 0,014$). Не беше утврдена статистички сигнификантна разлика во вредностите на LH/FSH-индексот помеѓу PCOS HI и PCOS NI-групите ($p = 0,565$), ниту статистички сигнификантна разлика во вредноста на LH/FSH-индексот помеѓу PCOS HI и контролната група ($p = 0,057$).

Беше направена поданализа на процентуалната застапеност на повисоки вредности на LH/FSH-односот помеѓу групите (табела 22). Како вредност повисока од очекуваната беше земена вредноста на LH/FSH > 2,5. Највисок процент на LH/FSH-однос повисок од 2,5 имаше во PCOS NI-групата (37,5 %), потоа во PCOS HI-групата (22,4 %), а ваков повисок LH/FSH-однос имаше само кај 6,3 % од контролната група и оваа разлика во дистрибуција на фреквенции беше статистички сигнификантно значајна ($\chi^2 = 23,119$; $df = 4$; $p < 0,001$).

Табела 22: Застапеност на LH/FSH-однос > 2,5 во групите

LH/FSH	PCOS HI (n = 76)	PCOS NI (n = 32)	Контрола (n = 48)
LH/FSH ≤ 2,5	55 (72,4 %)	20 (62,5 %)	34 (70,8 %)
LH/FSH > 2,5	17(22,4 %)	12 (37,5 %)	3 (6,3 %)
нема податок	4 (5,3 %)	0 (0 %)	11(22,9 %)

* податоците се претставени како број на обсервирани фреквенции (процент на застапеност во групата)

Естрадиол (E2): Постоеше статистички сигнификантна разлика во одредените серумски концентрации на естрадиол помеѓу групите ($H(2) = 6,573$; $df = 2$; $p = 0,200$). Поданализата на разликите меѓу групите покажа дека и покрај тоа што во контролната група средните вредности на естрадиол се највисоки ($89,68 \pm 51,29$ pg/ml), наспроти измерените серумски концентрации на естрадиол во PCOS HI ($71,69 \pm 68,55$ pg/ml) и PCOS NI-групата ($61,79 \pm 37,14$ pg/ml), во однос на средниот ранг за вредности на естрадиол, постои статистички сигнификантна разлика на средните рангови помеѓу PCOS HI (51,53) и контролната група (71,80; $p = 0,017$), додека не беше утврдена статистички сигнификантна разлика во однос на средните рангови за вредност на естрадиол помеѓу PCOS NI (57,13) и контролната група ($p = 0,053$) ниту разлика помеѓу PCOS HI и PCOS NI-групите ($p = 0,361$).

Пролактин (PRL): Анализата на серумските концентрации на пролактин (PRL) во групите покажа дека не постои статистички сигнификантна разлика во одредените серумски концентрации помеѓу групите ($F = 1,595$; $p = 0,207$). Поданализата на разликите меѓу групите со post-hoc--тестот покажа дека и покрај тоа што во контролната група вредностите на пролактин се највисоки ($17,27 \pm 9,64$ ng/ml),

наспроти измерените серумски концентрации на PRL во PCOS HI ($14,72 \pm 6,00$ ng/ml) и PCOS NI-групата ($14,14 \pm 6,20$ ng/ml), не постои статистички сигнификантна разлика на вредностите на PRL во контролната група во споредба со вредностите во PCOS HI-групата ($p = 0,312$) и во споредба со измерените вредности на пролактин во PCOS NI-групата ($p = 0,249$). Не беше утврдена статистички сигнификантна разлика во вредностите на пролактин помеѓу PCOS HI и PCOS NI-групата ($p = 0,932$).

Вкупен тестостерон (Т): Постоеше статистички сигнификантна разлика во измерените плазматски вредности на вкупен тестостерон помеѓу групите, ($F = 20,242$; $p < 0,001$). Поданализата на разликите меѓу групите покажа дека највисока средна вредност на вкупен тестостерон ($2,52 \pm 0,89$ nmol/l) има во PCOS HI-групата и оваа вредност е статистички сигнификантно повисока во споредба со средната вредност на вкупен тестостерон ($1,56 \pm 0,53$ nmol/l) во контролната група ($p < 0,001$). Исто така и средната вредност на вкупен тестостерон во PCOS NI-групата ($2,21 \pm 0,59$ nmol/l) беше статистички сигнификантно повисока во однос на вредностите измерени во контролната група ($p = 0,002$). Не беше утврдена статистички сигнификантна разлика во вредностите на вкупен тестостерон помеѓу PCOS HI и PCOS NI-групите ($p = 0,144$).

Слободен андроген индекс (FAI): Анализата на калкулираниот слободен андроген индекс (FAI) помеѓу групите укажа дека постои статистички сигнификантна разлика во калкулираните вредности на FAI помеѓу групите ($F = 12,668$; $p < 0,001$). Поданализата на разликите меѓу групите покажа дека највисока средна вредност на FAI ($10,14 \pm 8,30$) има во PCOS HI-групата и оваа вредност е статистички сигнификантно повисока во споредба со средната вредност на FAI ($5,55 \pm 2,75$) добиена во PCOS NI-групата ($p = 0,004$), како и статистички сигнификантно повисока во однос на вредностите на FAI ($3,37 \pm 1,68$) во контролната група ($p < 0,001$). Не беше утврдена статистички сигнификантна разлика во вредностите на FAI помеѓу PCOS NI и контролната група ($p = 0,318$).

Дехидроепиандростерон сулфат (DHEA-s): Постоеше статистички сигнификантна разлика во измерените плазматски вредности на дехидроепиандростерон сулфат (DHEA-s) помеѓу групите ($F = 20,612$; $p < 0,001$). Поданализата на разликите меѓу групите

покажа дека највисока средна вредност на DHEA-s ($9,34 \pm 2,21 \mu\text{mol/l}$) има во PCOS NI-групата и оваа вредност е статистички сигнификантно повисока во споредба со средната вредност на DHEA-s ($4,52 \pm 2,77 \mu\text{mol/l}$) во контролната група ($p < 0,001$). Исто така и средната вредност на DHEA-s во PCOS NI-групата ($8,59 \pm 3,99 \mu\text{mol/l}$) беше статистички сигнификантно повисока во однос на вредностите измерени во контролната група ($p < 0,001$). Не беше утврдена статистички сигнификантна разлика во вредностите на DHEA-s помеѓу PCOS NI и PCOS NI-групите ($p = 0,600$).

Секс-хормон врзувачкиот глобулин (SHBG): При анализата на разликите во измерените плазматски концентрации на секс-хормон врзувачкиот глобулин (SHBG) укажа дека постои статистички сигнификантна разлика во измерените вредности помеѓу испитуваните групи ($F = 10,853$; $p < 0,001$). Поданализата на разликите меѓу групите покажа дека најниска средна вредност на SHBG ($33,26 \pm 20,58 \text{ nmol/l}$) има во PCOS NI- групата и оваа вредност е статистички сигнификантно пониска во споредба со средната вредност на SHBG ($47,87 \pm 25,46 \text{ nmol/l}$) во PCOS NI-групата ($p = 0,048$), а и во споредба со средните вредности на SHBG ($61,85 \pm 25,72 \text{ nmol/l}$) во контролната група ($p < 0,001$). Не беше утврдена статистички сигнификантна разлика во вредностите на SHBG помеѓу PCOS NI и контролната група ($p = 0,090$).

6.2.3. Анализа на метаболните параметри добиени во тек на оралниот глукоза толеранс тест

Од метаболните параметри беа анализирани нивото на базална серумска гликемија и инсулинемија, стимулираните вредности на гликемија и инсулинемија добиени на еден час во тек на оралниот гликоза толеранс тест (OGTT) и стимулираните вредности на гликемија и инсулинемија добиени помеѓу групите на два часа во тек на OGTT. И за групата со хиперинсулинемичен полицистичен оваријален синдром и за контролната група со нормоинсулинемија беше калкулирана вредноста на хомеостатскиот модел како индекс на инсулинска резистенција (HOMA-IR). Мерките на централна тенденција за базалните и стимулирани вредности на гликемија и инсулинемија добиени во тек на OGTT, како и статистичката анализа за значајност на разликите во вредностите помеѓу групите се прикажани на табела 23.

Табела 23. Споредба на базални и стимулирани вредности на гликемија и инсулинемија помеѓу групите

Варијабла	Хиперинсулинемија (n = 76)	Нормоинсулинемија (n = 80)	р- вредност
Базална гликемија (mmol/l)	5,28 ± 1,87	4,79 ± 0,68	0,119 ^a
Гликемија на 60 минути (mmol/l)	8,32 ± 3,29	5,65 ± 1,38	< 0,001 ^{a,*}
Гликемија на 120 минути (mmol/l)	6,72 ± 2,80	4,74 ± 1,07	< 0,001 ^{a,*}
Базална инсулинемија (μU/ml)	20,95 ± 17,49	9,64 ± 4,35	< 0,001 ^{a,*}
Инсулинемија на 60 минути (μU/ml)	157,82 ± 84,50	64,79 ± 35,28	< 0,001 ^{a,*}
Инсулинемија на 120 минути (μU/ml)	119,43 ± 76,69	31,95 ± 18,42	< 0,001 ^{a,*}

^a непараметриски Mann-Whitney U-тест

* податоците се претставени како средна вредност ± стандардна девијација

• статистички сигнификантно

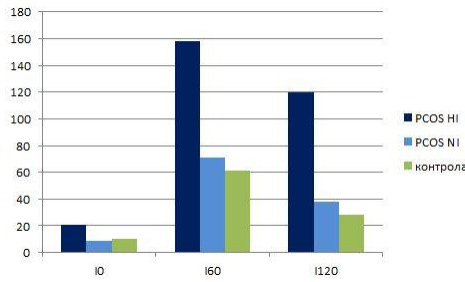
Бидејќи присуството на базална и/или стимулирана хиперинсулинемија беше земено како поделба помеѓу групите, се утврди статистички високо сигнификантна разлика во базалните вредности за инсулинемија ($Z = -7,207$; $p < 0,001$), стимулирана инсулинемија на 60' во тек на OGTT ($Z = -7,498$; $p < 0,001$), и стимулирана инсулинемија на 120' во тек на OGTT ($Z = -8,680$; $p < 0,001$) помеѓу групите. И покрај тоа што групите не беа поделени врз основа на гликемиските вредности добиени во тек на OGTT, единствено вредностите на базална гликемија беа споредбени помеѓу групата со нормоинсулинемија и групата со хиперинсулинемија и не покажаа статистички сигнификантна разлика во опсервираните вредности ($Z = -1,560$; $p = 0,119$), додека анализата на стимулираните вредности на гликемија на 60' во тек на OGTT ($Z = -6,081$; $p < 0,001$), како и стимулираните вредности на гликемија на 120' во тек на OGTT ($Z = -5,759$; $p < 0,001$) покажаа статистички високо сигнификантни разлики, што поттикна понатамошна поданализа на овие вредности помеѓу групата со хиперинсулинемичен PCOS, групата со нормоинсулинемичен PCOS и контролната група.

Од аспект на инсулинемијата, постоеше високо статистички сигнификантна разлика во опсервираните инсулинска вредности помеѓу PCOS HI, PCOS NI и контролната група, како за вредностите на базална инсулинемија ($F(2,149) = 15,764$; $p < 0,001$), така и за вредностите на стимулирана инсулинемија на 60' ($F(2,139) = 36,26$; $p < 0,001$) и за

вредностите на стимулирана инсулинемија на 120' ($F(2,139) = 36,26$; $p < 0,001$). Резултатите се претставени на табела 24.

Табела 24. Базални и стимулирани инсулинемиски вредности помеѓу групите

	I0	I60	I120
PCOS HI	20,95 ± 17,49	157,82 ± 84,50	119,43 ± 76,69
PCOS NI	8,64 ± 4,08	70,78 ± 36,12	38,21 ± 21,39
Контрола	10,28 ± 4,44	61,45 ± 34,76	28,47 ± 15,73
p^a	< 0,001	< 0,001	< 0,001



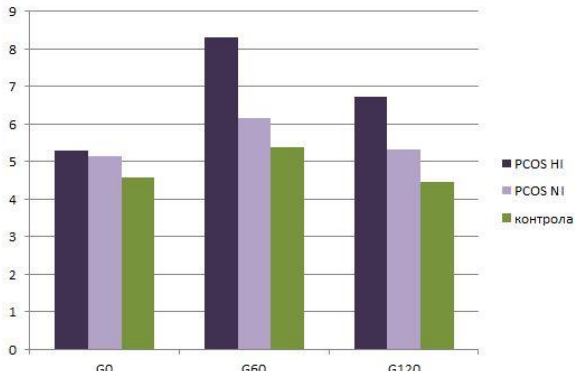
I0 базална инсулинемија; **I60** инсулинемија на 60'; **I120** инсулинемија на 120'

^a еднонасочна анализа на варијанси (one-way ANOVA-тест)

Анализата на гликемиските вредности добиени во тек на OGTT исто така утврди статистички сигнификантна разлика во опсервираните гликемиски вредности помеѓу PCOS HI, PCOS NI и контролната група. Ова беше утврдено за вредностите на базална гликемија ($F = 3,937$; $p = 0,022$), а за вредностите на стимулирана гликемија на 60' ($F = 19,67$; $p < 0,001$) и за вредностите на стимулирана гликемија на 120' ($F = 16,153$; $p < 0,001$) разликата беше статистички високо сигнификантна. Поданализата помеѓу групите покажа статистички сигнификантна разлика во гликемиските вредности помеѓу PCOS HI и контролната група, како и помеѓу PCOS HI и PCOS NI (освен за базалната гликемија), а не се утврди статистички сигнификантна разлика помеѓу гликемиските вредности во PCOS NI и контролната група. Резултатите се претставени на табела 25.

Табела 25. Базални и стимулирани гликемиски вредности помеѓу групите

	G0	G60	G120
PCOS HI	5,28 ± 1,87	8,32 ± 3,29	6,71 ± 2,80
PCOS NI	5,13 ± 0,63	6,15 ± 1,62	5,31 ± 0,94
Контрола	4,57 ± 0,62	5,39 ± 1,17	4,44 ± 1,01
p^a	0,022	< 0,001	< 0,001



G0 базална гликемија; **G60** гликемија на 60'; **G120** гликемија на 120'

^a еднонасочна анализа на варијанси (one-way ANOVA-тест)

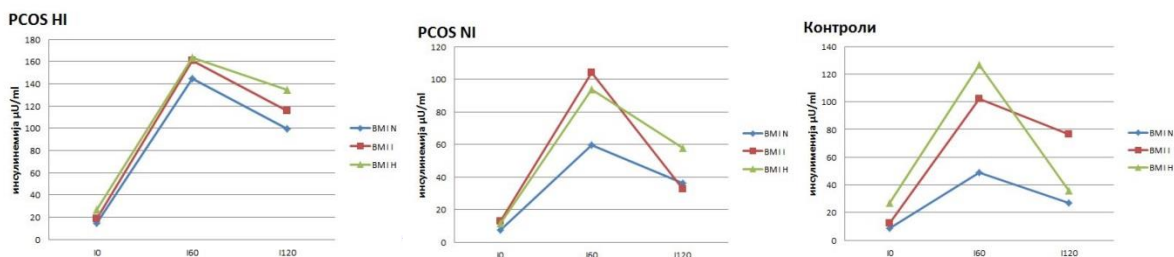
Со цел да се утврди дали постои разлика во вредностите на инсулинемија и гликемија во релација со индексот на телесна тежина беше направена анализа на инсулинските и гликемиските криви добиени во тек на OGTT при различни индекси на телесна маса во самите групи. Групите беа поделени спрема BMI како BMI N (нормално ухранети пациентки со $BMI \leq 25 \text{ kg/m}^2$), BMI I (натхранети пациентки со $BMI > 25 \text{ kg/m}^2$ и $\leq 30 \text{ kg/m}^2$) и BMI H (обезни пациентки со $BMI > 30 \text{ kg/m}^2$). Добиените мерки на централна тенденција на базална и стимулирана инсулинемија и гликемија во рамки на групите при различен индекс на телесна маса се прикажани на табела 26.

Табела 26. Метаболни параметри добиени во тек на OGTT во зависност од BMI

PCOS NI	I0	I60	I120	G0	G60	G120
BMI N	14,76 ± 8,23	144,49 ± 68,22	99,51 ± 53,26	4,97 ± 0,75	5,26 ± 2,19	5,48 ± 2,1
BMI I	18,38 ± 9,19	160,99 ± 87,01	155,5 ± 78,83	8,27 ± 3,83	7,21 ± 2,11	9,26 ± 5,55
BMI H	26,60 ± 24,09	163,37 ± 92,94	134,4 ± 85,26	6,01 ± 1,71	5,81 ± 1,60	7,89 ± 3,64
PCOS NI	I0	I60	I120	G0	G60	G120
BMI N	7,29 ± 3,5	59,62 ± 29,71	36,22 ± 19,87	5,12 ± 0,61	6,08 ± 1,19	5,17 ± 0,95
BMI I	12,81 ± 2,16	103,87 ± 21,77	32,57 ± 18,83	5,26 ± 0,90	5,32 ± 1,59	5,35 ± 0,75
BMI H	11,49 ± 4,65	93,62 ± 57,87	57,72 ± 30,57	5,0 ± 0,4	7,63 ± 3,09	6,03 ± 1,01
Контрола	I0	I60	I120	G0	G60	G120
BMI N	8,68 ± 3,57	48,87 ± 23,57	27,14 ± 12,29	4,51 ± 0,61	5,34 ± 1,31	4,59 ± 1,03
BMI I	12,29 ± 4,03	102,04 ± 41,94	76,61 ± 36,30	4,66 ± 0,65	5,48 ± 0,68	4,11 ± 1,07
BMI H	27,14 ± 12,29	126,87 ± 23,30	36,01 ± 20,93	4,73 ± 0,65	5,51 ± 1,03	4,14 ± 0,88

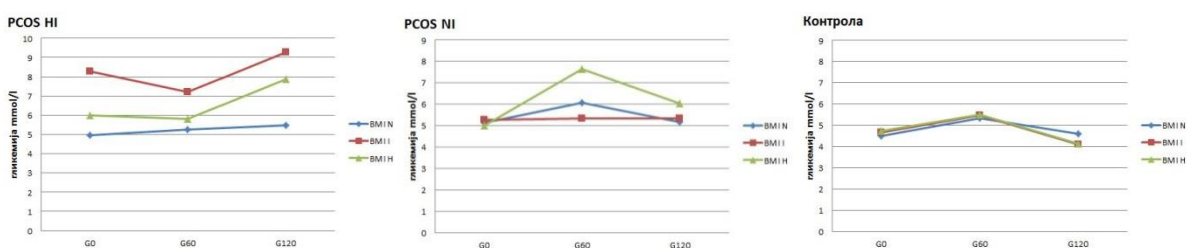
BMI N ($BMI \leq 25 \text{ kg/m}^2$); **BMI I** ($25 \text{ kg/m}^2 < BMI \leq 30 \text{ kg/m}^2$); **BMI H** ($BMI > 30 \text{ kg/m}^2$); **I0** базална инсулинемија; **I60** инсулинемија на 60'; **I120** инсулинемија на 120'; **G0** базална гликемија; **G60** гликемија на 60'; **G120'** гликемија на 120' во тек на OGTT

Врз основа на добиените средни вредности за инсулинемија и гликемија кај нормално ухранети, натхранети и обезни пациентки во рамки на групите беа анализирани добиените инсулински и гликемиски криви во тек на OGTT кај PCOS NI, PCOS NI и контролната група. Инсулинските криви при различен BMI во рамки на групите се прикажани на графикон 18, а гликемиските криви при различен BMI во рамки на групите се прикажани на графикон 19.



Графикон 18. Инсулински криви при различен BMI помеѓу групите

Не се утврди разлика во инсулинските криви кај нормално ухранетите, натхранетите и обезните пациентки во групата со хиперинсулинемичен полицистичен оваријален синдром, но сепак се опсервираа пониски вредности за стимулирана инсулинемија на 60 и 120 минути кај нормално ухранетите пациентки и пониски вредности на стимулирана инсулинемија на 120 минути кај натхранетите пациентки во однос на обезните пациентки кај кои стимулираните инсулински вредности беа највисоки. Кај пациентките со нормоинсулинемија, највисоки вредности на инсулинемија на 60 минути имаше во групата на натхранети пациентки, но овие вредности се враќаа до оптимално очекуваните на 120-та минута, додека кај обезните пациентки беа опсервирани нешто пониски вредности на инсулинемија на 60-та минута во однос на натхранетите пациентки, но овие вредности не се симнуваа до оптимално очекуваните на 120-та минута и остануваа повисоки. Кај контролната група, само кај натхранетите пациентки инсулинемиските вредности на 120-та минута беа повисоки во однос на истите опсервирани кај нормално ухранетите.



Графикон 19. Гликемиски криви при различен BMI помеѓу групите

Анализата на кривите за гликемија кај нормално ухранетите, натхранетите и обезните пациентки во групата со хиперинсулинемичен полицистичен оваријален синдром покажа разлики во гликемиските вредности помеѓу категориите, со

опсервирани пониски вредности на гликемија кај пациентките со нормален BMI, повисоки гликемиски вредности кај натхранетите и највисоки гликемиски вредности кај обезните пациентки. Кај натхранетите пациентки повисоки беа гликемиите на 120-та минута, а кај обезните пациентки постоеше и базална хипергликемија и хипергликемија во тек на OGTT на 120-та минута, со застапена гликемиска крива кај овие пациентки. Кај пациентките со нормоинсулинемичен полицистичен оваријален синдром беа опсервирани нешто повисоки вредности на стимулирана гликеија на 60 и 120 минути, но овие вредности беа во рамки на очекуваните нормални вредности. Кај контролната група имаше наод на уредни гликемиски криви во тек на OGTT кај сите испитувани категории.

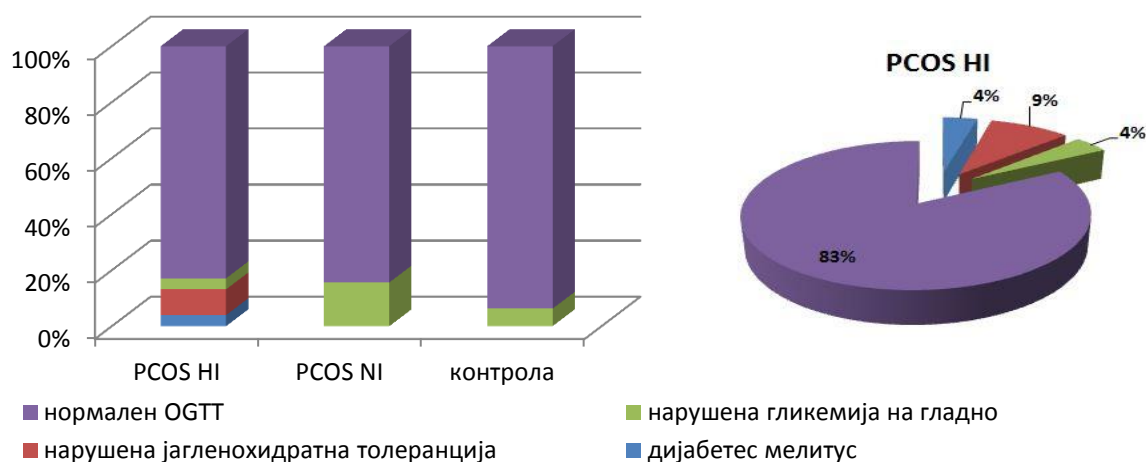
Бидејќи анализата на гликемиските вредности добиени во тек на OGTT утврди статистички сигнификантна разлика во опсервираните стимулирани гликемиски вредности помеѓу PCOS HI, PCOS NI и контролната група, беше направена анализа за застапеноста на различните степени на нарушувања во глукозниот метаболизам во PCOS HI, PCOS NI и контролната група. Податоците се табеларно и графички прикажани на табела 27 и графикон 20.

Табела 27. Застапеност на различен степен на нарушување во глукозниот метаболизам помеѓу групите

	DM	IGT	IFG	нормален OGTT
PCOS HI (n = 76)	3 (3,9 %)	7 (9,2 %)	3 (3,9 %)	63 (83 %)
PCOS NI (n = 32)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	5 (15,6 %)	27 (84,4 %)
Контрола (n = 48)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	3 (6,3 %)	45 (93,8 %)

DM дијабетес мелитус; **IGT** нарушена јаглехидратна толеранција; **IFG** нарушена гликемија на гладно

* податоците се претставени како број на опсервирани фреквенции (процент на застапеност во групата)



Графикон 20. Процентуална застапеност на различен степен на нарушен глукозен метаболизам во групите

Кај пациентките со хиперинсулинемичен PCOS беше утврден различен степен на нарушување во јагленохидратниот метаболизам кај вкупно 17 % од испитаничките, и тоа, кај 3,9 % беше утврден тип 2 дијабетес, нарушена јагленохидратна толеранција имаа 9,2 % од пациентките, а 3,9 % од пациентките имаа нарушена гликемија на гладно. Наспроти ова, во групата со нормоинсулинемичен PCOS имаше само наод на нарушена гликемија на гладно кај 15,6 % од испитаничките. Кај контролната група имаше наод на нарушена гликемија на гладно кај 6,3 % од испитаничките. Како критериум за нарушена гликемија на гладно беше земена вредност на базална гликемија $> 5,6 \text{ mmol/l}$. Статистичката анализа на разликата во дистрибуции на опсервираните фреквенции, покажа статистички сигнификантна разлика помеѓу PCOS HI и PCOS NI-групите ($\chi^2 = 8,362; p = 0,039$), што укажува на фактот дека хиперинсулинемијата кај пациентките со PCOS е асоцирана со потешки нарушувања во глукозната хомеостаза.

Беше направена и анализа на тоа дали индексот на телесна маса влијае врз појавата на промени во метаболичните параметри. За оваа цел беше направена поделба на целата група на испитанички со PCOS (PCOS HI и PCOS NI, $n = 108$) врз база на BMI. Целата група опфаќаше 108 пациентки со PCOS, од кои 38,9 % ($n = 42$) нормално ухранети пациентки со $\text{BMI} \leq 25 \text{ kg/m}^2$, натхранети со $25 \text{ kg/m}^2 < \text{BMI} \leq 30 \text{ kg/m}^2$ беа 28,7 % ($n = 31$) и обезни со $\text{BMI} > 30 \text{ kg/m}^2$ беа 32,4 % ($n = 35$). Беше утврдена разлика во дистрибуцијата на

фреквенции на базална и/или стимулирана хиперинсулинемија во групите поделени спрема индексот на телесна маса, кои се дадени на табела 28.

Табела 28. Застапеност на базална и/или стимулирана хиперинсулинемија во групите поделени спрема BMI

	N	B	ST	BST
BMI ≤ 25 kg/m²	23 (56,1 %)	1 (2,4 %)	12 (29,3 %)	5 (12,2 %)
25 kg/m² > BMI ≤ 30 kg/m²	8 (25,8 %)	2 (6,4 %)	8 (25,8 %)	13 (41,9 %)
BMI > 30 kg/m²	3 (8,6 %)	5 (14,3 %)	10 (28,6 %)	17 (48,6 %)

* податоците се претставени како број на опсервирани фреквенции (процент на застапеност во групата) **N** нормоинсулинемија; **B** базална хиперинсулинемија; **ST** стимулирана хиперинсулинемија, **BST** базална и стимулирана хиперинсулинемија во тек на OGTT

Во групата на пациентки со нормалем BMI, 56 % имаа нормоинсулинемија, 2,4 % само базална хиперинсулинемија, само стимулирана хиперинсулинемија имаа 29,3 % од пациентките, а 12,2 % имаа и базална и стимулирана хиперинсулинемија во тек на OGTT. Наспроти ова, кај натхранетите пациентки беше утврдена нормоинсулинемија само кај 25 % од пациентките, базална хиперинсулинемија имаа 6,4 % од пациентките, стимулирана хиперинсулинемија беше утврдена кај 25,8 % пациенки, а 41 % имаа и базална и стимулирана хиперинсулинемија во тек на OGTT. Во групата на обезни пациентки имаше најмал процент на испитанички со нормоинсулинемија (8,6 %), базална хиперинсулинемија имаа 14,3 %, стимулирана хиперинсулинемија имаа 28,6 %, а најголем процент од испитаничките (48,6 %) имаа и базална и стимулирана хиперинсулинемија. Статистичката анализа на разликата во дистрибуции на опсервираните фреквенции покажа статистички сигнификантна разлика помеѓу пациентките со нормален BMI и натхранетите пациентки ($\chi^2 = 10,7657$; $p = 0,013$), како и статистички високо сигнификантна разлика помеѓу пациентките со нормален BMI и обезните пациентки ($\chi^2 = 24,4573$; $p < 0,013$), што укажува на фактот дека кај натхранетите и обезни пациентки почесто се сретнува базална и/или стимулирана хиперинсулинемија. Не беше утврдена статистички сигнификантна разлика во утврдените дистрибуции на фреквенции помеѓу групата на натхранети и обезни пациентки ($\chi^2 = 4,0866$; $p = 0,252$).

Застапеноста на различен степен на изменет глукозен метаболизам беше исто така иследувана кај пациентките во зависност од индексот на телесна маса. Не беше утврдена разлика во дистрибуцијата на фреквенции на нарушена гликемија на гладно, нарушена јаглехидратна толеранција и присуство на дијабетес мелитус помеѓу групите поделени спрема индексот на телесна маса, кои се дадени на табела 29.

Табела 29. Застапеност на различен степен на нарушување во глукозниот метаболизам помеѓу групите

	N	IFG	IGT	DM
BMI ≤ 25 kg/m²	25 (85,4 %)	4 (9,8 %)	2 (4,9 %)	0 (0 %)
25 kg/m² > BMI ≤ 30 kg/m²	27 (87,1 %)	2 (6,5 %)	1 (3,2 %)	1 (3,2 %)
BMI > 30 kg/m²	27 (77,2 %)	1 (2,9 %)	4 (11,4 %)	3 (8,6 %)

* податоците се претставени како број на опсервирани фреквенции (процент на застапеност во групата) **DM** дијабетес мелитус; **IGT** нарушена јаглехидратна толеранција; **IFG** нарушена гликемија на гладно; **N** нормални гликемии во тек на OGTT

Нормални гликемии во тек на OGTT имаше кај 85,4 % од нормално ухранетите пациентки, кај 87,1 % од натхранетите пациентки и кај 77,2 % од обезните пациентки. Нарушена гликемија на гладно беше утврдена кај 9,8 % од нормално ухранетите пациентки, кај 6,5 % од натхранетите пациентки и кај 2,9 % од обезните пациентки, додека нарушена јаглехидратна толеранција имаше кај 4,9 % од нормално ухранетите пациентки, кај 3,2 % од натхранетите пациентки и кај 11,4 % од обезните пациентки. Кај 3,2 % од натхранетите пациентки и кај 8,6 % од обезните пациентки беше поставена дијагноза на дијабетес мелитус. Статистичката анализа на разликата во дистрибуции на обсервираните фреквенции не покажа статистички сигнификантна разлика помеѓу пациентките со нормален BMI и натхранетите пациентки ($\chi^2 = 1,6757$; $p = 0,642$), ниту помеѓу пациентките со нормален BMI и обезните пациентки ($\chi^2 = 6,063$; $p = 0,108$). Не беше утврдена статистички сигнификантна разлика во утврдените дистрибуции на фреквенции ниту помеѓу групата на натхранети и обезни пациентки ($\chi^2 = 2,9016$; $p = 0,407$).

Кога го анализиравме присуството на какво било нарушување во глукозниот метаболизам (IFG + IGT + DM), кај пациентките со нормален BMI утврдивме присуство на нарушен глукозен метаболизам кај 14,7 %, кај натхранетите пациентки наод за

нарушен глюкозен метаболизам имаше кај 12,9 %, а кај обезните овој процент беше нешто повисок. Наод на различен степен на нарушен глюкозен метаболизам имаше кај 22,9 % од обезните пациентки, но оваа разлика во фреквенции не се покажа како статистички сигнификантна ($\chi^2 = 1,547$; $p = 0,461$).

6.2.4. Анализа на липидни параметри помеѓу групите

Анализата на липидниот статус вклучуваше одредување на серумски вредности на вкупен холестерол (HOL), триглицериди (TG), HDL-холестерол (HDL) и LDL-холестерол (LDL) во групата со хиперинсулинемичен оваријален синдром и групата со нормоинсулинемија, како и поданализа со тестирање на сигнификантност на разлики помеѓу групата пациентки со хиперинсулинемичен полицистичен оваријален синдром (PCOS HI), група со нормоинсулинемичен полицистичен оваријален синдром (PCOS NI) и контролната група. Резултатите добиени со тестирање на разликата помеѓу липидните параметри помеѓу групата со хиперинсулинемија и групата со нормоинсулинемија се дадени на табела 30.

Табела 30. Споредба на липидни фракции помеѓу групите со хиперинсулинемија и нормоинсулинемија

Варијабла	Хиперинсулинемија (n = 76)	Нормоинсулинемија (n = 80)	p- вредност
Вкупен холестерол (mmol/l)	4,81 ± 0,98	4,46 ± 0,95	0,060 ^{a, *}
Триглицериди (mmol/l)	1,47 ± 1,01	0,99 ± 0,56	< 0,001 ^{b, *}
HDL-холестерол (mmol/l)	1,22 ± 0,39	1,32 ± 0,45	0,246 ^a
LDL-холестерол (mmol/l)	3,28 ± 1,05	2,75 ± 0,91	0,008 ^{b, *}

^a параметриски t-test за независни примероци

^b непараметриски Mann-Whitney U-тест

*податоците се претставени како средна вредност ± стандардна девијација

•статистички сигнификантно

Просечните вредности на вкупен холестерол се највисоки во групата со хиперинсулинемија и оваа разлика помеѓу групите е статистички сигнификантна ($t = 1,902$; $p = 0,060$). Вредностите на триглицеридите се исто така повисоки во групата со хиперинсулинемија наспроти вредностите кај испитаничките со нормоинсулинемија и

оваа разлика е статистички високо сигнификантна ($Z = -3,807$; $p < 0,001$). Се утврди и статистички сигнификантна разлика во вредностите на LDL-холестерол помеѓу групите ($Z = -2,671$; $p = 0,008$), со повисоки утврдени средни вредности кај групата со хиперинсулинемија. Вредностите на HDL-холестерол, иако пониски во групата со хиперинсулинемија, не покажаа статистички сигнификантна разлика помеѓу групите ($t = -1,167$; $p = 0,246$).

Поданализата за разликите во липидните параметри помеѓу PCOS HI, PCOS NI и контролната група е дадена на табела 31. На ниво на трите групи беше утврдена статистички сигнификантна разлика во средните вредности на вкупен холестерол ($F = 10,168$; $p < 0,001$), триглицериди ($H = 18,040$; $p = 0,003$) и LDL-холестерол ($F = 9,114$; $p < 0,001$), а не се утврди сигнификантна разлика во средните вредности на HDL-холестерол ($F = 2,339$; $p = 0,102$) помеѓу групите.

Табела 31. Споредба на липидните фракции во PCOS HI, PCOS NI и контролната група

Варијабла	PCOS HI (n = 76)	PCOS NI (n = 32)	Контрола (n = 48)	p	PCOS HI /PCOS NI ^b	PCOS HI /контрола ^b	PCOS NI /контрола ^b
HOL (mmol/l)	4,81 ± 0,98	4,00 ± 0,78	4,91 ± 0,90	< 0,001 ^{a,*}	< 0,001 [*]	0,880	< 0,001 [*]
TG (mmol/l)	1,47 ± 1,01	1,13 ± 0,71	0,85 ± 0,42	0,003 ^{b,*}	0,184	0,003 [*]	0,366
HDL (mmol/l)	1,22 ± 0,39	1,22 ± 0,51	1,42 ± 0,35	0,102 ^a	1,000	0,140	0,198
LDL (mmol/l)	3,28 ± 1,05	2,34 ± 0,74	3,14 ± 0,89	< 0,001 ^{a,*}	< 0,001 [*]	0,816	0,008 [*]

^a еднонасочна анализа на варијанси (one-way ANOVA) тест; ^b Kruskal Wallis ANOVA-тест; ^{*} post-hoc Sheffe-тест

*податоците се претставени како средна вредност ± стандардна девијација

•сигнификантно

Интергрупната поданализа покажа статистички високо сигнификантна разлика во средните вредности на вкупниот холестерол ($4,81 \pm 0,98$ mmol/l) кои беа повисоки во PCOS HI-групата во однос на средните вредности на вкупен холестерол ($4,81 \pm 0,98$ mmol/l) во PCOS NI-групата ($p < 0,001$). Се утврди и статистички високо сигнификантна разлика во средните вредности на вкупниот холестерол во PCOS NI во однос на средните вредности на вкупен холестерол ($4,91 \pm 0,90$ mmol/l) во контролната група ($p < 0,001$). Не се утврди статистички сигнификантна разлика во вредностите на вкупен холестерол помеѓу PCOS HI и контролната група ($p = 0,880$).

Статистички високо сигнификантна разлика се утврди кај средните вредности на LDL-холестеролот ($3,28 \pm 1,05$ mmol/l), кои беа повисоки во PCOS HI-групата во однос на средните вредности на LDL-холестеролот ($2,34 \pm 0,74$ mmol/l) во PCOS NI-групата ($p < 0,001$), кои пак беа повисоки во однос на средните вредности на LDL-холестеролот ($3,14 \pm 0,89$ mmol/l) во контролната група ($p = 0,008$). Не се утврди статистички сигнификантна разлика во вредностите на LDL-холестерол помеѓу PCOS HI и контролната група ($p = 0,816$).

Иако средните вредности на HDL-холестерол во PCOS HI ($1,22 \pm 0,39$ mmol/l) и PCOS NI-групите ($1,22 \pm 0,51$ mmol/l) беа пониски во однос на средните вредности на HDL-холестерол во контролната група ($1,42 \pm 0,35$ mmol/l), не се утврди статистички сигнификантна разлика во вредностите на HDL-холестерол помеѓу PCOS HI и PCOS NI-групите ($p = 1,000$), помеѓу PCOS HI и контролната група ($p = 0,140$), ниту помеѓу PCOS NI и контролната група ($p = 0,198$).

Највисока средна вредност на триглицеридите имаше во PCOS HI-групата ($1,47 \pm 1,01$ mmol/l), наспроти средна вредност на триглицеридите од $1,13 \pm 0,71$ mmol/l во PCOS NI-групата и средна вредност од $0,85 \pm 0,42$ mmol/l во контролната група. Тестираната разлика во средните рангови помеѓу групите укажа на статистички високо сигнификантна разлика во средните рангови за триглицериди во PCOS HI-групата (71,90) во споредба со контролната група (40,26; $p = 0,003$), додека не се утврди статистичка сигнификантност на разликите во триглицеридите помеѓу PCOS NI и контролната група, ниту помеѓу PCOS HI и PCOS NI-групите.

Беше направена и анализа на тоа дали индексот на телесна маса влијае врз појавата на промени во липидните параметри во рамки на PCOS. За оваа цел беше направена поделба на целата група на испитанички со PCOS (PCOS HI и PCOS NI) врз база на BMI. Целата група опфаќаше 108 пациентки со PCOS, од кои 38,9 % ($n = 42$) нормално ухранети пациентки со $BMI \leq 25$ kg/m² (BMI N), натхранети со 25 kg/m² $> BMI \leq 30$ kg/m² (BMI I) беа 28,7 % ($n = 31$) и обезни со $BMI > 30$ kg/m² (BMI H) беа 32,4 % ($n = 35$). Податоците за мерките на централна тенденција на липидните фракции во групите со

различен индекс на телесна маса (BMI N, BMI I и BMI H) и тестираните разлики помеѓу групите се претставени на табела 32.

Табела 32: Споредба на липидните фракции кај PCOS во зависност од BMI

	HOL (mmol/l)	TG (mmol/l)	HDL (mmol/l)	LDL (mmol/l)
BMI N	4,49 ± 1,15	1,12 ± 0,75	1,41 ± 0,43	2,83 ± 1,32
BMI I	4,12 ± 0,91	1,25 ± 0,55	1,16 ± 0,53	2,63 ± 0,81
BMI H	4,75 ± 0,81	1,66 ± 1,19	1,07 ± 0,32	3,21 ± 0,78
p-вредност	0,102	0,056	0,010*	0,170

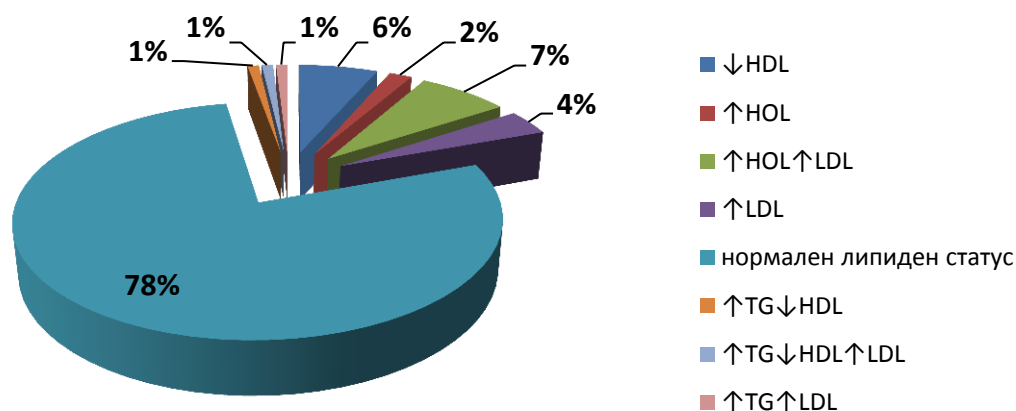
^a еднонасочна анализа на варијанси (one-way ANOVA-тест)

* податоците се претставени како средна вредност ± стандардна девијација

• сигнификантно

Анализата на тестираните разлики не покажа статистички сигнификантни разлики во средните вредности за вкупен холестерол ($F = 2,347$; $p = 0,102$), триглицериди ($F = 2,998$; $p = 0,056$) и LDL-холестерол ($F = 1,821$; $p = 0,170$) помеѓу групите со различен индекс на телесна маса. Единствено вредноста на HDL-холестерол покажа статистички сигнификантна разлика помеѓу групите ($F = 4,929$; $p = 0,010$). Со поданализа (post-hoc Sheffe) се покажа дека постои статистички високо сигнификантна разлика помеѓу вредностите на HDL-холестерол помеѓу групата на нормално ухранети (BMI N) и групата на обезни пациентки (BMI H) ($p = 0,013$).

Застапеноста на различни нарушувања во липидните фракции на ниво на целата PCOS-група е прикажана на графикон 21. Кај 78 % од испитаничките со PCOS немаше нарушувања во липидниот статус, наспроти 22 % од испитаничките кај кои се утврди некаков степен на нарушување во липидните фракции. Од нив, најчесто, кај 7 % од испитаничките беше застапена асоцијацијата на покачен вкупен холестерол и покачен LDL-холестерол, кај 6 % имаше пониски вредности на HDL-холестеролот, кај 4 % имаше повисоки вредности само на LDL-холестеролот, а 2 % имаа само покачен холестерол. Класичен атероген тријас, со покачени триглицериди и LDL-холестерол, а низок HDL-холестерол имаше кај 1 % од испитаничките.



Графикон 21. Процентуална застапеност на различен степен на нарушени липидни фракции кај испитаничките со PCOS

Беше направена и анализа за различната застапеност на нарушувања во липидните фракции кај испитаничките со хиперинсулинемичен и нормоинсулинемичен полицистичен оваријален синдром, прикажана на графикон 22. Анализата покажа дека во групата со хиперинсулинемичен PCOS има повисока застапеност на различни нарушувања во липидните фракции, наспроти застапеноста на нарушувања во липидните фракции кај испитаничките со нормоинсулинемичен полицистичен оваријален синдром.



Графикон 22. Процентуална застапеност на различен степен на нарушени липидни фракции кај испитаничките со хиперинсулинемичен и нормоинсулинемичен PCOS

Кај испитаничките со нормоинсулинемичен оваријален синдром најчесто имаше само наод на низок HDL-холестерол (19 %), потоа асоцијација на висок вкупен холестерол и висок LDL-холестерол (6 %) и само висок LDL-холестерол кај 3 % од

испитаничките. Кај пациентките со нормоинсулинемичен полицистичен оваријален синдром немаше наод на класичен атероген тријас со покачени триглицериди и LDL-холестерол, а низок HDL-холестерол. Наспроти ова, кај испитаничките со хиперинсулинемичен оваријален синдром имаше наод на повеќе липидни нарушувања, и тоа: асоцијација на покачен вкупен холестерол и покачен LDL-холестерол кај 6 % од испитаничките, повисоки вредности на LDL-холестерол кај 4 %, покачен вкупен холестерол кај 3 %, пониски вредности на HDL-холестерол кај 2 %. Класичен атероген тријас, со покачени триглицериди и LDL-холестерол, а низок HDL-холестерол имаше кај 1 % од испитаничките.

6.2.5. Сензитивност и специфичност на HOMA-IR

Со цел да се истражи дијагностичкиот потенцијал на хомеостатскиот модел на инсулинска резистенција (HOMA-IR), како маркер во дијагнозата на инсулинската резистенција кај полицистичниот оваријален синдром беа направени анализи на вредностите на HOMA-IR во групата со хиперинсулинемичен полицистичен оваријален синдром и во контролната група со нормоинсулинемија, анализа на разликите на одредените вредности на HOMA-IR помеѓу групите, како и анализа на дијагностичкиот потенцијал на HOMA-IR преку одредување на ROC-крива и калкулирање на областа под кривата (AUC).

Во групата со хиперинсулинемичен полицистичен оваријален синдром, вредностите на HOMA-IR беа повисоки отколку вредностите на HOMA-IR во контролната група со нормоинсулинемија и оваа разлика беше анализирана како статистички високо значајна ($Z = -6,849$; $p < 0,001$). Во групата со хиперинсулинемичен полицистичен оваријален синдром, средната вредност на HOMA-IR беше $5,01 \pm 5,87$ со медијана од 3,66 наспроти многу пониски вредности на HOMA-IR во контролната група со нормоинсулинемија, каде што средната вредност на HOMA-IR изнесуваше $2,08 \pm 1,03$ со медијана од 1,99 (табела 33).

Табела 33. Споредба на вредностите на HOMA-IR во групите

Варијабла	Хиперинсулинемија (n = 76)	Нормоинсулинемија (n = 80)	p
HOMA-IR	5,01 ± 5,87	2,08 ± 1,03	< 0,001 ^{a,*}
медијана	3,66 (0,67-47,17)	1,99 (0,52-6,21)	

^a непараметриски Mann-Whitney U-тест

*податоците се претставени како средна вредност ± стандардна девијација, медијана (минимум-максимум)

•статистички сигнификантно

Поданализата на вредностите на HOMA-IR во PCOS HI, PCOS NI и контролната група даде слични резултати за статистичка сигнификантност во разликите (H = 46,933, df = 2; p < 0,001). Податоците се претставени во табела 34. Највисока вредност за HOMA-IR имаше во PCOS HI-групата (5,01 ± 5,87) и оваа вредност статистички сигнификантно се разликуваше како од вредностите на HOMA-IR (2,03 ± 0,98) во PCOS NI-групата (p = 0,005), така и од вредностите на HOMA-IR (2,12 ± 1,07) во контролната група (p = 0,001), додека не се утврди статистички сигнификантна разлика на вредностите на HOMA-IR помеѓу PCOS NI и контролната група (p = 0,995).

Табела 34. Споредба на вредностите на HOMA-IR во PCOS HI, PCOS NI и контролата

Варијабла	PCOS HI (n = 76)	PCOS NI (n = 32)	Контрола (n = 48)	p-вредност
HOMA-IR	5,01 ± 5,87	2,03 ± 0,98	2,12 ± 1,07	< 0,001 ^{a,*}
медијана	3,66 (0,67-47,17)	1,76 (0,65-3,84)	2,02 (0,52-6,21)	

^a Kruskal Wallis ANOVA-тест

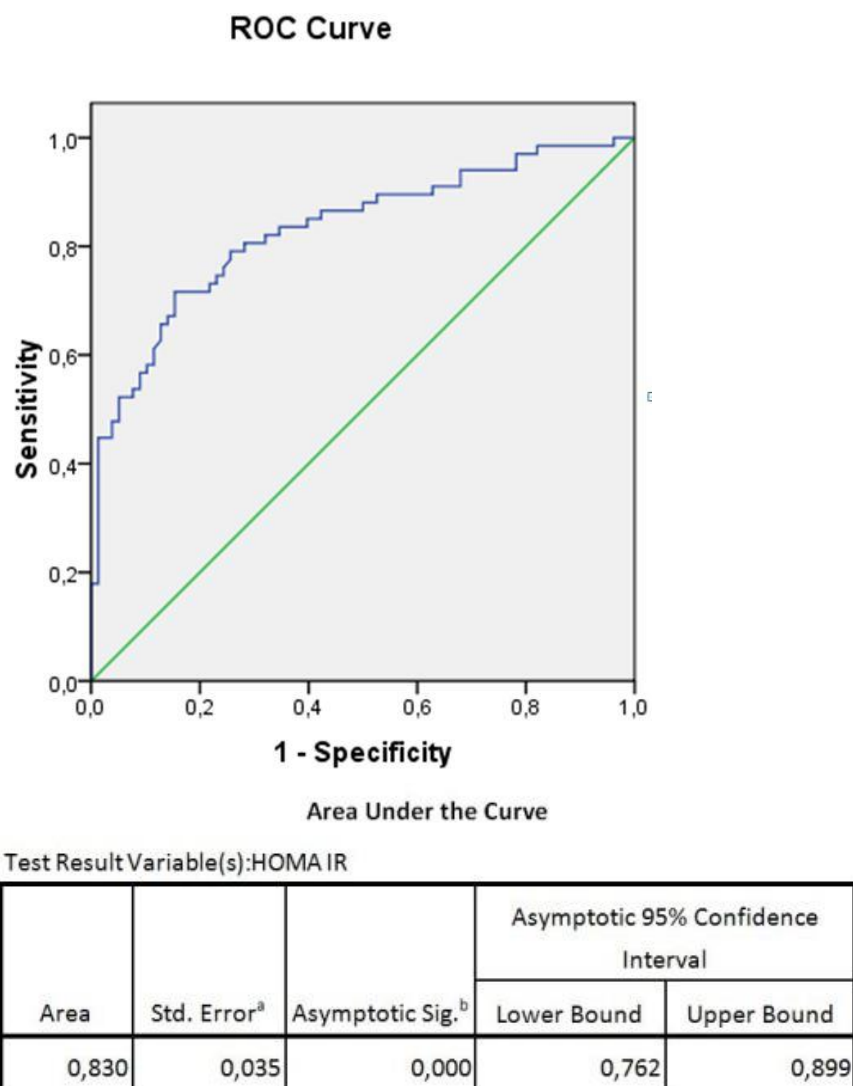
*податоците се претставени како средна вредност ± стандардна девијација, медијана (минимум-максимум)

•статистички сигнификантно

За да се утврди сензитивноста и специфичноста на хомеостатскиот модел на инсулинска резистенција (HOMA-IR), како маркер во дијагнозата на инсулинската резистенција кај полицистичниот оваријален синдром беше направена ROC-крива и беа анализирани вредностите на областа под кривата AUC-ROC за секоја поединечна вредност на HOMA-IR. ROC-кривата за сензитивност и специфичност на HOMA-IR во

дијагноза на инсулинската резистенција кај PCOS и вредноста на AUC-ROC се претставени на графикон 23.

Вредноста на AUC-ROC за HOMA-IR изнесуваше 0,830 (95 % CI 0,762-0,899), што го класифицираше дијагностичкиот потенцијал HOMA-IR како добар во дефинирањето на хиперинсулинемија кај пациентките со полицистичен оваријален синдром.



Графикон 23. ROC-крива за дијагностичкиот потенцијал на HOMA-IR во дијагноза на инсулинска резистенција кај PCOS

Поданализата на поединечните координати на ROC-кривата ја издвои вредноста на HOMA-IR од 2,5 како добра пресечна вредност, со која се доби сензитивност на методот од 82,89 % во одредување на хиперинсулинемија кај PCOS, со специфичност

од 85,90 %, позитивна предиктивна вредност од 85,14 % и негативна предиктивна вредност од 83,75 % (табела 35).

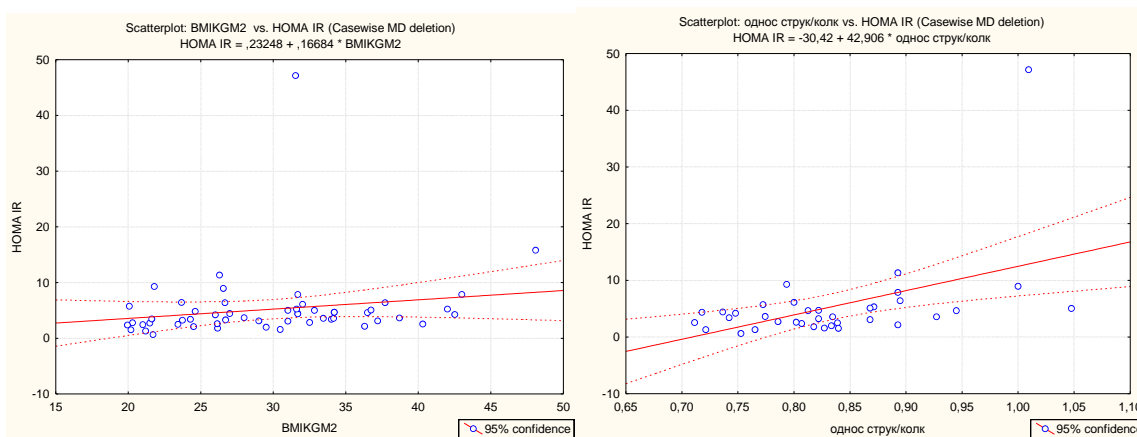
Табела 35. Сензитивност и специфичност при вредност на НОМА-IR од 2,5

НОМА-IR 2,5	PCOS	контрола
позитивни	82,89 % (n = 63)	14,10 % (n = 11)
негативни	17,11 % (n = 13)	85,90 % (n = 67)

Статистика	вредност	95% CI
Сензитивност	82,89 %	72,53 % до 90,57 %
Специфичност	85,90 %	76,17 % до 92,74 %
Позитивен однос на веројатност	5,88	3,37 до 10,26
Негативен однос на веројатност	0,20	0,12 до 0,33
Преваленција	49,35 %	41,21 % до 57,52 %
Позитивна предиктивна вредност	85,14 %	76,64 % до 90,91 %
Негативна предиктивна вредност	83,75 %	75,71 % до 89,50 %

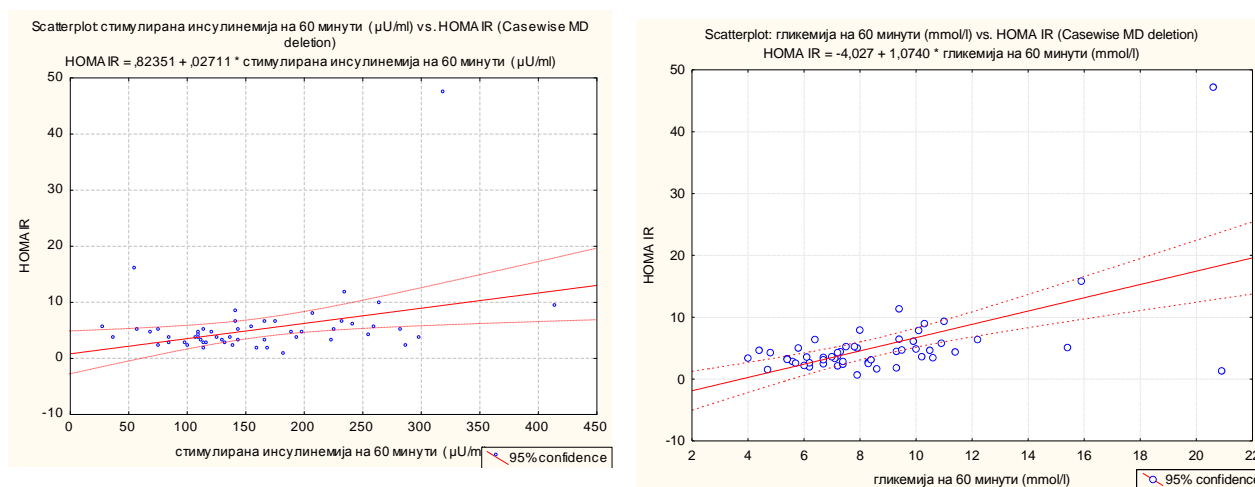
При анализа на целата група со PCOS (n = 108), поделени во зависност од BMI, утврдивме вредности на НОМА-IR повисоки од 2,5 кај 19 % од нормално ухранетите пациентки, кај 36,5 % од натхранетите пациентки и кај 44,4 % од обезните пациентки и оваа разлика во фреквенции беше анализирана како високо статистички сигнификантна ($\chi^2 = 29,48$; df = 2; p < 0,001).

Со цел да се одреди поврзаноста и насоката на поврзаност на НОМА-IR со другите индикатори во дијагнозата на хиперинсулинемија кај PCOS, направивме непараметриска корелација (Spearman r_s) помеѓу вредноста на НОМА-IR и останатите маркери на хиперинсулинемија. Се утврди постоење на позитивна корелација помеѓу НОМА-IR и BMI ($r_s = 0,403$; p = 0,002) и силно позитивна корелација со односот струк/колк ($r_s 0,389$; p = 0,019) од антропометриските параметри (графикон 24).

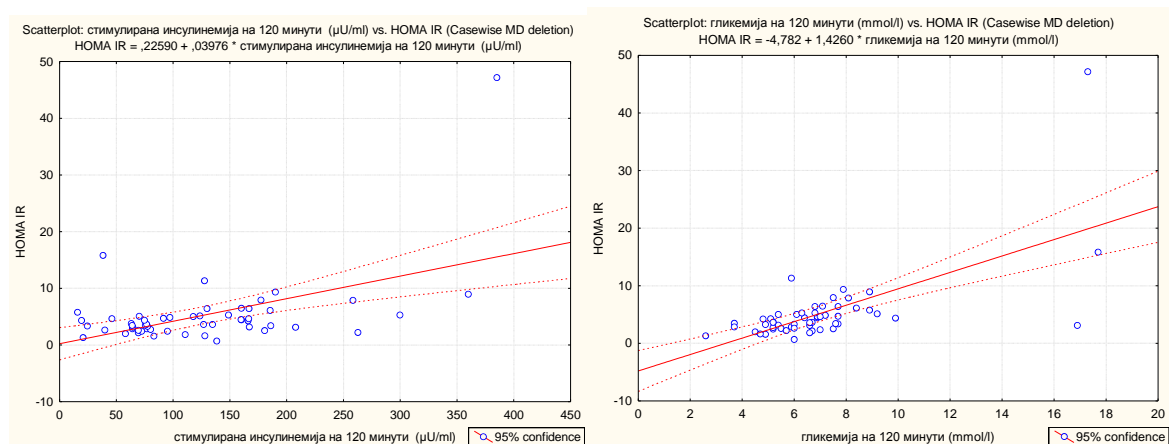


Графикон 24. Позитивна корелација на НОМА-IR со антропометриските параметри

Од метаболните параметри се утврди силно позитивна корелација на НОМА-IR не само со базалната инсулинемија ($r_s = 0,951$; $p < 0,001$) и базалната гликемија ($r_s = 0,458$; $p < 0,001$), врз база на кои се врши калкулацијата на НОМА-IR, туку и со стимулираната гликемија на 60 минути ($r_s = 0,556$; $p < 0,001$) и со стимулираната инсулинемија ($r_s = 0,495$; $p < 0,001$) и гликемија ($r_s = 0,621$; $p < 0,001$) на 120 минути во тек на OGTT. Се утврди постоење на позитивна корелација на НОМА-IR со стимулираната инсулинемија на 60 минути во тек на OGTT ($r_s = 0,301$; $p = 0,014$). Овие корелации на НОМА-IR со стимулираните вредности на инсулинемија и гликемија се прикажани на графикон 25 и графикон 26. Од липидните параметри, НОМА-IR покажа позитивна корелација со триглицеридите ($r_s = 0,378$; $p = 0,009$).



Графикон 25. Силно позитивна корелација на НОМА-IR со стимулираните вредности на инсулинемија и гликемија на 60 минути во тек на OGTT



Графикон 26. Силно позитивна корелација на HOMA-IR со стимулираните вредности на инсулинемија и гликемија на 120 минути во тек на OGTT

Корелацијата на HOMA-IR со стимулираните вредности на инсулинемија укажува на добриот дијагностички потенцијал на методот во детерминирање на инсулинската резистенција кај полицистичен оваријален синдром, бидејќи иако калкулацијата е базирана само врз вредностите на базална гликемија и инсулинемија, таа дава одраз на интринзичните дефекти во инсулинското делување.

7. ДИСКУСИЈА

Полицистичниот оваријален синдром е хетерогено и комплексно нарушување кое има како репродуктивни, така и метаболни импликации врз здравјето на жената. Тој е не само една од најчестите причини за ановулација кај жените во репродуктивниот период, туку е исто така асоциран со карактеристични дисфункции во инсулинското делување кои имаат битно влијание врз метаболните абнормалности кои се појавуваат кај жените со PCOS.

Абнормалностите на репродуктивните хормони може да поттикнат ановулаторни циклуси кои резултираат со нарушувања во менструалниот циклус и инфертилитет и се одговорни за многу од клиничките манифестации на синдромот. Од друга страна пак, многу од жените со полицистичен оваријален синдром имаат инсулинска резистенција и компензаторна хиперинсулинемија, кои ја поттикнуваат оваријалната (и адреналната) продукција на андрогени и ја зголемуваат биорасположивоста на андрогените преку намалување на нивото на секс-хормон врзувачкиот глобулин, но исто така се одговорни за зголемената инциденција на нарушувања во глукозниот метаболизам кои се јавуваат кај жените со PCOS и зголемениот кардиометаболен ризик кај овие пациентки.

Во нашата студија посебен осврт дадовме на испитување на улогата на антимилеријановиот хормон како маркер на абнормалностите во оваријалната функција кај жените со полицистичен оваријален синдром и на испитување на хомеостатскиот модел како маркер на инсулинската резистенција и неговата асоцијација со метаболните показатели кај жените со PCOS.

7.1. Клинички карактеристики на PCOS

Постојат повеќе експертски базирани дијагностички критериуми за PCOS кои главно вклучуваат комбинација на олиго/овулација, хиперандрогенизам и присуство на морфолошки полицистични овариуми. Критериумите кои го вклучуваат хиперандрогенизмот како обавезен за дијагнозата обично идентификуваат потешок

репродуктивен и метаболен фенотип на синдромот. Спрема дефиницијата постигната на ротердамскиот консензус дефинирани се 4 различни фенотипови на полицистичен оваријален синдром, во зависност од тоа дали кај пациентките ги има сите три дијагностички критериуми, или се задоволени два од трите дијагностички критериуми. Дефинирани се фенотип А, со присутни три дијагностички критериуми (олиго/ановулација, хиперандрогенизам и морфолошки полицистични овариуми), фенотип В (со олиго/ановулација и хиперандрогенизам), фенотип С (со хиперандрогенизам и морфолошки полицистични овариуми) и фенотип D (со олиго/ановулација и морфолошки полицистични овариуми). Во нашата група на испитанички со полицистичен оваријален синдром, најзастапен беше фенотипот А, кој беше утврден кај 50 % од жените со PCOS. Кај 13 % од испитаничките беше застапен фенотипот В, кај 20 % беше утврден фенотипот С, а кај 17 % беше утврден фенотипот D. Ова е во согласност со истражувањето на Pehlivanov⁵⁸ од Бугарија, кој кај кохорта на 70 испитанички со PCOS утврди 58,6 % со фенотип А, 11,4 % со фенотип В, 10,0 % со фенотип С и кај 20,0 % бил застапен фенотипот D. Тој во своето истражување заклучува дека жените со класична форма на PCOS (фенотип А и В) се пообезни, имаат понагласена хиперинсулинемија и се повеќе инсулин-резистентни од жените со фенотип С и D. Овие резултати се во согласност и со резултатите на Diamantis-Kandarakis et al.⁵⁹, кои во голема епидемиолошка студија во Грција на 634 жени со PCOS, утврдиле дека најзастапен е фенотипот А (46,4 %), потоа фенотипот В (39,6 %) додека фенотипот D бил застапен само кај 6,8 % од испитуваната популација. Наспроти ова, студијата на индонезиски жени со PCOS на Wiweko et al.⁶⁰ известува дека најзастапениот фенотип кај азиските жени е фенотипот D кој се сретнува дури кај 63,4 % од жените, што укажува на фактот дека постојат етнички разлики во фенотипската презентација на полицистичниот оваријален синдром.

Од клиничките знаци на хиперандрогенизам во нашата група на испитанички со PCOS најзастапен беше хирзутизмот. Хирзутизам беше регистриран кај 61,7 % од пациентките со полицистичен оваријален синдром, присуство на акни имаше кај 20 % од испитаничките, а андрогена алопеција беше регистрирана кај 3,3 % од групата со PCOS. Повеќе од 80 % од жените кои имаат симптоми на хиперандрогенизам имаат PCOS.⁶¹ Хирзутизмот е најчеста клиничка презентација која, според повеќе автори,

може да се види кај дури 70 % од жените со PCOS.⁶² Авторите сепак известуваат за значителни фенотипски варијации во степенот на хирзутизам, кои пак може да бидат резултат на различна осетливост на пилосебацеалната единица (PSU) кон циркулирачките андрогени.⁶³ Според литературата, приближно 15-30 % од жените со PCOS се презентираат со акни.⁶⁴ Разликата во преваленцијата на хирзутизам и акни може да биде објаснета со различната експресија на 5 α -редуктаза во себацеалната жлезда и фоликулата на влакното, што резултира со повисоки концентрации на дихидротестостерон во фоликулите.⁶⁵ Андрогената алопеција исто така ја одразува осетливоста на пилосебацеалната единица и може да биде асоцирана со акни и хирзутизам кај PCOS. Присуството на дихидротестостерон кој се формира со 5 α -редукција на тестостеронот во PSU е асоцирано со повисока 5 α -редуктазна активност во фоликулата на влакното кај жените кои се презентираат со андрогена алопеција.⁶³ Во епидемиолошките студии кај жени со PCOS, преваленцијата на андрогена алопеција значително варира. Нашите резултати се во согласност со резултатите од епидемиолошка студија на Azzis et al.⁶⁶ на 257 хиперандрогени пациентки од кои само 4,7 % се презентирале со алопеција.

Во нашата анализирана група, 76 % од пациентките со полицистичен оваријален синдром дадоа податок за нарушување во менструалниот циклус, од олигоменореја до секундарна аменореја. Од нив, кај 58 % беше утврдена олигоменореја, а кај 17 % беше утврдена секундарна аменореја. Овулаторната дисфункција афектира голем процент од пациентките со PCOS, и според разни автори, во зависност од тоа кој дијагностички критериум е земен предвид, во големи серии на пациентки со PCOS^{64,67} се демонстрирани клинички евидентни нарушувања во менструалниот циклус кај 75-85 % од пациентките, а нашите резултати се во согласност со овие опсервирани фреквенции. И во една голема проспективна студија за пациентки со PCOS дијагностицирани помеѓу 400 жени од општата популација, Azziz et al.⁶⁸ кај приближно 60 % од пациентите со PCOS утврдиле клинички евидентна менструална дисфункција. Во големите популациони студии, според повеќе автори, полицистичниот оваријален синдром бил најден како причина кај 75 % од пациентките со ановулаторен инфертилитет.^{69,70} Триесет до четириесет проценти од пациентките кои се

презентирале со секундарна аменореја и дури 85–90 % од жените со олигоменореја имале полицистичен оваријален синдром.⁷¹

Анализата на испитуваните клинички показатели на хиперандрогенизам и нарушувања во менструалниот циклус укажува дека дека клиничките дијагностички критериуми за хиперандрогенизам и олиго/ановулација даваат добра клиничка слика на ендогениот андроген вишок кај PCOS, но сами за себе не се доволни за дијагноза и ниту еден клинички показател сам за себе не е патогномоничен за состојбата. Ова го потврдилме и со анализирање на AUC-ROC- вредностите за хирзутизам и времетраење на менструален циклус добиени со ROC-кривата, кои изнесуваа AUC-ROC = 0,733 и AUC-ROC = 0,841 последователно. Кај поголем број од испитаничките, клиничките знаци на хиперандрогенизам беа асоцирани со нарушување во менструалниот циклус, а 14 % од испитаничките имаа три позитивни клинички показатели. Од овие, најчеста беше асоцијација на хирзутизам и акни со олигоменореја.

7.2. Хиперандрогенизам кај PCOS

Кај поголем број од пациентките со PCOS со биохемиските анализи се утврдува покачено ниво на андрогените, иако постојат и такви пациентки чиишто андрогени се во нормални граници. Хиперандрогенизмот кај полицистичниот оваријален синдром е со мултифакториелно потекло, главном се должи на оваријална хиперпродукција, со извесен придонес на надбубрежните жлезди и во помала мерка на адипозното ткиво.⁷² Биосинтезата на андрогените е посредувана од микрозомалната P450c17 катализирачка 17,20-лијазна активност. Алтерации на P450c17 активноста на транскрипционо и посттранскрипционо ниво се имплицирани во етиологијата на PCOS.⁷³ Адrenalен андроген ексцес е покажан кај 20-36 % од пациентките со PCOS и може да биде објаснет преку зголемена маса на зона ретикуларис, алтерирана P450c17 α активност или покачен периферен метаболизам на кортизолот.⁷⁴ Плазматскиот андростенедион е прекурсор на 14 % од плазматскиот тестостерон кај PCOS, што укажува дека поголема фракција на покачениот плазматски тестостерон е резултат или на директна оваријална секреција или на интерконверзија од други тестостеронски прекурсорни, па генерално андростенедионот дава понесигурен одраз

на хиперандрогенемијата кај PCOS.⁷⁵ И компензаторната хиперинсулинемија која се јавува како резултат на инсулинската резистенција кај PCOS придонесува за хиперандрогенизмот. Постулирано е дека ова може да биде резултат или на директна стимулација на оваријалната андрогена продукција или на инхибиција на хепаталната синтеза на SHBG која ја зголемува фракцијата на биорасположлив тестостерон.⁷⁶

Дефинициите на полицистичниот оваријален синдром вклучуваат одредување на хиперандрогенизмот преку клиничките знаци и/или преку биохемиските показатели. Биохемиски, хиперандрогенизмот вообичаено се евалуира преку одредување на серумските концентрации на вкупен тестостерон, биорасположив тестостерон, секс-хормон врзувачкиот глобулин (SHBG), калкулирањето на слободниот андроген индекс (FAI) или преку одредување на други андрогени, како андростенедион и дехидроепиандростенедион сулфат. Кај PCOS плазматските концентрации на вкупниот тестостерон се вообичаено на горната граница на нормалата или благо покачени, со покачен биорасположив тестостерон (слободен тестостерон и тестостерон слабо врзан за албуминската фракција) и пониски вредности на SHBG. Калкулираниот слободен андроген индекс корелира со биорасположливиот тестостерон и е предложен како подобар во оценка на хиперандрогенизмот, со помали преклопувања со нормалните вредности.⁷⁷ Кај нашата популација на жени со полицистичен оваријален синдром утврдивме значително повисоки вредности за вкупен тестостерон, андростенедион и дехидроепиандростерон сулфат наспроти контролната група, како и повисоки вредности на калкулираниот слободен андроген индекс и пониски вредности на SHBG, што е во контекст со гореспоменатите опсервации. Средните вредности на тестостерон беа благо покачени над нормалните вредности ($2,19 \pm 0,70$ ng/ml), со покачени вредности утврдени кај 55 % од пациентките, а кога направивме поданализа на вредностите на вкупен тестостерон во групите со хиперинсулинемичен и нормоинсулинемичен PCOS не утврдивме разлика во средните вредности на вкупен тестостерон помеѓу групите. Наспроти ова, слободниот андроген индекс покажа супериорност во однос на вкупниот тестостерон во идентификацијата на пациентки со хиперандрогенизам (AUC-ROC = 0,910 наспроти AUC-ROC = 0,899), а поданализата покажа и статистички сигнификантна разлика помеѓу средните вредности на FAI во групата со хиперинсулинемичен полицистичен оваријален синдром ($10,14 \pm 8,30$)

наспроти групата со нормоинсулинемичен полицистичен оваријален синдром ($5,55 \pm 2,75$), што го објаснивме со фактот што во групата со хиперинсулинемија имаше и статистички сигнификантно пониски вредности на SHBG во однос на групата со нормоинсулинемија, како резултат на инсулинската резистенција во групата. Андростенедионот беше покачен кај 40 % од нашите пациентки, а благо покачена вредност на DHEAS утврдивме кај 18 % од пациентките со PCOS.

Нашите резултати се во согласност со најголемиот број на студии кои ја евалуирале сензитивноста и специфичноста на слободниот андроген индекс како маркер на хиперандрогенемијата и неговата асоцијација со показателите на инсулинска резистенција, како што е студијата на Cupisti et al.⁷⁸ кои известуваат дека кај обезните пациентки со PCOS опсервирале сигнификантно повисоки вредности на FAI и пониски вредности на SHBG. Во поткрепа на нашите резултати се и резултатите од студијата на Meuller et al.⁷⁹ кои нашле дека калкулираниот FAI и биорасположливиот тестостерон се поадекватни маркери за оцена на хиперандрогенемијата отколку плазматските нивоа на вкупен тестостерон, слободен тестостерон, дихидротестостерон, дехидроепиандростенедион и SHBG, поединечно. За оцена на хиперандрогенемијата се потребни прецизни биохемиски маркери. Слободниот тестостерон е најсензитивен тест за хиперандрогенемија кај жени со полицистичен оваријален синдром,⁷ но директните биохемиски одредувања на слободниот тестостерон даваат често недоверливи податоци, па затоа е поадекватно да се калкулира слободниот тестостерон со користење на вредностите на вкупен тестостерон и секс-хормон врзувачкиот глобулин, како што потенцираа и Rosner et al.⁸⁰ во заедничката изјава на ендокринолошкото здружение (Endocrine Society Position Statement) за корисноста и недостатоците во биохемиското одредување на тестостерон.

7.3. Хипоталамично-хипофизно-оваријална оска кај PCOS

Бидејќи за оваријалната стероидогенеза е неопходна гонадотропинска стимулација, LH е клучен фактор за хиперандрогенемија кај полицистичниот оваријален синдром. Полицистичниот оваријален синдром е асоциран со нарушувања во реактивноста на хипоталамично-хипофизно-оваријалната оска кои ги карактеризира зголемена

фреквенција и амплитуда на лачење на гонадотропин-ослободувачкиот хормон (GnRH) и нарушена пулсатилна LH-секреција. FSH може да биде нормален или понизок, па овој релативен дефицит на FSH во однос на LH води до зголемување на LH/FSH-односот кај PCOS. Повисоките нивоа на LH индуцираат зголемена синтеза на андрогени во оваријалните тека клетки, кои од своја страна ја намалуваат осетливоста кон естрадиол и прогестерон на гонадотропните хипоталамични клетки, зајакнувајќи ја GnRH и LH-хиперсекрецијата.⁸¹ Во нашата група на опсервирани пациентки утврдивме значително повисоки плазматски концентрации на LH во групата со полицистичен оваријален синдром отколку во контролната група, наспроти слични вредности на FSH во двете групи. Вредностите на естрадиол беа исто така повисоки во групата со полицистичен оваријален синдром, но оваа разлика не достигна статистичка сигнификантност, иако вредноста на p беше гранична. Утврдивме и повисока вредност за калкулираниот LH/FSH-однос во групата со полицистичен оваријален синдром, а не беше утврдена разлика помеѓу вредностите на измерени плазматски концентрации на пролактин помеѓу групите. Поданализата на LH-вредностите во групите со хиперинсулинемичен и нормоинсулинемичен PCOS покажа дека кај пациентките со нормоинсулинемија вредностите на LH се сигнификантно повисоки во однос на вредностите на LH, како во групата со хиперинсулинемија така и во однос на контролната група. Во анализираниите податоци од литературата е покажано дека пациентките со PCOS со нормален BMI имаа повисоки вредности на LH отколку обезните пациентки со синдромот⁸², па овој наш наод можеме да го објасниме со поголемиот процент на обезни пациентки во PCOS HI-групата. Објаснување за овие пониски опсервирани LH-концентрации кај обезните пациентки е препишано на зголемените стапки на ароматизација на андрогените во естрогени, која се случува во периферното масно ткиво⁸², што резултира со супресија на LH.

Во групата со PCOS утврдивме повисок LH/FSH-однос кај 30 % од пациентките, додека кај контролната група имаше нормални вредности на LH/FSH-односот, што укажува на постоење на нарушувања во реактивноста на хипоталамично-хипофизно-оваријалната оска кај PCOS. Во литературата, некои автори нашле изменет LH/FSH-однос кај поголем процент од пациентките со PCOS, како што се анализите на Bizackaya et al.⁸³ кои утврдиле повисок LH/FSH-однос кај 45,4 % од пациентките со PCOS и разлики

помеѓу групите со нормален и покачен LH/FSH-однос во индексот на телесна маса, серумскиот инсулин и плазматските концентрации на LH, но овие автори земале вредност на LH/FSH > 2 како референтна. Сепак, покачениот LH/FSH-однос не е карактеристичен и не се сретнува кај сите жени со PCOS, што укажува дека абнормалната гонадотропинска секреција е повеќе резултат, отколку причина, на оваријалната дисфункција⁷ и дека сепак оваријалниот хиперандрогенизам игра клучна улога во развојот и прогресијата на синдромот. Затоа нашата анализа повеќе ја насочивме кон иследување на оваријалните дефекти во стероидогенезата и улогата АМН во овој процес.

7.4. Антимилеријановиот хормон како дијагностички критериум кај PCOS

Кај полицистичниот оваријален синдром постои нарушување на неколку од физиолошките случувања во нормалниот оваријален циклус што резултира со нарушена фоликулогенеза. Во нормалниот оваријален циклус, АМН кој се лачи од гранулоза клетките, покажува најголема експресија кај малите антрални фоликули и прави моќна инхибиција на иницијацијата на примордијалната фоликула и нејзината осетливост кон FSH.³³ Секрецијата на АМН прогресивно опаѓа со растењето на фоликулата и потребна е помала стимулација од страна на АМН за да настане транзиција на примордијалната фоликула во примарна, како и за понатамошната селекција на доминантна фоликула под дејство на FSH и прогресија кон овулација.⁸⁴ Полицистичниот оваријален синдром се карактеризира со зголемен број преантрални и мали антрални фоликули, токму оние кои произведуваат АМН.^{85,86} Повисоките серумски концентрации на антимилеријановиот хормон кај полицистичниот оваријален синдром се директен одраз на зголемениот број на рани антрални фоликули и се најдени и кај овулаторните и кај неовулаторните PCOS-фенотипови.²⁸ За овие високи нивоа на АМН, иницијално се сметаше дека се само резултат на зголемениот број на преантрални и мали антрални фоликули кај синдромот, но подоцнежните ин витро истражувања покажаа дека АМН најверојатно има битна улога и во фоликуларната дисфункција. Испитувањата правени на култивирани серии на гранулоза клетки покажаа 75 пати повисока продукција на АМН од гранулоза клетките кај ановулаторниот PCOS-фенотип и 20 пати повисока продукција на АМН кај

нормоовулаторниот PCOS-фенотип во споредба со гранулоза-клетките во нормални овариуми.³³ Овој наод сугерира дека покачените серумски AMH-нивоа кај PCOS се исто така одраз на интринзична дисрегулација на гранулоза-клетката и имплицира инволвираност на AMH во овој процес, бидејќи на ниво на гранулоза-клетките е исто така утврдена и зголемена експресија на AMH-рецепторот.⁸⁷ Овие високи концентрации на AMH покажуваат негативна интеракција со FSH и го инхибираат дејството на FSH, преку супресија на ароматазата во гранулоза клетките³², што исто така укажува на улогата на AMH во интринзичната фоликуларна дисфункција.

Во нашата студија утврдивме значително повисоки вредности на AMH ($13,32 \pm 6,96$ ng/ml) во групата со полицистичен оваријален синдром, наспроти многу пониски вредности на AMH во контролната група на нормоовулаторни жени, каде што средната вредност на AMH изнесуваше $2,95 \pm 1,73$ ng/ml. Кај пациентките со полицистичен оваријален синдром, дури кај 81,9 % од пациентките беа утврдени 2 пати повисоки вредности на AMH, а кај 35 % од групата вредностите на AMH беа тројно повисоки. Овој наод е во согласност со повеќе претходни истражувања, каде што се утврдени сигнификантно повисоки вредности на AMH кај пациентките со PCOS во споредба со контролната популација.^{31,60,82,88} Поданализата на вредноста на AMH кај различните фенотипови на PCOS покажа дека највисоки вредности на AMH има кај фенотипот А, потоа кај фенотипот В и D. Најниска средна вредност на AMH утврдивме кај фенотипот С (нормоовулаторен PCOS), што укажува дека кај пациентките со потешка форма на PCOS и вредностите на AMH се повисоки, како и дека пациентките со PCOS кои немаат клинички манифестна овулаторна дисфункција имаат најниски вредности на AMH. И други автори соопштуваат дека концентрациите на серумскиот AMH корелираат со тежината на симптомите. Piuca et al.⁸² утврдил повисоки серумски концентрации на AMH кај фенотипот А и В, наспроти сигнификантно пониски концентрации на AMH кај фенотипот С и D, додека Wiweko et al.⁶⁰ нашле сигнификантно повисоки нивоа на AMH кај фенотипот А наспроти фенотипот D. Сите овие согледувања потврдуваат дека вредностите на AMH се поврзани со тежината на клиничката експресија на полицистичниот оваријален синдром.

Познато е дека нивото на АМН опаѓа со возраста кај жените со нормоовулаторни циклуси, но кај жените со PCOS се следат многу пониски стапки на опаѓање на вредностите на АМН со возраста. Plitonen et al.⁸⁹ покажале дека серумските нивоа на АМН остануваат високи и во доцните репродуктивни години. И во нашата студија не утврдивме разлика во вредностите на АМН кај испитаничките на различна возраст. Нашите испитанички беа помлади, на средна возраст од $23,45 \pm 4,4$ години и во нашата испитувана популација немаше испитанички во четвртата перименопаузална декада. Вредностите на АМН беа слични во возрастната група под дваесет години, во групата помеѓу дваесет и триесет години и во групата помеѓу триесет и четириесет годишна возраст. Овие перманентно високи нивоа на АМН може да бидат интерпретирани како индикатор дека оваријалното стареење е забавено кај жените со PCOS, најверојатно како резултат на негативниот ефект на АМН врз регрутацијата на примордијалните фоликули.

Постои помал број студии кои го евалуирале влијанието на обезноста врз нивото на АМН. Студијата на Kriseman et al.⁹⁰ покажува дека кај обезните пациентки во постарата репродуктивна возраст, вредностите на АМН биле и до 65 % пониски во споредба со пациентките со нормална тежина на истата репродуктивна возраст. Во нашата студија утврдивме дека кај пациентките со нормален индекс на телесна тежина, вредностите на АМН се повисоки отколку вредностите на АМН кај натхранетите и обезните пациентки, но овие различни вредности не покажаа статистичка сигнификантност. Овие резултати не може да се споредат со резултатите од горната студија бидејќи во нашата испитувана група немаше пациентки од четвртата перименопаузална декада и не утврдивме корелација на вредноста на АМН со BMI. Постоенето на негативна корелација помеѓу АМН и BMI кое го утврдиле некои автори сè уште не е целосно објаснето. Предложени се три хипотези: а) обезноста може да влијае врз катаболизмот на АМН; б) обезноста може да го намали оваријалниот потенцијал и в) обезноста може да биде поврзана со оваријална дисфункција, но потребни се повеќе студии за да може дефинитивно да се евалуира влијанието на обезноста врз вредностите на АМН. Исто така, повисоките АМН-вредности кои ги опсервиравме кај пациентките со PCOS со нормален BMI може да се објаснат и со повисоките LH-вредности во оваа група. Pellat

et al.³³ во ин витро студија покажале дека додавање на LH во култури на гранулоза-клетки од жени со PCOS ја триплира продукцијата на AMH.

Концентрациите на AMH кај жени со PCOS корелираат независно и позитивно со тестостеронот и слободниот андроген индекс, како што е покажано во повеќе досегашни студии.^{28,31,91,92} Во нашата студија утврдивме позитивна корелација на вредностите на AMH со повеќе од хормоналните показатели за PCOS. Се утврди постоење на позитивна корелација на AMH со вредностите на LH, LH/FSH-односот, со вредностите на вкупен тестостерон и вредностите на слободниот андроген индекс, како и постоење на негативна корелација на вредностите на AMH со вредностите на FSH. Постоењето на корелација на AMH со маркерите за хиперандрогенизам укажува дека тој дава добар одраз на степенот на хиперандрогенизам кај пациентките со PCOS.

Досегашните студии демонстрираат контрадикторни резултати во однос на гонадотропинската регулација на AMH. Некои автори сметаат дека гонадотропините (посебно FSH) ја инхибираат серумската продукција на AMH во нормалните овариуми.⁹³ Pellat et al.³³ демонстрирале намалување на секрецијата на AMH од гранулоза-клетките на жени со PCOS при стимулација со FSH, додека овој ефект го немало кај гранулоза-клетките од нормални овариуми. Други автори пак соопштуваат дека кај нормалните овариуми постои негативен ефект на LH врз експресијата на AMH-рецепторите на фоликуларните клетки, додека кај PCOS овој ефект е изгубен.⁹⁴ Подоцнежните испитувања кои покажаа дека и естрадиолот влијае врз експресијата на AMH, можат да ги објаснат овие согледувања: во големите фоликули кај PCOS изостанува FSH-индуцираната продукција на естрадиол, па високите концентрации на AMH го нарушуваат преминот кон естрадиол секретирачка фоликула и водат до фоликуларен арест.⁹⁴ Корелацијата на AMH со LH и LH/FSH-односот која ја утврдивме кај нашите пациентки покажува дека пациентките кои имаат повисоки вредности на LH имаат и повисоки вредности на AMH и дека вредностите на AMH се повисоки кај оние пациентки кои имаат повисок LH/FSH-однос, што од своја страна покажува дека оваријалната дисфункција и оваријалниот хиперандрогенизам кои се рефлектираат на абнормалната гонадотропинска секреција се откриваат и со повисоките AMH-вредности. Негативната корелација на AMH со вредностите на FSH укажува дека

високите нивоа на АМН го инхибираат дејството на FSH на оваријално ниво (како што е претходно покажано преку супресија на ароматазата во гранулоза-клетките³²), што повторно укажува на улогата на АМН во интринзичната фоликуларна дисфункција.

Многу автори покажале позитивна корелација на АМН и со останатите клинички и ултрасонографски маркери асоцирани со PCOS. Воспоставена е и докажана тезата дека АМН може да биде маркер на бројот на преантрални фоликули кои не се прикажуваат на ултразвук, па корелацијата на АМН со оваријалниот волумен и со бројот на фоликули во овариумите е добар показател на оваријалната засегнатост кај PCOS.⁹¹ Во нашата студија утврдивме високо сигнификантна корелација на вредноста на АМН со времетраењето на менструалниот циклус, што покажува дека со зголемување на времетраењето на менструалниот циклус се зголемува и вредноста на АМН, и обратно, пократко времетраење на менструалниот циклус е асоцирано со пониски вредности на АМН, а тоа ни дава за право да утврдиме дека АМН е добар показател на тежината на менструалните нарушувања кај жените со PCOS.

Кај нашата испитувана популација со PCOS не утврдивме асоцијација на вредностите на АМН со HOMA-IR-индексот на инсулинска резистенција кај пациентките со PCOS. Од маркерите на инсулинска резистенција единствено покажавме постоење на негативна корелација на вредностите на АМН со вредностите на базален инсулин. Во досегашните студии кои ја испитувале асоцијацијата на АМН со инсулинската резистенција (IR), поврзаноста на АМН со IR останува контроверзна. Некои автори известуваат за позитивна асоцијација,^{95,96} додека други не нашле никаква асоцијација^{31,82} во студиите во кои се користени индиректни маркери на инсулинска резистенција. Во студијата на Cassar et al.⁹⁷, каде што авторите користеле еугликемичен хиперинсулинемичен кламп за оцена на инсулинската резистенција, не била најдена асоцијација на АМН со вредностите IR оценети преку златниот стандард за дијагноза на IR. Бидејќи инсулинската резистенција ја поттикнува оваријалната андрогена продукција, постоењето на асоцијација помеѓу IR и АМН за кое известуваат некои автори може да биде одраз на индиректна регулација преку андрогените. Нашиот наод на негативна асоцијација со базалните инсулински нивоа може да укаже на постоење

на некој фактор секретирани од адипозното ткиво, кој би имал улога во надолната регулација на АМН, но за ова се потребни понатамошни студии.

Одредувањето на плазматските вредности на АМН се покажа како одличен дијагностички модалитет за полицистичниот оваријален синдром, со висока сензитивност и специфичност. AUC-ROC-вредноста за АМН во дијагноза на PCOS изнесуваше 0,961 (95 % CI 0,926-0,996), што го класифицира дијагностичкиот потенцијал на АМН како многу висок. Оптимална сензитивност и специфичност на методот се постигна при вредности на АМН од 4,7 ng/ml, при кој утврдивме висока сензитивност и специфичност на методот, со сензитивност од 90,0 % и специфичност од 90,3 %, позитивна предиктивна вредност од 94,7 % и негативна предиктивна вредност од 82,4 %. При оваа пресечна вредност 90 % од пациентките со PCOS (сензитивност) и 90,32 % од пациентките без PCOS (специфичност) ќе бидат точно идентификувани. Од сите клинички и хормонски показатели на PCOS кои беа идентификувани со мултипната регресиона анализа, АМН покажа највисока сензитивност и специфичност, со поданализа на AUC-ROC-вредностите.

Нашите резултати се во согласност со повеќе светски студии. Cassar et al.⁹⁷ утврдиле сензитивност на АМН во детекција на PCOS од 79 %, со специфичност од 82 % при пресечна вредност на АМН од 30 pmol/l. Pigny et al.⁹⁸ утврдиле сензитивност на АМН од 92 %, наспроти специфичност од 67 %. Lin et al.⁹⁹ утврдиле сензитивност од 70 % со специфичност од 76 % при пресечна вредност на АМН од 7,3 ng/ml. Wiweko et al.⁶⁰ утврдиле 76,1 % специфичност и сензитивност од 74,6 % при пресечна вредност на АМН од 4,45 ng/ml. Различната сензитивност и специфичност добиена во различните студии се должи на разликите во испитуваните популации и застапеноста на различен процент на PCOS-фенотипови во испитуваните кохорти.

Одредувањето на плазматскиот АМН има многу предности во однос на другите маркери на оваријална резерва. Прво, плазматските нивоа на АМН не покажуваат интерциклусни варијации и се доста стабилни од еден до друг менструален циклус, бидејќи доминантната фоликула и корпус лутеум не секретираат АМН.¹⁰⁰ Второ, серумскиот АМН е мошне корисен во услови кога ултрасонографска проценка не е

можна или кога ултрасонографските карактеристики се непрецизни, како кај обезни пациентки или кај *virgo intacta*, поради потврдената корелација со бројот на антрални фоликули во овариумите.¹⁰¹ Исто така, серумските нивоа на АМН се независни од хипоталамо-хипофизната оска и не се утврдени модификации на вредноста и покачени вредности на АМН при различни хипоталамо-хипофизни нарушувања, како кај хиперпролактинемија, функционална хипоталамична аменореја или кај некомплетен хипогонадотропен хипогонадизам.¹⁰²

Со оглед на длабоката инволвираност на АМН во патофизиологијата на PCOS, некои автори сметаат дека одредувањето на серумскиот АМН би можело да биде иден „златен стандард“ во дијагнозата на PCOS, но сепак се потребни поголеми рандомизирани студии за да се направи ваква дијагностичка транзиција. Во научниот став за дијагностички критериуми, епидемиологија, патофизиологија и молекуларни механизми на полицистичниот оваријален синдром на Ендокринолошкото здружение (Endocrine Society),⁷ публикуван во 2015 година, истакнато е дека серумскиот антимиљеријанов хормон (АМН) има потенцијал за можен сурогат маркер за PCOS, но потребни се повеќе студии за попрецизно утврдување на вредностите кои би можеле да направат дистинкција помеѓу различните фенотипови на PCOS.

7.5. Инсулинска резистенција и хиперинсулинемија кај PCOS

Инсулинската резистенција, дефинирана како намалена сензитивност или намален одговор кон метаболната активност на инсулинот, која резултира со хиперинсулинемија е клучна во патогенезата на PCOS. Преваленцијата на инсулинската резистенција кај пациентки со полицистичен оваријален синдром е апроксимативно 50-60 %, споредбено со 10-25 % во општата популација.⁴⁸ Кај пациентките со PCOS е покажано присуство на базална хиперинсулинемија, како и на хиперинсулинемија стимулирана од гликоза.⁹ Нотирана е сигнификантна позитивна линеарна корелација помеѓу инсулинските и андрогените концентрации,⁹ од што стана јасно дека една од централните улоги во патогенезата на PCOS игра хиперинсулинемијата. Контроверзно е сè уште дали хиперинсулинемичната состојба стимулира ексцесивна оваријална продукција на андрогени или дали хроничното хиперандрогено милје промовира

инсулинска резистенција. Повеќе автори покажале дека кај 60-70 % од жените со полицистичен оваријален синдром има хиперинсулинемија која е независна од обезноста.^{40,103} И покрај обезноста, која е присутна кај повеќе од половина од пациентките, кај полицистичниот оваријален синдром е демонстрирана и намалена инсулин-стимулирана утилизација на глюкозата независна од телесната маса.⁴⁶

Во нашата студија хиперинсулинемија беше утврдена кај 70,37 % од пациентките со PCOS, но не е исклучено дека оваа висока преваленција се должи на основната поставеност на студијата чија цел беше испитување на маркерите на инсулинска резистенција кај хиперинсулинемичниот полицистичен оваријален синдром. На ниво на консекутивната група на пациентки со PCOS (n = 60), хиперинсулинемија беше утврдена кај 50,8 % од испитаничките.

Групите со нормоинсулинемија и со хиперинсулинемија се разликуваа во однос на добиените вредности за индексот на телесна маса, со повисоки утврдени вредности на BMI во групата со хиперинсулинемичен PCOS (PCOS HI), наспроти пониски утврдени вредности за BMI во групата со нормоинсулинемичен PCOS (PCOS NI) и контролната група. Подеталната анализа на индексот на телесна маса во PCOS HI-групата покажа дека само 25 % од испитаничките се со нормален BMI, 34,22 % се натхранети, а обезни се 40,78 % проценти од пациентките со хиперинсулинемичен PCOS. Наспроти ова, нормална вредност на BMI имаше кај 68,75 % од пациентките со нормоинсулинемичен PCOS, натхранети беа 18,75 %, а обезни беа 12,5 % од испитаничките. Репродуктивните абнормалности се почести кај обезните жени, независно од дијагнозата на PCOS и студиите покажале дека релативниот ризик за ановулаторен инфертилитет расте со порастот на BMI.²² Кај обезните пациентки е покажана и покачена продукција на андрогени кај жените со центрипетална обезност.¹⁰⁴ Ова е во прилог на нашите резултати што го поткрепивме со фактот дека во групата со нормоинсулинемија, наспроти пониската застапеност на обезност во групата, 46,87 % од испитаничките имаа однос струк/колк > 0,85. Повеќе автори нашле дека обезноста е фактор кој значително придонесува за засилување на различните аспекти на PCOS, посебно поради редукција на нивото на SHBG која е покажана кај обезните пациентки, која влијае врз покаченото ниво на биорасположиви андрогени.^{38,45,50,97}

Анализата на податоците од нашата студија го потврди веќе опсервираното дека инсулинската резистенција не е карактеристика само на обезните пациентки со PCOS, туку дека инсулинска резистенција се сретнува и кај слаби пациентки со PCOS, што ни дава за право да заклучиме дека хиперинсулинемијата е директно инволвирана во патофизиолошките механизми кај PCOS, независно од обезноста. Сепак, во групата на пациентки со нормален BMI, 56 % имаа нормоинсулинемија, а 44 % имаа базална и/или стимулирана хиперинсулинемија во тек на OGTT. Наспроти ова, кај натхранетите пациентки беше утврдена нормоинсулинемија само кај 25 % од пациентките, додека 75 % од пациентките имаа базална и/или стимулирана хиперинсулинемија во тек на OGTT. Во групата на обезни пациентки имаше најмал процент на испитанички со нормоинсулинемија (8,6 %), наспроти 91,4 % со базална и/или стимулирана хиперинсулинемија, што укажува на фактот дека кај натхранетите и обезни пациентки со PCOS почесто се сретнува хиперинсулинемија. Овој наод исто така го поткрепува претходно опсервираното, дека обезноста е фактор кој значително придонесува за засилување на различните аспекти на PCOS.

Инсулинската резистенција придонесува за зголемен ризик од развој на нарушена глюкозна толеранција и тип 2 дијабетес мелитус кај пациентки со PCOS. Според различни автори 10-40 % од пациентките со PCOS имаат некаков степен на нарушена јаглехидратна толеранција, а кај 1,5-7,5 % се дијагностицира тип 2 дијабетес веќе во време на откривање на синдромот.^{41,62,105,106} Во нашата група на испитанички, со анализа на вредностите добиени во тек на оралниот гликоза толеранс тест, во групата со PCOS докажавме присуство на нарушена гликемија на гладно кај 15 % од пациентките, нарушена јаглехидратна толеранција кај 8 % од испитаничките, а кај 4 % беше дијагностициран дијабетес мелитус во време на дијагностицирање на PCOS. Кај пациентките со хиперинсулинемичен PCOS беше утврден потежок и подлабок степен на нарушување во јаглехидратниот метаболизам. Вкупно 17 % проценти од испитаничките со хиперинсулинемичен PCOS имаа некаков степен на нарушен глюкозен метаболизам, и тоа, кај 3,9 % беше утврден тип 2 дијабетес, нарушена јаглехидратна толеранција имаа 9,2 % од пациентките, а 3,9 % од пациентките имаа нарушена гликемија на гладно. Наспроти ова, во групата со нормоинсулинемичен PCOS имаше

само наод на нарушена гликемија на гладно, кој го утврдивме кај 15,6 % од испитаничките. Нашите податоци се во прилог на фактот дека хиперинсулинемијата кај пациентките со PCOS е асоцирана со потешки нарушувања во глукозната хомеостаза.

Во 2011 година, Pesant et al.¹⁰⁷ и соработниците објавија дека во тек на три години следење, дури 25 % од жените со PCOS кои имале нормален глукозен метаболизам ќе развијат некаков степен на абнормалност во глукозниот метаболизам. Во нашата студија покажавме дека само нивото на гликемија на гладно не може да послужи како маркер на метаболно збиднување, бидејќи не постоеше клинички сигнификантна разлика во вредностите на базалната гликемија помеѓу групите со хиперинсулинемичен PCOS, нормоинсулинемичен PCOS и контролната група. Сепак, при анализата на гликемиските криви и кај пациентките со PCOS со нормален индекс на телесна маса, а уште попотенцирано кај натхранетите и обезните пациентки со PCOS беа нотирани повисоки постпрандијални гликемиски екскурзии, посебно на првиот час во тек на OGTT. Овие изменети гликемиски криви беа најмаркантни кај групата на испитанички со хиперинсулинемичен полицистичен оваријален синдром, кај кои беа опсервирани пониски вредности на гликемија кај пациентките со нормален BMI, повисоки гликемиски вредности кај натхранетите и највисоки гликемиски вредности кај обезните пациентки. Кај натхранетите пациентки повисоки беа гликемиите на 120-та минута, а кај обезните пациентки постоеше и базална хипергликемија и хипергликемија во тек на OGTT на 120-та минута, со затапена гликемска крива кај овие пациентки, што ги става пациентките со повисок BMI и хиперинсулинемија во група со повисок ризик да развијат некаков степен на јаглехирадратна интолеранција.

Хиперинсулинемијата стимулира промени во липопротеинскиот метаболизам што води до алтериран липопротеински профил и зголемен ризик од коронарна артериска болест кај жените со PCOS. Резултатите на нашата студија покажуваат присуство на дислипидемија карактеристична за инсулинска резистенција (намален HDL и покачени триглицериди) кај пациентките со PCOS. Во групата со полицистичен оваријален синдром имаше статистички сигнификантно поголем процент на испитанички со покачени серумски концентрации на триглицериди, како и поголем процент на пациентки со пониска вредност на HDL-холестерол во споредба со контролната група.

Кај 7 % од испитаничките имаше класичен атероген тријас, со покачени триглицериди и LDL-холестерол и ниски вредности на HDL-холестерол, што покажува дека непосакуваните, проатерогени липидни профили се позастапени кај пациентките со PCOS, наспроти контролната група. Овие согледувања со во согласност со повеќето студии за липидниот профил кај пациентките со PCOS.^{108,109} Проатерогените липидни профили беа позастапени кај хиперинсулинемичните пациентки со PCOS, кај кои најчесто беше застапена асоцијација на покачен вкупен холестерол и покачен LDL-холестерол, наспроти застапеноста на абнормални липидни профили кај нормоинсулинемичните пациентки со PCOS, кај кои почесто беше опсервиран наод на низок HDL-холестерол. Кај пациентките со хиперинсулинемија утврдивме и повисоки вредности на вкупен холестерол, LDL-холестерол и триглицериди, наспроти испитаничките со нормоинсулинемичен PCOS, што ја потврдува асоцијацијата на хиперинсулинемијата со дислипидемијата кај PCOS. Кај групата испитанички со нормоинсулинемичен PCOS утврдивме повисоки вредности на вкупен холестерол и LDL-холестерол, но не и повисоки вредности на триглицериди во споредба со контролната група. Поданализата на различната застапеност на абнормални липидни фракции кај пациентките со различен BMI покажа дека обезноста ја влошува дислипидемијата кај жените со PCOS, првенствено преку намалените вредности на HDL-холестерол во групата на обезни жени со PCOS.

7.6. НОМА-IR како дијагностички критериум за инсулинска резистенција кај PCOS

НОМА-IR како дијагностички критериум за инсулинска резистенција е користен во повеќе студии кои ја испитувале инсулинската резистенција кај жени со PCOS.^{50,110–112} Европската групација за проучување на инсулинската резистенција (European Group for the Study of Insulin Resistance) ја користи пресечната вредност на НОМА-IR > 2 како индикатор на инсулинска резистенција или нарушена глумозна толеранција.¹¹³ Различни студии користат различни пресечни вредности за НОМА-IR поради разликите во дизајнот на самите студии, разликите во етничките групи, преваленцијата на обезност или центрипетална обезност во групите и различните фенотипови на PCOS кои биле испитувани. Во селектираните студии на НОМА-IR кај европската популација на жени со PCOS, исто така се сретнуваат различни пресечни вредности. Macut et al.¹⁰⁸

известува дека во српската популација на обезни пациентки со PCOS, средните вредности на HOMA-IR изнесувале 3,2. Alebic et al.¹¹¹ користи пресечна вредност за HOMA-IR од 3,15 за идентификација на инсулинска резистенција кај жените со PCOS во Хрватска, со која утврдил преваленција на инсулинска резистенција кај 9,3 % од необезните пациентки со PCOS, наспроти преваленција од 57 % кај обезните пациентки. Во студија на жени со PCOS во Бугарија, Gateva et al.¹¹⁴ ја користат вредноста на HOMA-IR повисока од 2 за идентификација на инсулинската резистенција.

Во нашата група на пациентки со хиперинсулинемичен полицистичен оваријален синдром утврдивме статистички високо значајна разлика во вредностите на HOMA-IR во соредба со контролната група со нормоинсулинемија. Во групата со хиперинсулинемичен полицистичен оваријален синдром, средната вредност на HOMA-IR беше $5,01 \pm 5,87$ наспроти многу пониски вредности на HOMA-IR во контролната група со нормоинсулинемија, каде што средната вредност на HOMA-IR изнесуваше $2,08 \pm 1,03$. Оваа вредност беше исто така повисока кај пациентките со хиперинсулинемичен PCOS наспроти пациентките со нормоинсулинемичен PCOS, каде што средната вредност на HOMA-IR беше $2,03 \pm 0,98$.

Одредувањето на HOMA-IR како дијагностички критериум за инсулинска резистенција кај нашата група на испитанички со PCOS се покажа како добар дијагностички модалитет. AUC-ROC вредноста за HOMA-IR во утврдување на хиперинсулинемија кај PCOS изнесуваше 0,830 (95 % CI 0,762-0,899). Оптимална сензитивност и специфичност на методот се постигна при вредноста на HOMA-IR од 2,5, со која се доби сензитивност на методот од 82,89 % во одредување на инсулинска резистенција кај PCOS, со специфичност од 85,90 %, позитивна предиктивна вредност од 85,14 % и негативна предиктивна вредност од 83,75 %. При оваа пресечна вредност 82,89 % од пациентките со PCOS со хиперинсулинемија и 85,90 % од испитаничките без хиперинсулинемија ќе бидат точно идентификувани.

Корелацијата на вредностите на HOMA-IR со стимулираните инсулински вредности, која ја опсервиравме во нашата студија, ја потврдува поставената хипотеза дека хомеостатскиот модел на инсулинска резистенција дава релевантен податок за

степенот на инсулинска резистенција, и покрај тоа што се базира само врз базалните гликемиски и инсулинемиски вредности. Апликабилноста на хомеостатскиот модел ја потврдува и високата сензитивност на овој метод од 82,89 % во одредување на хиперинсулинемија кај PCOS, со специфичност од 85,90 %, која ја утврдивме во тек на студијата. Нашите резултати корелираат со резултатите на Bonora et al.⁵⁵ од 2000 година, а кои го дефинираат методот како високо сензитивна и специфична (сензитивност 95 %, специфичност 84 % во споредба со хиперинсулинемичната-еугликемична кламп-техника). Нашите резултати ги поткрепуваат и потврдуваат резултатите од повеќе досегашни испитувања^{55,110-112} кои одат во прилог на воведување на HOMA-IR во клиничката практика како метод за дијагностицирање и евалуација на инсулинската резистенција. Дотолку повеќе што методот е брз и лесен за изведување, вклучува една венепункција и биохемиска анализа на параметрите, наспроти комплицираниот и скап хиперинсулинемичен-еугликемичен кламп.

8. ЗАКЛУЧОК

Преку реализирањето на поставените цели на студијата добивме одговор на неколку круцијални, досега неадресирани прашања во однос на маркерите за клиничка дијагностика на полицистичниот оваријален синдром кај популацијата на жени во репродуктивен период во нашава земја.

Во испитуваната македонска популација на жени со полицистичен оваријален синдром, најзастапен е фенотипот А, потоа фенотипот С, D и В. Слични преваленции на PCOS-фенотипови се утврдени и во соседните европски земји. Клиничките дијагностички знаци за хиперандрогенизам и олиго/ановулација даваат добра клиничка слика на ендогениот андроген вишок кај PCOS, но сами за себе не се доволни за дијагноза и ниту еден клинички знак сам за себе не е патогномоничен за состојбата. Од класичните хормонски параметри за дијагноза на полицистичниот оваријален синдром, слободниот андроген индекс е супериорен како дијагностички показател во однос на останатите хормонски маркери на хиперандрогенизам, а прави и дистинкција помеѓу пациентките со хиперинсулинемичен оваријален синдром и оние со нормоинсулинемичен оваријален синдром.

Вредностите на AMH се поврзани со тежината на клиничката експресија на полицистичниот оваријален синдром. Серумските концентрации на AMH се значително повисоки во групата со полицистичен оваријален синдром, а кај најголем процент на пациентките одредените вредности на AMH се двојно повисоки. Кај пациентките со потешка форма на PCOS и вредностите на AMH се повисоки, а пациентките со PCOS кои немаат клинички манифестна ановулација имаат најниски вредности на AMH. Одредувањето на плазматските вредности на AMH се покажа како одличен дијагностички модалитет за полицистичниот оваријален синдром, со висока сензитивности и специфичност. Оптимална сензитивност и специфичност на методот се постигна при пресечни вредности на AMH од 4,7 ng/ml, при која 90 % од пациентките со PCOS и 90,32 % од пациентките без PCOS ќе бидат точно идентификувани. Од сите клинички и хормонски показатели на PCOS кои беа идентификувани, AMH покажа највисока сензитивност и специфичност во однос на останатите. Постоенето на

корелација на AMH со маркерите за хиперандрогенизам укажува дека тој дава добар одраз на степенот на хиперандрогенизам кај пациентките со PCOS.

Инсулинската резистенција и последователната хиперинсулинемија е интринзична карактеристика на пациентките со полицистичен оваријален синдром и не се сретнува само кај обезните пациентки. Сепак, обезните пациентки со полицистичен оваријален синдром се подлабоко инсулин-резистентни и обезноста е фактор кој значително придонесува за засилување на различните метаболни аспекти на PCOS. Изменети гликемиски криви се најмаркантни кај групата на обезни пациентки со хиперинсулинемичен полицистичен оваријален синдром. Инсулинската резистенција придонесува за зголемен ризик од развој на нарушена глукозна толеранција и тип 2 дијабетес мелитус кај пациентките со PCOS. Кај пациентките со хиперинсулинемичен PCOS се утврди потежок и подлабок степен на нарушувања во јаглехидратниот метаболизам. Дислипидемија карактеристична за инсулинска резистенција е почесто присутна кај пациентките со PCOS, што резултира со повисок кардиоваскуларен ризик кај овие пациентки.

Одредувањето на HOMA-IR како дијагностички критериум за инсулинска резистенција кај полицистичниот оваријален синдром се покажа како добар дијагностички модалитет. Оптимална сензитивност и специфичност на методот се постигна при вредноста на HOMA-IR од 2,5, при која 82,89 % од пациентките со PCOS со хиперинсулинемија и 85,90 % од испитаничките без хиперинсулинемија ќе бидат точно идентификувани. Корелацијата на вредностите на HOMA-IR со стимулираните инсулински вредности, која ја опсервиравме во нашата студија, ја потврдува поставената хипотеза дека хомеостатскиот модел на инсулинска резистенција дава релевантен податок за степенот на инсулинска резистенција, што отвора можност за клиничка примена на HOMA-IR како параметар на инсулинската резистенција кај жени со PCOS.

9. ЛИТЕРАТУРА

1. Slowey MJ. Polycystic ovary syndrome: new perspective on an old problem. *South Med J*. 2001;94(2):190-196.
2. Franks S. Polycystic Ovary Syndrome. *N Engl J Med*. 1995;333(13):853-861.
3. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2004;81(1):19-25.
4. Dunaif A, Thomas A. Current concepts in the polycystic ovary syndrome. *Annu Rev Med*. 2001;52:401-419.
5. Крстевска Б. Хипоталамо-хипофизна-адренална и оваријална ооска кај хирзутизам. *Универзитет "Св Кирил и Методиј."* 1997.
6. Norman RJ, Dewailly D, Legro RS, Hickey TE. Polycystic ovary syndrome. *Lancet (London, England)*. 2007;370(9588):685-697.
7. Dumesic DA, Oberfield SE, Stener-Victorin E, Marshall JC, Laven JS, Legro RS. Scientific Statement on the Diagnostic Criteria, Epidemiology, Pathophysiology, and Molecular Genetics of Polycystic Ovary Syndrome. *Endocr Rev*. 2015;36(5):487-525.
8. Burt Solorzano CM, Beller JP, Abshire MY, Collins JS, McCartney CR, Marshall JC. Neuroendocrine dysfunction in polycystic ovary syndrome. *Steroids*. 2012;77(4):332-337.
9. Burghen GA, Givens JR, Kitabchi AE. Correlation of hyperandrogenism with hyperinsulinism in polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 1980;50(1):113-116.
10. Wild RA, Carmina E, Diamanti-Kandarakis E, 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(5):2038-2049.
11. Stein I, Leventhal M. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *Am J Obstet Gynecol*. 1935;29:181-191.
12. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, et al. The Androgen Excess and PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report. *Fertil Steril*. 2009;91(2):456-488.
13. Gardner DG, Shoback DM, Greenspan FS. Greenspan's basic & clinical endocrinology. 2011.
14. Campo S. Ovulatory cycles, pregnancy outcome and complications after surgical treatment of polycystic ovary syndrome. *Obs Gynecol Surv*. 1998;53:297-308.
15. Legro R. Polycystic ovary syndrome: current and future treatment paradigms. *Am J Obstet Gynecol*. 1998;179:101-108.
16. Caglar GS, Kahyaoglu I, Pabuccu R, Demirtas S, Seker R. Anti-Mullerian hormone and insulin resistance in classic phenotype lean PCOS. *Arch Gynecol Obstet*. 2013;288(4):905-910.
17. Utiger R. Insulin and the Polycystic Ovary Syndrome. *N Engl J Med*. 1996;335:657-658.
18. Richards JS. Hormonal control of gene expression in the ovary. *Endocr Rev*. 1994;15:725-751.
19. Nestler JE, Jakubowicz DJ. Lean Women with Polycystic Ovary Syndrome Respond to Insulin Reduction with Decreases in Ovarian P450c17 α Activity and Serum Androgens. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(12):4075-4079.
20. 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(3):322-353.

21. Franks S, Gilling-Smith C, Watson H, Willis D. Insulin action in the normal and polycystic ovary. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 1999;28(2):361-378.
22. Poretsky L, Kalin MF. The gonadotropic function of insulin. *Endocr Rev*. 1987;8(2):132-141.
23. Voutilainen R, Franks S, Mason HD, Martikainen H. Expression of insulin-like growth factor (IGF), IGF-binding protein, and IGF receptor messenger ribonucleic acids in normal and polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81(3):1003-1008.
24. Cate RL, Mattaliano RJ, Hession C, et al. Isolation of the bovine and human genes for Mullerian inhibiting substance and expression of the human gene in animal cells. *Cell*. 1986;45(5):685-698.
25. Rice S, Ojha K, Whitehead S, Mason H. Stage-specific expression of androgen receptor, follicle-stimulating hormone receptor, and anti-Mullerian hormone type II receptor in single, isolated, human preantral follicles: relevance to polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(3):1034-1040.
26. Lee MM, Donahoe PK, Hasegawa T, et al. Mullerian inhibiting substance in humans: normal levels from infancy to adulthood. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81(2):571-576.
27. Kevenaar ME, Meerasahib MF, Kramer P, et al. Serum anti-Mullerian hormone levels reflect the size of the primordial follicle pool in mice. *Endocrinology*. 2006;147(7):3228-3234.
28. Broer SL, Broekmans FJM, Laven JSE, Fauser BCJM. Anti-Mullerian hormone: ovarian reserve testing and its potential clinical implications. *Hum Reprod Update*. 2014;20(5):688-701.
29. Rey RA, Belville C, Nihoul-Fekete C, et al. Evaluation of gonadal function in 107 intersex patients by means of serum antimullerian hormone measurement. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84(2):627-631.
30. Visser J a, de Jong FH, Laven JSE, Themmen APN. Anti-Müllerian hormone: a new marker for ovarian function. *Reproduction*. 2006;131(1):1-9.
31. Pigny P, Merlen E, Robert Y, et al. Elevated serum level of anti-mullerian hormone in patients with polycystic ovary syndrome: relationship to the ovarian follicle excess and to the follicular arrest. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(12):5957-5962.
32. Grossman MP, Nakajima ST, Fallat ME, Siow Y. Mullerian-inhibiting substance inhibits cytochrome P450 aromatase activity in human granulosa lutein cell culture. *Fertil Steril*. 2008;89(5 Suppl):1364-1370.
33. Pellatt L, Hanna L, Brincat M, et al. Granulosa cell production of anti-Mullerian hormone is increased in polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(1):240-245.
34. Archard C, Thiers J. Le virilisme pileux et son association a l'insuffisance glycolytique (diabetes des femmes a barbe). *Bull Acad Natl Med*. 1921;86:51-64.
35. Kierland RR. Acanthosis Nigricans: An Analysis of Data in Twenty-Two Cases and A Study of its Frequency in Necropsy Material. *J Invest Dermatol*. 1947;9(6):299-305.
36. Barbieri RL, Makris A, Randall RW, Daniels G, Kistner RW, Ryan KJ. Insulin stimulates androgen accumulation in incubations of ovarian stroma obtained from women with hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab*. 1986;62(5):904-910.
37. Prelevic GM, Wurzbarger MI, Balint-Peric L. LH pulsatility and response to a single s.c. injection of buserelin in polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol*. 1990;4(1):1-13.
38. Nestler JE, Powers LP, Matt DW, et al. A direct effect of hyperinsulinemia on serum sex hormone-binding globulin levels in obese women with the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 1991;72(1):83-89.

39. Futterweit W. Polycystic ovary syndrome: clinical perspectives and management. *Obstet Gynecol Surv.* 1999;54(6):403-413.
40. Dunaif A, Graf M, Mandeli J, Laumas V, Dobrjansky A. Characterization of groups of hyperandrogenic women with acanthosis nigricans, impaired glucose tolerance, and/or hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 1987;65(3):499-507.
41. Harris MI, Hadden WC, Knowler WC, Bennett PH. Prevalence of diabetes and impaired glucose tolerance and plasma glucose levels in U.S. population aged 20-74 yr. *Diabetes.* 1987;36(4):523-534.
42. Cheatham B, Kahn CR. Insulin action and the insulin signaling network. *Endocr Rev.* 1995;16(2):117-142.
43. Kahn CR. The molecular mechanism of insulin action. *Annu Rev Med.* 1985;36:429-451.
44. Kruszynska YT, Olefsky JM. Cellular and molecular mechanisms of non-insulin dependent diabetes mellitus. *J Investig Med.* 1996;44(8):413-428.
45. Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-alpha- and obesity-induced insulin resistance. *Science.* 1996;271(5249):665-668.
46. Ciaraldi TP, el-Roeiy A, Madar Z, Reichart D, Olefsky JM, Yen SS. Cellular mechanisms of insulin resistance in polycystic ovarian syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992;75(2):577-583.
47. Ciaraldi TP, Morales AJ, Hickman MG, Odom-Ford R, Olefsky JM, Yen SS. Cellular insulin resistance in adipocytes from obese polycystic ovary syndrome subjects involves adenosine modulation of insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82(5):1421-1425.
48. Rosenbaum D, Haber RS, Dunaif A. Insulin resistance in polycystic ovary syndrome: decreased expression of GLUT-4 glucose transporters in adipocytes. *Am J Physiol.* 1993;264(2 Pt 1):E197-202.
49. Dunaif A, Xia J, Book CB, Schenker E, Tang Z. Excessive insulin receptor serine phosphorylation in cultured fibroblasts and in skeletal muscle. A potential mechanism for insulin resistance in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Invest.* 1995;96(2):801-810.
50. Norman R, Wu R, Stankiewicz MT. Polycystic ovary syndrome. *MJA Pract essentials.* 2004;180(February):132-137.
51. DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol.* 1979;237(3):E214-23.
52. Gouveia S, Ribeiro C, Paiva S, Carvalheiro M. Revista Portuguesa de Endocrinologia , Diabetes e Metabolismo. *Rev Port Endocrinol Diabetes e Metab.* 2014;7(2):28-35.
53. Sluiter WJ, Erkelens DW, Terpstra P, Reitsma WD, Doorenbos H. Glucose tolerance and insulin release, a mathematical approach. II. Approximation of the peripheral insulin resistance after oral glucose loading. *Diabetes.* 1976;25(4):245-249.
54. Emoto M, Nishizawa Y, Maekawa K, et al. Homeostasis model assessment as a clinical index of insulin resistance in type 2 diabetic patients treated with sulfonylureas. *Diabetes Care.* 1999;22(5):818-822.
55. Bonora E, Targher G, Alberiche M, et al. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity: studies in subjects with various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivity. *Diabetes Care.* 2000;23(1):57-63.
56. Katsuki A, Sumida Y, Gabazza EC, et al. Homeostasis model assessment is a reliable indicator of insulin resistance during follow-up of patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2001;24(2):362-365.

57. Legro RS, Finegood D, Dunaif A. A fasting glucose to insulin ratio is a useful measure of insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83(8):2694-2698.
58. Pehlivanov B, Orbetzova M. Characteristics of different phenotypes of polycystic ovary syndrome in a Bulgarian population. *Gynecol Endocrinol.* 2007;23(10):604-609.
59. Diamanti-Kandarakis E, Panidis D. Unravelling the phenotypic map of polycystic ovary syndrome (PCOS): a prospective study of 634 women with PCOS. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2007;67(5):735-742.
60. Wiweko B, Maidarti M, Priangga MD, et al. Anti-mullerian hormone as a diagnostic and prognostic tool for PCOS patients. *J Assist Reprod Genet.* 2014;31(10):1311-1316.
61. Sirmans SM, Pate KA. Epidemiology, diagnosis, and management of polycystic ovary syndrome. *Clin Epidemiol.* 2014;6:1-13.
62. Futterweit W, Diamanti-Kandarakis E, Azziz R. Clinical Features of the Polycystic Ovary Syndrome.
63. Rosenfield RL. 9 Pilosebaceous physiology in relation to hirsutism and acne. *Clin Endocrinol Metab.* 1986;15(2):341-362.
64. Conway GS, Honour JW, Jacobs HS. Heterogeneity of the polycystic ovary syndrome: clinical, endocrine and ultrasound features in 556 patients. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1989;30(4):459-470.
65. Lowenstein EJ. Diagnosis and management of the dermatologic manifestations of the polycystic ovary syndrome. *Dermatol Ther.* 2006;19(4):210-223.
66. Azziz R, Sanchez LA, Knochenhauer ES, et al. Androgen excess in women: experience with over 1000 consecutive patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(2):453-462.
67. GOLDZIEHER JW, AXELROD LR. CLINICAL AND BIOCHEMICAL FEATURES OF POLYCYSTIC OVARIAN DISEASE. *Fertil Steril.* 1963;14:631-653.
68. 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.*
69. Adams J, Polson DW, Franks S. Prevalence of polycystic ovaries in women with anovulation and idiopathic hirsutism. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1986;293(6543):355-359.
70. Hull MG. Epidemiology of infertility and polycystic ovarian disease: endocrinological and demographic studies. *Gynecol Endocrinol.* 1987;1(3):235-245.
71. FRANKS S, WHITE DM. Prevalence of and Etiological Factors in Polycystic Ovarian Syndrome. *Ann N Y Acad Sci.* 1993;687(1):112-114.
72. Nisenblat V, Norman RJ. Androgens and polycystic ovary syndrome. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2009;16(3):224-231.
73. Diamanti-Kandarakis E. Polycystic ovarian syndrome: pathophysiology, molecular aspects and clinical implications. *Expert Rev Mol Med.* 2008;10:e3.
74. Yildiz BO, Azziz R. The adrenal and polycystic ovary syndrome. *Rev Endocr Metab Disord.* 2007;8(4):331-342.
75. SOUTHREN AL, GORDON GG, TOCHIMOTO S, OLIVO J, SHERMAN DH, PINZON G. Testosterone and Androstenedione Metabolism in the Polycystic Ovary Syndrome: Studies of the Percentage Binding of Testosterone in Plasma. *J Clin Endocrinol Metab.* 1969;29(10):1356-1363.
76. Qu J, Wang Y, Wu X, Gao L, Hou L, Erkkola R. Insulin resistance directly contributes to androgenic potential within ovarian theca cells. *Fertil Steril.* 2009;91(5 Suppl):1990-1997.

77. Cho LW, Kilpatrick ES, Jayagopal V, Diver MJ, Atkin SL. Biological variation of total testosterone, free androgen index and bioavailable testosterone in polycystic ovarian syndrome: implications for identifying hyperandrogenaemia. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2008;68(3):390-394.
78. Cupisti S, Dittrich R, Binder H, et al. Influence of body mass index on measured and calculated androgen parameters in adult women with Hirsutism and PCOS. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2007;115(6):380-386.
79. Mueller A, Dittrich R, Cupisti S, Beckmann MW, Binder H. Is it necessary to measure free testosterone to assess hyperandrogenemia in women? The role of calculated free and bioavailable testosterone. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2006;114(4):182-187.
80. Rosner W, Auchus RJ, Azziz R, Sluss PM, Raff H. Position statement: Utility, limitations, and pitfalls in measuring testosterone: an Endocrine Society position statement. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(2):405-413.
81. Blank SK, McCartney CR, Chhabra S, et al. Modulation of gonadotropin-releasing hormone pulse generator sensitivity to progesterone inhibition in hyperandrogenic adolescent girls--implications for regulation of pubertal maturation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(7):2360-2366.
82. Piouka A, Farmakiotis D, Katsikis I, Macut D, Gerou S, Panidis D. Anti-Müllerian hormone levels reflect severity of PCOS but are negatively influenced by obesity: relationship with increased luteinizing hormone levels. *Am J Physiol - Endocrinol Metab*. 2009;296(2):E238 LP-E243.
83. Banaszewska B, Spaczynski RZ, Pelesz M, Pawelczyk L. Incidence of elevated LH/FSH ratio in polycystic ovary syndrome women with normo- and hyperinsulinemia. *Rocz Akad Med Bialymst*. 2003;48:131-134.
84. Karkanaki A, Vosnakis C, Panidis D. The clinical significance of anti-Mullerian hormone evaluation in gynecological endocrinology. *Hormones (Athens)*. 2011;10(2):95-103.
85. Weenen C, Laven JSE, Von Bergh ARM, et al. Anti-Mullerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. *Mol Hum Reprod*. 2004;10(2):77-83.
86. Bhide P, Dilgil M, Gudi A, Shah A, Akwaa C, Homburg R. Each small antral follicle in ovaries of women with polycystic ovary syndrome produces more antimullerian hormone than its counterpart in a normal ovary: an observational cross-sectional study. *Fertil Steril*. 2015;103(2):537-541.
87. Catteau-Jonard S, Jamin SP, Leclerc A, Gonzales J, Dewailly D, di Clemente N. Anti-Mullerian hormone, its receptor, FSH receptor, and androgen receptor genes are overexpressed by granulosa cells from stimulated follicles in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(11):4456-4461.
88. Aghadavod E, Zarghami N, Farzadi L, et al. Evaluation of relationship between serum levels of anti-mullerian hormone, androgen, and insulin resistant with retrieval oocytes in overweight patients with polycystic ovary syndrome. *Adv Biomed Res*. 2015;4:76.
89. Piltonen T, Morin-Papunen L, Koivunen R, Perheentupa A, Ruokonen A, Tapanainen JS. Serum anti-Müllerian hormone levels remain high until late reproductive age and decrease during metformin therapy in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod*. 2005;20(7):1820-1826.
90. Kriseman M, Mills C, Kovanci E, Sangi-Haghpeykar H, Gibbons W. Antimullerian hormone levels are inversely associated with body mass index (BMI) in women with polycystic ovary syndrome. *J Assist Reprod Genet*. 2015;32(9):1313-1316.

91. Laven JSE, Mulders AGMGJ, Visser JA, Themmen AP, De Jong FH, Fauser BCJM. Anti-Mullerian hormone serum concentrations in normoovulatory and anovulatory women of reproductive age. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(1):318-323.
92. Koninger A, Koch L, Edimiris P, et al. Anti-Mullerian Hormone: an indicator for the severity of polycystic ovarian syndrome. *Arch Gynecol Obstet.* 2014;290(5):1023-1030.
93. Panidis D, Katsikis I, Karkanaki A, Piouka A, Armeni AK, Georgopoulos NA. Serum anti-Mullerian hormone (AMH) levels are differentially modulated by both serum gonadotropins and not only by serum follicle stimulating hormone (FSH) levels. *Med Hypotheses.* 2011;77(4):649-653.
94. Pierre A, Peigne M, Grynberg M, et al. Loss of LH-induced down-regulation of anti-Mullerian hormone receptor expression may contribute to anovulation in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod.* 2013;28(3):762-769.
95. Skalba P, Cygal A, Madej P, et al. Is the plasma anti-Mullerian hormone (AMH) level associated with body weight and metabolic, and hormonal disturbances in women with and without polycystic ovary syndrome? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2011;158(2):254-259.
96. La Marca A, Orvieto R, Giulini S, Jasonni VM, Volpe A, De Leo V. Mullerian-inhibiting substance in women with polycystic ovary syndrome: relationship with hormonal and metabolic characteristics. *Fertil Steril.* 2004;82(4):970-972.
97. Cassar S, Teede HJ, Moran LJ, et al. Polycystic ovary syndrome and anti-Mullerian hormone: role of insulin resistance, androgens, obesity and gonadotrophins. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2014;81(6):899-906.
98. Pigny P, Jonard S, Robert Y, Dewailly D. Serum anti-Mullerian hormone as a surrogate for antral follicle count for definition of the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(3):941-945.
99. Lin Y-H, Chiu W-C, Wu C-H, Tzeng C-R, Hsu C-S, Hsu M-I. Antimullerian hormone and polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2011;96(1):230-235.
100. Dumont A, Robin G, Catteau-Jonard S, Dewailly D. Role of Anti-Müllerian Hormone in pathophysiology, diagnosis and treatment of Polycystic Ovary Syndrome: a review. *Reprod Biol Endocrinol.* 2015;13:137.
101. Dewailly D, Andersen CY, Balen A, et al. The physiology and clinical utility of anti-Mullerian hormone in women. *Hum Reprod Update.* 2014;20(3):370-385.
102. Tran ND, Cedars MI, Rosen MP. The role of anti-mullerian hormone (AMH) in assessing ovarian reserve. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(12):3609-3614.
103. Dunaif A, Segal KR, Futterweit W, Dobrjansky A. Profound peripheral insulin resistance, independent of obesity, in polycystic ovary syndrome. *Diabetes.* 1989;38(9):1165-1174.
104. Nardo LG, Yates AP, Roberts SA, Pemberton P, Laing I. The relationships between AMH, androgens, insulin resistance and basal ovarian follicular status in non-obese subfertile women with and without polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod.* 2009;24(11):2917-2923.
105. Book CB, Dunaif A. Selective insulin resistance in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(9):3110-3116.
106. Legro RS, Kunselman AR, Dodson WC, Dunaif A. Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: a prospective, controlled study in 254 affected women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(1):165-169.
107. Pesant M-H, Baillargeon J-P. Clinically useful predictors of conversion to abnormal glucose tolerance in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2011;95(1):210—215.

108. Macut D, Panidis D, Glisic B, et al. Lipid and lipoprotein profile in women with polycystic ovary syndrome. *Can J Physiol Pharmacol*. 2008;86(4):199-204.
109. Pirwany IR, Fleming R, Greer IA, Packard CJ, Sattar N. Lipids and lipoprotein subfractions in women with PCOS: relationship to metabolic and endocrine parameters. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2001;54(4):447-453.
110. Legro RS, Castracane VD, Kauffman RP. Detecting insulin resistance in polycystic ovary syndrome: purposes and pitfalls. *Obstet Gynecol Surv*. 2004;59(2):141-154.
111. Alebic MS, Bulum T, Stojanovic N, Duvnjak L. Definition of insulin resistance using the homeostasis model assessment (HOMA-IR) in IVF patients diagnosed with polycystic ovary syndrome (PCOS) according to the Rotterdam criteria. *Endocrine*. 2014;47(2):625-630.
112. Tziomalos K, Katsikis I, Papadakis E, Kandarakis EA, Macut D, Panidis D. Comparison of markers of insulin resistance and circulating androgens between women with polycystic ovary syndrome and women with metabolic syndrome. *Hum Reprod*. 2013;28(3):785-793.
113. Hills SA, Balkau B, Coppock SW, et al. The EGIR-RISC STUDY (The European group for the study of insulin resistance: relationship between insulin sensitivity and cardiovascular disease risk): I. Methodology and objectives. *Diabetologia*. 2004;47(3):566-570.
114. Gateva Antoaneta KZ. Cardiovascular Risk Factors in Bulgarian Patients with Polycystic Ovary Syndrome and/or Obesity. *Obstet Gynecol Int*. 2012;Volume 201(Article ID 306347).