

UNIVERZITET U BEOGRADU
MEDICINSKI FAKULTET

Ivana B. Božić Antić

**ANALIZA FENOTIPOVA SINDROMA
POLICISTIČNIH JAJNIKA I NJIHOV
UTICAJ NA METABOLIČKE PROMENE**

Doktorska disertacija

Beograd, 2016.

UNIVERSITY OF BELGRADE
MEDICAL FACULTY

Ivana B. Božić Antić

**ANALYSIS OF POLYCYSTIC OVARY
SYNDROME PHENOTYPES AND THEIR
IMPACT ON METABOLIC
DISTURBANCIES**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2016.

Mentor: Prof dr sci med Đuro Macut, vanredni Profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Članovi komisije:

1. Prof dr sci med Miloš Žarković, redovni Profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
2. Prof dr sci med Milan Petakov, vanredni Profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
3. Naučni saradik dr Danijela Vojnović Milutinović, molekularni biolog, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Univerzitet u Beogradu

Datum odbrane:

Izjave zahvalnosti

Mentoru, Prof dr Đ. Macutu za pomoć u odabiru teme, savete i sugestije

Kolegama sa Klinike za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma

Mojoj porodici, za bezrezervnu podršku i neizmerno strpljenje

Ivana B.Božić Antić

Posvećeno

Mojim roditeljima

Analiza fenotipova sindroma policističnih jajnika i njihov uticaj na metaboličke promene

Uvod: Sindrom policističnih jajnika (PCOS) je najčešća endokrinopatija kod žena u reproduktivnoj životnoj dobi. Zbog heterogenih kliničkih manifestacija sindroma, PCOS ima varijabilnu prevalencu, između 6% i 25% u različitim populacijama. Udružen je sa različitim reproduktivnim (hiperandrogenizam, menstrualna disfunkcija, infertilitet, spontani pobačaji u ranoj trudnoći, gestacioni dijabetes, hipertenzivni poremećaji u trudnoći, neonatalne komplikacije) i metaboličkim poremećajima (gojaznost, insulinska rezistencija-IR, oštećena tolerancija glukoze-IGT, dijabetes melitus tip 2-DMT2, hiperlipidemija, hipertenzija). Većina ovih metaboličkih poremećaja se obično manifestuje zajedno formirajući metabolički sindrom (MetS) koji predstavlja poznati faktor rizika za razvoj kardiovaskularnih bolesti (KVB). Po svemu sudeći IR je ključni faktor u etiologiji i metaboličkih ali i reproduktivnih komplikacija PCOS, ali i dalje nije jasno da li je IR intrinzična karakteristika PCOS ili samo posledica gojaznosti. Sa razvojem ESHRE/ASRM Roterdamskih kriterijuma za dijagnozu PCOS, pored ranije poznatih klasičnih fenotipova A (hiperandrogenizam-HA, anovulacija-ANOV i morfološki policistični jajnici prema ultrazvučnom nalazu-PCOM) i B (HA i ANOV), pojavila su se dva nova, ne-klasična fenotipa: C (HA i PCOM) i D (ANOV i PCOM). Iako postoji malo metodološki komplementarnih studija, često verifikovani diskretniji endokrinološki i metabolički poremećaji u ne-klasičnim fenotipovima su razlog kontinuirane debate stručne javnosti o tome da li ovi fenotipovi zaista mogu biti deo kompleksnog sindroma kao što je PCOS. Do sada postoje ograničena saznanja o relativnoj prevalenci kardiometaboličkih faktora rizika u različitim PCOS fenotipovima.

Cilj ovog istraživanja je analiza endokrinoloških i metaboličkih karakteristika četiri različita PCOS fenotipa u našoj populaciji.

Metodologija: Analizirali smo 365 žena sa PCOS (starosti: 25.48 ± 5.21 godina, indeksa telesne mase-BMI: 25.05 ± 6.24 kg/m²) i 125 zdravih žena (starosti: 30.35 ± 5.62 godina; BMI 24.50 ± 5.16 kg/m²). PCOS je dijagnostikovao pomoću ESHRE/ASRM kriterijumima, koji zahtevaju prisustvo najmanje dva od tri sledeća kriterijuma: ovulatorna disfunkcija,

hiperandrogenizam i morfološki policistični jajnici prema nalazu na ultrazvuku. Na taj način je PCOS grupa podeljena na 4 fenotipa: A (HA+ANOV+PCOM), B (HA+ANOV), C (HA+PCOM) and D (ANOV+PCOM). Svim ispitanicama su mereni obim struka (OS) i krvni pritisak kao i telesni sastav koji je određivan pomoću bioelektrične impedance. Uzorci krvi su vađeni u folikularnoj fazi menstrualnog ciklusa kod žena sa redovnim ciklusima, a kod žena sa neredovnim menstrualnim ciklusima nakon isključenja trudnoće. Kod svih žena su inicijalno uzimani uzorci za analiziranje glikemije našte, insulina, totalnog holesterola (TC), HDL, LDL, triglicerida (TG), apolipoproteina: A1, A2, B, E i Lp(a), mokraćne kiseline, FSH, LH, testosterona, SHBG, androstenediona, DHEAS, 17OH-progesterona, estradiola, kortizola, TSH, fT4, i prolaktina, a progesterona u lutealnoj fazi menstrualnog ciklusa kod žena sa redovnim menstrualnim ciklusima. Standardni dvočasovni OGTT je urađen kod svih ispitanica, dok je euglikemijski hiperinsulinemijski klamp (EHK) urađen kod 124 žene sa PCOS. Metabolički sindrom je dijagnostikovao pomoću NCEP-ATP III, IDF i Joint kriterijuma. Insulinska rezistencija je određivana direktno na osnovu rezultata dobijenih ih EHK, i indirektno pomoću rezultata analiza rađenih našte i tokom OGTT-a i to: HOMA-IR, QUICKI, površina ispod krive (AUC) za glukozu i insulin, ISSI-2, IGI, HIRI and $ISI_{Matsuda}$ indeksa. Lipidni akumulacioni produkt (LAP) izračunat pomoću formule $[(OS-58) \times TG]$ je testiran kao indikator IR i MetS. Sve statističke analize pri poređenju cele PCOS grupe i kontrolne grupe zdravih žena su rađene nakon ujednačavanja ispitanica prema godinama starosti, dok su poređenja između PCOS fenotipova i između fenotipova i kontrolne grupe rađena po ujednačavanju ispitanica prema godinama starosti i prema BMI.

Rezultati: Od ukupne populacije žena sa PCOS u našem istraživanju 57% je imalo fenotip A, 11% fenotip B, 22% fenotip C i 10% fenotip D. Postojale su značajne kvalitativne i kvantitativne razlike u smislu hiperandrogenemije u različitim PCOS fenotipovima. Naime, fenotipovi A i B su imali značajno više koncentracije ukupnog serumskog testosterona i androstenediona u odnosu na treći hiperandrogeni fenotip, fenotip C. Istovremeno, fenotipovi A i C su imali značajno više koncentracije DHEAS i jutarnjeg kortizol u poređenju sa fenotipovima B i D. Važna karakteristika svih PCOS fenotipova je značajno niža koncentracije SHBG, koja je pre svega i naročito u fenotipu D posledica visoke IR.

Inverzan odnos gonadotropina je bio karakteristika samo fenotipa A. Apsolutno visok sadržaj trbušnog masnog tkiva je prisutan kod svih hiperandrogenih fenotipova, dok fenotip D ima relativno visok sadržaj trbušnog masnog tkiva u poređenju zdravim ženama. Insulinska rezistencija je dominantno prisutna u fenotipovima A i B, međutim, i fenotipovi C i D imaju izvestan stepen IR, koja je obično veća u fenotipu D u odnosu na fenotip C. Univerzalna karakteristika svih fenotipova naše PCOS populacije je hipertrigliceridemija, sa istim nivoom triglicerida u različitim fenotipovima. Hiperandrogeni fenotipovi imaju i dodatne lipidne poremećaje kao što su hiperholesterolemija, visok non-HDL i odnos TG/HDL. Niske koncentracije HDL su bile prisutne u značajnom procentu svih ispitanica (uključujući i zdrave žene) i može biti karakteristika naše populacije uopšte. Prevalenca MetS je bila viša u PCOS grupi u odnosu na zdrave žene sličnih godina i BMI bez obzira na kriterijume koji su korišćeni: NCEP-ATP III (20.4% vs. 2.7%, $p < 0.001$), IDF (23.5% vs. 9.7%, $p = 0.002$) i Joint (24.1% vs. 9.5%, $p = 0.001$). Prevalenca MetS u fenotipovima A, B, C i D redom, prema NCEP-ATP III je bila: 22.3%, 28.3%, 18% i 6.9%, prema IDF: 25.3%, 34.1%, 21.3% i 7%, i prema Joint kriterijumima: 25.9%, 33.4%, 23.1% i 7.1%. Pri poređenju sa zdravim ženama sličnih godina, MetS je bio prevalentniji u fenotipovima A i B bez obzira na definiciju koja je korišćena za postavljanje dijagnoze. Istovremeno fenotipovi A i B su imali veću prevalencu MetS u odnosu na fenotip C prema IDF i Joint kriterijumima, ali ne i prema NCEP-ATP III kriterijumima. Obavezan kriterijum obima struka u IDF definiciji za MetS snižava prevalencu MetS u fenotipu C i rezultuje u sličnoj prevalenci MetS u fenotpu C u odnosu na zdrave žene, a istovremeno veću prevalencu pri korišćenju druge dve definicije. Fenotip D je imao najnižu prevalencu MetS sličnu kao i zdrave žene. Međutim po ujednačavanju ispitanica prema godinama starosti i BMI, prevalenca MetS prema NCEP-ATP III je bila veća u fenotipu D u odnosu na zdrave žene i slična kao i u fenotipovima A i B. Konačno, prevalenca MetS se između fenotipova nije razlikovala, a nakon njihovog ujednačavanja prema godinama starosti i BMI, i to pri korišćenju sve tri definicije. Antropometrijske, kliničke i demografske karakteristike naše PCOS populacije ukazuju na to da prednost pri dijagnostikovanju MetS u našoj populaciji treba dati NCEP-ATP III kriterijumima u odnosu na IDF i Joint kriterijume. Analiza različitih prediktora MetS u našoj populaciji žena sa PCOS je pokazala da je LAP

najsenzitivni marker sa najboljom sposobnosti diskriminacije pri predikciji prisustva MetS i istovremeno značajno bolji u svim fenotipovima u odnosu na krvni pritisak i disglukemiju kao kriterijume postojećih definicija.

Zaključak: Svi PCOS fenotipovi imaju određeni stepen i endokrinih i metaboličkih poremećaja pa je opravdano da i ne-klasični fenotipovi C i D budu deo spektra PCOS. Za razliku od fenotipa C, kojeg karakterišu i hiperandrogenizam i metabolički poremećaji sličnog stepena kao klasične fenotipove A i B, fenotip D ima manji broj karakterističnih metaboličkih poremećaja. Insulinska rezistencija je karakteristična za sve PCOS fenotipove i nezavisna je od gojaznosti. Gojaznost i insulinska rezistencija su glavni nezavisni ali aditivni faktori koji određuju postojanje MetS u našoj PCOS populaciji. Ovi rezultati ukazuju da je kod svih žena sa PCOS bez obzira na fenotip, potrebno sprovesti intenzivnu evaluaciju postojanja kardiometaboličkih komplikacija i samim tim na vreme započeti lečenje radi prevencije kardiovaskularnih morbiditeta. Obzirom na visoku diskriminativnu sposobnost da dijagnostikuje MetS u svim fenotipovima, LAP se može koristiti kao lako primenljiv i tačan surogat marker za dijagnostikovanje MetS u svakodnevnoj kliničkoj praksi.

Ključne reči: sindrom policističnih jajnika, fenotipovi, metabolički sindrom, insulinska rezistencija, lipidni akumulacioni produkt

Naučna oblast: endokrinologija

Analysis of polycystic ovary syndrome phenotypes and their impact on metabolic disturbances

Introduction: The polycystic ovary syndrome (PCOS) is the most common endocrinopathy in women of reproductive age. Because of heterogeneous clinical manifestations of the syndrome, it has variable prevalence that ranges from 6% to 25% in different populations. It is associated with a range of reproductive (hyperandrogenism, menstrual dysfunction, infertility, early pregnancy loss, gestational diabetes, pregnancy-induced hypertensive disorders and neonatal complications) and metabolic features (obesity, insulin resistance-IR, impaired glucose tolerance-IGT, diabetes mellitus type 2-DMT2, hyperlipidemia, hypertension). Majority of these metabolic disturbances are usually manifested together forming metabolic syndrome (MetS), a well known risk factor for cardiovascular diseases (CVD). It seems that IR is a key factor in etiology of both metabolic and reproductive complications of PCOS and there is ongoing debate as to whether this IR is intrinsic to PCOS, related to obesity alone or related to both factors. With introduction of ESHRE/ASRM Rotterdam criteria for diagnosis of PCOS, besides previously known classic phenotypes A (hyperandrogenism-HA, anovulation-ANOV and morphologically polycystic ovaries-PCOM) and B (HA and ANOV), two new, non-classic phenotypes: C (ovulatory phenotype: HA+PCOM) and D (non-hyperandrogenic phenotype: ANOV+PCOM) have emerged. Although there are few, methodologically complementary studies, more frequently observed less severe endocrine and metabolic features of non-classic PCOS phenotypes are the reason for ongoing debate whether these phenotypes could really be a part of complex syndrome like PCOS. To date, there is limited understanding of the relative prevalence of cardiometabolic risk factors across the different PCOS phenotypes.

The aim of the study was to analyze endocrine and metabolic characteristics of four different PCOS phenotypes in our population

Methodology: We analyzed 365 women with PCOS (age: 25.48 ± 5.21 years; body mass index-BMI 25.05 ± 6.24 kg/m²) and 125 healthy controls (age: 30.35 ± 5.62 years; BMI 24.50 ± 5.16 kg/m²). PCOS was diagnosed according to the ESHRE/ASRM criteria,

requiring the presence of at least two out of the three following criteria: ovulatory dysfunction, androgen excess, and polycystic morphology of ovaries assessed by ultrasound. PCOS group was divided on four different phenotypes: A (HA+ANOV+PCOM), B (HA+ANOV), C (HA+PCOM) and D (ANOV+PCOM). Waist circumference (WC) and blood pressure (BP) were measured and body composition was determined by bioelectrical impedance. Blood samples were taken in follicular phase of menstrual cycle in women with regular menstruation while in women with irregular menstrual cycles after excluding pregnancy. In all women fasting glucose, insulin, total cholesterol (TC), HDL, LDL, triglycerides (TG), apolipoproteins: A1, A2, B, E and Lp(a), uric acid, FSH, LH, testosterone, SHBG, androstenedione, DHEAS, 17OH-progesterone, estradiol, cortisol, TSH, fT4, and prolactin were determined initially and progesterone during luteal phase of menstrual cycle in those women with regular menstruation. Standard 2hour OGTT was performed in all subjects while euglycaemic hyperinsulinemic clamp (EHC) was performed in 124 women with PCOS. Metabolic syndrome was diagnosed according to NCEP-ATP III, IDF and Joint criteria. Insulin resistance was determined from results obtained directly from EHC and indirectly from fasting and post load (during OGTT) indices: HOMA-IR, QUICKI, area under the curve (AUC) for glucose and insulin, ISSI-2 index, IGI, HIRI and $ISI_{Matsuda}$ index. Lipid accumulation product (LAP) calculated by formula $(WC-58) \times TG$ was tested as an indicator of IR as well as for MetS. All statistical analyzes in whole PCOS group and controls were adjusted for age, while comparisons between PCOS phenotypes, and between phenotypes and controls were adjusted for both age and BMI.

Results: In our women with PCOS 57% had phenotype A, 11% phenotype B, 22% phenotype C and 10% phenotype D. There were significant qualitative and quantitative differences concerning hyperandrogenemia in different PCOS phenotypes. Namely, phenotypes A and B had significantly higher levels of testosterone and androstenedione in comparison to third hyperandrogenic phenotype, phenotype C. At the same time, phenotypes A and C had significantly higher levels of DHEAS and morning cortisol in comparison to phenotypes B and D. However, the important feature of all PCOS phenotypes is significantly lower level of SHBG which is mainly and especially in

phenotype D, consequence of high IR which in turn induces functional hyperandrogenemia in phenotype D. Higher LH/FSH ratio was the characteristic of only phenotype A. Absolutely higher content of abdominal fat tissue is present in all hyperandrogenic phenotypes, while phenotype D has relatively higher content of abdominal fat tissue in comparison to age adjusted PCOS and healthy controls. Insulin resistance is dominantly present in phenotypes A and B, however phenotypes C and D have some degree of IR too, which is usually higher in phenotype D than in phenotype C. The universal characteristic of all phenotypes in our PCOS population is hypertriglyceridemia, with the same level of triglycerides among phenotypes. Hyperandrogenic phenotypes have some additional lipid disturbances like hypercholesterolemia, high non-HDL and ratio TG/HDL. Low HDL was present in significant percentage of all subjects (including healthy controls) and could be a characteristic feature of our population in general. Prevalence of MetS was higher in PCOS group in comparison to healthy controls regardless to definition that was used: NCEP-ATP III (20.4% vs. 2.7%, $p < 0.001$), IDF (23.5% vs. 9.7%, $p = 0.002$) and Joint (24.1% vs. 9.5%, $p = 0.001$). Prevalence of MetS in phenotypes A, B, C and D according to NCEP-ATP III definition was 22.3%, 28.3%, 18% and 6.9%, respectively; according to IDF: 25.3%, 34.1%, 21.3% and 7%, respectively and according to Joint definition: 25.9%, 33.4%, 23.1% and 7.1%, respectively. In comparison to healthy women of similar age, MetS is more prevalent in phenotypes A and B regardless the definition that is used. At the same time, phenotypes A and B had higher prevalence of MetS than phenotype C defined by IDF and Joint, but not by NCEP-ATP III criteria. Obligatory WC criterion in IDF definition lowers the MetS prevalence in phenotype C with resultant similar MetS prevalence like in healthy controls and higher prevalence when other two definitions are used. Phenotype D has the lowest prevalence of MetS without difference in comparison to healthy controls of similar age. However, when age and BMI adjusted, prevalence of MetS according to NCEP-ATP III definition was higher in phenotype D in comparison to healthy controls and the same in comparison to phenotype A and B. Finally, prevalence of MetS among different age and BMI adjusted phenotypes was the same regardless of definition that is used. Anthropometric, clinical and demographic characteristics of our PCOS population suggest that advantage should be given to NCEP-ATP III criteria for MetS diagnosis in our

population in comparison to IDF and Joint definitions. After various analyses of different predictors of MetS in our PCOS women, LAP has emerged as the most sensitive marker with highest discriminative performance in prediction of MetS presence in all PCOS phenotypes. Besides, HOMA-IR could be an additional marker for MetS presence, with better performance in most phenotypes than blood pressure and dysglycaemic criteria from current MetS definitions.

Conclusions: All PCOS phenotypes have some degree of both endocrine and metabolic disturbances, and it is justified for both non-classic phenotypes C and D to be a part of PCOS spectrum. While phenotype C has both hyperandrogenism and metabolic disturbances frequently of similar degree as classic phenotypes A and B, phenotype D has a few characteristic intrinsic metabolic disturbances. Insulin resistance is an intrinsic feature of all PCOS phenotypes independent of obesity. Obesity and insulin resistance are the main independent but additive factors that determine presence of MetS in our PCOS phenotypes. These results implicate vigorous screening of all women with PCOS regardless of phenotype in order to detect possible cardiometabolic complications and begin their treatment in time to prevent cardiovascular morbidity. With its high discriminative power to detect MetS in all phenotypes, LAP could be used as a easy obtainable, punctual and cheap surrogate marker for its detection in everyday clinical practice.

Key words: polycystic ovary syndrome, phenotypes, metabolic syndrome, insulin resistance, lipid accumulation product

Scientific area: endocrinology

Sadržaj

1. Uvod.....	1
1.1. Definicija sindroma policističnih jajnika	1
1.2. Kliničke karakteristike sindroma policističnih jajnika.....	6
1.2.1. Klinički hiperandrogenizam.....	6
1.2.2. Biohemijski hiperandrogenizam (hiperandrogenemija).....	7
1.2.3. Disfunkcija jajnika.....	10
1.2.4. Morfološki policistični jajnici.....	10
1.3. Patofiziologija sindroma policističnih jajnika.....	11
1.3.1. Kardiometabolički faktori rizika.....	14
1.3.1.1. Gojaznost.....	15
1.3.1.2. Dislipidemija.....	16
1.3.1.3. Insulinska rezistencija i dijabetes melitus.....	17
1.3.1.4. Hipertenzija.....	19
1.3.1.5. Metabolički sindrom.....	20
1.4. Fenotipovi sindroma policističnih jajnika.....	24
1.5. Uzroci heterogenih podataka u literaturi.....	25
2. Ciljevi istraživanja.....	27
3. Metodologija istraživanja.....	28
3.1. Izbor ispitanika.....	28

3.2. Kliničko-laboratorijski parametri.....	29
3.2.1. Antropometrijski parametri.....	29
3.2.2. Biohemijske analize.....	30
3.2.3. Endokrinološki testovi.....	31
3.2.3.1. Oralni test tolerancije glukoze.....	31
3.2.3.2. Euglikemijski hiperinsulinemijski klamp.....	32
3.2.4. Definisane različite poremećaje.....	32
3.2.4.1. Procena stepena disglukemije.....	32
3.2.4.2. Procena insulinske rezistencije.....	33
3.2.4.3. Procena postojanja metaboličkog sindroma.....	34
3.3. Statistička obrada podataka.....	34
4. Rezultati istraživanja.....	38
4.1. Deskriptivna analiza ispitanica.....	38
4.2. Antropometrijske karakteristike.....	41
4.3. Arterijski krvni pritisak.....	46
4.4. Hormonske analize.....	48
4.5. Bazalna glikoregulacija i insulinska rezistencija.....	54
4.6. Euglikemijski hiperinsulinemijski klamp.....	58
4.7. Test oralnog opterećenja glukozom.....	60
4.8. Lipidogram.....	76

4.9. Lipidni akumulacioni produkt.....	79
4.10. Prevalenca metaboličkog sindroma.....	82
4.11. Prediktori metaboličkog sindroma prema NCEP-ATP III definiciji.....	91
4.12. Lipidni akumulacioni produkt i HOMA-IR kao prediktori metaboličkog sindroma prema NCEP-ATP III definiciji	98
5. Diskusija.....	104
6. Zaključci.....	182
7. Literatura.....	185
Spisak skraćenica.....	229
Biografija.....	232
Izjava o autorstvu.....	233
Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada.....	234
Izjava o korišćenju.....	235

1. Uvod

1.1 Definicija sindroma policističnih jajnika (PCOS)

Sindrom policističnih jajnika (*Engl. Polycystic ovary syndrome, PCOS*) je endokrinološki poremećaj i čije se različite kliničke manifestacije mogu ali i ne moraju javljati zajedno ili istovremeno. PCOS su originalno opisali Stein i Leventhal davne 1935.godine na osnovu kliničke prezentacije kod sedam žena, kao oboljenje koje karakterišu uvećani jajnici, hirzutizam, hronična anovulacija i gojaznost [1]. Sada se zna da su osnovne kliničke manifestacije PCOS: policistično izmenjeni jajnici, hirzutizam, hiperandrogenemija, poremećaj menstrualnih ciklusa (MC) i ovulatorna funkcija jajnika. Sve navedene karakteristike se u svakom pojedinačnom slučaju ispoljavaju na različiti način što utiče na postojanje izuzetno velike fenotipske varijabilnosti u ispoljavanju ovog sindroma, a istovremeno je i razlog zbog čega se ovaj poremećaj definiše kao sindrom, a ne bolest. Takođe, fenotipska ekspresija sindroma varira sa starenjem ali i u određenim životnim periodima kada se pod uticajem spoljašnjih faktora može menjati (npr. dijatom regulisana telesna težina može dovesti do “remisije” tj, mirovanja bolesti). Inicijalno je smatrano da su jedine posledice koje PCOS nosi reproduktivne i to: infertilitet, ovarijalni hiperstimulacioni sindrom tokom terapije infertiliteta, a tokom graviditeta gestacijski dijabetes, preeklampsija i prevremeni porođaj [2,3]. Međutim, nakon otkrića insulinske rezistencije (IR) i činjenice da se ona često javlja u PCOS, ovaj sindrom je prepoznat kao multisistemska endokrinopatija. Tako, pored značajnog reproduktivnog morbiditeta, ovaj sindrom karakterišu i mnogobrojne kardiometaboličke komplikacije kao što su gojaznost, disglukemija, dislipidemija, hronična inflamacija [4,5]. Iako postoji i veliki broj faktora rizika za nastanak endometrijalnog karcinoma kod žena sa PCOS (gojaznost, hiperinsulinemija, dijabetes i poremećaj menstrualnog krvarenja), za sada nema adekvatnih podataka o prevalenci istog niti se preporučuje njegov rutinski skrining [2]. Dodatno, PCOS ima značajan uticaj na psihičko stanje, kao i na kvalitet života, naročito ako se uzme u obzir da se najčešće radi o mladim ženama u reproduktivnom životnom dobu [4]. Obzirom na sve navedeno, ostaviti dijagnozu PCOS u svakodnevnoj kliničkoj praksi

istovremeno znači i postavljanje neke od sledećih dijagnoza u bliskoj ili daljoj budućnosti kod istog pacijenta: gojaznost, disglukemija dijabetes melitus tip 2 (T2DM), dislipidemija, hipertenzija, infertilitet, disfunkcionalno krvarenje iz uterusa. Ujedno, sve metaboličke komplikacije kod žena sa PCOS, dovode do rizika za kardiovaskularni morbiditet koji ih prati celog života i vremenom se povećava [6]. Stoga je od izuzetne važnosti rano otkrivanje žena sa PCOS koje su u kardiovaskularnom riziku i posledična pravovremena implementacija preventivnih strategija. Međutim, nažalost, metabolički i kardiovaskularni rizik se u redovnoj kliničkoj praksi kod žena sa PCOS i dalje retko ispituje [7]. Dodatno, pored značajnog opterećenja zdravstvenog sistema, PCOS i njegove komplikacije značajno ekonomski opterećuju zdravstveni sistem. Tako se u SAD oko 30% troškova odnosi na hormonsko lečenje menstrualne disfunkcije i iznosi preko 4 milijarde dolara; oko 12% troškova odnosi se na lečenje infertiliteta, 14% na lečenje hirzutizma i oko 40% na lečenje T2DM [8].

PCOS je najčešći endokrinološki poremećaj kod žena u reproduktivnom dobu [5] a njegova kompleksnost i fenotipska varijabilnost dovode do toga da su postavljanje dijagnoze, lečenje kao i prevencija i lečenje velikog broja metaboličkih i reproduktivnih komplikacija često izazov u svakodnevnoj kliničkoj praksi. PCOS se najčešće dijagnostikuje u drugoj i trećoj deceniji života, zbog toga što većina pacijenata u tom periodu i traži pomoć zbog neredovnih menstrualnih ciklusa, infertiliteta i/ili hirzutizma. Međutim, prevalenca PCOS je predmet kontinuirane debate stručne javnosti zbog kliničke raznolikosti u ispoljavanju ovog poremećaja, postojanja različitih definicija koje se podjednako često koriste za postavljanje dijagnoze, demografskih razlika ispitivanih populacija i odabranih studijskih uzoraka, kao i zbog razlika u studijskim dizajnima i metodologiji ispitivanja. Od 1990.godine do danas, formulisane su tri definicije koje se još uvek ravnopravno koriste za postavljanje dijagnoze PCOS (Tabela 1.).

Tabela 1. Definicije sindroma policističnih jajnika

Definicija/godina	Dijagnostički kriterijumi
NIH / 1990[9]	Zahteva obavezno prisusvo oba kriterijuma: 1. Klinički i/ili biohemijski hiperandrogenizam 2. Hronična anovulacija
ESHRE/ASRM /2003 [10]	Zahteva prisustvo bilo koja 2 kriterijuma: 1. Klinički i/ili biohemijski hiperandrogenizam 2. Hronična anovulacija 3. Policistična morfologija jajnika
AES-PCOSS /2009 [11]	Zahteva istovremeno postojanje: 1. Klinički i/ili biohemijski hiperandrogenizam 2. Disfunkcija jajnika (hronična anovulacija i/ili policistična morfologija jajnika)

NIH – National Institutes of Health; ESHRE- European Society for Human Reproduction and Embriology; ASRM-American Society for Reproductive Medicine; AES-PCOSS- Androgen Excess Society and PCOS Society

Na prevalencu PCOS utiče vrsta kriterijuma koja se primenjuje za njegovu dijagnozu. Tako, prevalenca PCOS definisanog pomoću NIH kriterijuma iznosi 6-8%, pomoću ESHRE/ASRM kriterijuma 15-25% a prema AES-PCOSS kriterijumima 10—15% [5]. Razlike u prevalenci PCOS između studija koje koriste iste kriterijume se mogu pripisati različitim etničkim populacijama i limitaciji metodologije studija, pre svega u smislu pristrasnog uzorkovanja. Najstarija, NIH definicija [9] ne uključuje morfologiju ovarijuma, pre svega zbog niske specifičnosti ovog nalaza [12]. Na taj način NIH definicija prepoznaje samo jedan PCOS fenotip koji podrazumeva postojanje hiperandrogenizma i anovulacije

(HA+ANOV). Iako je pokazano da 20-30% žena sa redovnim, ovulatornim menstrualnim ciklusima i bez hiperandrogenizma ima policističnu morfologiju jajnika (Engl. polycystic ovary morphology, PCOM) [13], kao i da oko 10% žena sa PCOS dijagnostikovanim pomoću NIH kriterijuma nema PCOM [14], veliki broj naučnika je smatrao da PCOM mora biti jedan od kriterijuma za postavljanje dijagnoze PCOS. Jedan od razloga je bila i potreba za prepoznavanjem postojanja PCOM pri korišćenju tehnologije za asistiranu reprodukciju, obzirom da žene sa PCOM često imaju preteran odgovor na egzogene gonadotropine, što ih dovodi u rizik od hiperstimulacionog sindroma [15]. To je i dovelo do formulisanja ESHRE/ASRM kriterijuma u Rotterdam-u 2004. godine [10] kojima je PCOM kao kriterijum izjednačen sa hroničnom anovulacijom i hiperandrogenizmom. U Amsterdamu 2011. god Trećim ESHRE/ASRM konsenzusom PCOS radne grupe identifikovana su četiri moguća PCOS fenotipa kombinovanjem kriterijuma ESHRE/ASRM definicije [16]:

- 1. Fenotip A:** HA + ANOV + PCOM (klasičan PCOS fenotip)
- 2. Fenotip B:** HA + ANOV (klasičan PCOS fenotip)
- 3. Fenotip C:** HA + PCOM (ovulatorni PCOS fenotip)
- 4. Fenotip D:** ANOV + PCOM (blagi, nehiperandrogeni PCOS fenotip)

Postojanje poslednja dva fenotipa, C i D, se često osporava u stručnoj javnosti, iako su studije pokazale da nije zanemarljiv procenat pacijenata koji pripadaju ovim fenotipovima: 20-25% PCOS ima fenotip C, a fenotip D se javlja u oko 10-20% slučajeva [5,17].

Shodno gore navedenom, PCOS se može dijagnostikovati i u odsustvu viška androgena. Međutim Društvo za višak androgena (*Engl. Androgen Excess Society, AES*) ističe da se u osnovi PCOS nalazi hiperandrogenizam, tako da se ovaj sindrom ne može dijagnostikovati u odsustvu hirzutizma i/ili hiperandrogenemije [18]. To je i dovelo do formulisanja zajedničkih kriterijuma Društva za višak androgena i PCOS društva (*Engl. Androgen Excess Society and PCOS Society, AES-PCOSS*) 2009. godine [11]. Na taj način AES-PCOSS definicija podrazumeva postojanje tri fenotipa: HA + ANOV + PCOM, HA + ANOV i HA + PCOM. Međutim, sve postojeće definicije za dijagnozu PCOS se u

svakodnevnoj praksi još uvek koriste potpuno ravnopravno i odraz su mišljenja određene grupe stručnjaka, ali ne i pravi konsenzus naučne i stručne javnosti koji bi bio obavezujući za primenu isključivo jedne od njih u kliničkoj praksi. Takođe, PCOS i dalje predstavlja ekskluzivnu dijagnozu, to jest, dijagnostikuje se kada se prethodno isključe i drugi endokrinološki poremećaji koji se mogu ispoljiti na sličan način: prolaktin sekretujućih tumori, poremećaji funkcije štitaste žlezde, kongenitalna adrenalna hiperplazija (KAH), hiperandrogenemija-insulinska rezistencija-akantoza nigrikans sindrom (Engl. Hyperandrogenemia-insulin resistance-acanthosis nigricans syndrome, HAIR-AN), prevremena insuficijencija jajnika, poremećaji uzrokovani primenom nekih lekova, Kušingov sindrom, akromegalija i androgen sekretujućih tumori. Postojanje i ravnopravna upotreba svih navedenih definicija dovodi do konfuzije u svakodnevnoj kliničkoj praksi, a naročito se razlikuje njihova primena između kliničara različitih specijalnosti. Tome u prilog govori i studija Cussons i sar. kojom je pokazano da ginekolozi smatraju PCOM kao najbitniju karakteristiku za dijagnozu PCOS, a pri tome retko koriste bilo koju od postojećih definicija, za razliku od endokrinologa koji češće koriste kriterijume a kao najbitniju karakteristiku za dijagnozu PCOS smatraju postojanje poremećaja menstrualnog ciklusa [19]. Takođe, korišćenje različitih definicija dovodi do pogrešnog postavljanja odnosno nepostavljanja dijagnoze PCOS, a što ima dalekosežne posledice u smislu mogućih i reproduktivnih i metaboličkih komplikacija.

Obzirom na sve navedeno, u poslednje vreme se podela i proučavanje PCOS fenotipova smatra za najbolje rešenje kojim se mogu pomiriti razlike između postojećih definicija a ujedno je identifikacija PCOS fenotipova naročito značajna sa metaboličkog gledišta na ovaj sindrom [4]. Analiza fenotipova je od izuzetne važnosti radi utvrđivanja razlika i preklapanja među njima kao i u odnosu na zdrave žene.

1.2 Kliničke karakteristike sindroma policističnih jajnika

1.2.1 Klinički hiperandrogenizam

Klinički se hiperandrogenemija može ispoljiti kao hirsutizam i/ili akne i/ili androgena alopecija (muški tip ćelavosti) [11]. Sa druge strane virilizacija (maskulinizacija telesne muskulature i glasa, ekstremna androgena alopecija i hirsutizam, klitoromegalija) je retko znak postojanja PCOS [11]. Većina žena sa hirsutizmom (75-80%), 20-40% žena sa perzistentnim aknama i samo 10% pacijentkinja sa androgenom alopecijom imaju PCOS [11].

Akne predstavljaju androgen zavisni, samoograničavajući inflamatorni proces u pilosebacealnoj jedinici, koji se javlja kod oko 80% adolescenata [20]. Iako se akne javljaju kod oko 15-25% žena sa PCOS, nije jasno da li je prevalenca akni povećana u odnosu na prevalencu u opštoj populaciji [11]. Svakako manja prevalenca akni u odnosu na hirsutizam kod žena sa PCOS se može objasniti razlikom u nivou ekspresije i tipu 5 α -reduktaze u sebacealnoj žlezdi u poređenju sa folikulom dlake [21]. Akne predstavljaju samo potencijalni marker hiperandrogenizma u Roterdamskim kriterijumima pre svega jer se mogu javiti i u odsustvu sistemske hiperandrogenemije [10,22].

Androgena alopecija je progresivan, neožiljni gubitak terminalne dlake poglavine, u čijoj patogenezi učestvuju i ovarijalni i adrenalni androgeni [23]. Obzirom da se javlja i kad postoje normalni serumski nivoi androgena, smatra se da može nastati kod genetski predisponiranih osoba kod kojih postoji pojačana enzimaska aktivacija i metabolizam androgena u target organima odnosno povećan nivo androgenih receptora.

Za razliku od akni i alopecije koji se smatraju za manje sigurne znakove hiperandrogenizma, smatra se da je klinički hiperandrogenizam najbolje procenjivati pomoću procena stepena hirsutizma [24]. Pri tome, poznato je da stepen i distribucija hirsutizma ne koreliraju sa nivoom cirkulišućih androgena, odnosno sa biohemijskim hiperandrogenizmom [25].

Prevalenca hirsutizma u opštoj populaciji žena u reproduktivnom dobu iznosi 5-8%, a kod žena sa PCOS se javlja u oko 60-70% slučajeva [26,27]. Hirsutizam predstavlja preteran rast terminalne dlake na androgen-osetljivim delovima kože kod žena, a nastaje kao posledica povećanja cirkulišućih androgena i/ili povećane osetljivosti pilosebacealne jedinice na normalne koncentracije androgena [28]. Androgeni deluju na dva načina na dlaku: transformišu produkciju velus dlaka u terminalne dlake i produžavaju aktivnu fazu rasta dlaka na telu (anagen fazu), a skraćuju je na poglavini, što može dovesti do kombinacije hirsutizma i alopecije [25]. Iako postoji veći broj detaljnijih metoda za procenu hirsutizma one su i skupe i zahtevaju utrošak mnogo vremena. Zbog toga je univerzalno prihvaćen metod za procenu hirsutizma u svakodnevnoj kliničkoj praksi Ferriman-Gallwey sistem bodovanja stepena hirsutizma (FG) [29]. Na ovaj način se rast terminalne dlake gradira na skali od 0 do 4 na 11 anatomskih mesta a koristi se zbir od 9 područja da bi se formirao ukupan stepen hirsutizma. FG skor ≥ 8 se najčešće prihvata kao hirsutizam [25]. Mane ovog načina stepenovanja hirsutizma su to što je izuzetno subjektivan (može doći do variranja i do 10 bodova kod jednog istog pacijenta ukoliko ga ocenjuju različiti kliničari), smatra stepen maljavosti na ekstremitetima i licu ili grudima kao ekvivalentne iako na ovim područjima androgeni različito deluju i takođe ne uzima u obzir različitu etničku pripadnost i godište iako se u ovim slučajevima razlikuju normalni stepeni hirsutizma obzirom na različiti stepen aktivnosti 5-alfa reduktaze [30].

1.2.2 Biohemijski hiperandrogenizam (hiperandrogenemija)

Hiperandrogenemija je prema jednom delu stručne javnosti najznačajnija karakteristika PCOS, čemu u prilog govori i činjenica da se ona može dokazati kod 60-80% PCOS pacijenata [5]. Sa druge strane, hiperandrogenemija obavezan faktor u PCOS, ona ne predstavlja obavezan kriterijum za postavljanje dijagnoze prema Roteradamskoj definiciji. Kod žena u reproduktivnoj dobi, ovarijumi i nadbubrežne žlezde podjednako doprinose celokupnom cirkulišućem nivou testosterona i androstenediona (po 50% svaki), dok se biološki manje potentan dehidroepiandrosteron-sulfat (DHEAS) praktično ekskluzivno proizvodi u nadbubrežnim žlezdama [31]. Hiperandrogenemija kod žena sa PCOS je pre

svoga porekla iz jajnika ali je i povećana koncentracija adrenalnih androgena česta karakteristika ovog sindroma [32]. Iako se testosteron najviše proizvodi u jajnicima kod žena sa PCOS, oko 25% cirkulišućeg testosterona nastaje perifernom konverzijom androstenediona u masnom ili drugim tkivima pod dejstvom enzima 17 β -hidroksisteroid dehidrogenaze [33]. Najpotentniji androgen, 5 α -dihidrotosteron (DHT), nastaje perifernom konverzijom iz testosterona pod dejstvom 5 α -reduktaze čija je aktivnost povećana u PCOS [34]. Takođe, androstenedion, pored sekrecije u jajnicima i nadbubrežnim žlezdama, može da nastane u perifernim tkivima od svog prekursora dehidroepiandrosterona (DHEA) pod dejstvom 3 β -hidroksisteroid dehidrogenaze tipa 2 [35].

Iako je hiperandrogenemija jedna od ključnih karakteristika PCOS postoje još uvek mnoga nerešena pitanja kao što su: koje androgene treba određivati, koliko često, koji su normalni nivoi androgena kod žena i kojom metodologijom ih je najbolje određivati? Jedan od glavnih metodoloških problema koji se javlja pri proučavanju PCOS je način određivanja nivoa testosterona: merenje ukupnog ili slobodnog testosterona, ili korišćenje matematičkih formula za procenu stepena hiperandrogenemije.

Testosteron je glavni cirkulišućí androgen i prema preporukama, koncentracija ukupnog testosterona u serumu treba da bude prva linija pri proučavanju viška androgena kod žena [36]. On se može određivati nezavisno od perioda menstrualnog ciklusa obzirom da su varijacije u njegovoj koncentraciji tokom MC nesigifikantne [36]. Povećane koncentracije cirkulišućeg testosterona se javljaju kod oko 60-80% žena sa PCOS [24,37,38]. Većina eseja za ukupni testosteron koji se koriste u praksi su dizajnirani za merenje nivoa testosterona kod muškaraca kod kojih je ovaj hormon u 10x većoj koncentraciji nego kod žena, tako da ne postoje eseji dizajnirani idealno da mere tako niske koncentracije testosterona kao što su kod žena. Testosteron u značajno manjoj meri cirkuliše kao slobodan, biološki aktivan oblik (1-2%) dok je ostatak (65%) čvrsto vezan za seks-hormon-vezujućí-globulin (SHBG) kao i albumin (33%) [5]. Posledično, promene u nivou albumina kao i bilo kog faktora koji može da modifikuje nivo i/ili vezujućí kapacitet SHBG-a mogu da utiču na nivo testosterona. Tako na primer, hiperinsulinemija i gojaznost,

koji su česte pojave u PCOS, smanjuju SHBG, a ovaj efekat imaju i glukokortikoidi i hormon rasta [39]. Suprotno tome, tiroksin i estrogen povećavaju SHBG [5]. Ovakav efekat estrogena na SHBG leži i u osnovi terapijskog dejstva oralnih kontraceptiva. Shodno, tome, da bi se prevazišle ove teškoće, u kliničkoj praksi se koristi odnos ukupnog testosterona i SHBG koji se naziva indeks slobodnih androgena (*Engl.free androgen index*, FAI) i izračunava se formulom: $[\text{testosteron}(\text{nmol/L}) \times 100 / \text{SHBG}(\text{nmol/L})]$. Pokazano je da FAI dobro koleriše sa nivoom slobodnog testosterona [40]. Do sada je nekoliko studija potvrdilo bolju korelaciju FAI sa PCOS karakteristikama od ukupnog testosterona kao i od slobodnog testosterona. Prema najnovijim preporukama, FAI je u ovom trenutku, verovatno najsenzitivniji metod za evaluaciju hiperandrogenemije u PCOS [4,11,41].

Inače, pokazalo se da niska koncentracija SHBG-a ima odličnu dijagnostičku vrednost pri proceni postojanja PCOS i čak je i superiornija od merenja serumske koncentracije androgena. Nizak SHBG je i surogat marker insulinske rezistencije i viška androgena, i predviđa sklonost ka nastanku metaboličkog sindroma i gestacijskog dijabetesa kod žena sa PCOS [42,43]. Postoji i mogućnost da polimorfizmi SHBG gena dovode do sniženog SHBG-a kod žena sa PCOS, nezavisno od efekata gojaznosti i insulinske rezistencije [44].

Cirkulišući slobodni testosteron odražava stepen proizvodnje testosterona i u jajnicima i u nadbubrežnim žlezdama, i pokazano je da žene sa PCOS mogu imati povećan nivo slobodnog testosterona uz normalan nivo ukupnog testosterona [40]. Međutim, netačnost radioimuno eseja koji se trenutno koriste za određivanje slobodnog testosterona je razlog što se ne preporučuje njegovo korišćenje za procenu hiperandrogenizma kod PCOS [4,11,45]. Hiperandrogenizam kod žena sa PCOS može biti uzrokovan porastom i drugih androgena. Tako se kod 10-30% žena sa PCOS mogu naći samo povećani nivoi androstenediona, a ova podgrupa žena izgleda da ima gori metabolički profil od ostalih PCOS [11,46]. Takođe, u oko 10% žena sa PCOS može biti povećan samo DHEAS, a povećan DHEAS uz povećane druge androgene se javlja kod 20-30% žena sa PCOS [5,11].

1.2.3 Disfunkcija jajnika

Iregularnost menstrualnog ciklusa koji se kod žena sa PCOS javlja najčešće u obliku oligo-amenoreje je posledica pre svega hronične anovulacije. Smatra se da trećina do četvrtina žena sa oligo-amenorejom ima PCOS, dok 75-85% žena sa PCOS imaju iregularne menstrualne cikluse [11]. Oligomenoreja se definiše kao manje od 8 menstrualnih ciklusa godišnje ili menstrualni ciklusi koji se javljaju u intervalima dužim od 35 dana [47]. Sa druge strane, polimenoreja (preterano česti menstrualni ciklusi tj menstrualno krvarenje koje se javlja na manje od 26 dana) se retko (u oko 1.5% slučajeva) javlja u PCOS [27]. Obzirom na sve gore navedeno, PCOS se može javiti kod 20-30% žena sa regularnim menstrualnim ciklusima, koji, međutim, ne isključuju postojanje ovulatorne disfunkcije. Smatra se da je PCOS najčešći uzrok ovulatorne disfunkcije i javlja se u 70-90% slučajeva ovulatornih poremećaja [2]. Postojanje hronične anovulacije se može dijagnostikovati ako se isključe drugi uzroci anovulacije (npr. prolaktin sekretujući tumor, hipotireoidizam itd) niskim koncentracijama progesterona ($<10\text{nmol/l}$) u periodu od 20. do 24. dana MC i/ili odsustvom žutog tela pri ultrazvučnom pregledu jajnika i to tokom 2-3 konsektivna menstrualna ciklusa [5,11]. Pri tome žene sa PCOS mogu imati hroničnu anovulaciju i pored potpuno redovnih menstrualnih ciklusa. Dodatno, gojaznost i IR koreliraju sa anovulacijom, pa ukoliko dođe do smanjenja indeksa telesne mase (*Engl. Body mass index*, BMI) od 5-10% može doći do ponovne pojave ovulacije [48].

Infertilitet kod žena sa PCOS se u oko 50% slučajeva javlja kao primarni, a u oko 25% slučajeva kao sekundarni [37]. Najčešći uzrok infertiliteta je oligo-anovulacija, ali postoje i drugi faktori kao što su smanjena kompetencija oocita, promene u endometrijumu koje sprečavaju implantaciju jajne ćelije, gojaznost kao i mogućnost bilateralne okluzije jajovoda koja se može javiti čak kod 5% žena sa PCOS [49].

1.2.4 Morfološki policistični jajnici

Morfološki policistični jajnici sadrže 2-6 puta više primarnih, sekundarnih i malih antralnih folikula nego zdravi jajnici [50]. Ovaj povećani broj nezrelih folikula može biti posledica ili ubrzanog folikularnog rasta i/ili smanjene atrezije malih folikula . Kod

anovulatornih žena sa PCOS, rast antralnog folikula se završava kada je folikul manji od 10mm u dijametri, što predstavlja stadijum razvoja neposredno pre izdvajanja dominantnog folikula [24]. Ovaj folikularni arest nastaje kao posledica hiperandrogene sredine i intenzivne stimulacije folikularnih ćelija sa LH i/ili insulinom [51]. Oko 20% reproduktivno zdravih žena tokom reproduktivnog doba imaju PCOM bez drugih elemenata za postojanje PCOS (tj bez hiperadrogenizma i sa redovnim ovulatornim ciklusima) a ovaj procenat je značajno veći kod adolescenata (40-50%) [13]. Takođe, prevalenca policističnih jajnika u opštoj populaciji se smanjuje tokom starenja, tako da se javlja u oko 8% žena starijih od 35 godina, za razliku od oko 22% žena koje su mlađe od 35 godina [52]. Oko 20% žena sa policističnim jajnicima ima PCOS a policistični jajnici se verifikuju kod 80% žena sa PCOS [11]. Morfološki policistični jajnici se definišu kao postojanje jednog ili oba jajnika uvećane zapremine veće od 10cm^3 i/ili prisustvo ≥ 12 folikula veličine 2-9mm [10]. Navedena definicija koja se trenutno koristi u praksi ne uzima u obzir ehogenost strome i način distribucije folikula a koji su bili postavljeni kao uslov u prethodnim definicijama. Obzirom da primena oralnih kontraceptiva (OC), metformina i u manjem stepenu antiandrogena utiču na volumen i broj folikula, neophodno je da se ultrazvučni pregled jajnika uradi najmanje 3 meseca nakon obustave primene navedenih lekova. Takođe treba imati u vidu da spontana ovulacija može u potpunosti da normalizuje morfologiju jajnika i broj folikula. Smatra se da asimptomatske žene sa policističnim jajnicima, koje imaju redovne ovulatorne menstrualne cikluse imaju normalan fertilitet ali da mogu imati IR [11].

1.3 Patofiziologija sindroma policističnih jajnika

Iako je najčešći endokrinološki poremećaj kod žena u reproduktivnom dobu, patofiziologija PCOS i dalje nije u potpunosti poznata. Iako se najčešće dijagnostikuje u reproduktivnom dobu, inicijalni poremećaj u PCOS može da se javi još u toku fetalnog intrauterinog života, a njegove posledice se osećaju i u postmenopauzalnom periodu [53]. Najčešće tri teorije o patogenezi PCOS su 1) teorija poremećene steroidogeneze u jajnicima, 2) teorija insulinske rezistencije i 3) teorija hipotalamo-hipofizne osovine [24].

Postoje dokazi da PCOS bar delom može biti genetski poremećaj. U prilog tome govori i podatak da oko 35% majki i oko 40% sestara žena sa PCOS takođe ima ovaj sindrom [54]. Međutim, malo je verovatno da se radi o monogenetskom oboljenju već pre o poli- ili oligogenetskom oboljenju sa prevalencom nasleđivanja oko 70% [55]. Na pojavu PCOS utiče i genetska predispozicija ali istovremeno i egzogeni, sredinski faktori. Jedan od najvažnih egzogenih faktora je gojaznost, s tim što se i ona u značajnoj meri nasleđuje, pa postoji mogućnost genetskog preklapanja PCOS i gojaznosti [55].

Sve je više dokaza da se u osnovi PCOS nalazi pre svega hiperprodukcija androgena u teka ćelijama jajnika, a koja se javlja i kod ovulatornih i kod anovulatornih žena sa PCOS [24,56]. Pokazano je da se u teka ćelijama jajnika žena sa PCOS nalaze 20 puta veće koncentracije androstenediona nego kod zdravih žena, a takođe su povećane i koncentracije 17 α -hidroksiprogesterona (17OHP) i progesterona. Ova lokalna ovarijalna hiperandrogenemija je posledica povećane transkripcije gena koji kodiraju steroidne enzime citohrom P450-11A1, citohrom P450-17 α hidroksilazu i 17,20 liazu i 3 β -HSD u teka ćelijama policističnih jajnika [57]. Citohrom P450-17 α hidroksilaza je ključan enzim za proizvodnju androgena i u jajnicima i u nadbubrežnim žlezdama. Povećana produkcija androgena u teka ćelijama policističnih jajnika postoji i u slučaju anovulatornih i ovulatornih ciklusa, pa samim tim ne može biti jedini uzrok anovulacije [56,57].

Višak androgena proizvedenih u jajniku pored endokrinog, ima i parakrino dejstvo koje se ogleda u lokalnom potenciranju rasta ranih, malih folikula i inhibiciji apoptoze granulosa ćelija [58]. To samim tim dovodi do policističnog izgleda jajnika. Prisustvo velikog broja malih, nezrelih folikula u PCOS je i razlog 2-3 puta većih koncentracija anti-milerijan hormona (Engl. Anti-müllerian hormone, AMH), čija proizvodnja je i najveća u preantralnim i malim antralnim folikulima, i korelira sa njihovim brojem, a proizvodnja mu se smanjuje se u dominantnom folikulu [59]. Međutim, koncentracije AMH po folikulu su veće kod policističnih jajnika u odnosu na zdrave, bez obzira na broj folikula [60]. Obzirom da AMH inhibiše folikulostimulirajućim hormonom (FSH) indukovanu stimulaciju rasta folikula [61], smatra se da i AMH ima značajnu ulogu u nastanku folikularnog aresta u jajnicima žena sa PCOS.

Izostanak sazrevanja dominantnog folikula dovodi do anovulacije, a hronična anovulacija dovodi do smanjenih koncentracija progesterona odnosno izostanka skokova progesterona u lutealnoj fazi MC. Ovo vodi u neuroendokrini poremećaj višeg nivoa - smanjenje aktivnosti negativne povratne sprege kojom progesteron izaziva inhibiciju aktivnosti pulsog generatora gonadotropin oslobađajućeg hormona (*Engl. Gonadotropine releasing hormone, GnRH*). Sam GnRH pulsni generator može biti i prethodno programiran viškom androgena u prepubertalnom periodu, koji ga čine manje osetljivim na inhibitorno dejstvo polnih hormona [62]. Konstantno povećana frekvencija GnRH pulsog generatora koja postoji u PCOS (24 umesto 12 pulseva na dan) favorizuje sekreciju luteinizirajućeg hormona (LH) u odnosu na sekreciju FSH [62]. Višak LH stimuliše proizvodnju androgena u jajnicima, dok relativni nedostatak FSH usporava razvoj dominantnog folikula, odnosno dovodi do folikularnog aresta i time i do anovulacije. Ovaj poremećaj sekrecije gonadotropina, tačnije inverzan odnos FSH/LH se može videti kod oko 75% žena sa PCOS [11]. Preciznije, utvrđeno je da pre svega normalno uhranjene PCOS imaju povišen LH, dok je LH kod gojaznih žena sa PCOS normalan kao i odnos LH/FSH [63]. Obzirom da je prevalenca gojaznosti u PCOS visoka, to je ujedno i objašnjenje normalnog nalaza LH/FSH kod većeg broja žena sa PCOS [63]. Zbog toga, kao i zbog pulsatilne sekrecije LH, ovaj hormon nije nikada uključivan u dijagnostičke kriterijume PCOS.

Obzirom da insulin može direktno stimuliše sekreciju androgena iz ovarijuma dejstvom na P450citohrom 17- α -hidroksilazu, hiperinsulinemija se smatra za ne-ovarijalni faktor koji potencira efekte LH na proizvodnju androgena u teka ćelijama jajnika [64]. Dodatno, izgleda da su granulosa ćelije kod žena sa PCOS selektivno insulin rezistentne – dok je insulin-zavisna steroidogeneza očuvana, insulin-zavisni metabolizam glukoze je oštećen, pa nedovoljna mobilizacija energije u folikulu doprinosi nastanku folikularnog aresta i anovulaciji.

Ukratko, PCOS praktično predstavlja začarani krug u kome povećana produkcija androgena iz jajnika potencira razvoj gojaznosti abdominalnog/visceralnog tipa, a to zatim

pogoršava insulinsku rezistenciju pa kompenzatorni hiperinsulinizam dalje potencira hipersekreciju androgena iz jajnika.

1.3.1 Kardiometabolički faktori rizika

Kardiovaskularne (KVS) bolesti predstavljaju glavni uzrok mortaliteta kod oba pola, ali su žene zahvaljujući svom hormonskom statusu zaštićene u premenopauznom dobu. Na taj način je nastanak kardiovaskularnih bolesti kod žena odložen za oko 10-15 godina u odnosu na muškarce [65]. Međutim, to nije slučaj sa mladim ženama koje imaju PCOS i koje su u riziku za KVS bolesti u mnogo mlađem životnom dobu. Još uvek u potpunosti nije jasno zašto je to tako, a ulogu u KVS riziku kod žena sa PCOS mogu imati hiperandrogenizam, IR, dislipidemija, a naročito kombinacija ovih faktora. Na taj način posledice PCOS se šire van okvira reproduktivne osovine. Dodatno, veća prevalenca KVS događaja kod postmenopauznih žena sa PCOS u odnosu na zdrave žene, ukazuje na to da se KVS rizik ispoljen u reproduktivnom dobu pretvara u neželjene KVS događaje kasnije tokom menopauze. To je ujedno ukazuje da se KVS rizici moraju redovno pratiti kod žena sa PCOS i na njih se mora pravovremeno delovati. Obzirom na visoku prevalencu PCOS, može se reći da je detaljno ispitivanje svake pacijentkinje ponaosob skupo. Međutim imajući u vidu veliki broj komplikacija koje prate ovaj sindrom, a koje dodatno mnogo više ekonomski opterećuju zdravstveni sistem, detaljna evaluacija i praćenje ovih pacijenata doprinosi smanjenju ne samo morbiditeta i mortaliteta kod žena, već i koristi zdravstvenom sistemu uopšte.

Epidemiološki podaci ukazuju na postojanje povećane prevalencije klasičnih i neklasičnih KVS faktora rizika kod žena sa PCOS. Tako kod ovih žena u odnosu na zdrave žene dolazi ranije do disfunkcije endotela krvnih sudova i nastanka ozbiljnijih morfoloških promena na njima [66-68]. Novije studje su pokazale da na stepen ispoljavanja kardiometaboličkih rizika najviše utiče fenotipska varijabilnost, pre svega ovulatorna funkcija i hiperandrogenizam [46,69]. Da li i u kojoj meri se ovi rizici pretvaraju u povećan kardiovaskularni morbiditet i mortalitet nije još sasvim jasno jer nema dovoljno metodološki adekvatnih studija koje se bave dugotrajnim praćenjem žena sa PCOS.

U svakom slučaju, prema najnovijim vodičima povećan rizik za nastanak KVS bolesti imaju sve žene sa PCOS koje imaju bilo koji od sledećih faktora rizika: gojaznost, pušenje, hipertenziju, dislipidemiju, oštećenu glukoznu toleranciju (*Engl. Impaired glucose tolerance*, IGT), porodičnu anamnezu o prevremenoj kardiovaskularnoj bolesti (pre 55 godina života kod muškog rođaka i pre 65 godine života kod ženskog rođaka) [2,70]. Sa druge strane žene sa PCOS i razvijenim metaboličkim sindrom (MetS), i/ili T2DM, i/ili ozbiljnom bolešću krvnih sudova ili bubrega, i/ili opstruktivnom apnejom u snu imaju visok rizik za nastanak KVS bolesti [2,70].

1.3.1.1 Gojaznost

PCOS i gojaznost su blisko povezani, a tome u prilog govori činjenica da je 38-88% žena sa PCOS prekomerno uhranjena ili gojazna [71]. Ovako visoka prevalenca gojaznosti u PCOS nije neočekivana obzirom da je gojaznost glavni faktor koji doprinosi pogoršanju IR, a sekundarna hiperinsulinemija potencira hiperandrogenizam, koji zatvara ovaj začarani krug i potencira nastanak abdominalne gojaznosti [72]. Međutim, nisu sve žene sa PCOS gojazne niti sve gojazne žene imaju PCOS, i za sada nema dokaza da se prevalenca PCOS povećava sa povećanjem prevalencije gojaznosti.

Gojaznost, naročito abdominalna/visceralna, dovodi do demaskiranja i pogoršanja kliničkih, endokrinih, metaboličkih i reproduktivnih poremećaja kod žena koje su genetski predisponirane za PCOS [73]. Tako IR i hiperinsulinemija koje prate i gojaznost *per se*, kao i PCOS, dovode do supresije proizvodnje SHBG u jetri, pa niže koncentracije serumskog SHBG-a ujedno znače i više koncentracije biološki dostupnih androgena [74]. Dodatno, u masnom tkivu se androgeni pomoću aromataze konvertuju u estrogene (estron i estradiol) što dovodi do neadekvatne sekrecije gonadotropina i kontinuiranog, progesteronom neinhibisanog efekta estrogena na endometrijum. Gojazne žene sa PCOS imaju teže kardiometaboličke komplikacije u odnosu na normalno uhranjene žene sa PCOS [75]. Sa druge strane, čak i diskretno smanjenje telesne težine dovodi do poboljšanja metaboličkih, endokrinih i reproduktivnih karakteristika u PCOS [76]. Iako abdominalna/visceralna distribucija masnog tkiva ne može u potpunosti da objasni sve metaboličke poremećaje koji

se javljaju kod PCOS, smatra se da je gojaznost glavni determinišući faktor različitih metaboličkih karakteristika različitih fenotipova PCOS.

Iako je veliki broj studija, antropometrijskim merenjima (najčešće obim struka-OS) pokazao da žene sa PCOS imaju povećan sadržaj masnog tkiva u trbušnoj regiji, preciznije metode kao što su magnetna rezonanca i kompjuterizovana tomografija, nisu dokazale da žene sa PCOS imaju veći sadržaj visceralnog masnog tkiva, i pored većeg OS, u odnosu na reproduktivno zdrave žene sa komparabilnim BMI [77]. Međutim, postoje dokazi da masno tkivo kod žena sa PCOS ima aberantnu i morfologiju i funkciju. Naime, adipociti žena sa PCOS su hipertrofični i postoji poremećaj aktivnost simpatičkog nervnog sistema u abdominalnom masnom tkivu [78]. Poremećaj morfologije i funkcije masnog tkiva dovodi do njegove smanjene vaskularizacije, a posledična hipoksija stimuliše lokalnu inflamaciju niskog stepena sa povećanom proizvodnjom citokina, hemokina, adipokina (slobodne masne kiseline, leptin, resistin, visfatin) uz smanjenu produkciju adiponektina [78]. Hronična inflamacija niskog stepena korelira sa stepenom lokalne i sistemske IR, a time i nastankom T2DM i kardiovaskularnih faktora rizika [79]. Višak androgena utiče na nastanak i razvoj abdominalne gojaznosti, i time i indirektno na nastanak insulinske rezistencije [80]. Androgeni stimulišu hipertrofiju adipocita, diferencijaciju preadipocita u zrele adipocite, povećavaju lipolizu i tako dovode do porasta slobodnih masnih kiselina [81]. Adiponektin, i to naročito adiponektin velike molekularne ima insulin-senzitivijušće dejstvo, bi mogla biti veza između gojaznosti i hiperandrogenemije. Tako je dokazano da je kod žena sa PCOS ovaj hormon snižen i to nezavisno od BMI, distribucije masnog tkiva i IR, a što može biti posledica pojačanog dejstva testosterona na funkciju adipocita [82].

1.3.1.2 Dislipidemija

Dislipidemija je jedna od najčešćih kardiometaboličkih komplikacija PCOS i javlja se u oko 70% pacijenata [4,11]. Najčešće se ispoljava u vidu aterogene dislipidemije karakteristične za IR i to hipertrigliceridemijom sa niskim koncentracijama lipoproteina visoke gustine (*Engl. High density lipoprotein, HDL*) [83-86]. Studije na evropskoj populaciji žena gotovo univerzalno pokazuju postojanje hipertrigliceridemije kod žena sa

PCOS, dok su nizak HDL i visok lipoprotein niske gustine (*Engl. Low density lipoprotein, LDL*) varijabilni u različitim studijama [85,87]. Smatra se da hiperandrogenemija ima uticaja i na pojavu dislipidemije. Naime, moguće je da višak androgena modifikuje LDL u ranom životnom dobu, što dalje dovodi do produženog perioda dalje oksidativne transformacije LDL i vodi ka aterogenijem lipidnom profilu [84]. Apolipoprotein A1 (apoA1) je glavni strukturalni protein HDL i ima plejotropne biološke funkcije kao što su indukcija izbacivanja holesterola iz makrofaga i stimulacija reverznog lipidnog transporta, inhibicija LDL oksidacije i odlaganje toksičnih fosfolipida a ima i antiinflamatorna svojstva [88]. ApoB predstavlja ukupnu količinu potencijalno aterogenih cirkulišućih lipoproteina, uključujući LDL, VLDL i Lp(a) [89]. Pokazano je da je odnos ApoB/ApoA1 povezan sa T2DM, MetS i IR, a samim tim služi kao marker KVS bolesti [89,90].

1.3.1.3 Insulinska rezistencija i dijabetes melitus

Insulin reguliše homeostazu glukoze stimulacijom preuzimanja glukoze tkivima koja su osetljiva na insulin (adipociti, skeletni mišići i srčani mišić), supresijom produkcije glukoze u jetri i lipolize u masnom tkivu. Insulinska rezistencija se definiše kao smanjena sposobnost insulina da sprovede svoje metaboličke aktivnosti, što dovodi do njegove povećane koncentracije u cilju adekvatnog ostvarenja njegovih metaboličkih efekata [91]. Pri tome, u insulinskoj rezistenciji povećane koncentracije cirkulišućeg insulina, postoje i bazalno i u odgovorou na opterećenje glukozom ukoliko je funkcija beta ćelija pankreasa očuvana .

Hiperinsulinemija koja se javlja sekundarno zbog IR nije uzrok PCOS, i nije, ni dovoljna ni neophodna za pojavu PCOS, već predstavlja posledicu istog. Insulinska rezistencija je posledica sinergističkog dejstva PCOS i gojaznosti i predstavlja značajan kardiovaskularni rizik sam po sebi. Pokazano je da IR dovodi do hipertrofije endotelnih i glatko-mišićnih ćelija u krvnim sudovima, smanjenja sinteze i sekrecije azot-monoksida u endotelijalnim ćelijama krvnih sudova, kao i njegove pojačane inaktivacije [92]. Dodatno, hiperinsulinemija povećava sintezu i sekreciju vazokonstriktora endotelina-1 [93]. To sve dovodi do povećanja rigidnosti krvnih sudova i smanjenog vazodilatatornog efekta insulina,

a pokazano je da abnormalan vazodilatatorni odgovor korelira sa rizikom za nastanak kardiovaskularnih bolesti [94]. Dodatno, hiperinsulinemija povećava proizvodnju androgena u teka ćelijama jajnika i smanjuje proizvodnju SHBG u jetri [95].

Insulinska rezistencija se javlja kod 50-70% žena sa PCOS [96]. Iako je često zastupljena u PCOS i smatra se za jedan od najvažnijih patofizioloških mehanizama u PCOS, IR nije kriterijum za postavljanje dijagnoze PCOS. Iako i normalno uhranjene žene sa PCOS mogu biti insulin rezistentne, stepen insulinske rezistencije je kod njih obično značajno manji u odnosu na gojazne žene sa PCOS [4]. Samim tim, gojaznost *per se* predstavlja važan faktor rizika za nastanak IR, kako u opštoj populaciji tako i u PCOS populaciji. Postojanje IR uz normo- ili hiperglikemiju kod žena sa PCOS ukazuje na postojanje IR na nivou jetre (centralna insulinska rezistencija). Kod gojaznih žena sa PCOS, pored centralne postoji i periferna IR (skeletalni mišići i masno tkivo) [4,97]. Sa druge strane kod normalno uhranjenih žena sa PCOS insulinska senzitivnost je u skeletnim mišićima i masnom tkivu očuvana [4]. Sve navedeno samo potvrđuje da je hiperinsulinemija, iako ne uzrok PCOS, ona je ipak njegov sastavni deo nezavisno od gojaznosti. Ukoliko se uz PCOS javi i gojaznost ona postaje izuzetno važna zbog daljeg potenciranja insulinske rezistencije, i drugih metaboličkih poremećaja.

Iako većina žena sa PCOS ima normalan ili čak povećan insulinski sekretorni odgovor, kada se u obzir uzme stepen prisutne IR proizilazi da kod velikog broja žena sa PCOS ipak postoji oštećena funkcija β ćelija pankreasa. Rizik za nastanak T2DM u populaciji žena sa PCOS je 5-10 puta veći nego u zdravoj populaciji žena iste starosne dobi i BMI, a ovaj rizik povećava sa povećanjem BMI, i naročito je visok kod BMI većeg od 30kg/m^2 [98-100]. Dugogodišnje praćenje pacijentkinja sa PCOS je pokazalo da oko 40% razvija IGT ili T2DM već tokom četvrte decenije života [100]. Međutim, često se istraživanja o IR kod žena sa PCOS sprovode na gojaznim pacijentkinjama sa visokim BMI ($>30\text{kg/m}^2$), dok studije na prekomerno i normalno uhranjenim pacijentkinjama obično ne pokazuju povećanu frekvencu evolucije normoglikemije u T2DM, a sama prevalenca disglukemije je varijabilna [98,100-102]. Bez obzira na to, a imajući u vidu znatno veću prevalencu disglukemije i u američkoj opštoj a naročito u PCOS populaciji, Američka

Asocijacija za Dijabetes (*Engl. American Diabetes Association- ADA*) je uvrstila PCOS u faktore rizika za dijabetes [101].

Zbog visokog rizika za nastank IGT-a i T2DM, najnovije preporuke ukazuju da bi kod svih žena sa PCOS trebalo uraditi standardni dvočasovni test oralnog optećenja glukozom (*Engl. Oral glucose tolerance test, OGTT*) sa 75g glukoze, uz ponovnu kontrolu istog za 3-5 godina ili ranije u slučaju pogoršanja i pojave novih faktora rizika ili simptoma dijabetesa [2]. Za razliku od OGTT-a, hiperinsulinemijski euglikemijski klamp je tehnički i vremenski mnogo zahtevnija metoda, koja uz to nosi i izvesne rizike i za pacijenta (mogućnost hipoglikemije), ali ipak i dalje predstavlja zlatni standard za ispitivanje stepena insulinske rezistencije [103].

1.3.1.4. Hipertenzija

Studije su pokazale da kod žena sa PCOS postoji veća prevalenca hipertenzije (HTA), i to najčešće sistolne hipertenzije, u odnosu na žene sličnog godišta i BMI [104]. Postoji mogućnost da je hiperandrogenemija predisponirajući faktor za nastanak HTA, obzirom da je ona češća kod žena sa hiperandrogenemijom u odnosu na normoandrogenemične žene sa PCOS [105]. Međutim i po pitanju hipertenzije kod žena sa PCOS postoje oprečna mišljenja. Tako retrospektivna studija Wild i sar. nije pokazala veću incidencu hipertenzije kod žena sa PCOS [106]. Sa druge strane, druga studija je pokazala da žene sa PCOS u menopauzi imaju 2.5 puta veći rizik za razvoj hipertenzije u odnosu na žene istog životnog doba, a što je bar delom posledica veće incidence gojaznosti kod postmenopauznih žena sa PCOS [104]. Takođe, Glinborg i sar. su u svojoj retrospektivnoj studiji pokazali da se prevalenca hipertenzije kod žena sa PCOS povećava sa godinama starosti i to naročito u periodu nakon 30.godine života [107]. Obzirom da većina studija koje su se bavile proučavanjem hipertenzije kod žena sa PCOS nije uzimala u obzir mogućnost uticaja veće prevalencije gojaznosti na veću prevalencu hipertenzije kod žena sa PCOS, postoji mogućnost da je veza između PCOS i hipertenzije u stvari gojaznost. Obzirom da gojazne žene sa PCOS imaju sličnu učestalost hipertenzije kao i muškarci, smatra se da kombinacija gojaznosti i PCOS dovodi do gubitka protektivnog efekta seksualnog dimorfizma kada se radi o hipertenziji [108]. Aditivni efekat gojaznosti i PCOS na nastanak hipertenzije se

može objasniti pre svega efektom insulinske rezistencije koja je zajednička i za oba poremećaja. Naime, IR utiče na osetljivost na so, povećava dostupnost biološki aktivnog IGF-1 koji se povezuje sa hipertrofijom vaskularnih glatkih mišića i konačno povoljan efekat metformina na krvni pritisak indirektno ukazuje na značaj IR u regulaciji krvnog pritiska [108]. Takođe, porast telesne težine, ali i hiperandrogenemija mogu da aktiviraju renin-angiotenzin sistem a posledično povećane koncentracije cirkulišućeg aldosterona predstavljaju predispoziciju za nastanak hipertenzije, čak i ako su koncentracije aldosterona u okviru fizioloških granica [109]. Dodatno aktivacija simpatičkog nervnog sistema koja dovodi do povećanja tubularne resorpcije natrijuma i periferne vazokonstrikcije, je zajednička karakteristika i gojaznosti *per se* i PCOS, a povezana je i sa insulinskom rezistencijom i hiperandrogenemijom [110].

Imajući u vidu rezultate do sada sprovedenih studija, može se reći da žene sa PCOS imaju predispoziciju za razvoj hipertenzije, čemu naročito doprinosi neravnoteža nivoa androgena i estrogena, a gojaznost kojoj su takođe predisponirane, ubrzava razvoj hipertenzije naročito u postmenopauzalnom periodu.

1.3.1.5. Metabolički sindrom

Metabolički sindrom (MetS) je skup metaboličkih abnormalnosti (trbušna gojaznost, insulinska rezistencija sa kompenzatornom hiperinsulinemijom, disglukemija, dislipidemija i hipertenzija) koje se javljaju zajedno i manje ili više istovremeno i dovode do direktnog porasta rizika za KVS bolesti i T2DM [111]. Dodatno, kompleksnost ovog sindroma povećavaju i dodatne abnormalnosti za koje se u poslednje vreme smatra da su sastavna komponenta MetS kao što su hronično proinformatorno i protrombotsko stanje, nealkoholna steatoza jetre i apnea u snu. Smatra se da se MetS javlja kod 1 od 5 žena u reproduktivnoj životnoj dobi [111]. Obzirom da PCOS i MetS imaju veći broj sličnih karakteristika (trbušna gojaznost, insulinska rezistencija, dislipidemija, hipertenzija, rizik za T2DM) pojedini naučnici smatraju da je PCOS podtip MetS kod žena.

Iako u stručnoj javnosti i dalje postoji debata oko samog koncepta postojanja MetS kao i kriterijuma koji ga određuju, jasno je da se pojedine metaboličke karakteristike zajedno

javljaju naročito u populaciji koja ima povećan KVS rizik. Još od kad je metabolički sindrom prvi put opisan od strane Reaven i saradnika [112], mnoge organizacije su objavile različite definicije koje se u ovom trenutku podjednako koriste bez postojanja bilo kakvog vodiča kojim bi se davala prednost jednoj u odnosu na drugu definiciju. Tako *National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel* (NCEP ATP) III [65] i *Joint* definicija [113] podrazumevaju da se bilo koje 3 od ukupno 5 metaboličkih karakteristika javljaju zajedno ukoliko postoji MetS (Tabela 2). Sa druge strane Internacionalna Federacija za Dijabetes (*Engl. International Diabetes Federation, IDF*) [114] podrazumeva obavezno postojanje abdominalne gojaznosti uz najmanje još dva zastupljena kriterijuma (Tabela 2). Na taj način IDF definicija smatra da je centralna gojaznost neophodna osnova za pojavu MetS, dok ostale definicije smatraju da su svi kriterijumi podjednako važni za pojavu MetS. Obzirom na različite definicije koje se koriste, prevalenca MetS varira i zavisi ne samo od vrste definicije koje se koriste za postavljanje dijagnoze već zavisi i od pola, godina starosti, etničke i rasne pripadnosti populacije koja se posmatra.

Imajući u vidu da osobe sa MetS imaju oko 5 puta veći rizik za nastanak T2DM [115] i 2 puta veći rizik sa pojavu KVS morbiditeta i mortaliteta [116], sa povećanjem prevalencije MetS u opštoj populaciji istovremeno se povećava i prevalenca osoba koje su u riziku za navedene komplikacije MetS. Time se povećava opterećenje zdravstvenog sistema uopšte. Novije meta-analize su pokazale da je kardiometabolički rizik značajno veći kod osoba sa razvijenim kompletnim MetS nego kod osoba koje imaju samo pojedinačne karakteristike MetS a istovremeno nedovoljan broj istih za postavljanje dijagnoze MetS. Tako je i pokazano da se rizik za aterosklerozu i KVS bolesti povećava sa povećanjem broja zadovoljenih kriterijuma odnosno komponenti MetS nezavisno od postojanja T2DM [117]. Međutim osobe sa 3 komponente MetS imaju sličan rizik za KVS bolesti kao i osobe koje imaju samo T2DM ili hipertenziju [118]. Ovim se ukazuje na važnost svake od komponenti MetS kao i na to da svaki faktor rizika za KVS treba da se evaluira i leči nezavisno od toga da li pacijent ima zadovoljene kriterijume za postavljanje dijagnoze MetS.

Tabela 2. Kriterijumi za metabolički sindrom prema različitim definicijama

Definicija	Neophodni kriterijumi
NCEP-ATP III [65]	Zahteva prisusvo bilo koja 3 kriterijuma: <ol style="list-style-type: none"> 1. Obim struka ≥ 88 cm 2. Glikemija na tašte ≥ 6.1 mmol/l 3. Trigliceridi na tašte ≥ 1.7 mmol/l 4. HDL < 1.3 mmol/l 5. TA $> 130/85$ mmHg
IDF [114]	Zahteva obavezno prisustvo kriterijuma obima struka plus bilo koja dva: <ol style="list-style-type: none"> 1. Obim struka > 80 cm 2. Glikemija na tašte ≥ 5.6 mmol/l 3. Trigliceridi na tašte ≥ 1.7 mmol/l 4. HDL < 1.29 mmol/l 5. TA $\geq 130/85$ mmHg
Joint [113]	Zahteva prisusvo bilo koja 3 kriterijuma: <ol style="list-style-type: none"> 1. Obim struka > 80 cm 2. Glikemija na tašte ≥ 5.6 mmol/l 3. Trigliceridi na tašte ≥ 1.7 mmol/l 4. HDL < 1.29 mmol/l 5. TA $\geq 130/85$ mmHg

Patofiziološki mehanizam kojim MetS povećava KVS rizik je još uvek nepotpuno razjašnjen. Evropska Grupa za Proučavanje Insulinske Rezistencije (EGIR) potencira nezavisnu ulogu IR kao osnovnog etiološkog faktora MetS [119]. Pri tome, IR i hiperinsulinemija vremenom dovode do hiperglikemije, periferne vazokonstrukcije i retencije natrijuma. Povećava se produkcija lipoproteina vrlo niske gustine (*Engl. Very low density lipoprotein, VLDL*) u jetri što vodi u hipertrigliceridemiju, nizak HDL, povećan apolipoprotein B (apoB) i male guste LDL molekule, a što sve posledično vodi u aterosklerozi. Kao posledica ovakvog lipidnog disbalansa, može doći do razvoja

protrombotskog i proinflamatornog stanja [113]. Sa druge strane, IDF naglašava da je abdominalna gojaznost osnova MetS, zbog čega je u ovoj definiciji obim struka obavezan kriterijum za postavljanje dijagnoze MetS [114]. Adipociti sekretuju medijatore kao što su tumor nekrosis faktor alfa, leptin, adiponektin i rezistin, a poremećaj ovih adipokina dovode do nastanka insulinske rezistencije. Sa druge strane abdominalna gojaznost sama po sebi ali i preko IR dovodi do hipertenzije i dislipidemije. U svakom slučaju aterogena dislipidemija (povećan LDL, nizak HDL i visoki trigliceridi) je nezavisno udružena sa KVS rizikom, dok IR značajno povećava rizik za nastanak T2DM [120].

Prevalenca MetS se povećava i sa povećanjem BMI. Tako je pokazano da se prekomerno uhranjene žene imaju više od 5 puta veću verovatnoću da će imati MetS bez obzira na to koja se definicija za dijagnozu MetS koristi, u odnosu na normalno uhranjene žene [121].

Prevalenca MetS povećava i sa starenjem, pa žene u reproduktivnom životnom dobu imaju manju prevalencu MetS, dok se prevalenca MetS kod žena u menopauzi izjednačava ili postaje nešto veća u odnosu na muškarce [121]. Istovremeno žene u menopauzi sa MetS imaju veći KVS rizik u odnosu na muškarce sa MetS [116]. Dodatni faktori za koje je pokazano da se doprinose većem KVS riziku kod žena u odnosu na muškarce, su PCOS i primena kontraceptiva [122,123].

Predispozicija žena sa PCOS za različite metaboličke poremećaje uključujući gojaznost, IGT, aterogenu dislipidemiju i hipertenziju povećavaju rizik za T2DM i KVS morbiditet mortalitet [8]. Zbog toga postoji potreba za prevencijom dugogodišnjih komplikacija PCOS. Prevalenca MetS u PCOS populaciji varira od 1.6 do 43% u zavisnosti pre svega od rasne i etničke pripadnosti populacija, kao i od vrste definicija MetS koje se koriste [111,124]. Imajući u vidu da se, rizik za MetS povećava sa starenjem, kao i da žene u menopauzi sa MetS imaju veći KVS rizik, PCOS predstavlja značajan faktor rizika za postojanje kardiometaboličkih komplikacija tokom celog života žene. Iako su MetS i KVS bolesti glavni uzroci mortaliteta kod žena u postmenopauznom periodu, rizik za razvoj MetS i KVS bolesti kod mlađih žena nije u potpunosti proučen. Dodatno, razumevanje veze između endokrinog statusa i metaboličkih komplikacija kod žena sa PCOS u reproduktivnoj životnoj dobi je ograničeno i kontroverzno .

Zbog svega navedenog postoji potreba da se identifikuju markeri MetS u svakoj rizičnoj populaciji u skladu sa godinama starosti i stepenu gojaznosti. Obzirom da su žene sa PCOS u reproduktivnom životnom dobu, odnosno pripadaju mlađoj populaciji, a da pri tome mogu ali i ne moraju da budu gojazne, kriterijumi za postavljanje dijagnoze MetS ne mogu biti isti kao za opštu populaciju i potrebno je prilagoditi ih ovoj populaciji. Na taj način bi se kliničko praćenje ovakvih pacijenata poboljšalo i omogućilo bi se brže dijagnostikovanje faktora rizika za kardiometaboličke komplikacije.

1.4. Fenotipovi sindroma policističnih jajnika

Do sada je mali broj studija ispitivao karakteristike PCOS fenotipova. Pokazano je da se fenotipovi međusobno razlikuju prema antropometrijskim, hormonskim i metaboličkim karakteristikama [125-128]. To ujedno i implicira da se fenotipovi mogu razlikovati i prema vrsti stepenu ispoljavanja kardiometaboličkih komplikacija. Dodatno, pretpostavlja se da žene sa jednim PCOS fenotipom mogu vremenom da ispolje drugi fenotip, a samim tim, tokom života, može doći i do promene faktora rizika i komplikacija svakog pojedinačnog fenotipa. Tome naročito doprinose egzogeni faktori kao što su promene u telesnoj težini, ishrani i fizičkoj aktivnosti.

Sve je veći broj dokaza da je hiperandrogenizam kod žena sa PCOS udružen sa povećanom prevalencom metaboličkih poremećaja [101,129-131]. To je i razlog zbog čega neki istraživači smatraju da je PCOS u osnovi hiperandrogeno stanje. Imajući u vidu tu činjenicu, postoji dilema da li fenotip D, kao ne-hiperandrogeni fenotip, uopšte može biti deo PCOS. Dodatno studije su pokazale da klasični PCOS fenotipovi (A i B) imaju gori metabolički profil od fenotipova C i D, ali su one istovremeno i gojaznije u odnosu na žene sa fenotipovima C i D. Stoga studije koje nisu u obzir uzimale BMI, kao faktor koji doprinosi značajnim razlikama između fenotipova, ne mogu u potpunosti da pruže adekvatne informacije, a ovakvih je studija najviše.

Obzirom na heterogene rezultate do sada objavljenih istraživanja i dalje postoje sledeće dileme: a) da li fenotipovi C i D imaju isti kardiometabolički rizik kao i fenotipovi A i B, b)

da li je kardiometabolički rizik fenotipova C i D veći ili isti u odnosu na populaciju zdravih žena i c) da li se fenotipovi C i D imaju slični kardiometabolički rizik?

1.5 Uzroci heterogenih podataka u literaturi

Sve je više dokaza da etnička pripadnost utiče na stepen gojaznosti, hiperandrogenemiju, hirsutizam, lipidni profil, adrenalne hormone i IR [132-135] što je verovatno, bar delom, uzrok heterogenih rezultata u literaturi. Međutim, značajna je i geografska lokalizacija, obzirom da je pokazano da između žena sa PCOS koje pripadaju različitim etničkim populacijama, a žive u istoj geografskoj regiji, nema značajnije razlike u prevalenci hirsutizma [136]. Takođe, način kategorizacije i klasifikacije pacijentkinja je od izuzetne važnosti, čemu u prilog govore studije kojima je pokazano osobe sa biohemijskim i kliničkim hiperandrogenizmom imaju gori metabolički profil i veći stepen IR u odnosu na žene samo sa kliničkim hiperandrogenizmom [137,138].

Izgleda da je jedan od najznačajnijih razloga za heterogene rezultate u studijama ipak način regrutovanja pacijentkinja. Naime, na distribuciju PCOS fenotipova, težinu prezentacije i prevalencu gojaznosti značajno utiče činjenica da u većini studija, PCOS populacija predstavlja žene koje su upućene u specijalizovanu ustanovu zbog specifičnog poremećaja, a rezultati dobijeni na ovaj način se značajno razlikuju u odnosu na istraživanja koja se obavljaju u opštoj populaciji, obzirom da u prvom slučaju žene mogu pokazivati uznapredovale metaboličke poremećaje .

Veliki problem postoji i u definisanju kontrolnih grupa. Jedan broj studija ima precizno definisane kontrolne grupe kao žene sa redovnim menstrualnim ciklusima bez kliničkog i biohemijskog hiperandrogenizma, dok u drugim studijama kao kontrolne grupe se uzimaju samo ne-hirsutne žene bez obzira nivo njihovih cirkulišućih androgena. Sporno je i to što se često ne ispituje morfologija jajnika kod žena iz kontrolne grupe. Iako nije potvrđeno u nekim studijama [139-141], u drugim je uočeno da žene koje imaju samo PCOM bez drugih karakteristika PCOS, imaju gore metaboličke i reproduktivne parametre [142,143].

Nepostojanje pravila na koji način i koje androgene treba određivati, kojim instrumentima dokazivati postojanje gojaznosti i kojim surogat markerima se može određivati IR, su samo neke od dilema koje doprinose značajnoj heterogenosti rezultata koji se dobijaju prilikom ispitivanja PCOS populacije.

I konačno, nešto na šta se može uticati ali što se često zanemaruje, je analiziranje podataka nakon prilagođavanja godinama starosti i BMI u situaciji kada se studijska i kontrola grupa po ovome razlikuju, odnosno analiziranje uparenih ispitanica prema godinama starosti i BMI.

2. Ciljevi istraživanja

1. Odrediti prevalenciju četiri fenotipa PCOS u našoj populaciji ispitanica
2. Odrediti hormonske karakteristike svakog PCOS fenotipa i utvrditi da li postoji razlika među njima
3. Odrediti metaboličke karakteristike svakog PCOS fenotipa i utvrditi da li postoji razlika među njima
4. Odrediti prevalenciju metaboličkog sindroma u celoj populaciji žena sa PCOS i u svakom fenotipu pojedinačno korišćenjem sve tri postojeće definicije metaboličkog sindroma

3. Metodologija istraživanja

Ovo istraživanje predstavlja kliničku studiju preseka koja je sprovedena u Klinici za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Kliničkog centra Srbije.

3.1. Izbor ispitanika

a) Ispitanice za PCOS

U studiju su uključene sve bolesnice (ukupno 365) koje su se konsektivno ispitivale u Klinici za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Kliničkog centra Srbije zbog neurednih menstrualnih ciklusa, pojačane maljavosti, akni i/ili infertiliteta, i kod kojih je potvrđena dijagnoza sindroma policističnih jajnika.

PCOS je dijagnostikovao pomoću ESHRE/ASRM kriterijuma koji podrazumeva da su zadovoljena bilo koja 2 od sledeća 3 navedena: 1) hiperandrogenizam (klinički i/ili biohemijski), 2) ovulatorna disfunkcija (oligo- ili anovulacija) i 3) morfološki policistično izmenjeni jajnici. Prethodno su kod ovih ispitanica isključeni drugi endokrinološki poremećaji kao što su: hiperprolaktinemija, poremećaji funkcije štitaste žlezde, kongenitalna adrenalna hiperplazija, prevremena insuficijencija jajnika, Kušingov sindrom, akromegalija i androgen sekretujuć tumori.

- Klinički hiperandrogenizam (hirzutizam) je evaluiran pomoću modifikovanog Ferriman-Galway (FG) sistema skorovanja koji predstavlja zlatni standard za evaluaciju hirzutizma [29,144]. Pri tome je hirzutizam definisan u slučaju postojanja FG skora ≥ 8 , bez obzira na prisustvo akni ili alopecije [144].
- Biohemijski hiperandrogenizam je definisan kao indeks slobodnih androgena (*free androgen index-FAI*) > 6 i/ili serumski nivo ukupnog testosterona $> 2.0 \text{ nmol/L}$, a što predstavlja 95. percentil vrednosti testosterona reproduktivno zdrave populacije žena koje čine kontrolnu grupu zdravih ispitanica u ovom istraživanju.
- Regularni menstrualni ciklusi su definisani kao oni čija je dužina trajanja 28 ± 4 dana. Amenoreja je definisana kao odsustvo menstrualnog krvarenja u dužini trajanja od 6 meseci. Oligomenoreja je definisana kao godišnji broj menstrualnih ciklusa manji od 8, a anovulacija kao lutealni nivo serumskog progesterona

≤ 10 nmol/l [145]. Hronična anovulacija kao ESHRE/ASRM kriterijum je podrazumevala postojanje oligomenoreje i/ili anovulacije zabeležene u 2 konsektivna MC kod žena sa redovnim MC.

- Morfološki policistično izmenjeni jajnici (PCOM) su definisani kao postojanje 12 ili više folikula veličine od 2-9mm [10].

Studijska grupa ispitanica je podeljena na 4 fenotipa:

Fenotip A: hiperandrogenizam (HA), hronična anovulacija (ANOV) i morfološki policistični jajnici (PCOM),

Fenotip B: hiperandrogenizam (HA) i hronična anovulacija (ANOV),

Fenotip C: hiperandrogenizam (HA) i morfološki policistični jajnici (PCOM),

Fenotip D: hronična anovulacija (ANOV) i morfološki policistični jajnici (PCOM).

b) Kontrolna grupa ispitanica

Kontrolnu grupu ispitanica su činile reproduktivno zdrave žena (ukupno 125), sličnog indeksa telesne mase kao i žene iz PCOS grupe ($p > 0.005$), a bez kliničkog i biohemijskog hiperandrogenizma ili bilo kog drugog hormonskog poremećaja, sa redovnim ovulatornim ciklusima i morfološki normalnim jajnicima, koje su upućene na Klinku radi provere tireoidne funkcije ili provere gonadne funkcije u okviru planiranja trudnoće.

Kriterijumi za isključivanje iz studije: Postojanje bilo kog drugog endokrinog poremećaja sem gojaznosti, disglukemije i dislipidemije; korišćenje oralnih kontraceptiva u poslednja 3 meseca; korišćenje kortikosteroida bilo kada tokom života; trenutna trudnoća; postojanje drugih hroničnih bolesti.

3.2. Kliničko-laboratorijski parametri

3.2.1. Antropometrijski parametri

Telesna težina (TT, kg) je merena električnom bioimpedancijom (Tanita). Telesna visina (TV, m) je merena stadiometrom. Indeks telesne mase (*Engl. Body mass index*-BMI) je računat formulom: TT / TV^2 (kg/m²). Obim struka (OS, cm) je meren na nivou

najmanjeg obima struka u regiji pupka. Gojaznost je definisana kao $BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$. Arterijski krvni pritisak je meren svim ispitanicama nakon 15min mirovanja u sedećem stavu. Hipertenzija je definisana kao postojanje sistolnog krvnog pritiska $\geq 140 \text{ mmHg}$ i/ili dijastolnog krvnog pritiska $\geq 90 \text{ mmHg}$.

3.2.2. Biohemijske analize

Svim ispitanicama su uzimani uzorci krvi našte u folikularnoj fazi menstrualnog ciklusa, kod onih sa redovnim menstrualnim ciklusima (između 3. i 7. dana MC), odnosno nakon potvrde anovulatornog nivoa progesterona i isključivanja trudnoće kod onih sa neredovnim menstrualnim ciklusima.

Svim ispitanicama su određivani: glikemija našte, ukupni holesterol (*Engl. total cholesterol-TC*), lipoprotein visoke gustine (*Engl. high density lipoprotein-HDL*), lipoprotein niske gustine (*Engl. Low density lipoprotein-LDL*), trigliceridi (*Engl. triglycerides-TG*), mokraćna kiselina (MK), apolipoproteini A1, B, A2, E i Lp(a); folikulostimulirajući hormon (FSH), luteinizirajući hormon (LH), testosteron, SHBG, DHEAS, 17OH-progesteron, androstenedion, estradiol, insulin, prolaktin, TSH, kortizol. Izračunavani su i različiti lipidni odnosi: TC/HDL, LDL/HDL, TG/HDL, ApoB/ApoA1. Lipidni akumulacioni proizvod (LAP) je izračunat prema formuli: $LAP = (OS-58) \times TG$ [146].

Indeks slobodnih androgena (*Engl. free androgen index, FAI*) je izračunavan formulom $FAI = (\text{testosteron} \times 100) / SHBG$ [147]. Androgeni su smatrani za visoke ukoliko su im vrednosti bile iznad 95.percentila naše zdrave populacije žena, i to: za androstenedion $> 3.51 \text{ ng/mL}$ a za DHEAS $> 9.62 \text{ } \mu\text{mol/L}$.

Glikemija (mmol/L) je određivana pomoću metoda glukoza-oksidge (Randox, Velika Britanija), korišćenjem auto-analizatora (Beckman, Austrija). TC (mmol/L) i TG (mmol/L) su određivani standardnim enzimskim metodama (TC: holesterol oksidge, Randox, Velika Britanija; TG,,: glicerol-3 fosfat-oksidge, Randox, Velika Britanija). HDL (mmol/L) je meren direktnom metodom (Randox, Velika Britanija) a LDL (mmol/L) je određivan pomoću Friedewald formule [148]. Apolipoproteini A1, B, A2, E i Lp(a) (g/L) su određivani nefelometrijskim metodom (Behring, Nemačka). MK je određivana

kolorimetrijskom metodom (Randox, Velika Britanija). Serumske koncentracije FSH i LH (mU/L) su određivane pomoću radioimunoeseja [ImmuChem FSH-CT, i ImmuChem LH CT, MP Biomedicals Inc, California, SAD sa intra- i inter-esejskim koeficijentom varijacije (KV) za FSH 2.6% i 8% a za LH 2.4% i 7.3%]. Prolaktin je određivan pomoću radioimunoeseja (ImmuChem Prolactin-CT, MP Biomedicals Inc, California, SAD sa intra- i inter-esejskim KV 4.3% i 7.4%). TSH je određen pomoću radioimunoeseja (IRMA TSH INEP, Belgrade, Serbia, sa intra- i inter-esejskim KV 4.3 i 9.8%). Serumske koncentracije insulina su određene pomoću radioimunoeseja [RIA INSULIN (PEG), INEP, Belgrade, Serbia, sa intra- i inter-esejskim KV 2.5 i 7.7%]. Serumski testosteron (nmol/L) je određivan pomoću radioimunoeseja (TESTO-CT2, Cisbio Bioassays, Codolet, Francuska, sa intra- i inter-esejskim KV 3.1 i 5.2%). SHBG (nmol/L) je određivan pomoću radioimunoeseja (SHBG-RIACT, Cisbio Bioassays, Codolet, Francuska, sa intra- i inter-esejskim KV 3.9 i 4.7%). DHEAS ($\mu\text{mol/L}$) je određivan pomoću radioimunoeseja (DHEAS-CT, MP Biomedicals Inc, California, SAD sa intra- i inter-esejskim KV 3.5 i 4%). Androstenedion (ng/mL) je određivan pomoću radioimunoeseja (R-GM-100, ZenTech, Angleur, Belgija sa intra- i inter-esejskim KV 8.7% i 3.7%) a 17-OH-progesteron sa (OHP-CT, Cisbio Bioassays, Codolet, Francuska). Estradiol je određen pomoću radioimunoeseja (ESTR-US-CT, Cisbio Bioassays, Codolet, Francuska sa intra- i inter-esejskim KV 5.0% i 9.7%). Kortizol (nmol/L) je određivan pomoću radioimunoeseja (CORT-CT2, CIS bio international, Gif-Sur-Yvette Cedex, Francuska, sa intra- i inter-esejskim KV 3.8 i 4.3%).

3.2.3. Endokrinološki testovi

3.2.3.1. Oralni test tolerancije glukoze (OGTT)

U folikularnoj fazi menstrualnog ciklusa (jedan dan nakon uzimanja bazalnih analiza) je ispitanicama urađen standardni dvočasovni oralni test tolerancije glukoze (OGTT) sa 75gr glukoze, a nakon prekonoćnog gladovanja od najmanje 8h. Krv za analizu glikemije i insulina je vađena u 0, 30, 60, 90 i 120.minutu testa.

3.2.3.2. Euglikemijski hiperinsulinemijski klamp (EHK)

Hiperinsulinemijski euglikemijski klamp (EHK) je tehnika kojom se kvantitativno procenjuje dejstvo insulina na preuzimanje glukoze u celom telu, i samim tim se procenjuje stepen insulinske rezistencije. Nakon infuzije željene doze insulina euglikemija se održava infuzijom glukoze u različitoj brzini koja se određuje na osnovu nivoa glikemije koja se određuje na svakih 10 minuta [103]. Kada se postigne stabilna faza, količina glukoze koja se primeni u infuziji je jednaka količini glukoze koja se preuzima u perifernim tkivima, pa se zbog toga i koristi kao mera periferne sensitivnosti na insulin, poznata kao insulinom posredovano preuzimanje glukoze (*Engl. insulin-mediated glucose disposal, IMGD*) ili M vrednost [103].

EHK je u našem istraživanju urađen kod 124 ispitanica studijske grupe u folikularnoj fazi menstrualnog ciklusa (dva dana nakon OGTT-a). Test je obavljen primenom kontinuirane infuzije kristalnog insulina tokom 120 minuta, brzinom od 0.1 U/kg/h. Na početku testa nivo glikemije je izračunat na osnovu tri merenja glikemije u razmaku od 5 minuta, a potom se euglikemija nivoa 4.5-5.6mmol/L održavala pomoću varijabilne brzine infuzije 5% rastvora glukoze putem infuzomata. Ukupan telesni utrošak glukoze (vrednost M, mg/kg/min) je određena na osnovu srednje vrednosti brzine infuzije glukoze tokom poslednjih 30 minuta testa (kada je postignuto stabilno stanje). Da bi se ova vrednost iskorigovala za eventualne varijacije serumskog nivoa insulina, izračunat je indeks insulinske senzitivnosti (M/I)= $[M / \text{srednja vrednost insulina u poslednjih 30 minuta testa}] \times 100$.

3.2.4. Definisane različite poremećaje

3.2.4.1. Procena stepena disglukemije

Disglukemija je definisana prema kriterijumima Međunarodne dijabetesne federacije (*Engl. International Diabetes Foundation- IDF*) [149] i to kao:

- a) Oštećena glikemija našte (*impaired fasting glucose-IFG*): ukoliko je glikemija našte 6.1-6.8mmol/L

- b) Intolerancija na glukozu (*Engl. impaired glucose tolerance-IGT*): ukoliko je glikemija našte $<7.0\text{mmol/L}$ i glikemija u 120.min OGTT-a ≥ 7.8 i $<11.1\text{mmol/L}$
- c) Dijabetes melitus (DM): ukoliko je glikemija našte $\geq 7.0\text{mmol/L}$ ili glikemija u 120.min OGTT-a $\geq 11.1\text{mmol/L}$

3.2.4.2. Procena insulinske rezistencije (IR)

. Insulinska rezistencija je procenjivana na osnovu surogat markera koji koriste glikemiju i insulin našte u formulama kao i na osnovu surogat markera koji su izvedeni iz OGTT-a.

A. Indeksi insulinske rezistencije izvedeni iz bazalnih parametara

- a) Homeostatski model insulinske rezistencije : $\text{HOMA-IR} = (\text{glikemija našte} \times \text{insulin našte})/22.5$ [150]
- b) Kvantitativni indeks insulinske senzitivnosti (*Engl. qualitative insulin sensitivity check index*): $\text{QUICKI} = 1/[\text{Log}(\text{insulin našte}) + \text{Log}(\text{glikemija našte})]$ [150].

B. Indeksi insulinske senzitivnosti/rezistencije izvedeni iz OGTT-a

- a) Površina ispod krive za glukozu ($\text{AUC}_{\text{Glukoza}}$) i insulin ($\text{AUC}_{\text{Insulin}}$) tokom OGTT-a je izračunavana prema trapezoidalnom modelu [151].
- b) Indeks insulinske sekrecije i senzitivnosti (*Engl. Insulin secretion and sensitivity index*): $\text{ISSI-2} = \text{AUC}_{\text{Insulin}} / \text{AUC}_{\text{Glukoza}}$
- c) Insulinogeni indeks (*Engl. Insulinogenic index*): $\text{IGI} = (\text{Ins}_{30} - \text{Ins}_0) / (\text{Gluc}_{30} - \text{Gluc}_0)$ [152,153]
- d) Indeks insulinske rezistencije u jetri (*Engl. Hepatic insulin resistance index*): $\text{HIRI} = \text{AUC}_{\text{Glukoza } 0-30.\text{min}} \times \text{AUC}_{\text{Insulin } 0-30\text{min}}$, pri čemu je glukozna izražena u mg/dL [154].
- e) Indeks insulinske senzitivnosti-Matsuda (*Engl. insulin sensitivity index Matsuda*): $\text{ISI}_{\text{Matsuda}} \text{ indeks} = 10000 / [\sqrt{G_0 \times I_0 \times G_{\text{srednje}} \times I_{\text{srednje}}}]$ [155]. Pri tome je 10000 konstanta koja omogućava dobijanje brojeva od 0 do 12, G_0 – glikemija našte (mg/dL), I_0 – insulin našte (mIU/L), G_{srednje} – srednja

koncentracija glukoze tokom OGTT-a (mg/dL) tokom 0.min do 120.min, I_{srednje} – srednja koncentracija insulina (mIU/L) tokom 0.min do 120.min OGTT-a a kvadratni koren služi za korekciju distribucije nelinearnih vrednosti.

3.2.4.3. Procena postojanja metaboličkog sindroma (MetS)

MetS je definisan kod svih ispitanica na osnovu tri definicije:

- a) NCEP-ATP III definicija podrazumeva postojanje MetS ukoliko je zadovoljeno ≥ 3 kriterijuma: a) $OS \geq 88\text{cm}$, b) $TG \geq 1.7\text{mmol/L}$, c) sistolni krvni pritisak (SKP) ≥ 130 i/ili dijastolni krvni pritisak (DKP) ≥ 85 mmHg d) HDL $< 1.3\text{mmol/L}$, e) glikemija našte $\geq 6.1\text{mmol/L}$.
- b) IDF definicija podrazumeva postojanje MetS ukoliko je zadovoljen obavezan kriterijum ($OS \geq 80\text{cm}$) uz jos bilo koja dva od sledećih: a) $TG \geq 1.7\text{mmol/L}$ ili aktuelno lečenje hipertrigliceridemije c) sistolni krvni pritisak (SKP) ≥ 130 i/ili dijastolni krvni pritisak (DKP) ≥ 85 mmHg ili aktuelno lečenje hipertenzije d) HDL $< 1.3\text{mmol/L}$, e) glikemija našte $\geq 5.6\text{mmol/L}$ ili dijabetes melitus tip 2.
- c) Joint definicija podrazumeva postojanje MetS ukoliko su zadovoljena bilo koja tri ili više kriterijuma: a) $OS \geq 80\text{cm}$, b) $TG \geq 1.7\text{mmol/L}$ ili aktuelno lečenje hipertrigliceridemije c) sistolni krvni pritisak (SKP) ≥ 130 i/ili dijastolni krvni pritisak (DKP) ≥ 85 mmHg ili aktuelno lečenje hipertenzije d) HDL $< 1.3\text{mmol/L}$, e) glikemija našte $\geq 5.6\text{mmol/L}$ ili dijabetes melitus tip 2.

3.3. Statistička obrada podataka

Statističke analize su rađene pomoću programa SPSS Ver. 13.0. Vrednost statističkih testova manja od 0.05 ($p < 0.05$) je smatrana značajnom.

U radu su od metoda deskriptivne statistike našle primenu:

1. Mere centralne tendencije : aritmetička sredina (X) i medijana (Med)

2. Mere varijabiliteta : interval varijacije (max-min), standardna devijacija (SD), interkvartilni rang (IQR) i standardna greška sa 95% intervalom poverenja [SE(95%CI)].

Sve kontinuirane varijable sa normalnom raspodelom su prikazane kao $X \pm SD$, a kontinuirane varijable bez normalne raspodele kao Med (IQR).

Od metoda analitičke statistike u radu su korišćene:

1. Metode identifikacije empirijskih raspodela i to: Kolmogorov-Smirnov test za procenu raspodele varijabli kada je broj ispitanika bio veći od 50 i Shapiro-Wilk kada je broj ispitanika bio manji od 50.
2. Metode za procenu značajnosti razlike i to :
 - Hi-kvadrat test (χ^2 test) odnosno Fišer-ov test tačne verovatnoće ukoliko nisu bili zadovoljeni statistički kriterijumi za primenu χ^2 testa.
 - Student-ov T test (za varijable sa normalnom raspodelom), odnosno Mann Whitney test (za varijable bez normalne raspodele) pri poređenju dve grupe.
 - Univarijantna analiza varijanse i kovarijanse (ANOVA i ANCOVA) za varijable sa normalnom raspodelom, odnosno Kruscall-Wallis test za varijable bez normalne raspodele, pri poređenju više od 2 grupe. U slučaju dobijanja značajne razlike analizirani su *post hoc* testovi (LSD, odnosno Mann-Whitney) za multipla poređenja. Varijable koje nisu imale normalnu raspodelu podataka a kod kojih je normalizacija uspostavljena logaritamskom transformacijom, analizirane su parametrijskim testovima (ANOVA i ANCOVA)
 - Univarijantna analiza varijanse sa ponavljanim merenjima je rađena za analizu varijabli koje su više puta merene u različitim vremenima (glikemija i insulin tokom OGTT-a). Unutargrupne razlike su analizirane univarijantnim testovima ukoliko je bio zadovoljen kriterijum sferičnosti

(Mauchly W, $p > 0.05$). Ukoliko sferičnost nije bila zadovoljena, korišćena je Wilks' Lambda korekcija multivarijantnih testova.

3. Metode za procenu značajnosti povezanosti i to :
 - Pearson-ov koeficijent linearne korelacije (r) za varijable sa normalnom raspodelom
 - Spearman-ov koeficijent korelacije ranga (ρ) za varijable bez normalne raspodele

Pri tome su kao statistički značajne korelacije smatrane one sa vrednošću koeficijenta (r ili ρ) > 0.300 i $p < 0.05$.

4. Za utvrđivanje značajnih prediktora kategoričkih i kontinuiranih varijabli, korišćene su najpre univarijantna, a potom multivarijantna logistička odnosno linearna regresiona analiza. Univarijantna analiza je sprovedena korišćenjem pojedinačnog forsiranog unosa (*Enter*). Konačni modeli su dobijeni multivarijantnom logističkom regresionom analizom metodom *Forward Likelihood Ratio*, odnosno *Stepwise* metodom u multivarijantnoj linearnoj regresionoj analizi, a nakon unošenja u model svih značajnih varijabli dobijenih univarijantnim regresionim analizama. Svaki konačni model je smatran za značajan tek po isključenju postojanja multikolinearnosti koja je proveravana pomoću faktora inflacije varijanse (*Engl. variance inflation factor, VIF*), tolerancijom, *eigen*-vrednostima i kondicionim indeksima. Granične vrednosti koje su označavale multikolinearnost su bile $VIF > 10$ i tolerancija < 0.1 .
5. Za određivanje tačke preseka odnosno graničnih vrednosti kontinuiranih varijabli sa potencijalnim uticajem na pojavu nekog stanja korišćena je ROC (*Engl. Receiver Operating Characteristic Curve*) analiza. ROC kriva u formi dijagrama prikazuje odnos senzitivnosti (SN) i specifičnosti (SP) pri različitim nivoima odlučivanja. Da bi se tačnost kvantitativno odredila izračunava se površina ispod krive (*Engl. area under the curve-AUC*), koja je prikazana kao $AUC \pm SE$ (95%CI). Ona govori o mogućnosti testa da vrši razdvajanje između dva stanja. Površina ispod krive

određenog testa koji je klinički apsolutno tačan je jednaka 1.0 (kompletno razdvajanje vrednosti određivanja dve grupe). Ako dobijena kriva prolazi dijagonalom, odnosno ako je površina ispod krive jednaka 0.5, takav test ne daje jasnu distribucionu razliku između vrednosti određivanja te dve grupe [156]. U ovom istraživanju smo smatrali da test ima zadovoljavajuću dijagnostičku senzitivnost ukoliko je vrednost AUC bila veća od 0.75 [157].

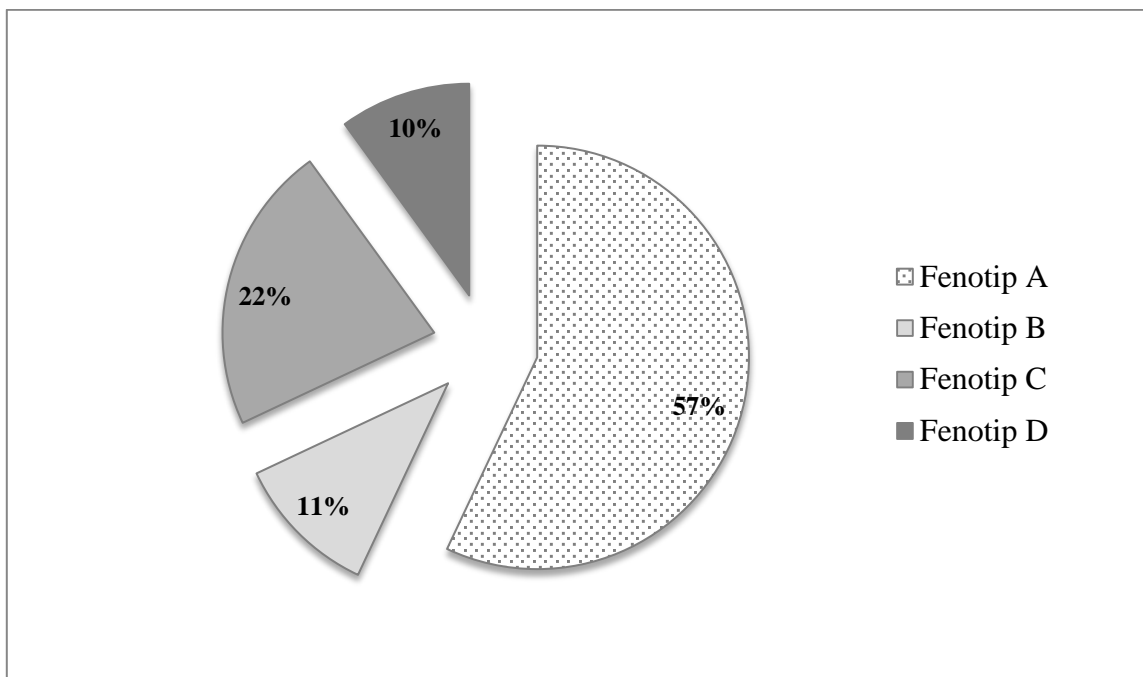
Rezultati su prikazani tabelarno i grafički.

4. Rezultati istraživanja

4.1 Deskriptivna analiza ispitanica

Ovo istraživanje je obuhvatilo 365 žena sa PCOS (starosti: 25.48 ± 5.21 godina) i 125 zdravih žena (starosti: 30.35 ± 5.62 godina) koje su činile kontrolnu grupu (KG). Žene iz KG su bile značajno starije od žena iz PCOS grupe ($p < 0.001$), zbog čega su pri poređenju cele PCOS grupe sa KG ispitanice ujednačene prema godinama starosti.

Od ukupne populacije žena sa PCOS, u našem istraživanju je 57% imalo fenotip A, 11% fenotip B, 22% fenotip C i 10% fenotip D (Grafikon 1.).



Grafikon 1. Prevalenca fenotipova sindroma policističnih jajnika

U našoj populaciji žena sa PCOS, oligo/amenoreja je postojala kod 54% žena, a anovulacija kod 68%. Hiperandrogenizam (hirzutizam i/ili hiperandrogenemija) je registrovan kod 90% žena, od toga hirzutizam bez hiperandrogenemije kod 63%, a hiperandrogenemija bez

hirzutizma kod 78%. PCOM su postojali kod 89% žena sa PCOS i 13% žena iz KG, što je bila statistički značajna razlika ($p < 0.001$).

U Tabeli 3. su prikazane kliničke karakteristike PCOS fenotipova. Raspon godina starosti u kojima je nastupila menarha (najmlađe-najstarije) u celoj PCOS grupi je bio 7-19 godina, a u KG 9-16 godina. Raspon godina starosti kada je nastupila menarha (najmlađe-najstarije) prema fenotipovima je bio sledeći: fenotip A: 7-19 godina, fenotip B: 10-15 godina, fenotip C: 9-17, fenotip D: 11-16 godina. Raspon broja MC godišnje (najmanje-najviše) je u celoj PCOS grupi bio 0-13, a u KG 8-13. Raspon broja MC godišnje (najmanje-najviše) prema fenotipovima je bio sledeći: fenotip A: 0-13, fenotip B: 1-12, fenotip C: 8-12 i fenotip D: 1-12.

Hirzutizam je bio prisutan kod 66% ispitanica sa fenotipom A, 78% sa fenotipom B, 79% sa fenotipom C, dok ni jedna ispitanica iz KG i sa fenotipom D nije bila hirzutna. Pri tome su se fenotipovi A, B i C prema prevalenci hirzutizma značajno razlikovali od KG ($p < 0.001$) i fenotipa D ($p < 0.001$), a pri međusobnom poređenju prva tri fenotipa postojala značajno veća prevalenca hirzutizma u fenotipu C u odnosu na fenotip A ($p = 0.015$).

Tabela 3. Kliničke karakteristike ispitanica

	Fenotip A (N=207)	Fenotip B (N=40)	Fenotip C (N=80)	Fenotip D (N=38)	KG (N=125)	KG vs. fenotip[§]	Fenotip vs. fenotip[§]
Starost (godine)	25 (21 - 29)	24 (22 - 29)	25 (21 - 30)	25 (22 - 28)	30 (27 - 34.5)	A, B, C, D	NZ
Broj MC godišnje	4.5 (3 - 8)	6 (3.5 - 12)	12 (11 - 12)	6 (4 - 10)	12 (12 - 12)	A, B, D	A-B A-C A-D B-C C-D
Menarha (godine starosti)	13 (12 - 14)	13 (12 - 13)	13 (12 - 13)	13 (12 - 14)	12.50 (11.50 - 13.38)	A, D	B-D
Najveći dijametar jajnika (mm)	35 (30 - 39)	28.5 (25 - 34)	32.5 (29.5 - 37.5)	34 (31.5 - 38.4)	30 (24.25 - 34.75)	A, C, D	A-B B-C B-D
Ferrimann- Galwey skor	10 (5.5 - 14)	10 (8 - 14)	12 (8 - 15)	4 (0 - 6)	4 (2 - 6)	A, B, C	A-C A-D B-D C-D

Prikaz rezultata: mediana (interkvartilni raspon); [§] - p<0.05, Skraćenice: NZ-neznačajno, MC-menstralni ciklus

4.2 Antropometrijske karakteristike ispitanica

Posmatrano u celini, grupe PCOS i KG se nisu značajno razlikovale prema BMI [25.34 (24.72 – 25.96) *vs.* 24.58 (23.49 – 25.67) kg/m², *p*=0.244]. Istovremeno, PCOS su imale veći obim struka [83.36 (81.75 – 84.978) *vs.* 79.93 (77.20 – 82.67) cm, *p*=0.040] i veći procenat masnog tkiva u svim delovima tela u odnosu na KG: celo telo: [31.69 (30.52 – 32.87) *vs.* 25.65 (22.87 – 28.44)%, *p*<0,001]; trbušno masno tkivo [29.12 (27.60 – 30.64) *vs.* 22.62 (19.23 – 26.01)%, *p*=0.001] i masno tkivo donjih ekstremiteta [35.02 (34.07 – 35.98) *vs.* 31.29 (29.16 – 33.43)%, *p*=0.001]. Ostali parametri telesnog sastava se nisu razlikovali između PCOS i KG. Prevalence različitih stepena uhranjenosti su u PCOS grupi, kao celini, bile sledeće: BMI<25kg/m²: 59%; 25≤BMI≤29.9kg/m²: 20%; 30≤BMI≤34.9kg/m²: 13%; 35≤BMI≤39.9kg/m²: 5% i BMI≥40kg/m²: 3%. Prevalence različitih stepena uhranjenosti su u KG bile sledeće: BMI<25kg/m²: 49%; 25≤BMI≤29.9kg/m²: 30%; 30≤BMI≤34.9kg/m²: 17%; 35≤BMI≤39.9kg/m²: 2% i BMI≥40kg/m²: 2%. PCOS i KG se nisu međusobno razlikovale prema distribuciji različitih stepena gojaznosti (*p*=0.296).

Prevalenca različitih stepena gojaznosti kod naših ispitanica, ujednačenih prema godinama starosti je prikazana u Tabeli 4. U Tabeli 5. su prikazane antropometrijske karakteristike i rezultati merenja telesnog sastava bioimpedancom kod PCOS fenotipova i KG, nakon ujednačavanja prema godinama starosti.

Tabela 4. Prevalenca različitih stepena gojaznosti

	Fenotip A (N=207)	Fenotip B (N=40)	Fenotip C (N=80)	Fenotip D (N=38)	KG (N=125)	KG vs. fenotip *	Fenotip vs. fenotip *
BMI<25 kg/m²	57.4%	41.5%	50.6%	84.7%	54%	D	A-D B-D C-D
25≤BMI≤29.9kg/m²	20.6%	22.4%	24.9%	7.7%	30.3%	D	C-D
30≤BMI≤34.9kg/m²	13.3%	20.9%	16.9%	4.5%	12.7%	D	B-D
35≤BMI≤39.9kg/m²	4.8%	10.2%	5.1%	3.1%	1.4%	B	NZ
BMI≥40kg/m²	3.9%	5%	2.5%	0%	1.5%	NZ	NZ

* - p<0.05, NZ-neznačajno

Tabela 5. Antropometrijske karakteristike i telesni sastav

	Fenotip A (N=207)	Fenotip B (N=40)	Fenotip C (N=80)	Fenotip D (N=38)	KG (N=125)	KG vs. fenotip *	Fenotip vs. fenotip *
OS (cm)	83.79 (81.67 – 85.91)	86.87 (82.10 – 91.64)	84.32 (80.99 – 87.65)	75.38 (70.60 – 80.18)	80.02 (77.31 – 82.73)	A, B, C	A-D B-D C-D
OS/OK	0.83 (0.82 - 0.84)	0.83 (0.80 – 0.86)	0.82 (0.80 – 0.84)	0.79 (0.76 do 0.82)	0.79 (0.77 do 0.81)	A, B, C	A-D
Visina (m)	1.67 (1.66 - 1.68)	1.67 (1.65 - 1.69)	1.68 (1.67 do 1.70)	1.69 (1.67 do 1.71)	1.67 (1.66 do 1.68)	NZ	NZ
Težina (kg)	70.65 (68.35 – 72.95)	75.76 (70.56 – 80.95)	73.05 (69.35 – 76.75)	61.65 (56.29 – 66.99)	68.55 (65.46 – 71.64)	B, D	A-D B-D C-D
BMI (kg/m²)	25.46 (24.66-26.26)	27.21 (25.42 – 29.00)	25.76 (24.49 – 27.03)	21.77 (19.92 – 23.61)	24.60 (23.53 – 25.68)	B, D	A-D B-D C-D

Tabela 5 (nastavak). Antropometrijske karakteristike i telesni sastav

	Fenotip A (N=207)	Fenotip B (N=40)	Fenotip C (N=80)	Fenotip D (N=38)	KG (N=125)	KG vs. fenotip *	Fenotip vs. fenotip *
BMR (kCal)	1447.98 (1415.54 – 1480.43)	1576.14 (1490.78 – 1661.50)	1513.49 (1460.72 – 1566.27)	1376.68 (1299.89 – 1453.47)	1427.47 (1370.02 – 1484.93)	B, C	A-B A-C B-D C-D
Masno tkivo celog tela (%)	31.87 (30.37 – 33.37)	36.18 (32.22 – 40.14)	32.22 (29.78 – 34.67)	25.65 (21.99 – 29.30)	25.68 (22.95 – 28.41)	A, B, C	A-B A-D B-D C-D
Bezmasno tkivo celog tela (kg)	48.88 (45.24 – 52.52)	50.21 (40.59 – 59.83)	49.38 (43.46 – 55.31)	44.88 (36.02 – 53.73)	46.49 (39.87 – 53.11)	NZ	NZ
Telesna voda (kg)	33.66 (32.88 – 34.44)	36.74 (34.68 – 38.79)	35.44 (34.17 – 36.70)	32.64 (30.80 – 34.49)	33.50 (32.11 – 34.88)	B, C	A-B A-C B-D C-D
Trbušno masno tkivo (%)	29.29 (27.35 – 31.24)	34.75 (29.60 – 39.89)	29.69 (26.47 – 32.91)	22.85 (18.39 – 27.31)	22.63 (19.30 – 25.96)	A, B, C	A-D B-D C-D

Tabela 5 (nastavak). Antropometrijske karakteristike i telesni sastav

	Fenotip A (N=207)	Fenotip B (N=40)	Fenotip C (N=80)	Fenotip D (N=38)	KG (N=125)	KG vs. fenotip *	Fenotip vs. fenotip *
Trbušno bezmasno tkivo (kg)	26.00 (25.40 – 26.61)	28.04 (26.44 – 29.64)	27.47 (26.47 – 28.47)	25.59 (24.20 – 26.97)	26.46 (25.42 – 27.49)	NZ	A-B A-C B-D C-D
Trbušno mišićno tkivo (kg)	24.68 (24.11 – 25.26)	26.71 (25.19 – 28.23)	26.13 (25.18 – 27.08)	24.33 (23.01 – 25.64)	25.23 (24.25 – 26.21)	NZ	A-B A-C B-D C-D
Masno tkivo nogu (%)	35.01 (33.79 – 36.23)	39.46 (36.24 – 42.68)	35.50 (33.49 – 37.52)	30.84 (28.05 – 33.63)	31.30 (29.22 – 33.38)	A, B, C	A-B A-D B-C B-D C-D
Bezmasno tkivo nogu (kg)	7.70 (7.51 – 7.89)	8.51 (7.99 – 9.02)	8.08 (7.76 – 8.40)	7.47 (7.02 – 7.91)	7.70 (7.37 – 8.03)	B	A-B A-C B-D C-D
Mišićno tkivo nogu (kg)	7.26 (7.08 – 7.44)	8.02 (7.55 – 8.50)	7.63 (7.33 – 7.93)	7.04 (6.62 – 7.45)	7.24 (6.94 – 7.55)	B	A-B A-C B-D C-D

* - $p < 0.05$, NZ-neznačajno; Rezultati su prikazani kao srednja vrednost (interval poverenja);

Skraćenice: OS-obim struka, OK-obim kukova, BMI-indeks telesne mase (*Engl. body mass index*), MC-menstralni ciklus, BMR- stepen bazalnog metabolizma (*Engl. Basal metabolic rate*).

4.3 Arterijski krvni pritisak

Žene sa PCOS su u odnosu na KG imale značajno veće vrednosti i sistolnog [120.56 (119.24 – 121.872) vs. 112.86 (110.62 – 115.11) mmHg, $p < 0.001$] i dijastolnog arterijskog krvnog pritiska [78.96 (77.94 – 79.98) vs. 71.13 (69.38 – 72.88) mmHg, $p < 0.001$].

Prevalenca hipertenzije (SKP ≥ 140 mmHg i/ili DKP ≥ 90 mmHg) je bila značajno veća u PCOS grupi u odnosu na KG (17% vs. 4.6%, $p = 0.001$). Nije bilo značajne razlike u prevalenci izolovane sistolne HTA između PCOS i KG (1.8% vs. 0.2%, $p = 0.242$); razlika u prevalenci izolovane dijastolne HTA bila na granici značajnosti (8% vs. 2.5%, $p = 0.055$) dok je razlika u prevalenci mešovite, i sistolne i dijastolne HTA bila značajna (9.1% vs. 1.7%, $p = 0.013$).

Vrednosti SKP i DKP su prikazani u Tabeli 6. Između grupa nije bilo statistički značajne razlike u prevalenci izolovane sistolne hipertenzije ($p = 0.587$), dok je samo između fenotipa A i KG postojala značajna razlika u prevalenci izolovane dijastolne hipertenzije (9.5% vs. 2.7%, $p = 0.027$) kao i mešovite, sistolno-dijastolne hipertenzije (10% vs. 2%, $p = 0.010$).

Tabela 6. Arterijski krvni pritisak

	Fenotip A (N=207)	Fenotip B (N=40)	Fenotip C (N=80)	Fenotip D (N=38)	KG (N=125)	KG vs. fenotip[§]	Fenotip vs. fenotip[§]
SKP (mmHg)	120.67 (119.03 – 122.30)	119.63 (115.72 – 123.55)	121.90 (119.33 – 124.47)	116.53 (112.69 – 120.37)	113.25 (111.12 – 115.37)	A, B, C	C-D
DKP (mmHg)	79.34 (78.06 – 80.62)	77.89 (74.82 – 80.96)	79.48 (77.46 – 81.49)	75.76 (77.46 – 81.49)	71.41 (69.75 – 73.07)	A, B, C, D	A-D C-D
HTA[¥] (%)	19	15.6	13.6	13.1	5.6	A	NZ

[§] - p<0.05; Rezultati su prikazani kao srednja vrednost (interval poverenja); [¥] - HTA-hipertenzija definisana kao sistolni krvni pritisak ≥ 140 mmHg i/ili dijastolni krvni pritisak ≥ 90 mmHg, Skraćenice: SKP-sistolni krvni pritisak, DKP-dijastolni krvni pritisak, NZ-neznačajno

4.4 Hormonske analize

Kada se cela PCOS grupa poredila sa KG, žene sa PCOS su imale značajno veće vrednosti LH [7.25 (6.80 – 7.71) vs. 5.23 (4.44 – 6.01) IU/L, $p=0.001$], odnosa LH/FSH [1.13 (1.05 – 1.21) vs. 0.88 (0.74 – 1.02), $p=0.002$], testosterona [2.70 (2.59 – 2.81) vs. 1.38 (1.19 – 1.57) nmol/L, $p<0.001$], FAI [10.41 (9.46 – 11.36) vs. 3.28 (1.63 – 4.92) %, $p<0.001$], androstenediona [3.20 (3.04 – 3.35) vs. 1.98 (1.76 – 2.21) ng/mL, $p<0.001$], DHEAS [7.60 (7.24 – 7.95) vs. 5.73 (5.12 – 6.34) μ mol/L, $p<0.001$], jutarnjeg kortizola [438.15 (421.12 – 455.18) vs. 390.18 (349.96 – 430.41) nmol/L, $p=0.032$], i prolaktina [460.31 (433.41 – 487.21) vs. 318.29 (272.82 – 363.78) mIU/L, $p<0.001$]. PCOS su imale značajno niže vrednosti SHBG [39.15 (36.43 – 41.87) vs. 56.66 (51.96 – 61.37) nmol/L, $p<0.001$], estradiola [104.57 (93.49 – 115.64) vs. 159.36 (130.90 – 187.81) pmol/L, $p<0.001$] i progesterona [28.48 (21.63 – 35.34) vs. 80.66 (69.10 – 92.23) nmol/L, $p<0.001$]. Između PCOS i KG nije bilo značajne razlike u nivou FSH [7.16 (6.84 – 7.47) vs. 6.57 (6.03 – 7.11) IU/L, $p=0.073$], 17OH-progesterona [1.10 (1.03 – 1.17) vs. 1.12 (1.00 – 1.23) nmol/L, $p=0.813$], TSH [2.27 (2.12 – 2.42) vs. 2.09 (1.86 – 2.32) mIU/L, $p=0.225$] i FT4 [12.12 (11.79 – 12.45) vs. 12.07 (11.53 – 12.50) pmol/L, $p=0.745$]. Odnos LH/FSH >1.5 je imalo 23.3% žena sa PCOS i 6.3% žena iz KG što je bila statistički značajna razlika ($p<0.001$). Hiperandrogenemija je bila prisutna kod 78% ispitanica sa PCOS. Distribucija androgena prema prevalenci u grupi PCOS (od najveće ka najmanjoj je bila sledeća): izolovano visok testosteron (32%), visoki testosteron i androstenedion (16.8%), visoki testosteron, androstenedion i DHEAS (13.4%), visoki testosteron i DHEAS (9.1%), visok samo androstenedion ili visok samo DHEAS kod 3% u oba slučaja, i visoki androstenedion i DHEAS (0.9%).

U Tabeli 7. su prikazane hormonske analize kod naših ispitanica, a u Tabeli 8. je prikazana distribucija androgena u PCOS fenotipovima. Sva poređenja su rađena po ujednačavanju prema godinama starosti i BMI.

Distribucija zastupljenosti odnosa LH/FSH >1.5 je bila sledeća: KG: 5.5%, A: 30%, B: 19%, C:11.4%, D:19.7% i pri tome je postojala značajna razlika ($p<0.001$) između KG i

fenotipa A, kao i fenotipa A i fenotipa C, dok su razlike između KG i fenotipa B, kao i KG i fenotipa D bile na granici značajnosti ($p=0.059$ i $p=0.056$).

Tabela 7. Hormonske analize

	Fenotip A (N=207)	Fenotip B (N=40)	Fenotip C (N=80)	Fenotip D (N=38)	KG (N=125)	KG vs. fenotip [§]	Fenotip vs. fenotip [§]
FSH (IU/L)	7.27 (6.85 – 7.68)	7.51 (6.60 – 8.42)	7.15 (6.49 – 7.82)	6.26 (5.30 – 7.21)	6.55 (6.01 – 7.09)	NZ	NZ
LH (IU/L)	8.45 (7.88 – 9.02)	7.24 (5.99 – 8.48)	5.03 (4.13 – 5.93)	5.94 (4.63 – 7.25)	5.09 (4.35 – 5.83)	A, B	A-C A-D B-C
LH/FSH	1.28 (1.17 – 1.38)	1.08 (0.86 – 1.30)	0.83 (0.67 – 0.99)	1.09 (0.86 – 1.33)	0.86 (0.73 – 0.99)	A	A-C C-D
Testosteron (nmol/L)	3.00 (2.87 – 3.14)	2.70 (2.41 – 2.99)	2.50 (1.83 do 2.95)	1.50 (2.29 – 2.71)	1.47 (1.16 – 1.78)	A, B, C	A-C A-D B-D C-D
SHBG (nmol/L)	38.61 (35.25 – 41.98)	35.02 (27.48 – 42.56)	41.95 (36.69 – 47.22)	43.20 (35.40 – 51.01)	55.86 (51.46 – 60.25)	A, B, C, D	NZ
FAI (%)	11.81 (10.68 – 12.94)	10.80 (8.26 – 13.34)	8.69 (6.92 – 10.46)	5.15 (2.52 – 7.77)	3.56 (2.08 – 5.03)	A, B, C, D	A-C A-D B-D C-D
Androstenedion (ng/mL)	3.48 (3.28 – 3.67)	2.97 (2.49 – 3.44)	3.06 (2.76 – 3.36)	2.18 (1.72 – 2.64)	1.98 (1.76 – 2.20)	A, B, C	A-C A-D B-D C-D
DHEAS (μmol/L)	7.82 (7.36 – 8.29)	6.32 (5.23 – 7.41)	8.38 (7.65 – 9.10)	5.84 (4.77 – 6.90)	5.77 (5.17 – 6.37)	A, C	A-D B-C C-D

Tabela 7 (nastavak). Hormonske analize

	Fenotip A (N=207)	Fenotip B (N=40)	Fenotip C (N=80)	Fenotip D (N=38)	KG (N=125)	KG vs. fenotip [§]	Fenotip vs. fenotip [§]
17OH-P (nmol/L)	1.18 (1.09 – 1.27)	0.97 (0.76 – 1.18)	1.07 (0.93 – 1.21)	0.87 (0.65 – 1.08)	1.11 (0.99 – 1.23)	NZ	NZ
Kortizol (nmol/L)	444.88 (422.91 – 466.85)	418.58 (365.27 – 471.89)	460.10 (425.48 – 494.73)	394.84 (341.45 – 448.22)	375.19 (335.38 – 414.99)	A, C	C-D
Estradiol (pmol/L)	112.94 (98.40 – 127.48)	96.14 (60.88 – 131.41)	106.51 (82.27 – 130.76)	70.22 (38.01 – 102.42)	157.71 (129.26 – 186.16)	A, B, C, D	A-D
Progesteron[¥] (nmol/L)	4.79 (1.14 -14.72)	4.91 (1.42 – 21.24)	56.47 (47.89 – 65.05)	3.92 (1.65 – 24.38)	81.67 (71.82 – 91.53)	A, B, C, D	A-C B-C C-D
Prolaktin (mU/L)	486.36 (451.03 – 521.70)	368.88 (290.09- 447.67)	481.40 (427.16 – 535.63)	387.11 (303.98 – 470.24)	312.86 (268.02 – 357.71)	A, C	A-B A-D B-C
TSH (mU/L)	2.24 (2.04 – 2.44)	1.93 (1.41 – 2.44)	2.43 (2.13 – 2.74)	2.23 (1.75 – 2.72)	2.11 (1.88 – 2.34)	NZ	NZ
fT4 (nmol/L)	12.26 (11.82 – 12.69)	11.37 (10.31 – 12.43)	11.92 (11.24 – 12.60)	12.48 (11.51 – 13.46)	12.01 (11.52 – 12.49)	NZ	NZ

[§] - p<0.05, NZ-neznačajno; Rezultati su prikazani kao srednja vrednost (interval poverenja);

[¥] -za progesteron N=62 (samo PCOS sa redovnim menstrualnim ciklusima)

Tabela 8. Distribucija androgena

	Fenotip A (N=207) %	Fenotip B (N=40) %	Fenotip C (N=80) %	Fenotip D (N=38) %	KG (N=125) %	KG vs. fenotip[§]	Fenotip vs. fenotip[§]
Testosteron>2.0 nmol/L	87	70	72	0	0	A, B, C	A-B, A-C, A-D, B-D, C-D
Androstenedion>3.51	41	36	29	4	4	A, B, C	A-D, B-D, C-D
DHEAS>9.62	26	17	29	9	9	A, C	A-D, C-D
Visok samo testosteron	4	4	4	0	0	A, B, C	A-D, B-D, C-D
Visok samo androstenedion	5	0	6	4	4	NZ	NZ
Visok samo DHEAS	4	0	9	4	5	NZ	NZ
Visoki testosteron i androstenedion	23	24	15	0	0	A, B, C	A-D, B-D
Visoki testosteron i DHEAS	13	5	10	0	0	A, C	A-D
Visoki androstenedion i DHEAS	1	0	3	0	1	NZ	NZ

[§] p<0.05; NZ-neznačajno

U PCOS grupi, LH je značajno korelirao sa: godišnjim brojem MC ($\rho = -0.319$, $p < 0.001$), testosteronom ($\rho = 0.264$, $p < 0.001$), androstenedionom ($\rho = 0.152$, $p = 0.012$), i anovulacijom ($\rho = 0.274$, $p < 0.001$). U Tabeli 9. su prikazane korelacije hormona i parametara telesnog sastava kod žena sa PCOS. DHEAS, androstenedion, estradiol, 17OH-progesteron i FSH nisu značajno korelirali ni sa jednim parametrom telesnog sastava.

Tabela 9. Korelacije hormona i telesnog sastava kod žena sa PCOS

	Testosteron	SHBG	FAI	LH
BMI (kg/m²)	0.154 (0.003)	-0.454 (<0.001)	0.457 (<0.001)	-0.135 (0.012)
*Masno tkivo celog tela (%)	NZ	-0.398 (<0.001)	0.434 (<0.001)	-0.192 (0.002)
*Trbušno masno tkivo (%)	NZ	-0.411 (<0.001)	0.430 (<0.001)	-0.143 (0.036)

Ukoliko nije drugačije naznačeno rezultati su prikazani kao ρ (p); *rezultati prikazani kao r(p);

NZ-neznačajno

Tabela 10. Značajne korelacije stepena hirsutizma (FG skor) sa drugim kliničkim parametrima i hormonima

	ρ	p
<i>Pozitivne korelacije</i>		
Obim struka	0.162	0.003
BMI	0.205	<0.001
Testosteron	0.170	0.001
FAI	0.202	<0.001
<i>Negativne korelacije</i>		
SHBG	-0.148	0.007
LH	-0.133	0.016

4.5 Bazalna glikoregulacija i insulinska rezistencija

PCOS grupa je imala značajno veću insulinsku rezistenciju merenu indeksima bazalne insulinske rezistencije u odnosu na kontrolnu grupu: glikemija našte [4.81 (4.72 – 4.90) vs. 4.71 (4.66 – 4.76)mmol/L, $p=0.050$], insulin našte [16.99 (15.94 – 18.05) vs. 12.39 (10.61 – 14.16) mU/L, $p<0.001$], HOMA-IR [3.63 (3.38 – 3.87) vs. 2.70 (2.29 – 3.11), $p<0.001$], QUICKI [0.33 (0.32 – 0.33) vs. 0.34 (0.33 – 0.34), $p<0.001$]. Žene sa PCOS su imale značajno veću prevalencu IFG u odnosu na KG (1.4% vs. 0%, $p=0.045$). Dve ispitanice sa IFG su imale $BMI<25\text{kg/m}^2$ a dve $BMI>25\text{kg/m}^2$. Nijedna ispitanica ni iz KG ni iz PCOS grupe nije imala diabetes mellitus na osnovu glikemije našte.

Vrednosti indeksa insulinske rezistencije merene bazalnim indeksima kod naših ispitanica, po ujednačavanju prema godinama starosti i BMI su prikazani u Tabeli 11. Od ukupno 4 žene sa PCOS koje su imale IFG, 2 (50%) je pripadalo fenotipu A, 1 (25%) fenotipu C i 1 (25%) fenotipu D i ova razlika nije bila značajna ($p=0.440$).

Tabela 11. Indeksi bazalne insulinske rezistencije

	Fenotip A (N=207)	Fenotip B (N=40)	Fenotip C (N=80)	Fenotip D (N=38)	KG (N=125)	KG vs. fenotip [§]	Fenotip vs. fenotip [§]
Glikemija našte (mmol/L)	4.71 (4.64 – 4.77)	4.62 (4.47 – 4.77)	4.73 (4.63 – 4.83)	4.69 (4.54 – 4.84)	4.82 (4.73 – 4.91)	NZ	NZ
Insulin našte (mU/L)	16.50 (15.25 – 17.75)	21.43 (18.44 – 24.41)	16.09 (14.12 – 18.05)	16.11 (13.15 – 19.06)	12.74 (11.15 – 14.35)	A, B, C	A-B B-C B-D
HOMA-IR	3.49 (3.20 – 3.78)	4.67 (3.99 – 5.35)	3.44 (2.99 – 3.89)	3.46 (2.79 – 4.13)	2.78 (2.42 – 3.15)	A, B, C	A-B B-C B-D
QUICKI	0.33 (0.32 – 0.33)	0.32 (0.31 – 0.33)	0.32 (0.32 – 0.33)	0.33 (0.32 – 0.33)	0.34 (0.33 – 0.34)	A, B,C,D	NZ

[§] - p<0.05, NZ-neznačajno; Rezultati su prikazani kao srednja vrednost (interval poverenja)

U PCOS grupi je postojala značajna ali slaba korelacija između glikemije i insulina našte ($\rho=0.160$, $p=0.004$), dok u KG ova korelacija nije bila značajna ($\rho=-0.156$, $p=0.085$). BMI je u PCOS grupi značajno korelirao sa svim bazalnim parametrima insulinske rezistencije i to sa HOMA-IR ($\rho=0.443$, $p<0.001$), QUICKI ($\rho= - 0.442$, $p<0.001$). U kontrolnoj grupi su postojale takođe značajne korelacije BMI i navedenih parametara [sa HOMA-IR ($\rho=0.253$, $p=0.005$), QUICKI ($\rho= - 0.215$, $p=0.017$)]. U Tabeli 12. su prikazane korelacije između bazalnih indeksa insulinske rezistencije i parametara telesnog sastava.

Ni u PCOS ni u KG nisu postojale značajne korelacije između merenih androgena i bazalnih indeksa insulinske rezistencije. U Tabeli 13. su prikazane korelacije bazalnih indeksa insulinske rezistencije i sekrecije sa SHBG, FAI i LH.

Tabela 12. Korelacije bazalnih indeksa insulinske rezistencije i telesnog sastava

	PCOS			KG		
	Insulin našte	HOMA-IR	QUICKI	Insulin našte	HOMA-IR	QUICKI
Masno tkivo celog tela (%)	0.460 (<0.001)	0.467 (<0.001)	-0.464 (<0.001)	NZ	0.305 (0.039)	-0.292 (0.049)
FFM celog tela (kg)	0.350 (<0.001)	0.343 (<0.001)	-0.346 (<0.001)	NZ	0.330 (0.025)	-0.327 (0.026)
Trbušno masno tkivo (%)	0.438 (<0.001)	0.443 (<0.001)	-0.438 (<0.001)	0.336 (0.027)	0.371 (0.014)	-0.361 (0.018)

Rezultati su prikazani kao ρ (p); NZ-neznačajno

Tabela 13. Korelacije bazalnih indeksa insulinske rezistencije sa SHBG i FAI

	PCOS			KG		
	SHBG	FAI	LH	SHBG	FAI	LH
Insulin	-0.423 (<0.001)	0.355 (<0.001)	-0.231 (<0.001)	-0.191 (0.035)	0.248 (0.006)	NZ
HOMA-IR	-0.426 (<0.001)	0.356 (<0.001)	-0.234 (<0.001)	-0.200 (0.027)	0.230 (0.011)	NZ
QUICKI	0.425 (<0.001)	-0.357 (<0.001)	0.234 (<0.001)	0.209 (0.021)	-0.246 (0.006)	NZ

Rezultati su prikazani kao ρ (p); NZ-neznačajno

4.6 Euglikemijski hiperinsulinemijski klamp (EHK)

Euglikemijski hiperinsulinemijski klamp (EHK) je urađen kod ukupno 124 žene sa PCOS. Srednja vrednost godina starosti je iznosila 25.21 ± 4.39 godina, BMI: 24.23 ± 5.46 kg/m². Mediana (IQR) potrošnje glukoze u poslednjih 30.min testa korigovana za vrednost insulina u poslednjih 30.min testa (M/I x 100) za celu PCOS grupu je iznosila: 6.1 (4.4 do 9.7 mg/kg/min/mU/l). U Tabeli 14. su prikazani starosna dob, BMI i M/I u PCOS fenotipovima. Analiza M/I nije rađena po ujednačavanju ispitanica prema BMI obzirom da je u samoj analizi M/I sadržana korekcija potrošnje glukoze prema kilogramu telesne mase.

Tabela 14. Antropometrijske karakteristike i potrošnja glukoze u poslednjih 30.min euglikemijskog hiperinsulinemijskog klampa kod PCOS fenotipova

	Fenotip A (N=80)	Fenotip B (N=11)	Fenotip C (N=19)	Fenotip D (N=14)	Fenotip vs. fenotip*
Starost (godine)	25 (22 do 27)	23 (22 do 27)	24 (21 do 30)	27 (24 do 30)	NZ
BMI (kg/m²)	22.10 (20.00 do 27.90)	25.10 (22.50 do 30.40)	24.30 (20.30 do 25.10)	20.55 (19.98 do 22.15)	A-D B-D C-D
M/I (mg/kg/min /mU/L) x100	7.49 (3.81 do 10.08)	4.74 (2.94 do 6.44)	7.05 (5.02 do 10.49)	5.90 (4.76 do 9.85)	A-B B-C

*p<0.05; Rezultati su prikazani kao mediana (interkvartilni raspon);

Skraćenice: BMI-indeks telesne mase (*Engl. body mass index*);

M/I-potrošnja glukoze u poslednjih 30min euglikemijskog hiperinsulinemijskog klampa korigovana za vrednost insulina

4.7 Test oralnog opterećenja glukozom (OGTT)

Validni rezultati OGTT-a (postojanje vrednosti glikemije i insulina u svim vremenima merenja) su dobijeni za 240 žena iz PCOS grupe (146 pripadnica fenotipa A, 28 fenotipa B, 44 fenotipa C i 22 fenotipa D) i 70 žena iz kontrolne grupe. Žene iz PCOS grupe su u odnosu na žene iz kontrolne grupe bile značajno mlađe (25.25 ± 4.98 vs. 30.76 ± 5.82 godina, $p < 0.001$) i značajno manjeg BMI (24.86 ± 5.97 vs. 26.14 ± 4.86 kg/m², $p = 0.014$). Fenotipovi su se značajno razlikovali od KG prema godinama starosti i fenotip D je imao manji BMI od KG, dok je između fenotipova postojala značajna razlika prema BMI ali ne i prema godinama starosti (Tabela 15).

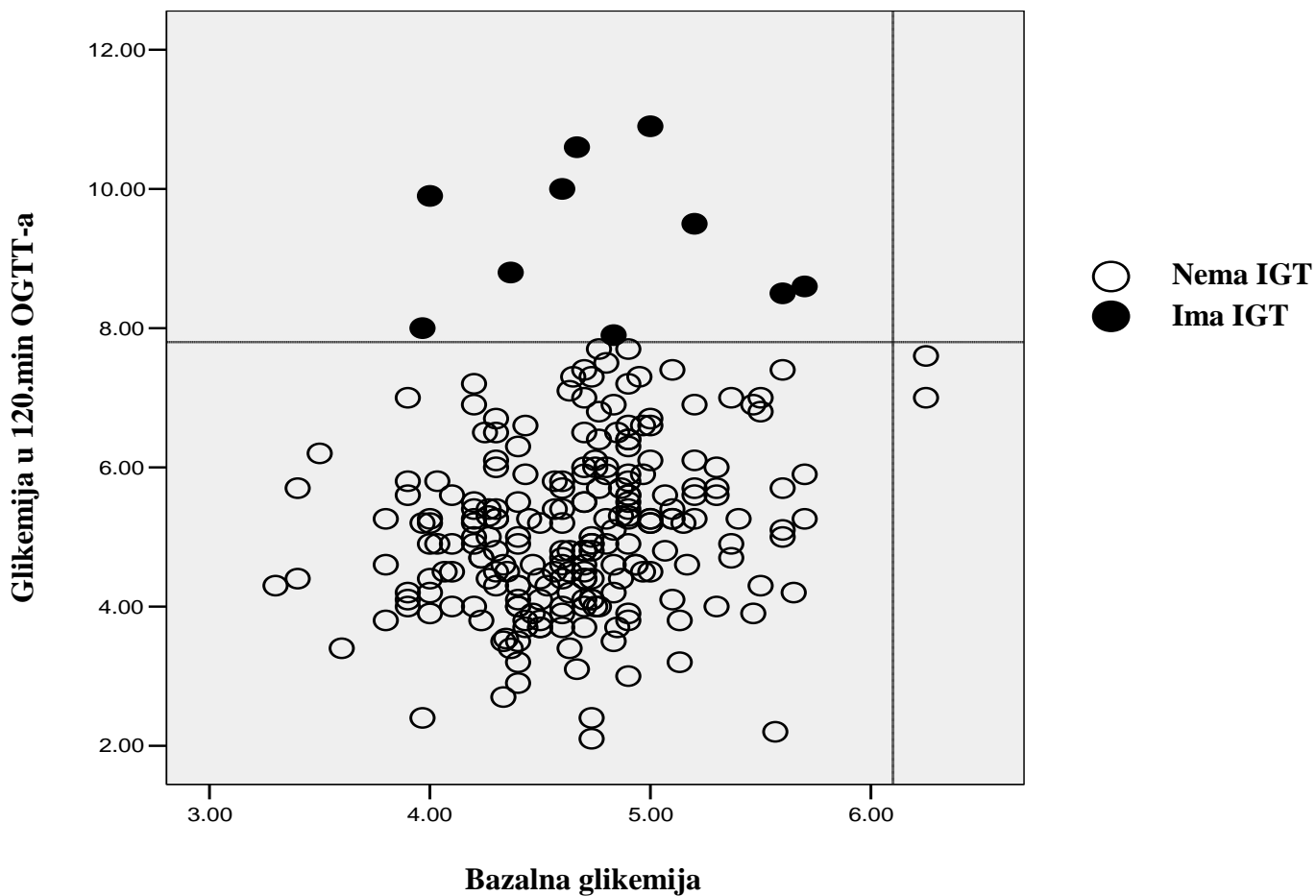
Nijedna ispitanica ni iz KG ni iz PCOS grupe nije imala diabetes mellitus na osnovu rezultata glikemije u OGTT-u. Oštećenu toleranciju na glukozu je imalo 10 (4.2%) žena iz PCOS grupe i nijedna žena iz KG, a ova razlika nije bila značajna ($p = 0.229$). Od ukupno 10 žena sa PCOS koje su imale IGT, 7 (70%) je pripadalo fenotipu A, 2 (20%) fenotipu B i 1 (10%) fenotipu C. Nije postojala značajna razlika u prevalenci IGT između fenotipova međusobno kao i u odnosu na KG ($p = 0.523$). Sve ispitanice koje su imale IGT, su imale glikemiju našte u granici normale (Grafikon 2.)

Vrednosti pojedinačnih merenja glukoze i insulina tokom OGTT-a, prilagođeno prema godinama starosti i BMI su navedeni u Tabeli 16.

Tabela 15. Karakteristike žena kod kojih je analiziran OGTT

	Fenotip A (N=207)	Fenotip B (N=40)	Fenotip C (N=80)	Fenotip D (N=38)	KG (N=125)	KG vs. fenotip[§]	Fenotip vs. fenotip[§]
Starost (godine)	24 (21 do 28)	24 (22 do 28.5)	25 (21 do 29)	26.5 (24 do 30)	31.5 (26 do 35.3)	A, B, C, D	NZ
BMI (kg/m²)	23.3 (20.6 do 29.0)	24.6 (20.4 do 30.7)	24.5 (20.2 do 28.0)	20.3 (18.5 do 22.2)	26.0 (21.8 do 30.1)	D	A-D, B-D, C-D

[§]-p<0.05; Rezultati su prikazani kao mediana (interkvartilni raspon);



Grafikon 2. Glikemija našte i glikemija u 120.min OGTT-a kod žena sa PCOS. Vertikalna tačkasta linija označava glikemiju 6.1mmol/L (granična vrednost glikemije za oštećenu glikemiju našte) a horizontalna tačkasta linija označava glikemiju 7.8mmol/L (granična vrednost za oštećenu toleranciju glukoze-IGT).

Tabela 16. Vrednosti glikemije i insulina tokom OGTT-a

	Fenotip A (N=207)	Fenotip B (N=40)	Fenotip C (N=80)	Fenotip D (N=38)	KG (N=125)	KG vs. fenotip*	Fenotip vs. fenotip*
Glikemija 0.min	4.44 (4.34 – 4.54)	4.41 (4.17 – 4.65)	4.44 (4.26 – 4.63)	4.34 (4.09 – 4.59)	4.36 (4.04 – 4.68)	NZ	NZ
Glikemija 30.min	6.97 (6.72 – 7.22)	7.52 (6.92 – 8.12)	6.53 (6.07 – 6.99)	6.65 (6.03 – 7.27)	6.66 (5.87 – 7.45)	NZ	NZ
Glikemija 60.min	6.51 (6.17 – 6.86)	7.01 (6.20 – 7.83)	6.02 (5.39 – 6.65)	6.14 (5.29 – 6.98)	6.46 (5.38 – 7.53)	NZ	NZ
Glikemija 90.min	5.78 (5.48 – 6.08)	6.14 (5.42 – 6.86)	5.42 (4.86 – 5.97)	5.43 (4.68 – 6.18)	5.94 (4.99 – 6.90)	NZ	NZ
Glikemija 120.min	5.31 (5.06 – 5.56)	5.62 (5.02 – 6.21)	5.09 (4.64 – 5.55)	4.88 (4.26 – 5.50)	4.99 (4.20 – 5.77)	NZ	NZ
Insulin 0.min	15.93 (14.48 – 17.38)	18.74 (15.29 – 22.19)	14.19 (11.53 – 16.86)	15.75 (12.16 – 19.34)	11.96 (7.39 – 16.52)	NZ	NZ
Insulin 30.min	69.72 (62.54 – 76.90)	78.53 (61.44 – 95.63)	55.18 (41.99 – 68.38)	63.76 (45.98 – 81.55)	41.66 (19.04 – 64.28)	A, B	B-C
Insulin 60.min	83.45 (74.03 – 92.87)	98.16 (75.73 – 120.59)	63.17 (45.86 – 80.48)	74.56 (51.23 – 97.90)	56.21 (26.53 – 85.89)	NZ	NZ

Tabela 16 (nastavak). Vrednosti glikemije i insulina tokom OGTT-a

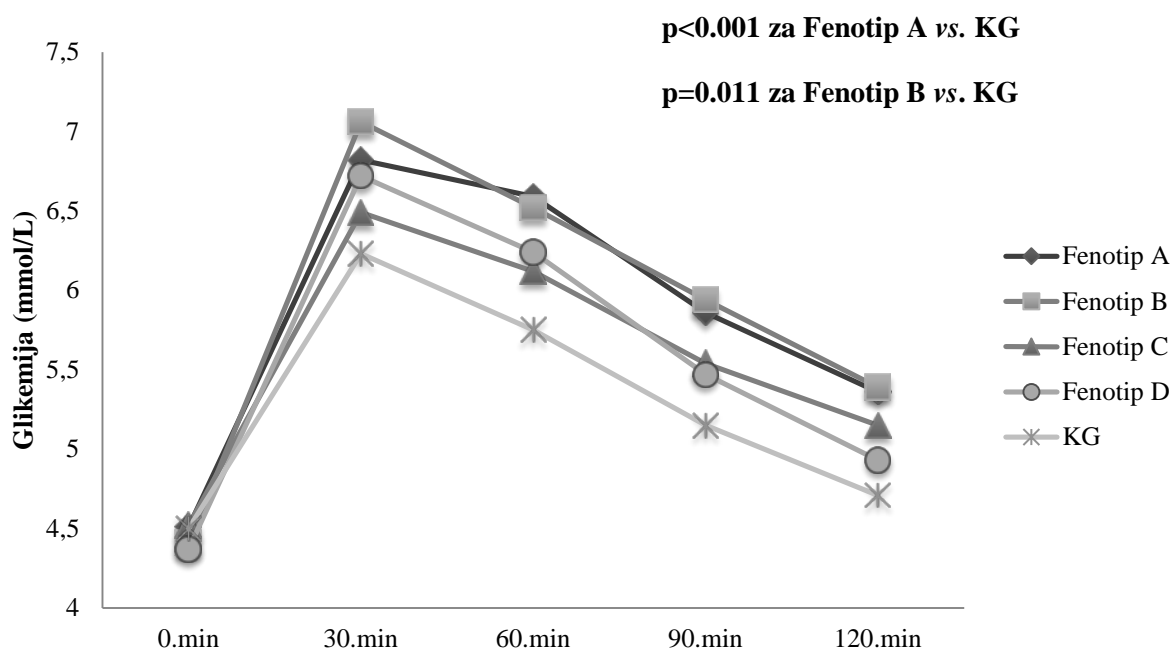
	Fenotip A (N=207)	Fenotip B (N=40)	Fenotip C (N=80)	Fenotip D (N=38)	KG (N=125)	KG vs. fenotip*	Fenotip vs. fenotip*
Insulin 90.min	75.86 (67.63 – 84.08)	84.96 (65.39 – 104.53)	56.94 (41.84 – 72.05)	74.09 (53.73 – 94.45)	48.06 (22.16 – 73.95)	A, B	A-C B-C
Insulin 120.min	68.68 (60.18 – 77.18)	66.32 (46.09 – 86.56)	52.37 (36.75 – 67.98)	61.74 (40.69 – 82.79)	37.03 (10.26 – 63.81)	NZ	NZ

*-p<0.05, NZ-neznačajno, Rezultati prikazani kao srednja vrednost (interval poverenja), glikemija u mmol/L, insulin u mIU/L

Insulinemiju u 60.min jednaku ili veću od 100 mU/L je imalo 28.7% žena fenotipa A, 34.3% žena fenotipa B, 14.6% žena fenotipa C i 23.9% žena fenotipa D i nijedna žena iz KG (3.9%). Pri tome nisu postojale značajne razlike između grupa ($p=0.113$). Prevalenca žena koje su u 120.min imale insulinemiju jednaku ili veću od 100 mU/L je u fenotipovima A, B, C i D je bila sledeća: 18.5%, 20.8%, 11.5% i 11.6% a u KG (2.6%), pri čemu nije bilo razlike između grupa ($p=0.477$). Insulinemiju jednaku ili veću od 300 mU/L u 60.min OGTT-a je imalo samo 5% žena koje su pripadale fenotipu B, dok nijedna žena iz drugih fenotipova niti iz KG nije imala ovaj nivo insulinemije u 60.min. Pri tome nije postojala značajna razlika između grupa ($p=0.086$). Prevalenca žena koje su u 120.min imale glikemiju veću od glikemije u 0.min je bila u fenotipovima A, B, C, D i KG sledeća: 71.2%, 69.6%, 72%, 64% i 56.9% i između grupa nije bilo značajne statističke razlike ($p=0.352$).

ANOVA sa ponovljenim merenjima za vrednosti glikemije tokom OGTT-a (Grafikon 3.) je pokazala značajan efekat Vremena ($F_{4,301}=4.916$, $p=0.001$) i Grupe ($F_{4,304}=3.537$, $p=0.008$) dok efekat interakcije Vreme x Grupa ($F_{16,920}=1.274$, $p=0.207$) nije bio značajan. Post hoc analiza je pokazala značajne razlike između KG i fenotipa A ($p=0.025$), dok je razlika između KG i fenotipa B bila na granici značajnosti ($p=0.058$), a fenotipovi se nisu međusobno razlikovali.

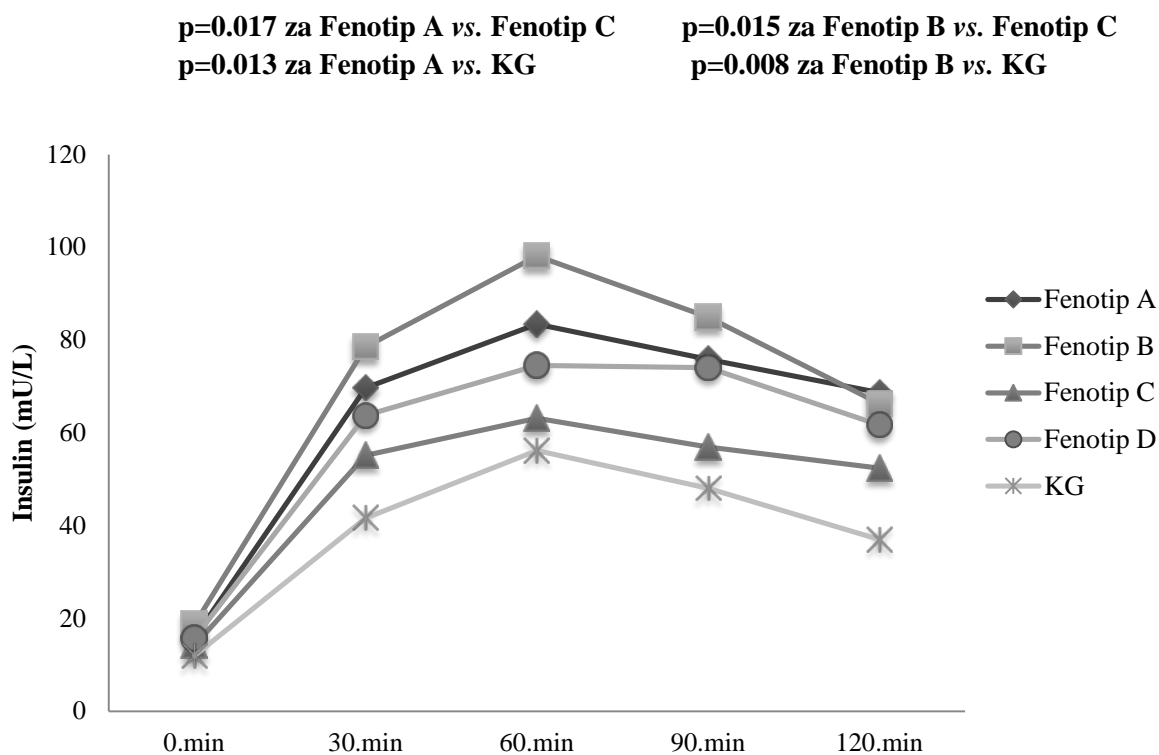
Glikemijska kriva je podeljena na dva dela: U periodu od 0-30.min OGTT-a je postojao značajan efekat Vremena ($F_{1,303}=11.17$, $p=0.001$) i interakcije Vreme x Grupa ($F_{4,303}=2.86$, $p=0.0024$) dok efekat Grupe nije bio značajan ($F_{4,303}=1.59$, $p=0.178$). Post hoc analiza je pokazala značajne razlike između KG i fenotipa A ($p<0.001$), KG i fenotipa B ($p=0.011$), dok se fenotipovi nisu međusobno razlikovali. U periodu od 30-120min je postojao značajan efekat Vremena ($F_{3,301}=5.514$, $p=0.001$) i Grupe ($F_{4,303}=3.82$, $p=0.005$), dok nije bilo značajnosti efekta Vreme x Grupa ($F_{12,796}=0.99$, $p=0.990$). Post hoc analiza je pokazala značajne razlike između KG i fenotipa A ($p<0.001$), KG i fenotipa B ($p=0.007$), dok se fenotipovi nisu međusobno razlikovali.



Grafikon 3. Glikemija tokom OGTT-a

ANOVA sa ponovljenim merenjima za vrednosti insulina tokom OGTT-a je pokazala značajan efekat Vremena ($F_{4,301}=3.93$, $p=0.006$) i Grupe ($F_{4,304}=3.254$, $p=0.013$) dok efekat interakcije Vreme x Grupa ($F_{16,920}=0.996$, $p=0.460$) nije bio značajan (Grafikon 4.). Post hoc analiza je pokazala značajne razlike između: KG i fenotipa A ($p=0.013$), KG i fenotipa B ($p=0.008$), fenotipa A i fenotipa C ($p=0.017$), i fenotipa B i fenotipa C ($p=0.015$).

Insulinska kriva je podeljena na dva dela: U periodu od 0-30.min OGTT-a je postojao značajan efekat Vremena ($F_{1,303}=4.58$, $p=0.033$) i efekat Grupe ($F_{4,303}=2.69$, $p=0.038$) dok efekat interakcije Vreme x Grupa ($F_{4,303}=2.03$, $p=0.091$) nije bio značajan. Post hoc analiza je pokazala značajne razlike KG i fenotipa A ($p=0.020$), KG i fenotipa B ($p=0.008$), i fenotipa B i fenotipa C ($p=0.025$). U periodu od 30-120min postojao značajan efekat Vremena ($F_{3,301}=5.82$, $p=0.014$) i Grupe ($F_{4,303}=3.09$, $p=0.017$), dok nije bilo značajnosti efekta Vreme x Grupa ($F_{12,796}=0.37$, $p=0.972$). Post hoc analiza je pokazala značajne razlike između KG i fenotipa A ($p=0.015$), KG i fenotipa B ($p=0.009$), fenotipa A i C ($p=0.021$), i fenotipa B i C ($p=0.017$).

**Grafikon 4. Insulin tokom OGTT-a**

Rezultati poređenja indeksa insulinske rezistencije izvedenih iz OGTT-a u celoj PCOS grupi su navedeni u Tabeli 17. a u PCOS fenotipovima u Tabeli 18.

Tabela 17. Indeksi insulinske rezistencije izvedeni iz OGTT-a

	PCOS (N=240)	KG (N=70)	P
AUC_{Glukoza}	716.99 (699.61 – 734.38)	652.30 (618.45 – 686.15)	0.001
AUC_{Insulin}	7844.39 (7269.58 – 8419.21)	5138.39 (2812.13 – 7464.64)	0.027
ISSI-2	10.80 (10.10 – 11.49)	7.13 (4.31 – 9.95)	0.014
ISI_{Matsuda}	4.50 (4.21 – 4.78)	6.05 (4.92 – 7.19)	0.009
HIRI x10⁶	3.96 (3.62 – 4.29)	2.46 (1.11 – 3.82)	0.036
IGI	21.99 (19.79 – 24.21)	12.45 (3.34 – 21.57)	0.026

Rezultati su prikazani kao srednja vrednost (interval poverenja); Skraćenice: AUC-površina ispod krive (*Engl. Area under the curve*); ISSI-2 –indeks insulinske sekrecije i senzitivnosti (*Engl. insulin secretion-sensitivity index-2*); ISI_{Matsuda}-indeks insulinske senzitivnosti (*Engl. Insulin sensitivity index*); HIRI-indeks insulinske rezistencije na nivou jetre (*Engl. Hepatic insulin resistance index*); IGI-insulinogenični indeks (*Engl. Insulinogenic index*).

Tabela 18. Markeri insulinske rezistencije izvedeni iz OGTT-a

	Fenotip A (N=146)	Fenotip B (N=28)	Fenotip C (N=43)	Fenotip D (N=22)	KG (N=70)	KG vs. fenotip[§]	Fenotip vs. fenotip[§]
AUC_{Glukoza}	726.24 (704.02-748.46)	732.30 (682.41-782.19)	689.62 (649.84-729.41)	692.36 (635.30-749.43)	651.83 (618.0-685.65)	A, B	NZ
AUC_{Insulin}	8090.43 (7360.61-8820.25)	9138.51 (7394.29-10882.74)	6264.19 (4917.97-7610.40)	7529.15 (5714.09-9344.21)	5115.37 (2807.25-7423.49)	A, B	A-C B-C
ISSI-2	11.21 (10.32-12.10)	11.34 (9.21-13.46)	9.15 (7.51-10.78)	10.67 (8.46-12.87)	7.11 (4.30-9.91)	A, B	A-C
ISI_{Matsuda}	4.37 (4.01-4.73)	3.73 (2.86-4.60)	5.10 (4.43-5.76)	5.02 (4.11-5.92)	6.06 (4.94-7.18)	A, B	B-C B-D
HIRI x10⁶	4.07 (3.65-4.94)	4.95 (3.94-5.96)	3.14 (2.36-3.92)	3.68 (2.64-4.73)	2.45 (1.11-3.79)	A, B	A-C B-C
IGI	23.70 (20.89-26.52)	21.53 (15.00-28.06)	18.18 (12.74-23.62)	18.33 (11.18-25.48)	12.23 (3.14-21.32)	NZ	NZ

§ - p<0.05; Rezultati su prikazani kao srednja vrednost (interval poverenja); Skraćenice: AUC-površina ispod krive (*Engl. Area under the curve*); ISI-indeks insulinske senzitivnosti (*Engl. Insulin sensitivity index*); HIRI-indeks insulinske rezistencije na nivou jetre (*Engl. Hepatic insulin resistance index*); IGI-insulinogenični indeks (*Engl. Insulinogenic index*) ISSI-2 –indeks insulinske sekrecije i senzitivnosti (*Engl. insulin secretion–sensitivity index*) NZ-neznačajno;

U Tabeli 19. su prikazane korelacije između različitih parametara insulinske rezistencije sa potrošnjom glukoze prema kilogramu telesne mase u poslednjih 30.min EHK-a korigovane za vrednost insulina u poslednjih 30.min EHK-a (M/I).

Tabela 19. Korelacije potrošnje glukoze u poslednjih 30.min euglikemijskog hiperinsulinemijskog klampa sa parametrima insulinske rezistencije u PCOS grupi

	M /I	Glikemija našte	Insulin našte	HOMA- IR	QUICKI	AUC _{Glukoza}	AUC _{Insulin}	ISSI-2	ISI _{Matsuda}	HIRI	IGI	OGTT _{Glc} 60.min	OGTT _{Glc} 120.min
M/I	1	-0.165 (0.070)	-0.562 (<0.001)	-0.548 (<0.001)	0.551 (<0.001)	-0.264 (<0.001)	-0.581 (<0.001)	-0.538 (<0.001)	0.590 (<0.001)	-0.487 (<0.001)	-0.324 (<0.001)	-0.232 (0.012)	-0.293 (0.001)
Glikemija našte		1	0.360 (0.004)	0.958 (<0.001)	-0.960 (<0.001)	0.352 (<0.001)	0.188 (0.008)	0.075 (0.295)	-0.289 (<0.001)	0.268 (<0.001)	0.185 (0.012)	0.269 (<0.001)	0.234 (<0.001)
Insulin našte			1	0.979 (<0.001)	-0.980 (<0.001)	0.238 (<0.001)	0.542 (<0.001)	0.504 (<0.001)	-0.709 (<0.001)	0.564 (<0.001)	0.243 (<0.001)	0.145 (0.033)	0.223 (0.001)
HOMA-IR				1	-0.999 (<0.001)	0.282 (<0.001)	0.529 (<0.001)	0.477 (<0.001)	-0.718 (<0.001)	0.571 (<0.001)	0.265 (<0.001)	0.173 (0.011)	0.256 (<0.001)
QUICKI					1	-0.280 (<0.001)	-0.531 (<0.001)	-0.481 (<0.001)	0.723 (<0.001)	-0.576 (<0.001)	-0.267 (<0.001)	-0.173 (0.011)	-0.251 (<0.001)
AUC_{Glukoza}						1	0.450 (<0.001)	0.928 (<0.001)	-0.552 (<0.001)	0.352 (<0.001)	-0.169 (0.022)	0.889 (<0.001)	0.686 (<0.001)
AUC_{Insulin}							1	0.931 (<0.001)	-0.844 (<0.001)	0.792 (<0.001)	0.428 (<0.001)	0.424 (<0.001)	0.267 (<0.001)
ISSI-2								1	-0.715 (<0.001)	0.745 (<0.001)	0.579 (<0.001)	0.832 (<0.001)	0.524 (<0.001)
ISI_{Matsuda}									1	-0.740 (<0.001)	-0.262 (<0.001)	-0.738 (<0.001)	-0.408 (<0.001)

Tabela 19(nastavak). Korelacije potrošnje glukoze u poslednjih 30.min euglikemijskog hiperinsulinemijskog klampa sa parametrima insulinske rezistencije u PCOS grupi

	M/I	Glikemija našte	Insulin našte	HOMA- IR	QUICKI	AUC _{Glukoza}	AUC _{Insulin}	ISSI-2	ISI _{Matsuda}	HIRI	IGI	OGTT _{Glc} 60.min	OGTT _{Glc} 120.min
HIRI										1	0.566 (<0.001)	0.213 (0.003)	0.181 (0.011)
IGI											1	0.298 (<0.001)	0.032 (0.667)
OGTT_{Glc} 60.min												1	0.504 (<0.001)
OGTT_{Glc} 120.min													1

Vrednosti prikazane kao $\rho(p)$

Da bi smo odredili koji od bazalnih ili OGTT parametra insulinske rezistencije može da predvidi potrošnju glukoze u poslednjih 30.min EHK-a, urađene su najpre univarijantne regresione analize u kojima su svi navedeni parametri sem glikemije našte pojedinačno značajno predviđali M vrednost. Potom je sa svim parametrima koji su bili značajni pojedinačni prediktori urađena multivarijantna linearna regresiona analiza u kojoj je potvrđeno da su značajni prediktori potrošnje glukoze u poslednjih 30.min EHK-a: insulin našte, IGI, HOMA-IR i glikemija u 60.min OGTT-a (Tabela 20.)

Tabela 20. Prediktori potrošnje glukoze u poslednjih 30.min euglikemijskog hiperinsulinemijskog klampa

Varijabla	Univarijantna analiza				Multivarijantna analiza (R ² =0.412)			
	B	SE B	95%CI	p	B	SE B	95%CI	p
Bazalna glikemija	-0.933	0.642	-2.205 do 0.338	0.149				
Bazalni insulin	-0.736	0.113	-0.959 do -0.513	<0.001	-2.049	0.609	-3.257 do -0.841	0.001
HOMA-IR	-0.674	0.108	-0.887 do -0.460	<0.001	-1.415	0.588	-0.250 do -2.580	0.018
QUICKI	0.155	0.353	0.103 do 1.661	<0.001				
AUC_{Glukoza}	-1.143	0.323	-1.783 do -0.503	0.001				
AUC_{Insulin}	-0.660	0.094	-0.846 do -0.475	<0.001				
ISSI-2	-0.615	0.107	-0.827 do -0.404	<0.001				
ISI_{Matsuda}	0.811	0.115	0.583 do 1.039	<0.001				
HIRI	-0.518	0.091	-0.699 do -0.336	<0.001				
IGI	-0.254	0.082	-0.416 do -0.093	0.002	-0.299	0.072	-0.157 do -0.285	<0.001
OGTT Glc60.min	-0.699	0.217	-1.130 do -0.268	0.002	-0.858	0.201	-1.257 do -0.459	<0.001
OGTT Glc120.min	-0.841	0.252	-1.341 do -0.342	0.001				

U kontrolnoj grupi 75.percentil vrednosti indeksa insulinske rezistencije je bio sledeći: HOMA-IR: 3.31, IGI:14.73, insulin našte: 15.10, OGTT_{Glc.60min}: 6.56. Sve ispitanice koje su imale vrednosti ovih indeksa iznad pomenutih graničnih vrednosti su smatrane za insulin-rezistentne. U Tabeli 21. je navedena prevalenca žena sa PCOS i zdravih žena iz KG sa povećanom IR u odnosu na navedene granične vrednosti dobijene u ovom istraživanju. Poređenje prevalenci je rađeno po ujednačavanju ispitanica prema godinama starosti.

Tabela 21. Prevalenca insulin rezistentnih žena u PCOS i kontrolnoj grupi

	PCOS [*]	KG [§]	p
Insulin > 15.10 mIU/L	48	27	<0.001
HOMA > 3.31	48	27	<0.001
IGI > 14.73	61	26	0.021
OGTT_{Glc60.min} >6.56	41	15	<0.001

^{*} N=365 za bazalne indekse (Insulin i HOMA) i N=240 za indekse izvedene iz OGTT-a (IGI i OGTT_{Glc60.min})

[§] N=125 za bazne indekse (Insulin i HOMA) i N=70 za indekse izvedene iz OGTT-a (IGI i OGTT_{Glc60.min})

Prevalenca IR u fenotipovima i KG nakon ujednačavanja ispitanica prema godinama starosti i BMI je prikazana u Tabeli 22.

Tabela 22. Prevalenca (%) insulinske rezistencije u PCOS fenotipovima i kontrolnoj grupi

	Fenotip A [*]	Fenotip B [*]	Fenotip C [*]	Fenotip D [*]	KG [*]	KG vs. fenotip [§]	Fenotip vs. fenotip [§]
Insulin > 15.10 mIU/L	44	61	50	51	27	A, B, C, D	NZ
HOMA > 3.31	43	58	46	41	27	A, B, C	NZ
IGI > 14.73	62	74	57	40	35	NZ	NZ
OGTT_{Glc60.min} > 6.56	45	40	31	35	15	A, B	NZ

^{*} Za bazalne indekse (Insulin i HOMA) - fenotip A: N=146 (fenotip A), 28 (fenotip B), 80 (fenotip C), 38 (fenotip D), 125 (KG), a za indekse izvedene iz OGTT-a (IGI i OGTT_{Glc60.min}): N=146 (fenotip A), 28 (fenotip B), 43 (fenotip C), 22 (fenotip D), 70 (KG)

[§] - p<0.05, NZ-neznačajno; [¥] -prilagođeno BMI i godinama starosti

4.8 Lipidogram

Cela PCOS grupa je u odnosu na zdrave žene kontrolne grupe, po ujednačavanju prema godinama starosti, imala značajno veće vrednosti TC [5.13 (5.02 – 5.23) vs. 4.71 (4.52 – 4.91) mmol/L, $p<0.001$], LDL [3.21 (3.11 – 3.30) vs. 2.95 (2.77 – 3.13) mmol/L, $p=0.014$], TG [1.24 (1.16 – 1.32) vs. 0.87 (0.73 – 1.01) mmol/L, $p<0.001$], non-HDL [3.77 (3.67 – 3.88) vs. 3.33 (3.13 – 3.52) mmol/L, $p<0.001$], apo-B [0.89 (0.86 – 0.92) vs. 0.79 (0.71 – 0.86) g/L, $p=0.015$], mokraćne kiseline [261.73 (252.59 – 270.87) vs. 244.43 (231.47 – 257.39) mmol/L, $p=0.039$] kao i odnosa TC/HDL [3.99 (3.86 – 4.12) vs. 3.52 (3.29 – 3.76), $p=0.001$], LDL/HDL [2.50 (2.39 – 2.61) vs. 2.23 (2.04 – 2.43), $p=0.022$], TG/HDL [1.05 (0.94 – 1.17) vs. 0.69 (0.49 – 0.89), $p=0.003$].

PCOS su imale značajno veću prevalencu hipertrigliceridemije ($TG \geq 1.7$ mmol/L) (16% vs. 4%, $p<0.001$), dok se prevalenca niskog HDL ($HDL < 1.3$ mmol/l) nije razlikovala između grupa (44.8% vs. 38.2%, $p=0.237$). Postojala je značajno veća prevalenca $LDL \geq 3.4$ mmol/L kod žena sa PCOS (33.9% vs. 22.5%, $p=0.047$) kao i veća prevalenca $Non-HDL \geq 4.1$ mmol/L (32.3% vs. 14%, $p<0.001$). Postojala je značajna korelacija mokraćne kiseline (MK) i BMI i u PCOS ($\rho=0.448$ $p<0.001$) i KG ($\rho=0.491$, $p<0.001$).

U Tabeli 23. su prikazani rezultati ispitivanja lipidograma kod naših ispitanica nakon ujednačavanja prema godinama starosti i BMI. Što se tiče nivoa mokraćne kiseline u serumu, samo fenotipovi A [263.32 (235.12 – 273.52) mmol/L] i B [274.92 (248.80 – 301.04) mmol/L] su u odnosu na zdrave žene [246.22 (235.05 – 257.40) mmol/L] imali značajno veće koncentracije MK ($p<0.05$), dok se međusobno fenotipovi nisu razlikovali.

Tabela 23. Lipidogram kod PCOS fenotipova i kontrolne grupe žena

	Fenotip A (N=207)	Fenotip B (N=40)	Fenotip C (N=80)	Fenotip D (N=38)	KG (N=125)	KG vs. fenotip [§]	Fenotip vs. fenotip [§]
TC (mmol/l)	5.11 (4.97 – 5.26)	5.09 (4.78 – 5.41)	5.20 (4.97 – 5.43)	5.03 (4.70 – 5.36)	4.73 (4.54 – 4.92)	A,B,C	NZ
HDL (mmol/l)	1.35 (1.31 – 1.39)	1.36 (1.27 – 1.46)	1.38 (1.32 – 1.45)	1.34 (1.25 – 1.44)	1.37 (1.32 – 1.43)	NZ	NZ
LDL (mmol/l)	3.18 (3.05 – 3.31)	3.16 (2.87 – 3.44)	3.30 (3.10 – 3.51)	3.17 (2.88 – 3.47)	2.96 (2.79 – 3.14)	NZ	NZ
TG (mmol/l)	1.23 (1.13 – 1.32)	1.28 (1.05 – 1.50)	1.25 (1.09 – 1.40)	1.17 (0.95 – 1.40)	0.90 (0.77 – 1.03)	A,B,C,D	NZ
Non-HDL (mmol/l)	3.76 (3.63 – 3.90)	3.73 (3.42 – 4.04)	3.82 (3.60 – 4.04)	3.70 (3.37 – 4.03)	3.35 (3.17 – 3.54)	A,B,C	NZ
TC/HDL	3.96 (3.80 – 4.12)	3.97 (3.61 – 4.33)	4.02 (3.76 – 4.27)	3.92 (3.55 – 4.30)	3.58 (3.36 – 3.80)	A,C	NZ
LDL/HDL	2.48 (2.34 – 2.61)	2.49 (2.19 – 2.80)	2.52 (2.31 – 2.74)	2.48 (2.17 – 2.80)	2.27 (2.09 – 2.45)	NZ	NZ
TG/HDL	1.01 (0.86 – 1.15)	1.07 (0.75 – 1.38)	1.14 (0.91 – 1.36)	0.98 (0.64 – 1.31)	0.73 (0.54 – 0.92)	A,B,C	NZ
Lp(a) (g/l)	0.19 (0.16 – 0.23)	0.14 (0.07 - 0.21)	0.20 (0.15 – 0.26)	0.19 (0.12 – 0.27)	0.20 (0.14 – 0.26)	NZ	NZ
ApoA1 (g/l)	1.58 (1.53 – 1.62)	1.60 (1.51 - 1.70)	1.66 (1.59 – 1.73)	1.60 (1.49 - 1.70)	1.62 (1.53 - 1.70)	NZ	NZ

Tabela 23(nastavak). Lipidogram kod PCOS fenotipova i kontrolne grupe žena

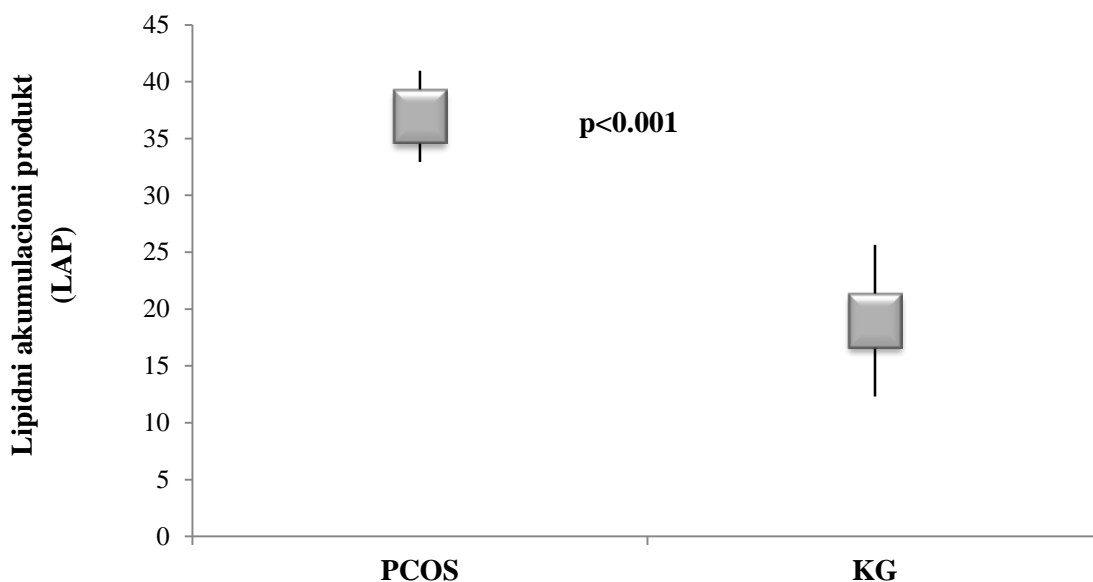
	Fenotip A (N=207)	Fenotip B (N=40)	Fenotip C (N=80)	Fenotip D (N=38)	KG (N=125)	KG vs. fenotip [§]	Fenotip vs. fenotip [§]
ApoB (g/l)	0.88 (0.84 – 0.92)	0.90 (0.81 – 0.98)	0.87 (0.81 – 0.93)	0.91 (0.82 – 1.00)	0.82 (0.75 - 0.89)	NZ	NZ
ApoA2 (g/l)	0.24 (0.22 – 0.27)	0.28 (0.24 – 0.33)	0.26 (0.22 – 0.29)	0.26 (0.21 – 0.31)	0.29 (0.25 – 0.33)	NZ	NZ
ApoE (g/l)	0.03 (0.03 - 0.04)	0.04 (0.03 - 0.05)	0.03 (0.03 - 0.04)	0.03 (0.03 - 0.04)	0.04 (0.03 – 0.04)	NZ	NZ
ApoB/ApoA1	0.60 (0.56 - 64)	0.63 (0.54 – 0.73)	0.55 (0.48 – 0.62)	0.59 (0.49 – 0.69)	0.51 (0.43 – 0.60)	NZ	NZ

[§] - p<0.05, NZ-neznačajno; Rezultati su prikazani kao srednja vrednost (interval poverenja); Skraćenice: TC-kupni holesterol (*Engl. Total cholesterol*), HDL – lipoprotein visoke gustine (*Engl. High density lipoprotein*), LDL-lipoprotein niske gustine (*Engl. low density lipoprotein*), TG-trigliceridi, Lp-lipoprotein, Apo-apolipoprotein

Prevalenca vrednosti $TG \geq 1.7 \text{ mmol/L}$ je bila značajno veća u fenotipu A u odnosu na KG (18% vs. 3.5%, $p < 0.001$) kao i fenotipu B u odnosu na KG (20% vs. 3.5%, $p = 0.020$), dok nije bilo značajne razlike između fenotipova ($p > 0.05$). Prevalenca vrednosti $HDL < 1.3 \text{ mmol/L}$ je iznosila za fenotipove A, B, C i D redom: 46%, 58%, 38% i 32%, a nije bilo značajne razlike između fenotipova i KG, niti između fenotipova ($p > 0.05$). Prevalenca vrednosti $LDL \geq 3.4 \text{ mmol/L}$ se nije razlikovala u fenotipovima ($p > 0.05$) niti između fenotipova i KG ($p > 0.05$), a iznosila je za fenotip A i B po 33%, fenotip C: 34% i fenotip D 22%. Prevalenca vrednosti $\text{Non-HDL} \geq 4.1$ je u odnosu na KG bila značajno veća u fenotipu A (14% vs. 33%, $p < 0.001$), fenotipu B (14% vs. 36%, $p = 0.006$) i fenotipu C (14% vs. 32%, $p = 0.005$), dok između fenotipova nije bilo značajne razlike ($p > 0.05$).

4.9 Lipidni akumulacionu produkt (LAP)

Vrednosti lipidnog akumulacionog produkta (LAP) su bile značajno veće kod žena sa PCOS u odnosu na zdrave žene nakon ujednačavanja prema godinama starosti [36.95 (32.93 – 40.97 vs. 18.99 (12.32-25.65), $p < 0.001$] (Grafikon 5).



Grafikon 5. Lipidni akumulacioni produkt (LAP) u PCOS i kontrolnoj grupi (KG)

Vrednosti LAP-a kod naših ispitanica nakon ujednačavanja prema godinama starosti su prikazane u Tabeli 24. a nakon ujednačavanja i prema godinama starosti i BMI u Tabeli 25.

LAP je u PCOS grupi značajno korelirao sa: masnim tkivom celog tela ($\rho=0.811$, $p<0.001$), trbušnim masnim tkivom ($\rho=0.760$, $p<0.001$), sistolnim krvnim pritiskom ($\rho=0.306$, $p<0.001$), dijastolnim krvnim pritiskom ($\rho=0.305$, $p<0.001$), SHBG ($\rho= - 0.453$, $p<0.001$), FAI ($\rho=0.469$, $p<0.001$), glikemijom našte ($\rho=0.245$, $p<0.001$), insulinom našte ($\rho=0.449$, $p<0.001$), HOMA-IR ($\rho=0.465$, $p<0.001$), QUICKI ($\rho= - 0.461$, $p<0.001$), OGTT_{Glc60.min} ($\rho=0.385$, $p<0.001$), OGTT_{Glc120.min} ($\rho=0.387$, $p<0.001$), AUC_{Glukoza} ($\rho=0.344$, $p<0.001$), AUC_{Insulin} ($\rho=0.426$, $p<0.001$), ISSI-2 ($\rho=0.360$, $p<0.001$), ISI_{Matsuda} ($\rho= - 0.473$, $p<0.001$), HIRI ($\rho=0.345$, $p<0.001$), IGI ($\rho=0.215$, $p=0.009$) i M/I ($\rho= - 0.372$, $p<0.001$).

ROC analizom LAP vrednosti je dobijena tačka preseka od 25.94 koja ima visoku dijagnostičku tačnost pri potvrđivanju postojanja IFG kod žena sa PCOS: AUC_{LAP-IFG} 0.78 ± 0.06 (95%CI 0.65 do 0.90), sa senzitivnošću 100% i specifičnošću 62%.

ROC analizom LAP vrednosti je dobijena tačka preseka od 25.96 koja ima visoku dijagnostičku tačnost pri potvrđivanju postojanja IGT kod žena sa PCOS: AUC_{LAP-IGT} 0.78 ± 0.05 (95%CI 0.69 do 0.87), sa senzitivnošću 75%, i specifičnošću 67%.

Tabela 24. Lipidni akumulacioni produkt (LAP): ispitanice ujednačene godinama starosti

	Fenotip A (N=207)	Fenotip B (N=40)	Fenotip C (N=80)	Fenotip D (N=38)	KG (N=125)	KG vs. fenotip[§]	Fenotip vs. fenotip[§]
LAP	38.46 (33.13 – 43.80)	49.76 (38.16 – 61.36)	33.49 (25.29 – 41.70)	22.75 (10.91 – 34.58)	19.10 (12.50 – 25.71)	A, B, C	A-D B-C B-D

[§] - p<0.05; Rezultati prikazani kao srednja vrednost (interval poverenja)

Tabela 25. Lipidni akumulacioni produkt (LAP): ispitanice ujednačene prema godinama starosti i BMI

	Fenotip A (N=207)	Fenotip B (N=40)	Fenotip C (N=80)	Fenotip D (N=38)	KG (N=125)	KG vs. fenotip[§]	Fenotip vs. fenotip[§]
LAP	36.81 (33.13 – 40.48)	40.62 (32.58 – 48.65)	30.62 (24.96 – 36.27)	36.93 (28.68 – 45.18)	21.77 (17.22 – 26.32)	A, B, C, D	NZ

[§] - p<0.05; Rezultati prikazani kao srednja vrednost (interval poverenja)

4.10 Prevalenca metaboličkog sindroma (MetS)

Prevalenca metaboličkog sindroma, po ujednačavanju ispitanica prema godinama starosti je bila značajno veća u PCOS grupi u odnosu na kontrolnu grupu, prema sve tri korišćene definicije MetS i to: NCEP-ATP III (20.4% vs. 2.7%, $p < 0.001$), IDF (23.5% vs. 9.7%, $p = 0.002$) i Joint (24.1% vs. 9.5%, $p = 0.001$). Pri analiziranju svakog pojedinačnog kriterijuma definicija MetS, žene sa PCOS su u odnosu na KG imale značajno veću prevalencu $OS \geq 88\text{cm}$ (35% vs. 22%, $p = 0.013$), $TG \geq 1.7\text{mmol/L}$ (16% vs. 4%, $p < 0.001$), $TA \geq 130/85\text{mmHg}$ (36% vs. 12%, $p < 0.001$) i glikemije $\geq 6.1\text{mmol/L}$ (2.3% vs. 1%, $p = 0.014$), dok se prevalencije $OS \geq 80\text{cm}$, $HDL < 1.29\text{mmol/L}$ i $Glukoza \geq 5.6\text{mmol/L}$ nisu razlikovale između grupa ($p > 0.05$). U KG je prevalenca žena koje nisu imale zadovoljen ni jedan kriterijum za MetS bila značajno veća u odnosu na žene iz PCOS grupe (42.5% vs. 31.1%, $p = 0.035$). U PCOS grupi je prevalenca žena koje su imale zadovoljena tri (14.8% vs. 4.8%, $p = 0.007$) i četiri kriterijuma za MetS (6.7% vs. 0.8%, $p = 0.002$) bila značajno veća u odnosu na KG, dok se prevalenca onih sa zadovoljenim jednim, dva i pet kriterijuma za MetS nije razlikovala između grupa. PCOS grupa je u odnosu na KG imala značajno veću prevalencu sledećih kombinacija NCEP-ATP III kriterijuma za MetS: $OS+TG+HDL$ (10.7% vs. 0.1%, $p = 0.001$), $OS+HDL+TA$ (15% vs. 0.6%, $p < 0.001$), $OS+TA+TG$ (6.8% vs. 1.3%, $p = 0.001$), $HDL+TA+TG$ (7.6% vs. 0.3%, $p = 0.002$), i $OS+HDL+TA+TG$ (6.3% vs. 1.5%, $p = 0.001$). Ostale kombinacije različitih kriterijuma za MetS su imale iste prevalencije u PCOS i KG ($p > 0.05$).

Logističkom regresionom analizom je potvrđeno da je postojanje PCOS značajan prediktor metaboličkog sindroma dijagnostikovanog pomoću sve tri definicije (Tabela 26).

Tabela 26. PCOS kao prediktor metaboličkog sindroma (MetS) prema tri definicije

	p	RR	95%CI
ATP III	0.001	3.470	1.619 - 7.437
IDF	0.042	1.805	1.022 – 3.190
Joint	0.030	1.870	1.061 – 3.296

Prevalenca MetS u fenotipovima prema tri definicije je prikazana u Tabeli 27. U Tabeli 28. je prikazana prevalenca pojedinačnih kriterijuma MetS u fenotipovima, u Tabeli 29. prevalenca broja zastupljenih kriterijuma u fenotipovima a u Tabeli 30. prevalenca različitih kombinacija kriterijuma MetS u fenotipovima.

Tabela 27. Prevalenca metaboličkog sindroma prema tri definicije

	Fenotip A (N=207)		Fenotip B (N= 40)		Fenotip C (N=80)		Fenotip D (N=38)		KG (N=125)		KG vs. fenotip [§]		Fenotip vs. fenotip [§]	
	%*	% [¥]	%*	% [¥]	%*	% [¥]	%*	% [¥]	%*	% [¥]	p *	p [¥]	p *	p [¥]
ATP III	22.3	21.3	28.3	21.3	18	16	6.9	18.4	2.7	4.6	A, B, C	A, B, C, D	A-D B-D	NZ
IDF	25.3	24.1	34.1	26.8	21.3	18.6	7	20.2	9.7	11.2	A, B	A, B	A-D B-D C-D	NZ
Joint	25.9	24.7	33.4	25.5	23.1	20.8	7.1	20.0	9.5	11.6	A, B, C	A, B	A-D B-D C-D	NZ

[§] - p<0.05 *ispitanice ujednačene prema godinama starosti; [¥]-ispitanice ujednačene prema godinama starosti i BMI;

Tabela 28. Prevalenca pojedinačnih kriterijuma metaboličkog sindroma

	Fenotip A (N=207)		Fenotip B (N=40)		Fenotip C (N=80)		Fenotip D (N=38)		KG (N=125)		KG vs. fenotip [§]		Fenotip vs. fenotip [§]	
	%*	% [‡]	%*	% [‡]	%*	% [‡]	%*	% [‡]	%*	% [‡]	p*	p [‡]	p*	p [‡]
OS_≥88cm	34	32	45	34	41	37	14	34	22	26	A B C	NZ	A-D B-D C-D	NZ
OS_≥80cm	49	47	56	45	50	46	37	57	46	49	NZ	NZ	NZ	NZ
TG_≥1.7mmol/L	18	18	23	18	12	10	6	14	4	5	A B	A B	A-D B-D	NZ
HDL_{<}1.29mmol/L	47	46	58	51	38	36	33	44	38	40	NZ	NZ	NZ	NZ
TA_≥130/85mmHg	39	38	33	29	37	36	24	31	12	13	A B C	A B C D	NZ	NZ

Tabela 28 (nastavak). Prevalenca pojedinačnih kriterijuma metaboličkog sindroma

	Fenotip A (N=207)		Fenotip B (N=40)		Fenotip C (N=80)		Fenotip D (N=38)		KG (N=125)		KG vs. fenotip [§]		Fenotip vs. fenotip [§]	
	%*	% [¥]	%*	% [¥]	%*	% [¥]	%*	% [¥]	%*	% [¥]	p*	p [¥]	p*	p [¥]
Glukoza\geq5.6mmol/L	14	13	15	13	9	9	4	8	12	13	NZ	NZ	NZ	NZ
Glukoza\geq6.1mmol/L	2	2	0	0	3	3	3	3	1	1	NZ	NZ	NZ	NZ

[§] - p<0.05 *ispitanice ujednačene prema godinama starosti; [¥]-ispitanice ujednačene prema godinama starosti i BMI;

Tabela 29. Prevalenca broja zadovoljenih kriterijuma metaboličkog sindroma prema NCEP-ATP III definiciji

	Fenotip A (N=207)		Fenotip B (N=40)		Fenotip C (N=80)		Fenotip D (N=38)		KG (N=125)		KG vs. fenotip [§]		Fenotip vs. fenotip [§]	
	%*	% [¥]	%*	% [¥]	%*	% [¥]	%*	% [¥]	%*	% [¥]	p*	p [¥]	p*	p [¥]
0	30	32	27	36	33	35	35	22	43	40	NZ	NZ	NZ	NZ
1	28	28	20	23	27	28	47	43	35	34	NZ	NZ	NZ	NZ
2	13	13	16	13	14	14	6	10	18	19	NZ	NZ	NZ	NZ
3	16	15	21	16	15	13	4	12	5	6	A	NZ	A-D	NZ
4	7	7	8	6	6	5	4	8	0.8	0.1	B	NZ	B-D	NZ
5	0.6	0.5	0	0.1	0	0	0	0.3	0	0.1	C	NZ	C	NZ

[§] - p<0.05*ispitanice ujednačene prema godinama starosti; [¥] -ispitanice ujednačene prema godinama starosti i BMI

Tabela 30. Prevalenca različitih kombinacija zadovoljenih kriterijuma metaboličkog sindroma prema NCEP-ATP III

	Fenotip A (N=207)		Fenotip B (N=40)		Fenotip C (N=80)		Fenotip D (N=38)		KG (N=125)		KG vs. fenotip [§]		Fenotip vs. fenotip [§]	
	%*	% [‡]	%*	% [‡]	%*	% [‡]	%*	% [‡]	%*	% [‡]	p*	p [‡]	p*	p [‡]
OS+TG+HDL	11	10	19	18	7	6	7	6	0.1	2	A B	A B C D	B-C B-D	NZ
OS+HDL+GLC	1.5	1.5	0.3	0	1.5	1.4	0.6	1	0.4	0.5	NZ	NZ	NZ	NZ
OS+HDL+TA	16	15.5	16	10.8	16	14.7	0.4	12.2	0.5	10	A B C	A B C D	A-D B-D C-D	NZ
OS+GLC+TA	1.4	1.4	2	0	1.4	1.4	0.5	0.7	0.1	0.1	NZ	NZ	NZ	NZ
OS+GLC+TG	0.6	0.5	0	0.1	0	0	0.1	0.3	0.1	0.1	NZ	NZ	NZ	NZ
OS+TA+TG	7.8	7.4	10.6	7.4	4	3.3	3.5	8.2	1.4	0.5	A B	A B D	NZ	NZ

Tabela 30 (nastavak). Prevalenca različitih kombinacija zadovoljenih kriterijuma metaboličkog sindroma prema NCEP-ATP III

	Fenotip A (N=207)		Fenotip B (N=40)		Fenotip C (N=80)		Fenotip D (N=38)		KG (N=125)		KG vs. fenotip [§]		Fenotip vs. fenotip [§]	
	%*	% [‡]	%*	% [‡]	%*	% [‡]	%*	% [‡]	%*	% [‡]	p*	p [‡]	p*	p [‡]
HDL+GLC+TA	1	0.9	0.3	0.1	1.5	1.4	0.5	0.9	1.4	1	NZ	NZ	NZ	NZ
HDL+GLC+TG	0.7	0.7	0.1	0.1	0.1	0	0.2	0.4	0.4	0.5	NZ	NZ	NZ	NZ
HDL+TA+TG	9.1	8.7	8.2	5.4	5.5	4.8	3.7	7.8	0.3	0.5	A B	A	NZ	NZ
GLC+TA+TG	0.7	0.7	0.1	0.1	0.1	0	0.2	0.4	0.4	0.5	NZ	NZ	NZ	NZ
OS+HDL+GLC+TA	0.9	0.9	0.2	0.1	1.4	1.4	0.4	0.7	0.1	0	NZ	NZ	NZ	NZ

Tabela 30 (nastavak). Prevalenca različitih kombinacija zadovoljenih kriterijuma metaboličkog sindroma prema NCEP-ATP III

	Fenotip A (N=207)		Fenotip B (N=40)		Fenotip C (N=80)		Fenotip D (N=38)		KG (N=125)		KG vs. fenotip [§]		Fenotip vs. fenotip [§]	
	%*	% [¥]	%*	% [¥]	%*	% [¥]	%*	% [¥]	%*	% [¥]	p *	p [¥]	p *	p [¥]
OS+GLC+TA+TG	0.6	0.5	0	0.1	0	0	0.1	0.3	0.1	0.1	NZ	NZ	NZ	NZ
OS+HDL+TA+TG	7.4	7	8.1	5.3	4.2	3.4	3.5	7.6	1.6	0.8	A B	A B D	NZ	NZ
HDL+GLC+TA+TG	0.1	0.7	0	0.1	0	0	0	0.4	0.1	0.5	NZ	NZ	NZ	NZ
OS+HDL+GLC+TA+TG	0.1	0.5	0	0.1	0	0	0	0.3	0	0.1	NZ	NZ	NZ	NZ

[§] - p<0.05, *prevalenca po ujednačavanju ispitanica prema godinama starosti; [¥] -prevalenca po ujednačavanju ispitanica prema godinama starosti i BMI

4.11 Prediktori metaboličkog sindroma prema NCEP-ATP III definiciji

4.11.1 Prediktori metaboličkog sindroma prema NCEP-ATP III definiciji u celoj studijskoj populaciji (PCOS+KG)

Za analizu prediktora metaboličkog sindroma je korišćena samo NCEP-ATP III definicija metaboličkog sindroma, obzirom da je prevalenca MetS prema ovoj definiciji najmanja (u odnosu na druge definicije).

A) Fenotipovi kao prediktori metaboličkog sindroma prema NCEP-ATP III definiciji

Logistička regresiona analiza je pokazala da su značajni prediktori MetS prema ATP III definiciji fenotipovi A, B i C, ali ne i fenotip D (Tabela 31.).

Tabela 31. Fenotipovi kao prediktori MetS prema NCEP-ATP III

Fenotip	p	RR	95%CI
A	0.001	3.835	1.738 – 8.458
B	0.001	5.547	2.046 – 15.039
C	0.016	3.102	1.237 – 7.781
D	0.798	0.813	0.165 – 4.000

B) PCOS karakteristike kao prediktori metaboličkog sindroma prema NCEP-ATP III definiciji

Logistička regresiona analiza je pokazala da su hiperandrogenizam i anovulacija značajni prediktori MetS prema NCEP-ATP III definiciji, dok morfološki policistični jajnici nisu značajni prediktor MetS (Tabela 32.)

Tabela 32. PCOS karakteristike kao prediktori MetS prema NCEP-ATP III

PCOS karakteristika	p	RR	95%CI
Hiperandrogenizam	0.001	4.017	2.008 – 8.035
Anovulacija	0.009	2.034	1.197 – 3.456
Morfološki policistični jajnici	0.060	1.704	0.978 – 2.969

4.11.2 Prediktori metaboličkog sindroma prema NCEP-ATP III definiciji kod žena sa PCOS

Prediktori metaboličkog sindroma prema NCEP-ATP III kriterijumima prema postojećoj definiciji u našoj populaciji žena sa PCOS su navedeni u Tabeli 33. Multivarijantna logistička regresiona analiza je pokazala da je obim struka jedini značajni prediktor MetS od postojećih kriterijuma prema NCEP-ATP III definiciji u našoj populaciji žena sa PCOS.

Tabela 33. Kriterijumi za postojanje MetS prema NCEP-ATP III kod žena sa PCOS

Varijabla	Univarijantna analiza			Multivarijantna analiza		
	p	RR	95%CI	p	RR	95%CI
OS \geq 88cm	<0.001	111.500	33.538 – 370.690	<0.001	107.049	32.062-357.420
TG \geq 1.7mmol/l	<0.001	25.471	12.573-51.603			
HDL $<$ 1.3mmol/l	<0.001	48.348	14.812-157.818			
TA \geq 130/85mmHg	<0.001	12.262	6.408-23.463			
Disglikemija	0.023	5.812	1.269-26.613			

Da bi smo utvrdili da li u našoj populaciji žena sa PCOS postoje drugi prediktori MetS prema NCEP-ATP III definiciji kojima bi mogao bolje da se predvidi MetS, učinjene su uni i multivarijantne logističke regresione analize pojedinačno za antropometrijske,

biohemijske, hormonske analize i analize parametara insulinske rezistencije za koje je pokazano da najbolje koreliraju sa potrošnjom glukoze u poslednjih 30.min klampa (Tabele 34-39). Pri tome nisu uzimani u obzir već postojeći kriterijumi za MetS prema NCEP-ATP III definiciji (disglukemija, krvni pritisak, trigliceridi i HDL).

Tabela 34. Fenotipovi A, B, C u odnosu na fenotip D kao prediktori MetS (NCEP-ATP III) kod žena sa PCOS

Varijabla	p	RR	95%CI
Fenotip A	0.038	4.720	1.093 – 20.382
Fenotip B	0.017	6.828	1.401 – 33.281
Fenotip C	0.087	3.818	0.822 – 17.743

Tabela 35. Značajni antropometrijski prediktori MetS (NCEP-ATP III) kod žena sa PCOS

Varijabla	Univarijantna analiza			Multivarijantna analiza		
	p	RR	95%CI	p	RR	95%CI
Starost (godine)	0.003	1.074	1.024 – 1.127			
BMI (kg/m²)	<0.001	1.352	1.264 – 1.445	<0.001	1.328	1.224 – 1.441
Masno tkivo celog tela (%)	<0.001	1.223	1.157 – 1.292			
Trbušno masno tkivo (%)	<0.001	1.157	1.105 – 1.213			
Trbušno bezmasno tkivo (kg)	<0.001	1.399	1.237 – 1.583			
Masno tkivo nogu (%)	<0.001	1.306	1.206 – 1.416			
Bezmasno tkivo nogu (kg)	<0.001	3.297	2.237 – 4.860			

Skraćenice: BMI-indeks telesne mase (*Engl. body mass index*)

Tabela 36. Značajni biokemijski prediktori MetS (NCEP-ATP III) kod žena sa PCOS

Varijabla	Univarijantna analiza			Multivarijantna analiza		
	p	RR	95%CI	p	RR	95%CI
TC (mmol/L)	<0.001	1.554	1.227 – 1.967			
LDL (mmol/L)	<0.001	1.615	1.234 – 2.113			
Non-HDL (mmol/L)	<0.001	2.091	1.607 – 2.719			
TC/HDL	<0.001	2.815	2.139 – 3.703			
LDL/HDL	<0.001	3.179	2.263 – 4.466			
TG/HDL	<0.001	3.999	2.652 – 6.030	<0.001	8.684	4.382 – 17.208
ApoA1 (g/L)	<0.001	0.065	0.020 – 0.206			
ApoB (g/L)	<0.001	30.216	9.809 – 93.076			
ApoE (g/L)	0.003	1.019	1.006 - 1.032			
ApoB/ApoA1	<0.001	1.198	11.112 – 152.743	0.011	4.528	1.411 – 14.530

Skraćenice: TC-ukupni kolesterol (*Engl. Total cholesterol*), LDL-lipoprotein niske gustine (*Engl. Low density lipoprotein*), HDL-lipoprotein visoke gustine (*Engl. High density lipoprotein*), Apo-apolipoprotein

Tabela 37. LAP kao prediktor MetS (NCEP-ATP III) kod žena sa PCOS

Varijabla	p	RR	95%CI
LAP	<0.001	1.076	1.057 – 1.095

Skraćenice: LAP-lipidni akumulacioni produkt

Tabela 38. Značajni hormoni kao prediktori MetS (NCEP-ATP III) kod žena sa PCOS

Varijabla	Univarijantna analiza			Multivarijantna analiza		
	p	RR	95%CI	p	RR	95%CI
LH	0.005	0.902	0.839 – 0.969	0.004	0.878	0.804 – 0.958
Testosteron	0.035	1.257	1.016 – 1.556	0.011	1.432	1.087 – 1.888
SHBG	<0.001	0.933	0.912 – 0.954	<0.001	0.938	0.916 – 0.960

Skraćenice: LH-luteinizirajući hormon, SHBG-seks hormon vezujući globulin (*Engl.sex hormone binding globuline*)

Tabela 39. Značajni parametri bazalne insulinske rezistencije kao prediktori MetS (NCEP-ATP III) kod žena sa PCOS

Varijabla	Univarijantna analiza			Multivarijantna analiza		
	p	RR	95%CI	p	RR	95%CI
Insulin našte (mU/L)	<0.001	1.078	1.048 – 1.109			
HOMA-IR	<0.001	1.379	1.217 – 1.562	0.033	1.173	1.013-1.358

Skraćenice: HOMA-IR-homeostatski model insulinske rezistencije

Za formiranje konačnog modela prediktora MetS (NCEP-ATP III), u situaciji kada postoje samo bazalni parametri insulinske rezistencije, učinjena je multivarijantna logistička regresiona analiza sa svim značajanim prediktorima koji su dobijeni u prethodnim tabelama i to: fenotipovi, BMI, TG/HDL, ApoB/ApoA1, LAP, testosteron, SHBG, LH i HOMA-IR.

Tabela 40. Konačni prediktori MetS (NCEP-ATP III) kod žena sa PCOS kod kojih je insulinska rezistencija procenjena bazalnim parametrima

Varijabla	p	RR	95%CI
-2Log likelihood 257.82			
Konstanta	<0.001	0.270	/
-2Log likelihood 112.59			
Konstanta	<0.001	0.004	/
LAP	<0.001	1.072	1.051 – 1.094
HOMA-IR	0.004	1.286	1.082 – 1.528

Skraćenice: LAP-lipidni akumulacioni produkt, HOMA-IR-homeostazni model insulinske rezistencije

Kod žena sa PCOS kod kojih je rađen OGTT, binarnom logističkom regresionom analizom su svi parametri IR (za koje je pokazano da su značajni prediktori potrošnje glukoze u poslednjih 30.min euglikemijskog hiperinsulinemijskog klampa) sem koncentracije insulina našte, bili značajni prediktori MetS (Tabela 41).

Tabela 41. Značajni parametri insulinske rezistencije kao prediktori MetS (NCEP-ATP III) kod žena sa PCOS

Varijabla	Univarijantna analiza			Multivarijantna analiza		
	p	RR	95%CI	p	RR	95%CI
Bazalni insulin	<0.001	1.078	1.048 – 1.109			
HOMA-IR	<0.001	1.379	1.217 – 1.562	0.033	1.173	1.013-1.358
IGI	0.026	1.025	1.003 – 1.048	0.006	1.038	1.011-1.066
OGTT_{Glc60.min}	<0.001	1.566	1.304-1.881	<0.001	1.053	1.213-1.939

Skraćenice: HOMA-IR-homeostazni model insulinske rezistencije, IGI-insulinogeni indeks (*Engl. Insulinogenic index*), OGTT_{Glc60.min}-glikemija u 60.min tokom testa oralnog poterećenja glukozom (OGTT)

Za formiranje konačnog modela prediktora MetS (NCEP-ATP III), u situaciji kada postoje i bazalni i dinamski indikatori insulinske rezistencije izvedeni iz OGTT-a, je učinjena multivarijantna logistička regresiona analiza sa svim značajnim prediktorima koji su

dobijeni u prethodnim tabelama i to: fenotipovi, BMI, TG/HDL, ApoB/ApoA1, LAP, testosteron, SHBG, LH, HOMA-IR, IGI i OGTT_{Glc60min}.

U Tabeli 42. su navedeni rezultati binarne logističke regresione analize za prediktore MetS kada su u analizu uključeni pored bazalnih parametara insulinske rezistencije i parametri izvedeni iz OGTT-a.

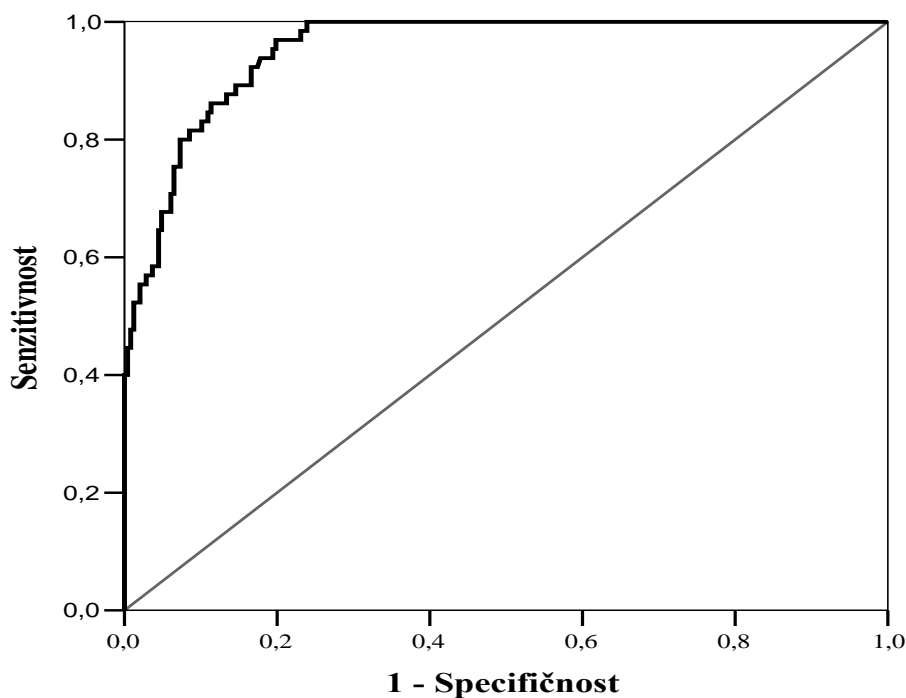
Tabela 42. Konačni prediktori MetS (NCEP-ATP III) kod žena sa PCOS kod kojih je insulinska rezistencija procenjena i bazalnim i indeksima izvedenim iz OGTTa)

Varijabla	p	RR	95%CI
-2Log likelihood 126.36			
Konstanta	<0.001	0.216	/
-2Log likelihood 47.39			
Konstanta	<0.001	0.004	/
LAP	<0.001	1.091	1.051 – 1.132
HOMA-IR	0.007	1.414	1.101 – 1.817

Skraćenice: LAP-lipidni akumulacioni produkt, HOMA-IR-homeostazni model insulinske rezistencije

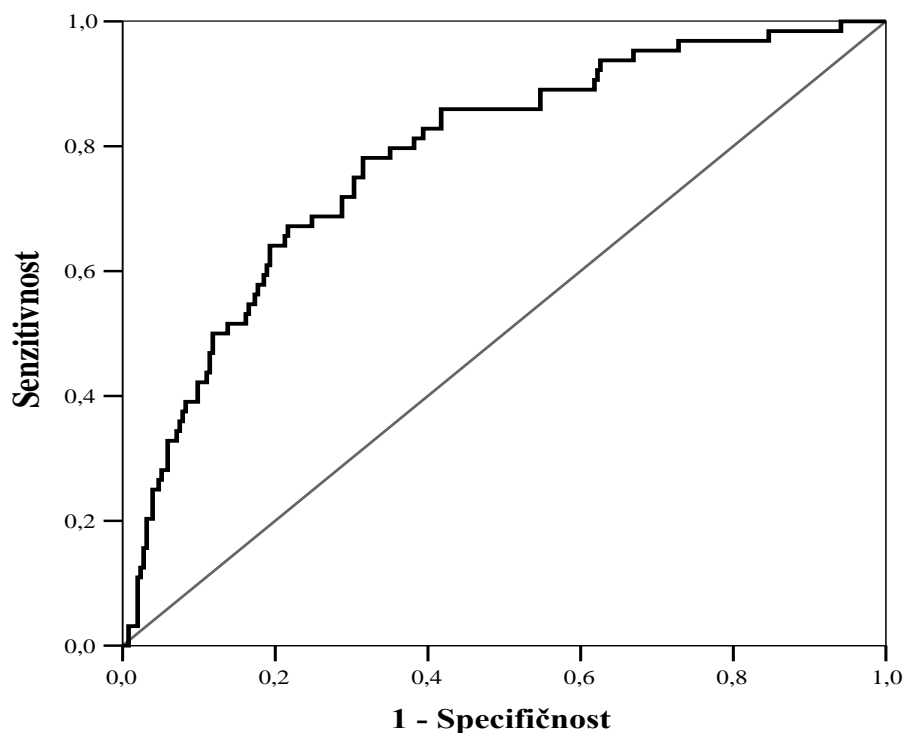
4.12 LAP i HOMA-IR kao prediktori metaboličkog sindroma

ROC analizom vrednosti LAP (Grafikon 6.) je dobijena tačka preseka od 25.94 koja ima visoku dijagnostičku tačnost pri određivanju postojanja MetS (ATP III) kod žena sa PCOS: $AUC_{LAP} 0.95 \pm 0.01$ (95% CI 0.93 do 0.97).



Grafikon 6. ROC kriva : LAP kao prediktor metaboličkog sindroma prema NCEP-ATP III definiciji kod žena sa PCOS

ROC analizom vrednosti HOMA-IR (Grafikon 7.) je dobijena tačka preseka od 3.31 koja ima visoku dijagnostičku tačnost pri određivanju postojanja MetS (NCEP-ATP III) kod žena sa PCOS: $AUC_{HOMA-IR} 0.78 \pm 0.03$ (95% CI 0.72 do 0.84).



Grafikon 7. ROC kriva : HOMA-IR kao prediktor metaboličkog sindroma prema NCEP-ATP III definiciji kod žena sa PCOS

U Tabeli 43. su prikazane karakteristike tačaka preseka LAP-a i HOMA-IR kao prediktora MetS prema ATP III definiciji.

Tabela 43. Karakteristike tačaka preseka LAP-a i HOMA-IR dobijene ROC krivom za predviđanje postojanje MetS (NCEP-ATP III) kod žena sa PCOS

	Sn	Sp	PPV	NPV
LAP> 25.94	99%	76%	100%	74%
HOMA-IR>3.31	80%	64%	75%	78%

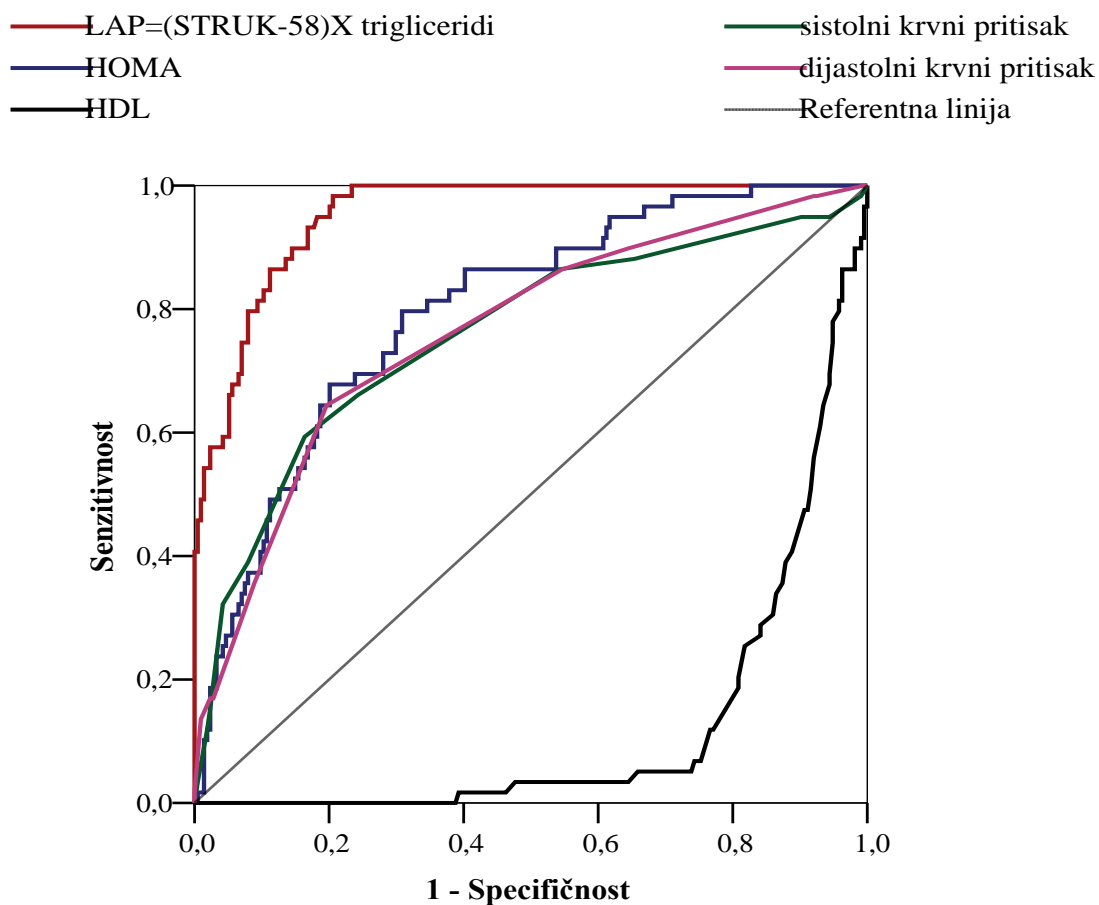
Sn-senzitivnost; Sp-specifičnost; PPV-pozitivna prediktivna vrednost; NPV-negativna prediktivna vrednost

Univarijantne logističke regresione analize su pokazale da su i LAP>25.94 i HOMA-IR >3.31 značajni prediktori MetS (NCEP-ATP III) kod žena sa PCOS. U multivarijantnoj logističkoj regresionoj analizi, oba parametra su ostala značajni prediktori (Tabela 44.).

Tabela 44. Granične vrednosti LAP (25.94) i HOMA-IR (3.31) kao prediktori MetS (NCEP-ATP III) kod žena sa PCOS

Varijabla	Univarijantna analiza			Multivarijantna analiza		
	p	RR	95%CI	p	RR	95%CI
LAP>25.94	<0.001	203.93	27.689 – 1501.98	<0.001	33.68	11.72 – 96.79
HOMA-IR>3.31	<0.001	6.79	3.51 – 13.14	<0.001	4.73	2.295 – 9.76

Na Grafikonu 8. su prikazane ROC krive svakog postojećeg, klasičnog prediktora MetS prema NCEP-ATP III kriterijumima kod žena sa PCOS zajedno sa novim prediktorima MetS, koji su dobijeni u ovom istraživanju u našoj populaciji žena sa PCOS (LAP i HOMA-IR).



Grafikon 8. ROC krive svih prediktora metaboličkog sindroma prema NCEP-ATP III kriterijumima kod žena sa PCOS

Vrednosti AUC ROC krivi klasičnih i novih prediktora MetS prema NCEP-ATP III u PCOS i kontrolnoj grupi su prikazane u Tabeli 45.

Tabela 45. Vrednosti AUC ROC krivi prediktora MetS (NCEP-ATP III) u PCOS i kontrolnoj grupi (KG)

Prediktor	PCOS		KG	
	AUC (95% CI)	p	AUC (95% CI)	p
LAP	0.953 (0.930 – 0.975)	<0.001	0.929 (0.865– 0.992)	<0.001
OS	0.907 (0.869– 0.946)	<0.001	0.843 (0.737– 0.948)	0.001
TG	0.906 (0.866– 0.945)	<0.001	0.851 (0.718– 0.984)	0.001
HDL	0.872 (0.834 – 0.910)	<0.001	0.859 (0.774– 0.944)	0.001
HOMA-IR	0.795 (0.734 – 0.857)	<0.001	0.836 (0.645– 1.027)	0.002
DBP	0.762 (0.691 – 0.833)	<0.001	0.802 (0.662– 0.942)	0.004
SBP	0.758 (0.682 – 0.834)	<0.001	0.708 (0.524– 0.891)	0.050
Disglukemija	0.635 (0.554– 0.717)	0.001	0.641 (0.422– 0.860)	0.183

U Tabeli 46. su prikazane vrednosti AUC ROC krivi prediktora MetS prema NCEP-ATP III u PCOS fenotipovima

Tabela 46. Vrednosti AUC ROC krivi prediktora MetS prema NCEP-ATP III kriterijumima u PCOS fenotipovima

Prediktor	Fenotip A		Fenotip B		Fenotip C		Fenotip D	
	AUC (95% CI)	p	AUC (95% CI)	p	AUC (95% CI)	p	AUC (95% CI)	p
LAP	0.950 (0.920 – 0.981)	<0.001	0.972 (0.922– 1.023)	<0.001	0.931 (0.868– 0.993)	<0.001	1.000 (1.000– 1.000)	0.020
OS	0.917 (0.871– 0.962)	<0.001	0.894 (0.770– 1.019)	0.001	0.836 (0.713– 0.960)	<0.001	0.963 (0.884– 1.042)	0.031
TG	0.874 (0.813– 0.936)	<0.001	0.967 (0.909– 1.025)	<0.001	0.917 (0.839– 0.994)	<0.001	1.000 (1.000– 1.000)	0.020
HDL	0.879 (0.830 – 0.928)	<0.001	0.831 (0.696– 0.965)	0.001	0.866 (0.789– 0.943)	<0.001	0.943 (0.866– 1.020)	0.037
HOMA-IR	0.781 (0.696 – 0.865)	<0.001	0.850 (0.694– 1.006)	0.003	0.730 (0.594– 0.865)	0.014	0.926 (0.821– 1.031)	0.053
DBP	0.774 (0.690 – 0.858)	<0.001	0.631 (0.401– 0.860)	0.260	0.851 (0.740– 0.963)	<0.001	0.491 (0.072– 1.054)	0.966
SBP	0.780 (0.693 – 0.868)	<0.001	0.614 (0.371– 0.856)	0.326	0.872 (0.760– 0.983)	<0.001	0.370 (0.131– 0.872)	0.256
Disglikemija	0.636 (0.522– 0.749)	0.015	0.658 (0.437– 0.879)	0.172	0.632 (0.470– 0.794)	0.156	0.648 (0.405– 0.891)	0.491

5. Diskusija

Na samom početku diskusije treba istaći način na koji su dobijeni prikazani rezultati. Naime naše žene sa PCOS su bile značajno mlađe od zdravih žena iz kontrolne grupe, dok se nisu razlikovale prema indeksu telesne mase, pa je pri upoređivanju rezultata između ove dve grupe primenjeno ujednačavanje ispitanica prema godinama starosti. Sa druge strane, pri analiziranju fenotipova je primenjeno ujednačavanje ispitanica prema godinama starosti i prema indeksu telesne mase. Na taj način smo želeli da isključimo efekat gojaznosti kao značajan faktor koji modifikuje rezultate, naročito u ovoj populaciji žena.

Ovakav način analiziranja podataka je podržan od strane nekoliko različitih studija. Tako je pokazano da kod zdravih žena u reproduktivnoj životnoj dobi tokom starenja dolazi do progresivnog smanjenja cirkulišućih androgena, dok se istovremeno BMI povećava, a IR pogoršava [158-160]. Panidis i sar. su pokazali na velikom broju ispitanica da kod žena sa PCOS tokom reproduktivnog života dolazi do postepenog smanjenja serumskog testosterona, androstenediona, DHEAS i FAI, a što ujedno dovodi do smanjenja prevalencije klasičnog fenotipa A i povećanja prevalencije fenotipa D [161]. U istoj studiji je pokazano i da se IR kod žena sa PCOS pogoršava sa starenjem, a što je pre svega posledica povećanja abdominalne gojaznosti [161].

Pored razloga što su se za potrebe ovog istraživanja regrutovale konsektivne ispitanice koje su se javljale na Kliniku za endokrinologiju dijabetes i bolesti metabolizma KCS, postoji još jedan razlog zbog čega nije pristupilo uparivanju PCOS žena prema BMI i godinama starosti ili obimu struka kako međusobno tako i sa kontrolama. Naime iako razlike u BMI između PCOS fenotipova mogu da doprinose razlikama u metaboličkim parametrima između PCOS fenotipova, različitosti u stepenu gojaznosti i jesu jedna od diskriminišućih karakteristika fenotipova, pa bi uparivanjem PCOS žena prema BMI ili obimu struka dovelo do isključenja iz istraživanja većine žena sa fenotipom C i D, odnosno do uključivanja uglavnom samo onih sa povećanim BMI i obimom struka. Zbog toga je i korekcija rezultata prema godinama starosti i/ili BMI možda najbolji način za analiziranje PCOS populacije uopšte, a naročito PCOS fenotipova.

5.1 Kliničke karakteristike ispitanica

5.1.1 Prevalenca pojedinačnih PCOS fenotipova

Kao i u svim drugim, do sada, objavljenim studijama, prevalenca fenotipa A je i u našoj populaciji žena sa PCOS najveća i ne razlikuje se značajno od prevalencije potvrđene od strane drugih autora (Tabela 47). Sledeći najzastupljeniji fenotip u našem istraživanju je fenotip C, što je i najčešće i u drugim studijama, iako prevalenca ovog fenotipa nije tako uniformna među objavljenim studijama. Fenotip B i D su zastupljeni najmanje i u međusobno sličnom procentu, što je takođe slučaj, sa drugim studijama.

Tabela 47. Prevalenca fenotipova u našoj i drugim studijama

Studije	Fenotip A (%)	Fenotip B (%)	Fenotip C (%)	Fenotip D (%)
Naše istraživanje	57	11	22	10
Welt i sar. 2006 [162]	71	2	18	9
Dewailly i sar. 2006 [163]	60	7	17	16
Pehlivanov i sar. 2007 [126]	59	11	10	20
Shroff i sar. 2007 [164]	58	14	15	13
Guastella i sar. 2010 [165]	55	10	30	8
Yilmaz i sar. 2011 [166]	44	23	14	19
Panidis i sar. 2012 [125]	48	31	10	11
Baldani i sar. 2013 [167]	57	2	14	27

Tabela 47 (nastavak). Prevalenca fenotipova u našoj i drugim studijama

Studije	Fenotip A	Fenotip B	Fenotip C	Fenotip D
	(%)	(%)	(%)	(%)
Ates i sar. 2013 [168]	47	13	21	19
Kar i sar. 2013 [169]	65	22	11	2
Daan i sar. 2014 [170]	46	4	4	46

Treba imati u vidu da naša studija nije obavljena na uzorku iz opšte populacije. I u studijsku populaciju ali i kontrolnu grupu su regrutovane osobe koje su se javljale u tercijarnu ustanovu radi ispitivanja hormonskog i/ili metaboličkog statusa. Ovo dovodi do pristrasnosti, ne samo u našoj nego i u svim drugim studijama koje nisu koristile ispitanice iz opšte populacije. To je i jedan od razloga za postojanje heterogenih rezultata u različitim studijama. Naime, žene koje ciljano dolaze u tercijarnu zdravstvenu ustanovu radi ispitivanja, obično već imaju nekakav klinički manifestan problem, bez obzira da li se radi o neredovnim menstrualnim ciklusima, hirzutizmu ili gojaznosti. Pa čak i naizgled zdrave žene, koje se javljaju na pregled zbog primarnog infertiliteta mogu potencijalno biti žene sa PCOS. Sve navedeno dovodi do toga da je PCOS populacija regrutovana na ovaj način obično klinički kompleksnija i sa više komorbiditeta i/ili komplikacija u odnosu na populaciju koja se regrutuje iz opšte populacije, a što je na primeru hiperandrogenizma skoro i dokazano [171].

Dodatno, pokazano je da etnička i geografska pripadnost, pa čak i kulturološke i socijalne karakteristike utiču na ispoljavanje različitih fenotipova PCOS, čime se takođe objašnjava razlika u prevalenci pojedinih fenotipova u različitim studijama [16]. Našim rezultatima su najbliži rezultati studije Pehlivanov i sar. [126] na bugarskoj populaciji, koja se može smatrati etnički i kulturološki slična našoj. Klasični PCOS fenotipovi su u toj studiji bili zastupljeni praktično u istom odnosu kao i u našoj studiji, dok je odnos zastupljenosti fenotipova C i D u odnosu na našu studiju različit.

Prema rezultatima naše studije, kao i većine drugih, najveći broj žena sa PCOS ima hiperandrogenizam, imajući u vidu zastupljenost fenotipova A, B i C. I ovdje treba imati u vidu da je hiperandrogenizam u objavljenim studijama definisan na različiti način, obzirom da još uvek ne postoje egzaktna pravila i vodiči kojima se savetuje tačan način definisanja hiperandrogenizma. Mi smo se u našoj studiji trudili da objedinimo više načina definisanja hiperandrogenizma i na taj način smo pokušali da rezultate što više približimo mogućim rezultatima u opštoj populaciji. U svakom slučaju, ukoliko se ima u vidu da jedan deo stručne javnosti smatra da je hiperandrogenizam *sine qua non* za postavljanje dijagnoze PCOS [18], čak 10% žena iz naše studijske populacije sa fenotipom D, ne bi bilo dijagnostikivano kao PCOS. To znači da se kod 10% naše populacije žena sa PCOS ne bi možda ni pratio razvoj potencijalnih kardiometaboličkih komplikacija koji je karakterističan za klinički tok žena sa PCOS. Još dramatičniji rezultati u tom smislu su prikazani u studiji Daan i sar. [170] koji su na preko 1000 žena pokazali da skoro 50% žena sa fenotipom D ne bi bilo dijagnostikivano kao PCOS, ukoliko bi se HA smatrao za obavezan kriterijum za postavljanje dijagnoze.

U svakom slučaju, značajan broj žena u našoj populaciji žena sa PCOS pripada i fenotipu C i fenotipu D kao najspornijim fenotipovima u literaturi, i njihovim zanemarivanjem bi se zanemario i veći broj žena za koje je jasno da će tokom godina razviti kardiometaboličke komplikacije.

5.1.2 Menstrualni ciklusi

Kao što se i očekivalo, žene sa PCOS su imale značajno manji broj menstrualnih ciklusa godišnje za razliku od zdravih žena. U našem istraživanju, 54% žena sa PCOS je imalo poremećaj menstrualnog ciklusa (oligo ili amenoreju), 46% je imalo redovne menstrualne cikluse, dok je oko 68% imalo anovulaciju (nezavisno od redovnosti menstrualnih ciklusa). Za razliku od naše studije, Baldani i sar. su na sličnom broju žena sa PCOS iz Hrvatske pokazali značajno veću prevalencu menstrualnih poremećaja obzirom da je samo 9% žena imalo redovne menstrualne cikluse [172]. Kako su i sami autori u radu

istakli, značajno veliki broj žena sa poremećajem menstrualnog ciklusa je verovatno posledica načina regrutacije pacijentkinja obzirom da se ista radila na ginekološkoj klinici gde se većina žena javljala baš zbog ovog problema. Sa druge strane u našoj studiji je najčešći razlozi za javljanja na ispitivanje na našoj klinici su bili hirzutizam ili infertilitet.

Vreme nastupanja menarhe je bilo kasnije PCOS grupi (mediana 13 godina) u odnosu na KG (mediana 12.5 godina), a ovaj rezultat je u skladu sa dostupnom literaturom [173]. Značajno kašnjenje menarhe u fenotipovima A i D u odnosu na KG, i slično vreme pojave menarhe u fenotipovima B i C u odnosu na KG, ukazuje da je za vreme pojave menarhe kod naših žena sa PCOS može biti važno postojanje kombinacije ANOV i PCOM. Dodatno, obzirom da je jedina među-fenotipska razlika u pojavi menarhe postojala između fenotipa B i D, to dodatno ukazuje na mogućnost da HA nema značajniju ulogu u uspostavljanju aktivacije gonadne osovine kod naših žena sa PCOS. Ovo je pre svega posledica sleđa događaja, odnosno posledica najpre pojave ANOV i/ili PCOM na čijem terenu kasnije nastaje HA.

Vreme pojave menarhe kod žena sa PCOS može biti ranije ili kasnije u odnosu na zdrave žene. Ukoliko folikularni arest nastane u adolescenciji, menarha će se javiti kasnije, a ovakve žene se mogu prezentovati sa primarnom amenorejom. Sa druge strane, može doći i do razvoja prevremene pubarhe, a time i ranije menarhe, naročito kod onih sa većom telesnom težinom [174]. I konačno, vreme pojave menarhe može biti i genetski predodređeno [175].

Žene sa PCOS u našoj studiji su imale raspon starosne dobi u kojoj se javila menarha 7-19 godina, a kontrolna grupa zdravih žena 9-16 godina, što je u skladu sa podacima iz literature [176]. Pri tome, najveći raspon vremena pojave menarhe je postojao u fenotipu A, a najmanji u fenotipovima B i D. Poznavanje vremena pojave menarhe kod žena sa PCOS bi moglo da obezbedi dodatnu informaciju pri odluci o terapiji kod mladih žena sa PCOS tokom adolescencije. Imajući ovo u vidu, kod mladih devojaka sa PCOS fenotipovima A i D tokom adolescencije možda ne treba žuriti sa hormonskom supstitucijom radi indukcije

pojave menstrualnog ciklusa obzirom da se menarha u ovim fenotipovima javlja kasnije u odnosu na zdrave žene.

Kao što je i bilo očekivano, fenotipovi A, B i D su imali značajno manji broj menstrualnih ciklusa godišnje u odnosu na fenotip C i KG. Pri tome je fenotip A imao značajno manji broj MC godišnje u odnosu na ostale anovulatorne fenotipove tj. fenotipove B i D, što ukazuje na važnost postojanja kombinacije ANOV i HA u nastanku iregularnih menstrualnih ciklusa.

5.1.3 Morfologija jajnika

U opštoj populaciji žena, kod kojih nema drugih elemenata PCOS, prevalenca PCOM je procenjena na oko 11-37% [101,131]. U našoj studiji je većina žena sa PCOS imala PCOM (89%), što je u skladu sa studijom Baldani i sar. koji su na sličnom broju PCOS žena hrvatske nacionalnosti pokazali prevalencu PCOM u 97% slučajeva [172]. Očekivano, žene sa PCOS su imale veći dijametar jajnika u odnosu na KG. Strowitzki i sar. su pokazali da eumenorejične žene sa PCOS imaju značajno manji volumen jajnika u odnosu na oligo/amenorejične žene sa PCOS [177]. Analiza PCOS fenotipova u našoj populaciji žena je pokazala da dijametar jajnika značajno varira u odnosu na postojanje PCOM, a ne u odnosu na postojanje oligomenoreje/anovulacije. Tako su najmanje jajnike, komparabilne sa KG imale žene fenotipa B, a svi ostali fenotipovi (čija su PCOM karakteristika) su se razlikovali po tome od fenotipa B ali ne i međusobno. Takođe, u našoj PCOS populaciji dijametar jajnika je korelirao samo sa prisustvom PCOM, a ne i sa redovnošću MC. Za razliku od naših rezultata, Welt i sar. su pokazali da fenotipovi B i D imaju najveće jajnike i najveći broj cisti, dok se svi fenotipovi prema veličini jajnika značajno razlikuju od kontrola bez obzira na prisustvo cisti [162]. Ovakvi rezultati mogu biti i posledica razlika u metodologiji samog merenja veličine jajnika od strane radiologa.

5.1.4 Klinički hiperandrogenizam (hirzutizam)

Hirzutizam je glavni i najčešći znak hiperandrogenizma i definiše se kao povećana pojava terminalnih dlaka kod žena koja je raspoređena kao kod muškaraca [178]. Glavnu ulogu u razvoju hirzutizma imaju androgeni, ali kod žena sa PCOS i abdominalna gojaznost i insulinska rezistencija značajno doprinose stepenu hirzutizma [179]. Stepenu hirzutizma varira od etničke pripadnosti, pa je tako potvrđeno da su azijske žene sa PCOS manje hirzutne od evropskih PCOS žena [180]. Hirzutizam se u evropskoj opštoj populaciji javlja kod 7-29% zdravih žena [131], a oko 70% žena sa hirzutizmom imaju PCOS [144]. U PCOS populaciji je hirzutizam zastupljen kod značajnog procenta žena (60-80%) [16], i predstavlja važan klinički znak koji ne samo da smanjuje kvalitet života [181], već se dovodi i u vezu sa povećanim kardiovaskularnim rizikom kod ovih žena [182]. Modifikovani Ferriman-Gallwey sistem bodovanja je zlatni standard za evaluaciju hirzutizma [30], a u većini studija se koristi granična vrednost od 8 za definisanje hirzutizma, a koju smo i mi u našoj studiji koristili. Iako predstavlja zlatni standard, ovaj sistem za procenu stepena hirzutnosti je daleko od savršenog iz više razloga: značajno subjektivan metod koji ne uračunava mogućnost postojanja etničke i rasne varijacije u rastu terminalne dlake, a istovremeno procenjuje ukupan stepen hirzutizma celog tela i ne pravi razliku u smislu regionalne distribucije preteranog rasta terminalne dlake. Svi navedeni razlozi mogu biti uzroci neslaganja rezultata u do sada objavljenim studijama.

U našoj populaciji žena sa PCOS, 63% je bilo hirzutno što je nešto niža prevalenca u odnosu na sličan broj ispitanica u hrvatskoj populaciji žena sa PCOS gde je procenjena prevalenca hirzutizma od oko 73% [172]. Prosečna visina FG skora kod žena sa PCOS je u našoj studiji komparabilna sa rezultatima drugih istraživača [26,183,184]. Kao što je bilo i očekivano, žene sa fenotipom D nisu bile hirzutne i po tome su bile komparabilne sa KG, dok su se prema prevalenci hirzutizma značajno razlikovale od prva tri fenotipa. Ovi podaci su u skladu sa nalazima svih drugih studija. Međutim, za razliku od većine drugih studija [165,184], u našoj studiji su najveću prevalencu hirzutizma, i istovremeno i najviši FG skor, imale žene sa fenotipom C, i ovaj nalaz se značajno razlikovao od fenotipa A, dok je

bio sličan i nije se razlikovao u odnosu na žene sa fenotipom B. Ovi rezultati su komparabilni sa studijom Yilmaz i sar. koji su na turskoj populaciji žena takođe pokazali najveći stepen hirsutizma kod fenotipa C [166]. Za razliku od toga, u dostupnoj literaturi je češći nalaz veće prevalence hirsutizma kod žena sa fenotipovima A i B u odnosu na fenotip C [162,165]. Međutim, postoje i studije koje nisu pokazale razliku u prevalenci hirsutizma između hiperandrogenih fenotipova [26,184].

5.2. Antropometrijske karakteristike ispitanica

Ekscesivna telesna mast i njene metaboličke posledice su dobili karakteristike epidemije širom sveta [185]. U Sjedinjenim Američkim Državama (SAD) više od dve trećine odraslih ima prekomernu telesnu težinu ili je gojazno [186]. Prevalencija gojaznosti u našoj zemlji prema podacima iz 2006 iznosi oko 18% a prekomerne uhranjenosti 36%. Iako novijih podataka o tome nema, a sudeći da u svetu postoji trend povećanja prevalence gojaznosti iz godine u godinu, prevalenca gojaznosti u našoj zemlji je sada, 10 godina kasnije, verovatno značajno veća.

Gojaznost je česta pojava kod žena sa PCOS, i smatra se da se ona u ovoj populaciji ispoljava još u detinjstvu, dok porast telesne težine i abdominalne/visceralne gojaznosti u adolescenciji utiče na ranije ispoljavanje PCOS [187]. U studiji Alvarez-Blasco i sar. 28.3% prekomerno uhranjenih ili gojaznih žena koje su se javile radi lečenja gojaznosti su dijagnostikovane kao PCOS [188]. Ova prevalenca je bila značajno veća od 5.5% normalno uhranjenih žena kod kojih je u istoj studiji dijagnostikovano PCOS [188]. Međutim, Yildiz i sar. su proučavanjem neselektovanih žena iz opšte populacije koje su se konsektivno javljale zbog sistematskog pregleda radi zapošljavanja, pokazali da je efekat gojaznosti na prevalencu PCOS mnogo suptilniji. Tako je u ovoj studiji pokazano da od ukupno 675 žena prevalenca PCOS kod pothranjenih, normalno uhranjenih, žena prekomerne telesne težine i gojaznih žena iznosi redom: 8.2%, 9.8%, 9.9% i 9.0%, a kod žena sa BMI 35-40 kg/m² je nešto veća i iznosi 12.4% [189]. U drugoj, skorašnjoj studiji Yildiz i sar. je pokazano da je prevalenca PCOS u opštoj populaciji žena 2-3 puta veća kod gojaznih nego kod normalno

uhranjenih [131]. Međutim, gojaznost sama po sebi ne može da bude uzrok nastanka PCOS obzirom da postoji veliki broj normalno uhranjenih žena sa PCOS [37]. Sa druge strane, većina gojaznih žena su reproduktivno zdrave [188], trenutna epidemija gojaznosti nije praćena povećanjem prevalencije PCOS [189], i konačno, poremećaji insulinske senzitivnosti i sekrecije su prisutni i kod normalno uhranjenih žena sa PCOS [190,191].

Prevalencija gojaznosti u PCOS populaciji se razlikuje u različitim etničkim grupama. Žene sa PCOS u Evropi imaju tendenciju da su manje gojazne nego žene sa PCOS u SAD. Prosečni BMI žena sa PCOS u Engleskoj je 25 kg/m² [37], u Finskoj 28 kg/m² [192], u Italiji 29 kg/m² [193], u Nemačkoj 31 kg/m² [38], dok u SAD 35-38 kg/m² [11]. Objašnjenje ovakvih razlika između Evrope i SAD su razlika u fizičkoj aktivnosti i kvantitativne i kvalitativne razlike u ishrani [194]. Prosečan BMI u našoj populaciji žena sa PCOS iznosi 25.34 kg/m², što je komparabilno, i čak i nešto niže u odnosu na srednju vrednost BMI evropskih populacija. Skorašnja meta analiza je pokazala da prevalencija gojaznosti kod žena sa PCOS iznosi oko 49% [73], s tim da ona varira u zavisnosti od etničkog porekla i sredinskih faktora. U skladu sa ovim nalazom, pokazano je da je oko 40-50% žena sa PCOS normalno uhranjeno [11]. U našoj populaciji žena sa PCOS, većina (59%) je bila normalno uhranjena, dok je ostatak bio procentualno ravnomerno raspoređen između prekomerno uhranjenih (20%) i gojaznih (21%), a što je sličan nalaz kao i u studiji Yildiz i sar. kod kojih je prevalencija gojaznosti u turskoj populaciji žena sa PCOS iznosila oko 15% [131]. U našoj studiji nije bilo značajne razlike u distribuciji različitih stepena uhranjenosti između PCOS i KG. Kada se posmatraju fenotipovi, praktično je oko polovina žena sa fenotipom A i C bila normalno uhranjena, dok je ovaj procenat bio oko 42% u fenotipu B i viši u fenotipu D (oko 85%). Prevalencija normalno uhranjenih žena u fenotipu D je bila značajno veća u odnosu i na druge fenotipove ali i u odnosu na zdrave žene. Ovaj nalaz je posledica načina regrutovanja zdravih žena za ovo istraživanje. Najveća prevalencija prekomerno uhranjenih je postojala u fenotipu C, gojaznih u stadijumu I u fenotipu B, a obe prevalencije su se značajno razlikovale samo od fenotipa D. U našoj populaciji ni u jednom fenotipu nije bilo značajnije prevalencije ekstremno gojaznih osoba.

Treba imati u vidu da je dijagnoza gojaznosti postavljena pomoću standardnih graničnih vrednosti BMI često slab surogat marker za sadržaj telesne masti. Tako je pokazano da čak i kod normalno uhranjenih žena sa PCOS postoji poremećaj u telesnom sastavu u smislu povećanog sadržaja abdominalne/visceralne masti koja korelira sa kardiometaboličkim faktorima rizika kao što su insulinska rezistencija, dislipidemija, hipertenzija i generalno metabolički sindrom [195]. Razlog za ovakav efekat abdominalne/visceralne masti je njen značajan patološki potencijal zasnovan na disfunkciji samih adipocita, a ne samo na količini masnog tkiva [196]. Time se može objasniti i činjenica da osobe sa sličnim obimom struka mogu imati različitu sklonost ka IR i MetS [197]. Naime, pokazano je da adipociti visceralnog masnog tkiva imaju različitu gensku ekspresiju, proteomiku kao i metaboličke karakteristike u odnosu na adipocite subkutanog masnog tkiva [187], i ujedno predstavljaju aktivni organ imunog i endokrinog sistema [187,198]. Još uvek nije u celosti poznato zašto neke žene sa PCOS imaju sklonost ka centralnoj, androidnoj gojaznosti koja favorizuje metaboličke poremećaje.

Prevalenca visceralne gojaznosti se u PCOS populaciji procenjuje na oko 50% [73]. Veliki broj studija je pokazao da žene sa PCOS imaju povećan sadržaj trbušne masti bez obzira na BMI [183,199,200]. Rezultati naše studije potvrđuju ovaj zaključak, obzirom da su naše ispitanice sa PCOS imale prosečno isti obim struka i BMI kao i žene iz kontrolne grupe, ali je ispitivanje telesnog sastava bioimpedancom pokazalo da žene sa PCOS i ipak imaju veći sadržaj i ukupne i trbušne telesne masti.

Vođeni pretpostavkom da povećan sadržaj trbušne masti može biti nezavistan i od BMI kao i od ukupnog sadržaja telesne masti [163], pokušali smo analiziranje telesnog sastava fenotipova po ujednačavanju ispitanica prema BMI i godinama starosti. Međutim, pri tome nismo verifikovali razlike u telesnom sastavu ni pri poređenju fenotipova međusobno ni pri poređenju fenotipova sa KG (rezultati nisu prikazani). Stoga je pri poređenju nalaza bioelektrične impedance učinjeno ujednačavanje ispitanica samo prema godinama starosti.

U našoj populaciji žena sa PCOS, veći BMI u odnosu na KG su imale samo žene sa fenotipom B, dok su žene sa fenotipom A i C imale isti BMI kao i KG. U skladu sa mišljenjem da OS može da služi kao mera abdominalne gojaznosti [201], i u našoj studiji su fenotipovi A, B i C, paralelno sa većim OS u odnosu na KG imali i veći sadržaj i ukupne telesne kao i trbušne masti. Ovi nalazi ukazuju da u redovnoj kliničkoj praksi, ukoliko nije dostupna bioelektrična impendanca, i merenje obima struka može da služi kao surogat marker abdominalne gojaznosti. Samim tim njegovo praćenje tokom vremena je od izuzetne važnosti. Sadržaj bezmasnog tkiva celog tela se između PCOS fenotipova i KG nije razlikovao. Povećan sadržaj telesne/abdominalne masti u našem fenotipu C u odnosu na KG ukazuje da ovaj fenotip, iako spada u neklasične fenotipove treba da bude deo PCOS spektra, iako to neki istraživači osporavaju. U našoj populaciji žena sa PCOS, žene sa fenotipom D su imale značajno manji BMI u odnosu na KG. Istovremeno bi se očekivalo i da je OS kod žena sa fenotipom D, značajno manji u odnosu na KG, ali u našoj studiji se OS između fenotipa D i KG nije razlikovao. Dodatno, između fenotipa D i KG nije postojala ni značajna razlika ni u sadržaju masti u celom telu niti u sadržaju abdominalnog masnog tkiva. Samim tim ovi rezultati ukazuju, da iako su žene sa fenotipom D u našoj PCOS populaciji mršavije u odnosu na KG, one ipak imaju neočekivano isti sadržaj telesne masti, pre svega abdominalne. Na ovaj način smo indirektno pokazali da fenotip D ipak ima jednu od čestih karakteristika žena sa PCOS, a to je povećana visceralna gojaznost, po čemu bi mogao da ostane kao jedan od fenotipova PCOS, a ne da se zanemari kao što to neki istraživači zagovaraju. Slično našim rezultatima, i Dewailly i sar. su pokazali da fenotip D ima veći odnos OS/OK u odnosu na BMI-uparene kontrole [163], što za razliku od rezultata i našoj studiji, nije bilo praćeno bilo kakvim metaboličkim promenama.

Gojaznost je jedan od najznačajnijih faktora koji modifikuje fenotipsku ekspresiju PCOS. S tim u vezi postoje i podaci koji pokazuju da lečenje gojaznosti može da dovede do preobraženja anovulatornog u ovulatorni PCOS fenotip [202]. Pri međusobnom poređenju fenotipova, najveći sadržaj ukupne telesne masti je imao fenotip B i kao takav se značajno razlikovao od fenotipova A i D. Sledeći po redu je bio fenotip A, sa značajno manjim sadržajem masnog tkiva od fenotipa B i značajno većim u odnosu na fenotip D, dok je

fenotip C bio intermedijaran i nije se razlikovao od fenotipova A i B, a njegov sadržaj telesne masti je bio značajno veći samo od fenotipa D. Nešto jasnija situacija je bila sa nalazom sadržaja abdominalne masti, gde je fenotip D imao najniži sadržaj abdominalne masti i značajno se razlikovao od fenotipova A, B i C, dok između njih međusobno nije bilo razlike. Za razliku od naše studije, većina drugih studija pokazuje da fenotip C ima manji stepen gojaznosti (meren telesnom masom, BMI i OS) u odnosu na klasične PCOS fenotipove [134,162,193,203], pa čak i manji procenat trbušne masti uz sličan BMI i ukupni sadržaj telesne masti u odnosu na klasične fenotipove [204]. Fenotip D sa druge strane, u većini studija ima manju telesnu masu, BMI, prevalencu gojaznosti [162,164,205], manji obim struka i OS/OK [162,203] u odnosu na klasične fenotipove A i B, što je slučaj i u našoj studiji.

Naši rezultati u celini, govore u prilog tome da žene sa fenotipom C imaju sličan telesni sastav kao i žene sa klasičnim fenotipovima, što može biti karakteristika naše populacije. Sa druge strane, žene sa fenotipom D, iako mršavije od zdravih žena sličnih godina, imaju isti sadržaj telesne masti kao i zdrave žene, koji je ipak značajno manji u odnosu na ostale fenotipove uključujući i fenotip C. Samim tim, sličnost fenotipa C sa klasičnim fenotipovima, i specifičnost fenotipa D u smislu telesnog sastava ipak podržavaju, bar prema rezultatima naše studije, postojanje oba fenotipa u PCOS spektru.

5.3. Hipertenzija

Hipertenzija predstavlja jedan od glavnih reverzibilnih faktora rizika za nastanak kardiovaskularnih bolesti. U našoj studiji su žene sa PCOS imale značajno veće vrednosti i sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska, i veću prevalencu hipertenzije u odnosu na zdrave žene ujednačene prema BMI i godinama starosti. Ovi rezultati su u skladu sa podacima da žene sa PCOS imaju veću incidencu i prevalencu hipertenzije (HTA) u odnosu na zdrave žene istih godina [106,206-208]. Pri tome su vrednosti arterijskog krvnog pritiska kod naših žena sa PCOS su komparabilne sa rezultatima drugih studija [170,183]. Smatra se da porast krvnog pritiska kod žena sa PCOS u odnosu na zdrave žene najčešće počinje da se

manifestuje od treće decenije života i paralelno raste zajedno sa BMI i IR, a maksimum dostiže u postmenopausalnom periodu [68,209]. Interpretaciju rezultata studija koje procenjuju hipertenziju u PCOS otežava to što je gojaznost, sama po sebi značajan faktor rizika za hipertenziju, a najčešće se rezultati poređenja sa zdravim ženama ne koriguju prema stepenu gojaznosti. Tako je u holandskoj studiji pokazana veća prevalenca hipertenzije u PCOS, nego kod zdravih žena, ali su žene sa PCOS bile značajno gojaznije [104]. U drugoj studiji je pokazano da je BMI značajan prediktor i sistolnog i dijastolnog arterijskog pritiska kod žena sa PCOS [210], dok su Conway i sar. pokazali da gojazne žene sa PCOS imaju značajno veći arterijski pritisak nego normalno uhranjene žene sa PCOS i KG, dok se normalno uhranjene žene sa PCOS nisu razlikovale od normalno uhranjenih kontrola [211]. Luque-Ramirez i sar. su pokazali da je prevalenca hipertenzije kod mladih normalno uhranjenih PCOS žena slična i da se ne razlikuje od zdravih žena ali da je kod gojaznih PCOS veća (preko 20%) u odnosu na gojazne zdrave žene (10%) [108]. Sa druge strane pokazano je da žene sa PCOS imaju 40% veću verovatnoću da imaju hipertenziju u odnosu na zdrave žene nezavisno od godina starosti, BMI, dijabetesa i dislipidemije [105]. Međutim, postoje i studije koje, i pored ujednačavanja prema BMI, nisu pokazale da između PCOS i KG nema razlike u krvnom pritisku [212-215].

U svakom slučaju nije u potpunosti jasno koliko BMI doprinosi riziku za hipertenziju kod žena sa PCOS, iako je gojaznost poznati faktor rizika za hipertenziju, pa se i smatra i primarnim uzrokom HTA kod PCOS [216]. I hiperandrogenizam može imati važnu ulogu u patogenezi hipertenzije kod žena sa PCOS, obzirom da je hiperandrogenizam kod žena sa PCOS odgovoran za promene u vaskularnoj strukturi i funkciji [217]. Insulinska rezistencija i posledična hiperinsulinemija mogu da utiču na razvoj hipertenzije izazivanjem retencije natrijuma [218] kao i povećanjem cirkulišućih koncentracija IGF-1 (koji dovodi do hipertrofije glatkih mišića krvnih sudova) [219]. Međutim, etiologija hipertenzije u PCOS je po svemu sudeći multifaktorijalna i na njen nastanak najverovatnije utiču zajedno hiperandrogenemija, IR, gojaznost i povećana aktivnost simpatičkog nervnog sistema. Sve zajedno dovodi do promena u strukturi i

funkciji endotela krvnih sudova još u adolescentnom periodu i pogošava sa sa starenjem [67,68,216].

U našoj studiji u odnosu na BMI i prema godinama starosti slične zdrave žene, značajno veće vrednosti SKP su postojale u fenotipovima A, B i C. Vrednosti DKP su bile značajno veće u svim fenotipovima uključujući i fenotip D u odnosu na zdrave žene. Ovaj nalaz je izuzetno bitan obzirom da su naše žene sa fenotipom D imale značajno manji BMI u odnosu na KG, ali su i pored toga imale značajno veće vrednosti DKP. Slično su pokazali i Chae i sar. u čijem istraživanju su žene sa PCOS fenotipom D u odnosu na BMI uparene zdrave žene imale više vrednosti SKP i DKP [127]. Prevalenca hipertenzije je u odnosu na KG bila značajno veća samo u fenotipu A (19% vs. 5.6%). Međutim, imajući u vidu da je prevalenca hipertenzije i u drugim fenotipovima bila visoka (fenotip B oko 16%, C oko 14% i D čak 13%), neznačajnost pri poređenju prevalencije hipertenzije između ovih fenotipova i KG je verovatno posledica postojanja manjeg broja ispitanica u ovim fenotipovima u našem istraživanju.

Kada se fenotipovi međusobno uporede, najvišu vrednost SKP je imao fenotip C i značajno se razlikovao od fenotipa D koji je imao najnižu vrednost SKP, dok se se vrednost SKP u ostalim fenotipovima nisu razlikovale. Slična situacija je postojala i sa DKP koji je bio najviši u fenotipovima A i C i značajno se razlikovao u odnosu na najniže zabeleženi DKP kod fenotipa D. Fenotip B je bio intermedijaran i nije se značajno razlikovao od drugih fenotipova prema vrednostima DKP. I pored toga što su žene sa fenotipom D u odnosu na pre svega fenotip C ali i fenotip A imale niže vrednosti SKP odnosno DKP, prevalenca hipertenzije se između fenotipova nije razlikovala. Ovaj nalaz ukazuje da su svi fenotipovi (uključujući i fenotipove C i D) u sličnom KVS riziku bar po pitanju hipertenzije i to nezavisno od godina starosti i BMI. Studija koje su se bavile ispitivanjem hipertenzije u fenotipovima ima malo. Slično našim rezultatima i u dve druge studije je pokazano da se vrednosti krvnog pritiska kod žena sa fenotipovima C i D ne razlikuju u odnosu na druge fenotipove pod uslovom da se prilikom statističke obrade podataka izvrši ujednačavanje prema godinama starosti i BMI [162,170]. Sa druge strane, Daskalopoulos i sar. su u skorašnjoj studiji u kojoj je učestvovao manji broj ispitanica nego kod nas, pokazali da

nema razlike u vrednostima SKP između fenotipova i zdravih žena uparenih prema BMI i godinama starosti [220]. Međutim, u navedenom istraživanju je meren samo SKP ali ne i DKP. Sudeći po našim rezultatima, DKP predstavlja možda značajniji KVS faktor rizika u PCOS populaciji nego SKP. Tome u prilog govore i naši rezultati ispitivanja prevalencije različitih oblika hipertenzije i generalno u PCOS grupi kao i u fenotipovima. Tako kada se posmatra cela PCOS grupa, prevalencija izolovane sistolne HTA je bila ista kao i u KG, dok je prevalencija izolovane dijastolne HTA granično veća, a prevalencija mešovite HTA je bila značajno veća u odnosu na zdrave žene nezavisno od godina starosti i BMI. Slična situacija je bila i pri analiziranju fenotipova obzirom da su tom prilikom takođe dobijeni nalazi ukazali na istu prevalenciju izolovane sistolne HTA, dok je postojala značajno veća prevalencija izolovane dijastolne i mešovite HTA kod fenotipa A u odnosu na zdrave žene nezavisno od BMI i godina starosti. Dodatno, prevalencija različitih vrsta HTA je u fenotipovima bila ista.

Naši rezultati pokazuju da su svi fenotipovi u većem riziku za postojanje hipertenzije u odnosu na zdravu populaciju žena nezavisno do BMI i godina starosti. Pri tome su naše PCOS žene sa fenotipovima A i C u najvećem riziku za nastanak hipertenzije, žene sa fenotipom B u intermedijarnom, a sa fenotipom D u najmanjem ali opet značajno većem u odnosu na zdravu populaciju žena. Pri tome, kada se javi, hipertenzija se najčešće ispoljava u vidu mešovite sistolno-dijastolne HTA ili izolovane dijastolne HTA.

Ovaj nalaz je od izuzetne važnosti jer ukazuje na značaj prepoznavanja mogućnosti za postojanje izolovane diastolne hipertenzije u mladoj populaciji žena sa PCOS. Naime, do sada je nekoliko studija sa velikim brojem ispitanika pokazalo da je dijastolna hipertenzija (sa ili bez sistolne hipertenzije) najvažniji prediktor kardiovaskularnog morbiditeta i mortaliteta opštoj populaciji ljudi starosti ispod 50 godina [221,222].

Treba istaći da je u našem istraživanju zabeležena i oko 3 puta veća prevalencija hipertenzije u zdravoj populaciji žena, obzirom da se u opštoj populaciji, prevalencija hipertenzije kod žena između 25 i 30 godina procenjuje na oko 1.5%, a ovaj broj se povećava skoro 4 puta u narednoj dekadi života [223]. Razlog za to mogu biti intrinzička

svojstva naše populacije uopšte ili posledica načina regrutovanja zdrave kontrolne grupe žena za ovo istraživanje.

5.4. Hormonske analize

5.4.1. Gonadotropini

Iako se PCOS smatra za stanje sa normogonadotropnom, normoestrogenom anovulacijom, serumske koncentracije LH i LH/FSH odnos su često povećani [224]. Smatra se da oko 75% žena sa PCOS ima neki stepen disregulacije sekrecije gonadotropina [11]. Nivo FSH je obično normalan ili blago suprimovan i ne povećava se u ranoj folikularnoj fazi menstrualnog ciklusa na nivo koji je potreban za stimulaciju normalnog sazrevanja folikula [225]. U odnosu na zdrave žene slične starosne dobi i BMI, koncentracija FSH je kod naših ispitanica sa PCOS bila ista a razlika nije postojala ni pri analiziranju pojedinačnih PCOS fenotipova ni međusobno ni pri poređenju sa zdravim ženama. Ovaj rezultat je komparabilan sa drugim studijama [162,166]. Hipersekrecija LH kao posledica povećane amplitude i frekvence GnRH pulsog generatora je čest, ali ne i redovan nalaz kod žena sa PCOS [226]. Tako se procenjuje da se povećan odnos LH/FSH javlja kod 35-90% žena sa PCOS [226]. Od nastanka Rotterdamskih ESHRE/ASRM kriterijuma, pa sve do danas i poslednjeg evropskog vodiča za dijagnostikovanje i lečenje PCOS [4] smatra se da serumski nivo LH kao i odnos LH/FSH nisu neophodni za postavljanje dijagnoze PCOS i ne predstavljaju kriterijum za postavljanje iste. Razlozi za to su pre svega pulsatilna priroda ovih hormona koja uslovljava da se mere više od jednog puta kao i da gojaznost utiče na amplitudu (ali ne i frekvencu) sekrecije LH [4]. Tako je hipersekrecija LH najčešće zastupljena kod normalno uhranjenih u odnosu na gojazne i prekomerno uhranjene žene sa PCOS [227] a što je najverovatnije posledica aromatazne konverzije androgena u estrogene u masnom tkivu, koji zatim suprimuju sekreciju LH. Međutim, neke studije su ukazale da visok nivo LH ima potencijalno loš efekat na sazrevanje i fertilizaciju oocita, a povezuje se i sa infertilitetom i višom incidencom spontanih pobačaja kod žena sa PCOS [228]. Dodatno, Wiser i sar. su relativno skoro pokazali da žene sa PCOS i LH/FSH odnosom

većim od 1.5 imaju više vrednosti serumskog testosterona i broj antralnih folikula, a istovremeno smanjen fertilitet u postupku *in vitro* fertilizacije [229].

Kod naših žena sa PCOS generalno su postojale značajno veće serumske koncentracije LH, kao i veći odnos LH/FSH u odnosu na zdrave žene sličnih godina i BMI. Takođe je i prevalenca LH/FSH odnosa većeg od 1.5 bila značajno veća u PCOS grupi u odnosu na KG. U našem istraživanju, klasični fenotipovi (A i B) su jedini bili okarakterisani visokim vrednostima LH i po tome su se značajno razlikovali od zdravih žena. Dodatno fenotip A je imao značajno veći LH u odnosu na fenotipove C i D, dok je fenotip B imao značajno veći LH samo u odnosu na fenotip C. Identičan rezultat su dobili i Barber i sar. koji su pokazali da fenotip A ima najveće koncentracije LH u odnosu na fenotipove C i D, pri čemu su i u ovoj studiji kao i u našoj rezultati bili prilagođeni prema BM i godinama starosti [203]. Fenotipovi C i D u našoj studiji su prema vrednostima LH komparabilni i međusobno i sa KG, a što je u suprotnosti sa studijama koje su pokazale da fenotip D ima veće koncentracije LH u odnosu na kontrolnu grupu [162,163,203]. I konačno, najrealniji zaključak daje odnos LH/FSH koji je najveći u fenotipu A i značajno se razlikuje od zdravih žena kao i od žena sa fenotipom C. Istovremeno žene sa fenotipom C imaju najnižu vrednost ovog odnosa na račun najniže vrednosti serumskog LH u ovom fenotipu. Ono što potencijalno iznenađuje je fenotip D koji ima značajno veće vrednosti LH/FSH u odnosu na fenotip C, dok je LH/FSH odnos u fenotipu B intermedijaran. Prevalenca LH/FSH odnosa većeg od 1.5 je u skladu sa gore navedenim rezultatima, jer smo u našem istraživanju pokazali da je najmanja prevalenca ovakvog odnosa zatupljena u fenotipu C, najveća u fenotipu A, dok su prevalences u fenotipu B i D praktično iste i na granici statističke značajnosti u odnosu na zdrave žene. Distribucija prevalences povećanog LH/FSH odnosa većeg od 1.5 je slična kao i u studijama drugih istraživača [193,230,231]

Ako bi smo smatrali LH/FSH odnos orjentacionim pokazateljem fertiliteta, onda je sasvim očekivano da je najniži LH/FSH odnos zastupljen u jedinom ovulatornom PCOS fenotipu. Sa druge strane fenotip A bi bio u smislu fertiliteta najugroženiji, zatim fenotip D a na kraju bi fenotip B potencijalno imao intermedijarni nivo fertiliteta. Navedeni rezultati mogu biti od važnosti za planiranje graviditeta kod žena sa različitim PCOS fenotipovima.

Dodatno, postojanje statistički značajne negativne korelacije između godišnjeg broja MC i serumske koncentracije LH u PCOS grupi, podržava mišljenje da hronična anovulacija dovodi do smanjenja aktivnosti negativne povratne sprege kojom progesteron izaziva inhibiciju aktivnosti pulsog GnRH, što dovodi do favorizovanja sekrecije LH [177,226,232]. Stoga se ne možemo složiti sa nalazom Baldani i sar. koji su na sličnom broju PCOS ispitanica pokazali da fenotip C ima značajno veći LH i LH/FSH odnos u odnosu na prema godinama i BMI slične zdrave žene [167], kao ni sa drugim studijama u kojima je pokazano da fenotip D ima najmanji LH/FSH odnos u odnosu na ostala tri fenotipa [165,166]. Postoje i studije koje podržavaju naš nalaz najnižeg LH/FSH odnosa kod žena koje pripadaju fenotipu C [168,233].

U našem istraživanju su u PCOS grupi dobijene značajne (ali uglavnom slabe) korelacije koje ukazuju da na hipersekreciju LH utiču nivo testosterona i anovulacija, dok BMI i masno tkivo smanjuju sekreciju LH. Ovaj nalaz se može objasniti činjenicom da u slučaju postojanja kombinacije anovulacije i hiperandrogenemije izostaje i negativno povratno dejstvo progesterona na hipotalamus (anovulacija) ali i dolazi do dodatne desenzitizacije hipotalamusa na negativno povratno dejstvo progesterona usled povećane koncentracije androgena. Hiperandrogenemijski uticaj na nivo LH objašnjava i činjenicu da primena antiandrogena flutamida dovodi do ponovnog uspostavljanja normalne inhibicije GnRH uzrokovane niskim koncentracijama progesterona [234]. Shodno tome, studija Katsikis i sar. je pokazala da fenotipovi A i B spojeni u jednu grupu pored visokih vrednosti LH i odnosa LH/FSH imaju i značajno veće koncentracije testosterona, androstenediona i DHEAS u odnosu na kontrole i fenotipove C i D spojene u jednu grupu [235]. Slični rezultati postoje i u našoj studiji po pitanju testosterona, međutim fenotip C kod koga postoji i najniži LH i LH/FSH odnos suprotno ovoj teoriji ima nivo androstenediona komparabilan sa fenotipom B i veći u odnosu na fenotip D, dok je nivo DHEAS najveći u fenotipu C. Sa druge strane, obzirom da fenotip C karakterišu ovulatorni ciklusi ovaj fenotip istovremeno ima i visok nivo progesterona, koji je značajno viši od ostalih fenotipova, pa niska koncentracija LH u ovom fenotipu može biti posledica

dominantnog inhibitornog efekta progesterona na hipotalamo hipofiznu osovину tj GnRH pulsacije.

5.4.2. Androgeni

Prevalenca hiperandrogenemije se kod žena sa PCOS procenjuje na oko 60-80% [11]. U našem istraživanju prevalenca hiperandrogenemije (79%) kod žena sa PCOS je komparabilna sa rezultatima nekih drugih studija [183], odnosno je veća naspram nekih drugih studija [131,236]. Kao što je bilo i očekivano, žene sa PCOS su u našoj studiji imale značajno veće koncentracije svih androgena (testosteron, androstenedion, DHEAS) i FAI, kao i značajno niže koncentracije SHBG u odnosu na KG. 17OH-progesteron se nije značajno razlikovao između PCOS i KG. Ukoliko izuzmemo značajnu ali slabo pozitivnu korelaciju testosterona i BMI u PCOS grupi (testosteron nije korelirao sa saržajem masnog tkiva), jedine značajne korelacije sa parametrima telesnog sastava je imao SHBG (što je preslikano na FAI), dok ni jedan drugi androgen nije značajno korelirao sa parametrima telesnog sastava kod naših ispitanica sa PCOS.

Literaturni podaci o uticaju specifičnih androgena na kliničke karakteristike PCOS a naročito na pojedinačne fenotipove su ograničeni. Pokazano je da nivo testosterona korelira sa LH, brojem folikula i veličinom jajnika [237], dok androstenedion korelira sa volumenom jajnika i boljim odgovorom prilikom terapije metforminom [238]. Dodatno je pokazano da žene sa PCOS koje imaju visoke koncentracije DHEAS imaju i bolji metabolički profil (lipidogram, markere insulinske rezistencije, inflamacije i endotelijalne funkcije) u odnosu na žene sa PCOS i nižim nivoom DHEAS [239,240]. U dostupnoj literaturi ima malo studija koje su se bavile procenom distribucije androgena i vrste hiperandrogenemije kod žena sa PCOS. U našoj studiji je najčešći oblik hiperandrogenemije bio izolovano visok testosteron, dok je kombinacija povećanog testosterona sa androstenedionom imala upola manju prevalencu, a prevalenca kombinacije povećana tri androgena istovremeno (testosteron, androstenedion i DHEAS) je bila treća po zastupljenosti. Sve druge kombinacije ili izolovano povećani androgeni su imali značajno

manju prevalencu u odnosu na ove gore navedene tri vrste hiperandrogenemije u našoj populaciji žena sa PCOS. Sličan nalaz najčešće zastupljenog povećanog testosterona kao najčešćeg oblika hiperandrogenemije kod žena sa PCOS, ali u upola manjoj prevalenci nego kod nas, je dobijen i u studiji Livadas i sar. [236].

U nekim studijama su fenotipovi A i B imali značajno veću prevalencu i hirsutizma i hiperandrogenemije u odnosu na fenotip C [162,165]. Slično tome, i u studijama u kojima nije pokazana razlika u stepenu hirsutizma između hiperandrogenih fenotipova, nije pokazana ni razlika u nivou cirkulišućih androgena između istih [26,241]. Za razliku od toga, Panidis i sar. su na većem broju ispitanica, pokazali da iako se prevalenca hirsutizma između hiperandrogenih fenotipova nije razlikovala, ipak su fenotipovi A i B imali značajno viši nivo cirkulišućih androgena u odnosu na fenotip C [184]. Ovaj nalaz može biti eventualno posledica demografskih karakteristika odnosno različitosti ispitivane populacije, ali se ne može a ne ukazati na nesavršenost metode Ferriman-Gallwey sistema bodovanja, kao, u suštini, vrlo subjektivne metode za procenu hirsutizma. Dodatno, ostaje i mogućnost da možda genetski predodređena osetljivost folikula dlake na nivo androgena može da bude razlog diskordantnih nalaza stepena hirsutizma i cirkulišućeg nivoa androgena.

Većina studija nije uočila razlike nivou cirkulišućih androgena između fenotipova A i B [139,163-165]. Panidis i sar. su pokazali da normalno uhranjene žene sa fenotipom A imaju veće koncentracije cirkulišućeg testosterona, androstenediona i 17OH-progesterona u odnosu na fenotip B, dok gojazne žene sa fenotipom A imaju samo veći nivo androstenediona nego gojazne žene sa fenotipom B [125]. U našoj studiji, koncentracije testosterona i androstenediona su najveće i postepeno opadaju u hiperandrogenim fenotipovima A, B i C tim istim redosledom, sa značajnom razlikom u nivou oba hormona između fenotipa A i C, dok fenotip D ima niže koncentracije oba hormona kao što je i očekivano i značajno se razlikuje od hiperandrogenih fenotipova. Samim tim, ukoliko smatramo da je hiperandrogenemija najbitnija karakteristika PCOS uopšte, naša studija, slično kao i neke druge, podržava postojanje ovulatornog fenotipa C kao deo PCOS spektra [26,125,162,193].

Studije pokazuju da iako je fenotip D normoandrogeni fenotip prema definiciji, on ipak ima ili slični [127,168,203,242] ili viši nivo androgena u odnosu na zdrave žene [162,163] a koji bi ipak mogao da utiče na stepen IR, reproduktivne i metaboličke karakteristike ovog fenotipa. Fenotip D, u našoj studiji, ima najniže koncentracije i testosterona i androstenediona i DHEAS, koje su uporedive sa KG, a značajno se razlikuju u odnosu na sva tri ostala fenotipa. Ovi rezultati su u skladu sa istim nalazom u studiji Kauffman i sar. [242], ali su u suprotnosti u odnosu na studije u kojima je pokazano da fenotip D ima veće koncentracije serumskog testosterona [163] i veće koncentracije serumskog androstenediona u odnosu na KG [125].

Za razliku od druga dva androgena, DHEAS je u fenotipu B sličnog nivoa kao u fenotipu D i KG od kojih se ne razlikuje. Istovremeno fenotip B ima i značajno niži DHEAS u odnosu na fenotip C, a od KG se prema nivou DHEAS značajno razlikuju samo fenotip A i C. Ovakav nalaz najveće koncentracije DHEAS u fenotipu C, a najniže u fenotipu D, je dobijen i u drugim studijama [162,166,168]. Suprotne rezultate našima su dobili Guastella i sar. koji su pokazali da najniži DHEAS komparabilan sa KG ima fenotip C, od koga se značajno razlikuju svi druga tri fenotipa [165]. Dodatno, Kauffman i sar. su pokazali DHEAS najvišeg nivoa kod fenotipa A [242].

U našoj studiji, svi PCOS fenotipovi (uključujući i fenotip D) imaju niže koncentracije SHBG-a u odnosu na KG, što je značajan nalaz imajući u vidu da su analize rađene po ujednačavanju ispitanica i prema godinama starosti ali i prema BMI. Pri tome, međusobne razlike u nivou SHBG između fenotipova ne postoje. Navedeni rezultati testosterona i SHBG su se preslikali i na nivo FAI. Naime, svi hiperandrogeni fenotipovi imaju značajno veći FAI od KG i fenotipa D, koji se međusobno ne razlikuju. Najveći FAI praktično ima fenotip A i značajno se razlikuje od fenotipa C. Ovi nalazi su interesantni imajući u vidu da u našem istraživanju fenotip C ima najveći stepen hirsutizma i to značajno veći u odnosu na fenotip A, a uporediv sa fenotipom B. Sa druge strane fenotip C ima nivo testosterona, androstenediona i FAI koji su značajno niži od fenotipa A, nivo SHBG-a koji je isti kao i u drugim fenotipovima, LH koji je veći od LH u fenotipu A i konačno DHEAS istog nivoa kao fenotip A, a značajno viši u odnosu na fenotip B. Imajući

u vidu dobijene slabe ali značajne korelacije između hormona i visine FG skora, dominantan pozitivan uticaj na stepen hirsutizma u našoj populaciji žena sa PCOS imaju nivo testosterona i FAI, a negativan SHBG i LH, pa se nalazi u fenotipu C delimično mogu objasniti i na ovaj način. Takođe, ovulatorni ciklusi fenotipa C koji su i potvrđeni nivoom progesterona u lutealnoj fazi mogu biti jedno od objašnjenja, obzirom da je u različitim studijama je pokazano da žene sa PCOS i oligo/amenorejom imaju obično veće nivoe cirkulišućih androgena kao i vrednosti FAI u odnosu na žene sa PCOS i redovnim menstrualnim ciklusima [177,243]. Dodatno, ovaj nalaz ponovo ukazuje na važnost određivanja androgena u serumu žena sa PCOS obzirom da stepen hirsutizma može biti u suprotnosti sa stepenom biohemijske hiperandrogenemije a ona, a ne hirsutizam, je ta koja može dalje da utiče na nastanak metaboličkih i kardiovaskularnih komplikacija karakterističnih za PCOS.

Interesantno je da u više do sada objavljenih studija nije pokazana značajnija korelacija između nivoa androgena i stepena hirsutizma [184,244]. Tako su i u našem istraživanju postojale značajne ali slabe pozitivne korelacije između stepena hirsutizma merenog FG skorom, sa obimom struka, BMI, testosteronom i FAI, a negativne sa SHBG i LH. Ovi rezultati su vrlo slični rezultatima Panidis i sar. [184], koji su takođe pokazali najjače korelacije hirsutizma sa testosteronom i FAI, ali su pokazane i slabe ali značajne korelacije hirsutizma sa merama insulinske rezistencije (r vrednosti ispod 0.150) kao i sa drugim androgenima (DHEAS i androstenedionom, r vrednosti manje od 0.200) što nije slučaj kod nas. Ovaj na izgled paradoks, ukazuje na mogućnost da je stepen hirsutizma pod uticajem ne samo cirkulišućeg nivoa androgena, već i da zavisi od perfernog metabolizma androgena, osetljivosti ciljnih tkiva na nivo androgena, kao i da je pod uticajem drugih hormona kao što je insulin odnosno hiperinsulinemija u insulinskoj rezistenciji. Dodatni razlog za ovakve nalaze može biti i metodološki obzirom da je više puta pokazana nepreciznost sada upotrebljivanih eseja za detekciju različitih androgena.

Jedan od najbitnijih rezultata po pitanju hiperandrogenizma u našoj studiji su značajno niže koncentracije SHBG i više vrednosti FAI u fenotipu D u odnosu na zdrave žene ujednačene prema godinama starosti i BMI. Ovaj rezultat je u skladu sa rezultatom

nekoliko drugih studija u kojima je takođe verifikovan iznačajno niži SHBG, a viši FAI u fenotipu D u odnosu na KG [163,203,242]. Imajući u vidu ovo, fenotip D se ipak može posmatrati kao deo PCOS spektra. Naime, iako fenotip D, prema kriterijumima koji ga određuju, ne podrazumeva postojanje hiperandrogenizma, ipak ima značajno veći FAI od kontrolne grupe i to na račun niskog SHBG-a dok je ukupni serumski testosteron komparabilan sa KG. Pri tome treba napomenuti da je FAI i u fenotipu D i u KG u granicama referentnih vrednosti. To ukazuje da je nizak SHBG intrinzičko svojstvo fenotipa D nezavisno od BMI. Ovakav funkcionalni hiperandrogenizam u fenotipu D može uticati na razvoj metaboličkih i kardiovaskularnih komplikacija u fenotipu D.

U našoj studiji nije bilo razlike u nivou 17OH-progesterona između PCOS fenotipova i zdravih žena. Za razliku od naših rezultata, Panidis i sar. [125] su pokazali značajno veće koncentracije 17OH-progesterona u fenotipu D u odnosu na KG. Pri međusobnom poređenju fenotipova, značajno veća koncentracija ovog hormona je postojala u fenotipu A u odnosu na fenotip D. Slično našim rezultatima, Carmina i sar. nisu verifikovali razliku u nivou 17OH-progesterona između klasičnih fenotipova i fenotipa C [26], a Welt i sar. pokazali značajno veće nivoe ovog hormona u hiperandrogenim fenotipovima u odnosu na normoandrogeni fenotip D [162]. Međutim, postoje i studije sa drugačijim rezultatima. Tako su Yilmaz i sar su pokazali najveće koncentracije 17OH-progesterona u fenotipu C [166], dok su Kauffman i sar. baš u fenotipu C pokazali najniže koncentracije ovog hormona [242]. Moguće je da je razlika u koncentraciji 17OH-progesterona u različitim etničkim populacijama genetski programirana, pa to može biti jedno od objašnjenja različitih rezultata gore navedenih studija.

Prema svim navedenim rezultatima naše studije, spektar poremećaja nivoa androgena varira u PCOS fenotipovima u odnosu na zdrave žene sličnih godina i BMI. Tako kod fenotipa A i C postoje visoki testosteron, FAI, androstenedion i DHEAS; fenotip B karakterišu visoki samo testosteron, FAI i androstenedion a nivo DHEAS je u nivou kao kod zdravih žena. Fenotip D ima sve nivoe androgena u sličnom nivou kao zdrave žene, a jedino se od njih razlikuje po značajno višem FAI koji je takav zbog značajno nižeg SHBG-a. Pri međusobnom poređenju fenotipova, fenotip D ima najniže koncentracije svih

androgena i značajno se po tome razlikuje od svih drugih fenotipova. Testosteron i androstenedion su najviši i slični u fenotipovima A i B, a intermedijarni u fenotipu C i tako i značajno niži u odnosu na fenotip A. DHEAS je najviši i sličan u fenotipu C i A, a u fenotipu B intermedijaran i tako značajno niži od fenotipa C. SHBG je isti u svim fenotipovima.

Stoga je moguće da u fenotipovima A, B i C hiperandrogenizam predstavlja dominantni poremećaj, dok kod žena sa blagim poremećajem nivoa androgena kao što je to u fenotipu D, postoji veći doprinos intrinzičke i/ili sredinski indukovane insulinske rezistencije (posredovane abdominalnom gojaznošću) koja sama po sebi ali i putem izazivanja funkcionalne hiperandrogenemije (preko sniženog SHBG) doprinosi nastanku metaboličkih i reproduktivnih poremećaja svojstvenih PCOS uopšte. Gojaznost preko hiperinsulinemije i insulinske rezistencije remeti diurni ritam gonadotropina, povećava disfunkciju adipokina i subkliničku inflamaciju kod žena sa PCOS, i na taj način potencira hiperandrogenizam [245]. U skladu sa tim, svi fenotipovi sa HA (A, B, C) su bili značajno gojazniji od fenotipa D. I u većem broju drugih studija se nalaze rezultati većeg stepena gojaznosti u fenotipovima sa HA u odnosu sa neandrogenim fenotipom [162,165,166,170].

Iako je poznato da hiperandrogenemija može da poveća i masu visceralnog masnog tkiva ali i mišićnu masu [246], u našoj studiji je značajna povezanost postojala jedino između nivoa SHBG (a time i FAI) sa merama masnog tkiva i mišićnom masom, dok drugi hormoni uključujući i sve ostale androgene, nisu značajno korelirali sa parametrima telesnog sastava. Možemo reći da su efekti gojaznosti na androgene bar kod naših žena sa PCOS indirektni odnosno da nastaju kao posledica inhibicije sinteze SHBG-a u jetri pod dejstvom insulinske rezistencije, dok nismo uočili bilo kakav direktan efekat na testosteron ili druge androgene. Sličan zaključak je dobijen i u skorašnjoj studiji Tosi i sar. koji su analizom telesnog sastava PCOS žena pomoću osteodenzitometrije, merenjem insulinske rezistencije pomoću EHK i analizom slobodnog testosterona zaključili da telesna mast ima glavnu ulogu u determinaciji IR kod PCOS žena, a da je povezanost telesne masti i hiperandrogenizma indirektna i posredovana bar delom IR i posledičnom hiperinsulinemijom [200].

5.5. Disglukemija

Prevalenca tipa 2 diabetes melitusa (T2DM) se u svetu povećava u epidemijskim proporcijama. Svetska zdravstvena organizacija (*Engl. World health organisation, WHO*) i Međunarodna federacija za dijabetes (*Engl. International Diabetes Federation, IDF*) su procenile da je 2013.god oko 382 miliona ljudi bolovalo od dijabetesa, a da će se broj obolelih od dijabetesa do 2035.god povećati na 592 miliona [247]. Iako se najveće stope incidencije registruju u razvijenim zemljama, najveći porast obolelih se očekuje u zemljama u razvoju u koje spada i naša zemlja [247]. Prema proceni Instituta za javno zdravlje Srbije, u Republici Srbiji od dijabetesa boluje približno 12% odraslog stanovništva, pri čemu je broj osoba sa T2DM mnogo veći (95%) u odnosu na osobe sa tipom 1 dijabetesa [248]. U Srbiji, kao i u razvijenim zemljama sveta, dijabetes je peti vodeći uzrok smrtnosti i peti uzrok opterećenja bolešću [249]. U našoj zemlji od ove bolesti godišnje umre oko 3000 osoba, a prema stopi mortaliteta iz 2013.god od 14.7 na 100.000 stanovnika, Srbija pripadala grupi evropskih zemalja sa visokim stopama umiranja od ove bolesti [248].

Porast prevalence T2DM je udružen sa pojavom povećanja pre svega kardiovaskularnog morbiditeta i mortaliteta. Kliničke studije su pokazale da kod osoba koje imaju visok rizik za pojavu T2DM promena životnih navika kao i farmakološka intervencija mogu da redukuju incidencu pojave T2DM [250]. Ovo, kao i preporuka Američkog udruženja za dijabetes da se osobama sa IGT/IFG savetuje primena metformina uz dijetu i vežbanje da bi se redukovao njihov rizik za pojavu T2DM [251], potencira potrebu za formiranje modela kojima bi se osobe sa rizikom za pojavu T2DM mogle pouzdano i što ranije identifikovati, a da bi se samim tim što pre otpočelo sa preventivnim merama sprečavanja nastanka T2DM, dok bi se dugoročno na taj način sprečavale i različite karadiovaskularne komplikacije, morbiditet i mortalitet. Smatra se da žene sa PCOS imaju 5 puta veći rizik za razvoj T2DM u odnosu na zdrave žene istih godina i BMI [252], a ujedno imaju i skoro 3 puta veći rizik za pojavu gestacijskog dijabetesa u odnosu na zdrave žene [253]. Opšte je prihvaćeno da je disfunkcija β -ćelija pankreasa neophodna za razvoj T2DM, a što se manifestuje disglukemijom koja nastaje kao posledica nemogućnosti dalje kompenzacije periferne insulinske rezistencije od strane β -ćelija

pankreeasa koje se iscrpljuju i ne mogu dalje da zadovolje povećane zahteve za insulinom [254]. Kod žena sa PCOS postoji disfunkcija β -ćelija pankreeasa, a kombinacija i IR i disfunkcije β -ćelija pankreeasa dovodi do DM [255].

Najčešći klinički postupak za identifikaciju osoba koje su u riziku za nastanak T2DM je demonstracija postojanja IFG ili IGT obzirom da su ova dva stanja udružena sa povećanim rizikom za nastanak T2DM [251]. IFG i IGT su poremećaji metabolizma ugljenih hidrata koja se nalaze između normalne glukozne tolerancije (NGT) i T2DM, i koja se međusobno parcijalno preklapaju, ali imaju različite metaboličke osnove [256]. Tako se u osnovi IFG nalazi insulinska rezistencija u jetri sa skoro normalnom insulinskom senzitivnosti u skeletnim mišićima i oštećenom ranom insulinskom sekrecijom tokom OGTT-a, dok se kod IGT javlja dominantno povećana insulinska rezistencija u mišićima i oštećenje kasne faze sekrecije insulina tokom OGTT-a [251,256]. Međutim, iako osobe sa IGT imaju povećan rizik za razvoj T2DM, samo oko 30-50% onih koji imaju IGT će se konvertovati u T2DM u narednih 10 godina, što ukazuje da rizik za nastanak T2DM nije isti kod svih osoba sa IGT-om [257]. Dodatno, oko 40% osoba koje razviju T2DM imaju NGT u početku, što ukazuje na to da postoji subpopulacija osoba sa NGT koja je ipak u riziku da razvije T2DM [258]. To ujedno u svakodnevnoj praksi ograničava korišćenje IGT kao jedinog pokazatelja visokog rizika za pojavu T2DM. Takođe, identifikacija osoba koje imaju IGT podrazumeva da se uradi 2-časovni OGTT, što, zbog vremena koje zahteva, se često izbegava u redovnoj kliničkoj praksi. Dodatno, pokazano je da IGT ima visoku specifičnost (92%) ali mnogo nižu senzitivnost (51%) za predikciju rizika za pojavu T2DM, što ujedno znači da ukoliko se IGT koristi kao jedini prediktor za identifikaciju osoba koje su u riziku za pojavu T2DM, otprilike polovina njih koja će kasnije ipak razviti T2DM, neće biti otkrivena [259]. Iz tih razloga, do sada je napravljeno nekoliko modela za predikciju rizika za pojavu T2DM, a koji su bazirani na starosti, etničkoj pripadnosti, gojaznosti, lipidogramu, krvnom pritisku i glikemiji našte [260-262].

Iako je skorašnja meta-analiza potvrdila da je prevalenca disglukemije veća kod PCOS u odnosu na zdravu populaciju žena, pojedinačne studije pokazuju heterogene rezultate [101,164]. Diskordantni nalazi su posledica pre svega različitih studijskih

populacija (različita rasna i etnička pripadnost, različit BMI PCOS i kontrolnih grupa). Sve studije na američkoj populaciji PCOS žena pokazuju značajno veće prevalencije svih stepena disglukemije u odnosu na evropsku populaciju PCOS žena. Tako se u SAD populaciji procenjuje prevalenca IGT oko 20-35% i T2DM 4-10%, a što je 3 puta veća prevalenca za IGT i 7 puta veća prevalenca za T2DM u odnosu na opštu populaciju [100,263]. Sa druge strane u evropskoj populaciji prevalenca IGT i T2DM je procenjena na 15.7%, odnosno 2.5% [264]. Velika studija Legro i sar. je pokazala da 31% žena sa PCOS ima IGT, odnosno 7.5% ima dijabetes, ali kad su se analizirale samo normalno uhranjene žene 10% je imalo IGT, a 1.5% dijabetes [100]. U našoj populaciji žena sa PCOS, ni jedna nije imala T2DM, prevalenca IFG od 1.4% je bila značajno veća dok se prevalenca IGT koju je imalo 4.2% žena sa PCOS nije razlikovala u odnosu na zdrave žene ujednačene prema godinama starosti i BMI. Ovakvo odsustvo razlike u prevalenci IGT i T2DM između PCOS i kontrolne grupe zdravih ispitanica u našoj studiji je komparabilno sa rezultatima nekih drugih studija [162,265]. Dodatno, ovakav nalaz ne isključuje mogućnost većeg rizika za nastanak T2DM kod naših žena sa PCOS, naročito imajući u vidu da je i prevalenca MetS veća u odnosu na KG, a pokazano je da je MetS prediktor nastanka T2DM [266]. Ovakva naizgled diskrepanca nalaza disglukemije i MetS se može objasniti činjenicom da je pokazano da i u opštoj populaciji čak 30-40% osoba sa normalnom glikemijom našte i NGT ipak ima disfunkciju β -ćelija pankreasa i IR relativno dug period vremena nakon čega se pojavljuje vidljiva disglukemija (IGT ili T2DM) [267,268]. Takođe, iako osobe sa IGT-om imaju visok rizik za nastanak T2DM samo 50% njih tokom 10-godišnjeg praćenja razvija T2DM [258]. Sve ovo govori u prilog tome da se pri proceni rizika za budući T2DM ne možemo osloniti samo na grube rezultate iz OGTT-a već se rizik svakog pacijenta mora posmatrati na suptilniji način. Dodatno, treba obratiti pažnju na rezultat (Grafikon 2.) koji je pokazao da su sve žene sa PCOS koje su imale IGT, istovremeno imale nalaz glikemije našte koji je bio u granicama normale. Ovaj rezultat, iako dobijen na relativno malom broju ispitanika, kao i sve prethodno navedene činjenice, ukazuju na to je određivanje samo glikemije našte kod žena sa PCOS nedovoljno za adekvatnu evaluaciju stepena disglukemije kod ovih osoba i naglašava potrebu da svim ženama sa PCOS treba prilikom inicijalne evaluacije ali i praćenja raditi ne samo glikemiju našte već i OGTT.

Smatra se da postojanje oligomenoreje 2-2.5 puta povećava rizik za postojanje T2DM kod žena sa PCOS, a naročito onih sa pozitivnom porodičnom anamnezom [269], što bi značilo da svi fenotipovi sem fenotipa C imaju povećan rizik za nastanak T2DM. U našoj studiji, međutim, nije bilo razlike u prevalenci ni IFG ni IGT između fenotipova, ni između fenotipova i KG. Slično, Welt i sar. nisu pokazali razliku u prevalenci IFG i T2DM između fenotipova i njihove kontrolne grupe [162].

5.6. Insulinska rezistencija

Insulinska rezistencija (IR) sama po sebi nije bolest, i može se javiti i u fiziološkim stanjima kao što su pubertet i trudnoća. Međutim, IR je i osnova kao i nezavisni prediktor ne samo T2DM nego i hipertenzije, gojaznosti, kardiovaskularnih bolesti, masne degeneracije jetre i metaboličkog sindroma uopšte, zbog čega i postoji potreba za njenom evaluacijom kod pacijenata koji su u riziku [270,271].

Insulin je potentan anabolički hormon sa plejotropnim, i metaboličkim i mitogenim efektima. Metabolička dejstva insulina su usmerena pre svega na jetru, masno tkivo i skeletne mišiće. On potencira sintezu glikogena, smanjuje proizvodnju glukoze u jetri, potencira preuzimanje i iskorišćavanje glukoze u tkivima, povećava lipogenezu i sintezu proteina, potencira ćelijski rast i diferencijaciju [272]. Međutim, zahvaljujući postojanju dva puta kojim insulin ostvaruje svoja dejstva na ciljna tkiva (metabolički i mitogeni), IR može biti selektivna tj. može i najčešće se ogleda u poremećaju metaboličkih dejstava insulina, dok mitogeni efekti ne moraju biti narušeni [272]. Ukoliko do njih ipak dođe, mitogeni efekti mogu biti relativno benigni (*acanthosis nigricans*) ali može i doći i do razvoja malignih bolesti. Tako je pokazano da insulin deluje kao faktor rasta tumora *in vitro* kao i da postoji pozitivna korelacija između insulinske sekrecije kod osoba koje nemaju DM i rizika za nastanak karcinoma [273].

IR je pogubna za kardiovaskularni sistem jer indukuje nastanak niskog HDL, povećava TG i male guste LDL partikule, indukuje hipertenziju, endotelijalnu disfunkciju,

intoleranciju glukoze, povećava sistemski inflamatorni i oksidativni stres i indukuje protrombotsko stanje [274-276].

Veza između IR, IGT, T2DM sa jedne strane i KVB sa druge strane u opštoj populaciji je više puta potvrđena [277,278], što samim tim ukazuje i da žene sa PCOS moraju imati povećan rizik za pojavu ovih krajnjih komplikacija [279]. Iako se kod velikog broja ljudi insulinska rezistencija javlja simultano u multiplim organima, njen stepen se može razlikovati u različitim tkivima [154]. Na patogenezu nastanka T2DM utiču i periferna i insulinska rezistencija u jetri, ali pre nego što se DM manifestuje insulinska rezistencija može da se pojavi odvojeno i/ili u različitom stepenu u jetri u odnosu na skeletne mišiće [256,280]. Zbog toga se kod velikog broja ljudi može uočiti diskordantnost rezultata periferne i insulinske rezistencije u jetri [281]. Diskriminacija periferne (u skeletnim mišićima) i insulinske rezistencije u jetri može biti važna i sa aspekta terapije obzirom da se periferna insulinska rezistencija popravljja povećanom fizičkom aktivnošću, dok na insulinsku rezistenciju u jetri povoljno deluju metformin, redukcija telesne težine i tiazolidenedioni. Insulinska rezistencija i kompenzatorna hiperinsulinemija se javljaju kod oko 50-85% žena sa PCOS, a od toga kod 70-80% gojaznih i kod 20-25% normalno uhranjenih [200,282,283]. Stoga je postavljanje dijagnoze IR kod žena sa PCOS je izuzetno važno, jer se na taj način mogu identifikovati osobe kod kojih bi ciljano lečenje insulinskim senzitivizirajućim lekovima omogućilo prevenciju kardiometaboličkih komplikacija kasnije u životu. Sa druge strane, iako je česta, IR ipak nije univerzalna karakteristika svih žena sa PCOS, pa se smatra da je ne treba lečiti *per se* već terapija treba da bude usmerena na njene metaboličke komplikacije [283].

Postoji veći broj dijagnostičkih procedura kao i formula za procenu stepena insulinske rezistencije kod ljudi i svaka od njih ima svoje prednosti i mane. U ovoj studiji smo koristili više indeksa za procenu insulinske rezistencije obzirom da se smatra da nisu svi indeksi podjednako korisni u određenim populacijama, kao i da korišćenje više indeksa omogućava minimizaciju ograničenja i povećava verovatnoću za dobijanje relevantnih rezultata [284]. Insulinska rezistencija se kod žena u reproduktivnom životnom dobu pogoršava sa starenjem [159], a gojaznost sama po sebi je jedan od etioloških faktora IR.

Zbog toga su rezultati dobijeni u našoj studiji dodatno značajni obzirom da su sve analize urađene po ujednačavanju ispitanica prema godinama starosti i BMI.

Većina prethodnih studija pokazuje da pri poređenju sa zdravim ženama, klasični PCOS fenotipovi imaju najveći stepen insulinske rezistencije [125,137,162,163,165,166,193,203,285]. Međutim za fenotipove C i D postoje heterogeni podaci. Neke ranije studije su pokazale da žene sa fenotipovima C i D imaju normalnu insulinsku senzitivnost [137,166,183,203] ili pak sasvim slabu insulinsku rezistenciju [286]. Studije najčešće pokazuju da žene sa klasičnim PCOS fenotipom imaju veću insulinsku rezistenciju u odnosu na ovulatorni fenotip [162,165,166,193,203,287], kao i normoandrogeni fenotip [130,163,165,166,203,288], s tim da najčešće statističke analize nisu rađene sa ujednačavanjem prema BMI i /ili godinama starosti. Sa druge strane postoje i studije u kojima ni nakon kontrolisanja prema BMI nisu pokazane značajne razlike u stepenu IR između PCOS fenotipova [125,127,140,164,168,242,285]. Takođe, većina studija nije uočila razlike u stepenu IR između fenotipova A i B [139,163-165,289]. Jedan od razloga za postojanje heterogenih rezultata po pitanju insulinske rezistencije kod različitih PCOS fenotipova može biti raznolikost populacija u kojima su analize rađene obzirom da postoji sve više dokaza da etnička pripadnost naročito utiče na metaboličke parametre kod žena sa PCOS [132-135,201,290-292].

Gojaznost sama po sebi je praćena insulinskom rezistencijom, a gojazne žene sa PCOS većinom imaju povećanu IR [11,293]. Dodatno, porast telesne mase kod žena sa PCOS je povezan sa pogoršanjem IR i to tako što se sa povećanjem BMI za 1%, rizik za T2DM povećava za 2% [99]. Međutim, kod normalno uhranjenih žena sa PCOS rezultati su heterogeni. Tako postoji nekoliko studija kojima nije dokazano postojanje povećane IR kod normalno uhranjenih žena sa PCOS čak ni pomoću visoko senzitivne tehnike kao što je EHK [294,295]. Smatra se da heterogeni rezultati po pitanju IR u PCOS populaciji, naročito kod normalno uhranjenih žena, može biti posledica rasnih, etničkih i sredinskih faktora [194,293]. Međutim, rezultati naše studije nedvosmisleno pokazuju da žene sa PCOS u odnosu na KG imaju značajno veću IR kao i prevalencu IR, nezavisno od postojanja gojaznosti. Stoga se može reći da je bar deo patofiziologije IR kod žena sa

PCOS specifičan za ovaj sindrom i da je IR kod žena sa PCOS intrinzičko svojstvo samog sindroma, nezavisno od gojaznosti. Tome u prilog govore bazične studije sprovedene na adipocitima, fibroblastima i skeletnim mišićima žena sa PCOS su pokazale da je afinitet insulinskih receptora i vezivanje insulina za njih neizmenjeno u odnosu na zdrave žene [190,296]. Međutim, kod oko 50% PCOS žena sa IR je u različitim studijama pokazano da postoji značajno povećana insulin-nezavisna fosforilacija receptorskog serina što smanjuje intrinzičku tirozin-kinaznu aktivnost receptora [190]. Ovakvi defekti u ranim koracima insulinskog signalnog puta mogu biti uzrok IR bar kod jednog dela PCOS populacije i istovremeno predstavljaju jedinstveni poremećaj insulinskog dejstva jer druga insulin rezistentna stanja kao što su gojaznost, T2DM i leprehaunizam, ne ispoljavaju ovu abnormalnost [296]. Kod druge polovine žena sa PCOS sa istim stepenom IR, fosforilacija insulinskog receptora je slična kao kod zdravih žena, pa se smatra da kod ove subpopulacije žena sa PCOS IR nastaje zbog defekta nishodno od fosforilacije insulinskog receptora [272,296,297].

Povećan sadržaj telesne masti bi mogao da ima direktnu ulogu u stvaranju IR kao i hipersekrecije androgena kod žena sa PCOS, i to mehanizmima kao što su povećana lipoliza, poremećaj sekrecije adipokina i metabolizma steroidnih hormona. Pokazano je da topografija telesne masti može da utiče na insulinsku senzitivnost i to tako što se sa povećanjem sadržaja masnog tkiva u gornjem delu tela smanjuje i insulinska senzitivnost [195,298,299]. U skladu sam tim, u našoj studiji smo pokazali značajne i jake korelacije između parametara bazalne insulinske rezistencije i topografije telesne masti. Naime i u kontrolnoj grupi i u PCOS grupi su postojale značajne korelacije između HOMA-IR i sadržaja masnog tkiva u celom telu i trbušnog masnog tkiva. Imajući u vidu sve navedeno, smatramo da važnost rezultata dobijenih u ovom istraživanju naročito potencira i činjenica da se prilikom analiziranja koristilo ujednačavanje ispitanica prema BMI-u.

Iako su i insulinska rezistencija i hiperandrogenemija važne karakteristike većine žena sa PCOS, prva uopšte ni ne ulazi u kriterijume neophodne za dijagnozu PCOS dok druga nije obavezan kriterijum prema Roterdamskoj definiciji. U svakom slučaju odnos između insulinske rezistencije i hiperandrogenemije još uvek nije razjašnjen.

Hiperandrogenemija može da indukuje pogoršanje abdominalne gojaznosti što zatim dovodi do povećanja IR [300]. Pokazano je da preadipociti imaju androgene receptore, a višak androgena i kulturi adipocita dovodi do selektivne IR [301].

Smatra se da i LH i insulin stimulišu proizvodnju androgena kod žena sa PCOS [302] i da je hiperinsulinemija važan faktor koji održava hiperandrogenemiju, delujući direktno na teka ćelije jajnika i indukujući na taj način produkciju androgena, a takođe ko-gonadotropnim dejstvom potencirajući efekat LH. Tome u prilog idu rezultati nekih studija u kojima su dokazane korelacije između parametara insulinske sekrecije i cirkulišućeg testosterona [95,303]. U našoj studiji su u PCOS grupi postojale jake i to znatno jače korelacije između bazalnih parametara insulinske rezistencije i SHBG u odnosu na KG. Istovremeno nijedan androgen nije korelirao ni sa indeksima insulinske rezistencije. Treba imati u vidu da mi nismo određivali slobodan testosteron. Takođe, kao i u našoj studiji Kaufmann i sar. nisu pokazali značajne korelacije između ukupnog testosterona i mera insulinske rezistencije (HOMA-IR, ISI-Matsuda indeks, $AUC_{insulin}$), ali su postojale značajne korelacije između ovih indeksa i slobodnog testosterona [242].

Korelacije insulina i parametara IR sa SHBG i FAI u našoj KG su bile toliko slabe da se može reći da su praktično zanemarljive i ovaj nalaz je u skladu sa nalazima u drugim studijama [304]. Sa druge strane, insulin i parametri IR su u PCOS grupi korelirali značajno sa SHBG i FAI, a ovaj nalaz je u skladu sa poznatom činjenicom da je insulin glavni negativni regulator proizvodnje SHBG-a u jetri kod žena sa PCOS [305]. Ukupni testosteron kao ni jedan drugi androgen nisu značajno korelirali sa parametrima IR u našoj studiji, a ovaj nalaz je u skladu sa drugim studijama [195] kao i sa nalazom Tosi i sar. koji su pokazali da hiperandrogenemija nije nezavisni prediktor IR u njihovoj populaciji žena sa PCOS [200].

Imajući u vidu sve navedeno, nivo SHBG-a bi mogao da bude surogat marker IR kod žena sa PCOS, a čemu u prilog idu i rezultati nekoliko drugih studija [306,307]. Pri tome, znatno slabije korelacije SHBG i markera IR u KG ukazuju da SHBG može biti marker IR pre svega kod osoba sa hiperinsulinemijom (kao što je to slučaj kod žena sa PCOS) a tome u prilog idu i rezultati drugih studija [307,308]. Izostanak direktne

povezanosti nivoa ukupnog testosterona i parametara IR u našoj studiji, ukazuje da su hiperandrogenizam i gojaznost povezani indirektno i to preko insulinske rezistencije. Naime, niže koncentracije serumskog SHBG-a ujedno dovode i do većih koncentracija biološki dostupnih, nevezanih androgena, a obzirom na izostanak direktnih korelacija IR i androgena, u našoj populaciji ne postoji direktna veza između IR i proizvodnje androgena u jajnicima ili nadbubrežnim žlezdama.

Postoje suprotstavljena mišljenja o ulozi hiperinsulinemije i IR u sekreciji gonadotropina u PCOS populaciji [235,309]. Interesantno je i postojanje negativne korelacije između bazalnog insulina i indeksa bazalne insulinske rezistencije sa LH i to samo u PCOS grupi, a ne i u KG, i koja se može objasniti postojanje insulinom izazvane supresije hipofiznog odgovora na GnRH. Naime, povećana IR dovodi do smanjenja nivoa LH, a što može biti posledica aktivnosti aromataze u masnom tkivu žena sa PCOS koja dovodi do konverzije androgena, u estrogene a koji zatim suprimuju LH sekreciju [310,311]. Time se ne isključuje postojanje ko-gonadotropnog efekta insulina na teka ćelije jajnika. Dodatno, izostanak korelacija između insulina i androgena, a postojanje korelacija između insulina i SHBG ukazuje da je glavni efekat insulina na androgenu sekreciju posredovan promenama na nivou SHBG pre nego na direktnoj stimulaciji proizvodnje androgena u jajnicima.

5.6.1. Euglikemijski hiperinsulinemijski klamp (EHK)

Euglikemijski hiperinsulinemijski klamp (EHK) je zlatni standard za procenu insulinske senzitivnosti kod ljudi jer direktno meri insulinsko dejstvo na potrošnju glukoze u stabilnom stanju [103]. Korišćenjem suprafizioloških brzina infuzije insulina u EHK-u, proizvodnja glukoze u jetri je skoro potpuno suprimovana, pa se 80-90% glukoze raspoređuje po periferiji odnosno pre svega u skeletne mišiće, a sa povećanjem količine masnog tkiva u organizmu povećava se i preuzimanje glukoze u ovo tkivo u odnosu na skeletne mišiće [103]. Količina egzogene glukoze koja se primeni tokom EHK-a da bi se održala euglikemija je odraz glukoze koja se metaboliše u perifernim tkivima i na taj način odražava insulinsku senzitivnost perifernih tkiva. Što se više egzogene glukoze primeni u

jedinici vremena to je osoba osetljivija na insulin. Na taj način, EHK kao tehnika omogućava merenje pre svega periferne insulinske rezistencije, dok zanemaruje insulinsku rezistenciju u jetri.

Potrošnja glukoze tokom EHK-a (M vrednost) kod zdravih, normalno uhranjenih osoba varira između 4.7 i 8.7 mg/kg/min [103]. Još pre više od dve decenije je EHK-om pokazano da žene sa PCOS imaju za oko 35-40% nižu potrošnju glukoze u odnosu na reproduktivno zdrave žene ujednačene prema godinama starosti i BMI [312]. Ovo smanjenje M vrednosti je komparabilno sa reproduktivno zdravim ženama koje imaju T2DM [313]. U našem istraživanju smo bili u mogućnosti da uradimo EHK kod 124 žene sa PCOS. Obzirom da je EHK radjen samo u PCOS grupi, uporedili smo potrošnju glukoze po kilogramu telesne mase korigovanu za nivo insulina u poslednjih 30.min EHK-a (kada je postignuto stabilno stanje potrošnje glukoze) između fenotipova. Prema ovoj analizi je dobijeno da najveći stepen IR ima fenotip B koji se značajno razlikovao od stepena IR u fenotipu A i u fenotipu C. Možda iznenađujuć rezultat je i da fenotip D prema našoj analizi ima visok stepen IR komparabilan sa sva tri druga fenotipa, i pored značajno manjeg indeksa telesne mase žena sa ovim fenotipom. Imajući u vidu fiziologiju EHK-a, može se reći da žene sa fenotipom B imaju najveći stepen IR u perifernim skeletnim mišićima, žene sa fenotipom D intermedijaran, dok fenotipovi A i C imaju najmanji stepen IR u perifernim skeletnim mišićima u odnosu na druge fenotipove. Ukoliko se osvrnemo na podatak da kod žena sa PCOS IR u skeletnim mišićima može biti glavni faktor rizika za nastanak T2DM [314], možemo reći da u našoj populaciji žena sa PCOS najveći rizik za T2DM, procenjen EHK-om, imaju žene sa fenotipom B, potom žene sa fenotipom D, a najmanji imaju žene sa fenotipovima A i C.

Međutim, iako EHK predstavlja zlatni standard za procenu IR, njegova visoka cena, tehnička kompleksnost i dugo trajanje same procedure ograničavaju njegovu primenu. Dodatno, nivo insulina koji se EHK-om postigne je suprafiziološki, pa samim tim ova procedura ne odražava pravo insulinsko dejstvo i dinamiku glukoze u fiziološkim uslovima, kao što to, na primer, radi OGTT. Takođe, tokom EHK-a se meri insulinska senzitivnost samo tokom postignutog stabilnog stanja, a na taj način se ne može realno prikazati i

fiziološka, dinamička promena u sekreciji insulina koja se javlja nakon obroka. Zbog svega navedenog sve više postoji potreba da se bazalni parametri insulinske rezistencije, kao i parametri izvedeni iz OGTT-a koriste kao surogat markeri insulinske rezistencije.

5.6.2. Bazalni indeksi insulinske rezistencije

a) Glikemija našte

Više od 75% endogene proizvodnje glukoze se odvija u jetri, pa na nivo bazalne glikemije našte utiče pre svega povratna sprega između jetre i pankreasa [315]. To praktično znači da glikemija našte predstavlja endogenu produkciju glukoze u jetri, odnosno da odražava pre svega dejstvo insulina na jetru.

b) Insulin našte

Bazalna koncentracija insulina kod zdravih, euglikemičnih osoba možeda služi kao relativno dobar pokazatelj insulinske rezistencije, obzirom da visoke koncentracije insulina našte reflektuju prisustvo IR. Međutim, i pored relativno dobre korelacije između insulina našte i insulinske senzitivnosti dobijene EHK-om, insulin našte je u stanju da objasni samo maksimalno 50% varijabilnosti dejstva insulina kod pacijenata koji nemaju dijabetes [316]. Razlog za to je taj što plazma nivo insulina zavisi ne samo od insulinske senzitivnosti nego i od insulinske sekrecije, distribucije, i degradacije. Tome u prilog postojanje značajne ali relativno slabe korelacije između glikemije našte i insulina našte u našoj studiji. Tako je kod pacijenata sa IGT ili DM, insulin našte neadekvatan kao mera IR, obzirom da zbog disfunkcije β -ćelija pankreasa postoji neadekvatno smanjena insulinska sekrecija u odnosu na stepen hiperglikemije [317]. Jedna od ograničavajućih okolnosti za merenje insulina našte kao mere IR je i pulsatilna sekrecija insulina. Pulsevi se javljaju u periodu od 10-15min sa ultradianim oscilacijama na 1-3h. Periodičnost, amplituda i ultradiane oscilacije insulinskih pulseva variraju u stanju gladovanja i poremećeni su i u IGT i T2DM [318]. Dodatno, iako se nekoliko studija bavilo definisanjem graničnih vrednosti insulina našte koje bi označavale postojanje IR, ove vrednosti još uvek nisu definisane i najverovatnije nikada ni neće biti. Jedan od glavnih razloga za to su razlike u insulinskim esejima, tj.

njihova nestandardizovanost, koja dodatno otežava komparaciju, a naročito njihovu primenu na različitim studijskim populacijama.

Iako se u našoj studiji prevalenca IFG nije razlikovala između PCOS grupe u celini i KG, kao ni između fenotipova međusobno, PCOS grupa, odnosno hiperandrogeni fenotipovi su imali značajno veći nivo insulina našte u odnosu na KG. Pri tome je glikemija našte bila granično veća u PCOS grupi u celini u odnosu na KG, ali se pri podeli PCOS grupe na fenotipove ova razlika izgubila. Ovaj nalaz ukazuje na postojanje hiperinsulinemije našte odnosno IR kod naših žena sa PCOS, konkretno u hiperandrogenim fenotipovima. Obzirom na normalnu glikemiju našte, hiperinsulinemija u trenutku ispitivanja ovih žena je bila dovoljno adekvatna da kompenzuje insulinsku rezistenciju i tako održava glikemiju u granici normale. I u nekim prethodnim studijama nije potvrđena razlika u glikemiji našte između PCOS fenotipova i KG [162]. U drugoj studiji je potvrđeno da fenotipovi B i C imaju veće glikemije našte u odnosu na KG [164], dok su Yilmaz i sar. verifikovali razlike između KG i hiperandrogenih fenotipova ali ne i fenotipa D [166]. Svakako i u našoj studiji je jedino fenotip D taj koji ima sličan nivo insulina našte kao i žene iz KG, što ukazuje na postojanje normalne insulinske senzitivnosti na nivou jetre u ovom fenotipu, bar prema nalazu insulina našte. Pri međusobnom poređenju fenotipova, izdvojio se fenotip B kao fenotip sa najvećim stepenom jutarnje hiperinsulinemije, značajno veće u odnosu na fenotip A, C i D.

c) HOMA-IR i QUICKI

Indeksi IR koji su izvedeni iz bazalnih, našte, merenja glikemije i insulina (HOMA-IR i QUICKI) primarno odražavaju IR u jetri, ali ne mogu sasvim da pokažu efekat insulina na preuzimanje glukoze u perifernim tkivima, a što je važan parametar u proceni insulinske senzitivnosti/rezistencije [154]. Obzirom da oba indeksa u svojim formulama koriste insulin našte, sva ograničenja koja važe za primenu insulina našte kao markera IR, važe i za HOMA i QUICKI. To je i razlog zbog čega ne postoje definisane granične normalne vrednosti za ove parametre koje bi označavale adekvatnu insulinsku senzitivnost ne samo u pojedinim specifičnim populacijama već i u opštoj populaciji. Obzirom da u formuli za

izračunavanje HOMA-IR broj 22.5 predstavlja konstantu izvedenu iz proizvoda normalnog insulina našte (5 mU/L) i normalne glikemije našte (4.5mmol/L) kod idealno normalno uhranjene osobe mlađe od 35 godina, idealan i normalan kod takve osobe HOMA-IR iznosi 1 [319]. HOMA-IR podrazumeva interakciju jetre i β -ćelija pankreasa, pa su koncentracije glukoze regulisane insulin-zavisnom proizvodnjom glukoze u jetri, a koncentracije insulina zavise od odgovora β -ćelija pankreasa na koncentracije glukoze [319]. Na taj način, smanjen odgovor glukozom stimulisane sekrecije insulina ukazuje na smanjenu funkciju β -ćelija pankreasa, dok smanjeni supresivni efekat insulina na produkciju glukoze u jetri odražava IR. Međutim ovo i predstavlja jednu od limitacija primene HOMA za procenu IR jer ovaj model predpostavlja da su IR u jetri i perifernim tkivima ekvivalentne, što nije uvek tako [155]. U skladu sa tim, Xiang i sar. su pokazali da HOMA ne može da detektuje longitudinalne promene u IR u populaciji koja je u riziku za pojavu T2DM [320], a u ovakvu populaciju spada i PCOS.

Zbog prethodno navedenih varijacija normalnih vrednosti HOMA-IR, smatra se da HOMA nema linearnu varijaciju duž širokih opsega insulinske senzitivnosti i grupa pacijenata. Hiperbolični (a ne linearni) odnos HOMA-IR i insulina sa jedne strane i mera IR dobijenih EHK-om kao referentnom metodom, je doveo do toga da su formirane logaritamske i recipročne transformacije poznatih surogat markera IR koje omogućavaju postizanje normalne distribucije podataka, a čime se postiže bolja linearna povezanost između ovih surogat markera i mera IR dobijenih klampom. Jednom takvom transformacijom je dobijen i indeks QUICKI koji je proporcionalan je $1/\log(\text{HOMA-IR})$ [150]. Logaritamska transformacija dovodi do normalizacije podataka, pre svega insulina, uključujući i grešku merenja, i komprimuje raspon merenih vrednosti na taj način redukujući efekat ekstremnih vrednosti [321]. Većina studija je pokazala da logaritamski transformisani markeri značajno bolje koreliraju sa referentnim markerima IR koji se dobijaju EHK-om [322].

QUICKI predstavlja pouzdan, reproducibilan i tačan indeks insulinske senzitivnosti sa odličnom pozitivnom prediktornom vrednošću [323]. On je naročito dobar za procenu insulinske senzitivnosti u slučajevima kada postoji hiperglikemija našte i oštećena β -

ćelijska funkcija pankreasa. U takvoj situaciji postoji visoka glikemija sa neadekvatno niskim insulinom, a njihova logaritamska transformacija dovodi do adekvatne korekcije podataka. Dodatno, pokazano je da QUICKI može adekvatno da prati promene u insulinskoj senzitivnosti nakon različitih terapijskih intervencija [324,325] i da se bolje ponaša pri proceni IR kod gojaznih osoba [323].

U našoj studiji žene sa PCOS su imale značajno veće vrednosti HOMA-IR i značajno niže vrednosti QUICKI u odnosu na KG, odnosno imale su veći stepen IR od KG u situaciji u kojoj im se BMI nisu razlikovali, a nakon ujednačavanja prema godinama starosti. U originalnom radu autora koji su i formulisali HOMA kao indeks IR, vrednosti od 1.21 do 1.45 su smatrane za normalne vrednosti HOMA, a kod dijabetičara od 2.61 do 2.89. Međutim u drugim studijama sprovedenim na opštoj populaciji su dobijene vrednosti 2.7 pa i 3.8 kao normalne vrednosti HOMA indeksa [319,326]. Neki smatraju da je normalna vrednost HOMA-IR <3.90 [11,282]. Takođe, u originalnoj studiji u kojoj je i formulisan QUICKI indeks, granične vrednosti za normalno uhranjene, gojazne normoglikemične i gojazne dijabetičare su iznosile 0.382, 0.331 i 0.304, dok se u drugim studijama na opštoj zdravoj populaciji pominju granične vrednosti 0.372 i 0.366 [323,327]. Međutim, sve navedene predložene granične vrednosti i HOMA-IR i QUICKI su pod uticajem godina, rase, pola a naročito eseja za određivanje insulina koji su vrlo varijabilni, tako da se sve moraju uzimati sa oprezom kao referentne vrednosti [11,328]. Međutim, sudeći po ovim studijama, može se reći da su ispitanice iz naše KG bile takođe insulin rezistentne i to čak u rangu gojaznih normoglikemičnih osoba prema studiji Katz i sar. [323] ali istovremeno je ovaj stepen IR bio značajno manji u odnosu na PCOS koje su prema studiji Katz i sar. [323] bile između vrednosti normoglikemičnih gojaznih i gojaznih dijabetičara.

Veća IR merena sa HOMA-IR kod žena sa PCOS u odnosu na zdrave žene je u našem istraživanju posledica postojanja veće HOMA-IR kod žena sa hiperandrogenim fenotipovima, dok je IR prema ovom indeksu u fenotipu D ista kao i kod zdravih žena. Međutim, mereno sa indeksom QUICKI, IR svih fenotipova uključujući i fenotip D je veća u odnosu na zdrave žene kada su ispitanice ujednačene prema godinama starosti i BMI. Tome u prilog govori i značajno niži SHBG u fenotipu D u odnosu na KG u našoj studiji

obzirom da se i SHBG može tumačiti i kao surogat marker IR [329]. Očigledno je da se različiti markeri IR u istoj populaciji ispitanika ponašaju na različiti način.

U našem istraživanju i QUICKI i HOMA-IR su pojedinačno odlično korelirali i predviđali potrošnju glukoze u poslednjih 30.min EHK-a, međutim u multivarijantnoj analizi je prednost dobila ipak HOMA-IR. Shodno tome, ne može se precizirati kome od ova dva markera treba pokloniti poverenje pri proceni IR u fenotipu D, a moguće je da je jedan od ograničavajućih faktora u tom smislu i mali broj ispitanica sa ovim fenotipom u našoj studiji. Ono što je sigurno je da fenotip C svakako ima veću IR u odnosu na zdrave žene mereno ovim bazalnim indeksima IR.

Slično našoj studiji i Panidis i sar. su pokazali da fenotip D, pored fenotipa A i B, ima veću IR merenu pomoću insulina našte, HOMA-IR i QUICKI u odnosu na KG, sa kojima je bio komparabilan prema BMI, a ovi rezultati su perzistirali i nakon ujednačavanja ispitanica prema godinama starosti [125]. Takođe, Welt i sar. su pokazali da svi anovulatorni PCOS fenotipovi (A, B i D) imaju značajno veći HOMA-IR u odnosu na KG [162]. Nekoliko studija do sada je pokazalo da gojazne žene sa fenotipom D imaju veći stepen IR (u nekim studijama meren bazalnim indeksima, a u drugim studijama dinamičkim indeksima) u odnosu na uparene KG [125,162,164,330]. Postoje i studije u kojima nije pokazana značajna razlika između fenotipa D i KG u nivou insulina našte [166], QUICKI [165], insulina našte, HOMA i QUICKI [163-165,203,242]. Chae i sar. su pokazali da i pored manjeg obima struka, žene sa PCOS fenotipom D u odnosu na BMI uparene kontrole imaju više vrednosti insulina našte i HOMA-IR [127]. Takodje Kauffman i sar. su pokazali da je IR u ovom fenotipu veća nego kod kontrola jedino ako su žene sa ovim fenotipom gojazne [242]. U studijama je često pokazano da fenotip C, naročito ako se radi o gojaznim ženama, ima sličnu IR (merenu kao insulin našte, HOMA-IR, QUICKI, insulin i glukoza tokom OGTT-a) kao i zdrave žene u situaciji kada su zdrave žene sličnog BMI [125,162,204,242,330].

Pri međusobnom poređenju fenotipova, nije dobijena značajna razlika u nivou glikemije našte. Sa druge strane, fenotip B je prema nivou insulina našte i HOMA-IR imao najveći stepen IR značajno veći od fenotipova A, C i D. Ovaj rezultat ukazuje da se fenotip

B izdvaja kao fenotip koji je u najvećem riziku za buduće kardiometaboličke komplikacije. Međutim, interesantno je da i pri međusobnom poređenju fenotipova se indeks QUICKI izdvaja opet kao drugačiji od ostalih bazalnih indeksa IR, obzirom da je IR merena ovim indeksom između fenotipova ista. Ovaj rezultat kao i to da je baš QUICKI veći kod svih fenotipova u odnosu na zdrave žene ukazuje da su svi fenotipovi u istom povećanom kardiometaboličkom riziku.

Slično našim rezultatima, Welt i sar. su pokazali najveći stepen IR određenu prema HOMA-IR u fenotipu B [162]. U studiji sa sličnim brojem PCOS ispitanica u hrvatskoj populaciji, Baldani i sar. su pokazali izostanak razlike u IR merenoj sa HOMA-IR između fenotipa A, C i D koji se ujedno nisu razlikovali prema BMI i WHR i godinama starosti (fenotip B nije analiziran jer je imao suviše mali broj ispitanica) [167]. U drugim studijama fenotip C ima uglavnom manju IR merenu sa HOMA-IR i/ili QUICKI [162,165,177,193,203,243] kao i koncentracijom insulina našte [26,203,287,331] u odnosu na klasične fenotipove. U većini studija, fenotip D ima značajno manju IR merenu bazalnim indeksima IR u odnosu na hiperandrogene fenotipove i to po ujednačavanju ispitanica prema godinama starosti i BMI [164,203]. Međutim, postoje i studije u kojima nije dokazana razlika između fenotipa D i klasičnog PCOS fenotipa u stepenu IR (merene sa HOMA-IR, QUICKI), glikemiji našte i glikemiji i insulinemiji tokom OGTT-a, čak i u slučajevima kada su pripadnice svih fenotipova bile uparene prema BMI i godinama starosti [137,162,164,242,330]. Mali broj studija je upoređivao fenotipove C i D. U većini studija, u kojima su poređenja vršena na BMI uparenim ženama iz fenotipa C i D ili na gojaznim ženama fenotipova C i D, nije dokazana razlika u prevalenci IFG, T2DM, IR (QUICKI, HOMA, insulin našte i insulin tokom OGTT-a) [164,242]. Ovi rezultati su komparabilni sa našim rezultatima obzirom da ni mi nismo pokazali značajnu razliku između fenotipova C i D u nivou bazalnih indeksa IR.

5.6.3. Indeksi insulinske rezistencije izvedeni iz OGTT-a

Neke [332,333] ali ne i sve studije [334,335] ukazuju da su markeri IR dobijeni iz OGTT-a u odnosu na makere dobijene iz glikemije i insulina našte precizniji za procenu IR

u opštoj populaciji, ali i kod žena sa PCOS [336]. Žene sa PCOS obično imaju postprandijalnu hiperglikemiju koja ukazuje pre svega na perifernu, tj. insulinsku rezistenciju u skeletnim mišićima, a ne disglukemiju našte koja ukazuje na povećanu endogenu produkciju glukoze [100,315]. Takođe, češće postojanje postprandijalne hiperglikemije, a ne hiperglikemije našte, može da objasni zbog čega glikozilirani hemoglobin (HbA1c) ima nisku senzitivnost za otkrivanje IGT i T2DM kod žena sa PCOS kao što je i pokazano u skorašnjoj studiji [337].

OGTT je jednostavan i u kliničkoj praksi često upotrebljavan test za ispitivanje postojanja intolerancije na glukozu i T2DM. Za razliku od EHK-a koji važi za zlatni standard za ispitivanje IR, OGTT više imitira metaboličku dinamiku insulina i glukoze u fiziološkim uslovima [338]. Dodatno, OGTT klinički daje najviše informacija za relativno mali rizik i malu cenu, a omogućava istovremeno testiranje hiperinsulinemije i tolerancije glukoze. Do danas ne postoje prave standardne gornje granice insulina tokom OGTTa koje bi označavale hiperinsulinemiju i IR. Uopšteno, najviše vrednosti insulina u prvom ili drugom času standardnog dvočasovnog OGTTa (sa 75gr glukoze) koje prevazilaze 80-100 $\mu\text{IU/mL}$ se smatraju hiperinsulinemijom a vrednosti $>300\mu\text{IU/mL}$ se smatraju za teški oblik hiperinsulinemije [11]. Međutim i ovde treba biti oprezan sa referentnim vrednostima obzirom na visoku varijabilnost eseja za insulin [328]. Nakon opterećenja glukozom tokom OGTT-a porast koncentracije glukoze u plazmi stimuliše insulinsku sekreciju, a kombinacija hiperglikemije i hiperinsulinemije suprimuje endogenu proizvodnju glukoze kod osoba sa normalnom insulinskom senzitivnosti u jetri [154,339]. Ova supresija endogene produkcije glukoze je maksimalna u 60.min OGTT-a i ostaje suprimovana na istom nivou do 120.min [339]. Porast koncentracije glukoze tokom OGTT-a stimuliše odlaganje glukoze u periferna tkiva, dominantno u skeletne mišiće. Obzirom da u periodu od 60-120min OGTT-a ne i trebalo da postoji značajna proizvodnje endogene glukoze, pad koncentracije glukoze nakon 60.min OGTT-a primarno odražava preuzimanje glukoze u periferna tkiva, odnosno u skeletne mišiće [339]. Shodno svemu navedenom, kod osoba sa IFG postoji značajna IR u jetri sa skoro normalnom insulinskom senzitivnošću u mišićima, dok kod osoba sa IGT postoji obrnuta situacija [256]. Iako oba stanja imaju redukovanu

ranu fazu insulinske sekrecije, kod osoba sa IGT postoji dodatno oštećena kasna faza insulinske sekrecije. Tako osobe sa IGT imaju rani porast koncentracije glukoze u 30.min OGTT-a koja nastavlja da raste do 60.min testa, a zatim ostaje veća ili jednaka 7.8mmol/l u 120.min testa.

Prilikom analize glikemijske krive tokom OGTT-a kod naših ispitanica je dobijeno da žene sa fenotipom A i fenotipom B imaju značajno viši nivo glikemije tokom testa u odnosu na zdrave žene sličnih godina i BMI. Pri tome je ovaj rezultat posledica pre svega brzog i značajnijeg porasta glikemije u samom početku testa tj. u prvih 30.min testa a koji se na dalje tokom testa održava na istom nivou. Glikemijske krive fenotipova tokom OGTT-a su slične i međusobno se ne razlikuju. Ovi nalazi se preslikavaju i na nalaze površina ispod kriva za glikemiju i insulin. Analiza insulinske krive tokom OGTT-a pokazuje da su vrednosti insulina tokom testa značajno veće kod žena sa fenotipovima A i B u odnosu na zdrave žene ali i u odnosu na fenotip C. Pri tome fenotip D ima intermedijarnu insulinsku krivu koja se ne razlikuje ni od zdravih žena ni od drugih fenotipova. Isto kao i u glikemijskoj krivi, insulinska kriva u fenotipovima A i B pokazuje oštećenje rane faze sekrecije insulina koji značajno brže i više raste u odnosu na insulinemiju u prvih 30.min testa kod zdravih žena kao i fenotipa C, a zatim ostaje na istom nivou na dalje tokom testa. Pri tome, žene sa fenotipom B počinju test sa značajno višim nivoom insulina u 0.min testa u odnosu na zdrave žene kao i fenotipove B i D. Ovi nalazi pokazuju da u odnosu na zdrave žene sličnih godina i BMI, žene sa fenotipom A i B imaju veću insulinsku rezistenciju, istovremeno značajno veću od fenotipa C, a sličnu fenotipu D koji se od zdravih žena po ovome ne razlikuju.

Što se tiče indeksa insulinske rezistencije koji su izvedeni iz OGTT-a, HIRI indeks uzima u obzir i bazalnu produkciju glukoze u jetri kao i supresiju iste tokom OGTT-a ali i odgovor β -ćelija pankreasa [154]. $ISI_{Matsuda}$ indeks je indeks insulinske senzitivnosti celog tela i procenjuje insulinsku senzitivnost i u skeletnim mišićima i u jetri [155]. Smatra se da najbolje predviđa rizik IR i T2DM i ima najbolju relativnu senzitivnost i specifičnost u poređenju sa drugim indeksima [340,341]. IGI takođe odlično predviđa nastanak T2DM u opštoj populaciji [342]. U našoj studiji, svi indeksi insulinske rezistencije koji su izvedeni

iz OGTT-a (AUC glukoze i AUC insulina, ISSI-2, IGI, HIRI i $ISI_{Matsuda}$ indeks), su bili značajno veći u PCOS grupi u odnosu na KG, u situaciji u kojoj su im BMI bili slični, a nakon izjednačavanja prema godinama starosti. Pri analiziranju fenotipova, svi indeksi IR izvedeni iz OGTT-a sem indeksa IGI su bili značajno veći u oba klasična fenotipa (A i B) u odnosu na zdrave žene. Razlog za ovakav nalaz indeksa IGI može biti smanjen broj ispitanica pri podeli na fenotipove a istovremeno velika disperznost rezultata naročito u zdravoj populaciji žena. Pri međusobnom poređenju fenotipova, ponovo su se u većini markera IR izdvojili fenotipovi A i B kao fenotipovi sa najvećom IR a koja je bila značajno veća u odnosu na pre svega fenotip C. Žene sa fenotipom D su imale markere IR izvedene iz OGTTa u nivou svih drugih fenotipova, sem $ISI_{Matsuda}$ indeksa koji je pokazivao značajnu razliku u IR i između fenotipa B i D.

Objašnjenje manjeg stepena IR u fenotipu C u odnosu na klasične fenotipove neki istraživači nalaze u postojanju manjeg stepena gojaznosti u fenotipu C u odnosu na fenotipove A i B, dok drugi smatraju da je IR intrinzičko svojstvo fenotipova A i B. U našoj studiji fenotip C je komparabilnog BMI u odnosu na fenotipove A i B, a sa dodatno je radjeno kontrolisanje analiza prema BMI. I pored toga naše žene sa fenotipom C imaju značajno manji stepen IR meren indeksima izvedenim iz OGTT-a u odnosu na klasične fenotipove, što bi moglo da ukaže da na intrinzičko svojstvo i klasičnih fenotipova kao i samog fenitipa C.

U poslednje vreme, veći broj studija je pokazao da koncentracija glukoze u 60.min OGTT-a $\geq 8.6\text{mmol/L}$ kod osoba sa normalnom tolerancijom glukoze može da identifikuje osobe koje imaju povećan rizik za nastanak DM2T [343,344]. Abdul-Ghani i sar. su na velikom broju ispitanika pokazali da je glikemija u 60.min OGTT-a ($OGTT_{Glc\ 60.min}$) veća ili jednaka 8.60mmol/L , nezavistan i bolji prediktor budućeg T2DM (SEN 75%, SP 79%) i od glikemije našte i od glikemije u 120.min OGTT-a [259]. U narednoj studiji, isti autori su verifikovali da kombinacija $OGTT_{Glc\ 60.min}$ sa ATP III kriterijumima za postojanje MetS još više poboljšava sposobnost predviđanja budućeg T2DM [343]. Na taj način, iako osobe sa NGT generalno imaju nizak godišnji rizik za pojavu T2DM (0.67%), oni sa $OGTT_{Glc\ 60.min} > 8.60\text{mmol/L}$ su imali značajno veći godišnji rizik za pojavu T2DM u odnosu na one sa

OGTT_{Glc 60.min} < 8.60mmol/L (2.2% vs. 0.39%, p<0.0001). Ukoliko su pored OGTT_{Glc 60.min} > 8.60mmol/L imali i MetS (ATP III) godišnji rizik za T2DM je bio još veći (4.3%) a značajno je bio veći i od osoba koje su imale IFG ili IGT [343]. Analizom OGTT_{Glc 60.min} se prosečno verifikuje oko 17% NGT osoba koje su u srednjem i visokom riziku za nastanak T2DM i na koje bi mogle da se u najranijem periodu razvoja T2DM primene preventivne mere [343]. U novijoj studiji izvedenoj iz veće prospektivne studije (*Relationship between insulin sensitivity and cardiovascular risk- RISC studija*), Manco i sar. su predložili da visok nivo OGTT_{Glc 60.min} (>8.95mmol/L) može da služi kao surogat marker IR (sa OR 2.5) kod osoba koje inače imaju NGT. Skorašnja studija Fiorentino i sar. je pokazala da osobe sa NGT i visokom glikemijom u 60.min OGTT-a imaju značajno veći rizik za razvoj T2DM od osoba sa IFG ali niži rizik od osoba sa IGT [345]. Visoka prediktabilnost OGTT_{Glc 60.min} za pojavu T2DM se ne može tumačiti samo postojanjem jake korelacije OGTT_{Glc 60.min} sa glikemijom u 120.min OGTT-a (OGTT_{Glc 120.min}) [343]. Obzirom na gore opisanu patofiziologiju odgovora tokom OGTT-a, visoka OGTT_{Glc 60.min} može biti posledica i IR u jetri i mišićima, ali i disfunkcije β-ćelija pankreasa, a samim tim je indikator svih glavnih metaboličkih abnormalnosti koje vode u nastanak T2DM. Tome u prilog idu i rezultati koji su pokazali da OGTT_{Glc 60.min} značajno bolje korelira sa surogat indeksima insulinske rezistencije i u jetri i u mišićima kao i disfunkcijom β-ćelija pankreasa u odnosu na OGTT_{Glc 120.min} [259]. Smatra se da je razlika u insulinskoj senzitivnosti između osoba sa NGT i visokom OGTT_{Glc 60.min} u odnosu na ostale osobe sa NGT posledica pre svega povećanog visceralnog i totalnog masnog tkiva u organizmu [346].

U našoj studiji glikemija u 60.min OGTT-a se nije razlikovala između žena sa PCOS u celini i KG kao ni pri međusobnom poređenju fenotipova. Obzirom da je gore pomenuta granična vrednost od 8.95mmol/L dobijena proučavanjem starije populacije sa mešanim polom i u opštoj populaciji, u ovom istraživanju smo koristili nižu graničnu vrednost prilikom proučavanja ovog markera IR koja je dobijena, kao i sve druge, kao nivo 75.percentila vrednosti koju poseduje zdrava grupa žena.

5.6.4. Korelacije potrošnje glukoze u EHK-u i različitih indeksa insulinske rezistencije

Kao što je prethodno navedeno, EHK se smatra zlatnim standardom za procenu IR, ali njegova visoka cena, tehnička kompleksnost, i dugo trajanje procedure ograničavaju njegovu primenu, a ujedno suprafiziološki nivoi insulinemije postignuti na ovaj način ne predstavljaju realno fiziološko stanje. Zbog toga postoji potreba za jednostavnijom procenom insulinske rezistencije u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Stoga smo, u PCOS grupi najpre uradili korelacije markera IR izvedenih iz bazalnih merenja kao i OGTT-a sa potrošnjom glukoze u poslednjih 30.min EHK-a, a potom smo linearnom regresionom analizom pokušali da utvrdimo koji od korišćenih indeksa IR može da predvidi IR merenu EHK-om. Sem glikemije našte, svi drugi i bazalni i markeri IR izvedeni iz OGTT-a su značajno korelirali sa M vrednošću.

Literaturni podaci ukazuju da korelacije između mera insulinske rezistencije našte i potrošnje glukoze u klampu zavise i od brzine infuzije insulina [321]. Takođe, ne može se očekivati i potpuni linearni odnos između indeksa IR izvedenih iz OGTT-a obzirom da na odgovor beta ćelija pankreasa prilikom oralnog opterećenja glukozom utiču i inkretini, a koji ne učestvuju u odgovoru beta ćelija pankreasa prilikom EHK-a.

Za razliku od nekih drugih studija u kojima su pokazane slabije korelacije HOMA i QUICKI sa potrošnjom glukoze u EHK-u [321,323], može se reći da su u našoj studiji su dobijene jake korelacije između ovih parametara i M vrednosti. Objašnjenje za ovo je najverovatnije veći stepen IR naših ispitanica sa PCOS obzirom da je pokazano da i HOMA-IR i QUICKI sa manje tačnosti procenjuju insulinsku senzitivnost kod insulinske senzitivne populacije u odnosu na insulinsku rezistentnu populaciju [321,323]. Praktično su svi markeri IR izvedeni iz OGTT-a a koji u svojim formulama sadrže i meru insulinemije, imali značajne i jake korelacije sličnog nivoa kao i parametri IR izvedeni iz našte merenja (koji takođe u formulama sadrže meru insulinemije tj QUICKI i HOMA-IR). Sa druge strane, i možda neočekivano, i indeksi IR koji sadrže samo meru glikemije bez insulinemije (svi sem glikemije našte) su značajno korelirali sa M/I iako su ove korelacije bile nešto

nižeg stepena. Dodatno, svaki od navedenih indeksa IR i našte i iz OGTT-a koji su značajno korelirali sa M/I su pri primeni univarijantne linearne regresije su bili značajni prediktori M vrednosti. I konačno, rezultati multivarijantne linearne regresije su pokazali da su u našoj populaciji PCOS ispitanica, značajni prediktori potrošnje glukoze u poslednjih 30.min EHK-a: insulin našte, HOMA-IR, IGI i nivo glikemije u 60.min OGTT-a. Ovi markeri zajedno objašnjavaju nešto više od 40% varijabilnosti rezultata M. Time zaključujemo da u svakodnevnoj kliničkoj praksi, kada je neophodna brza procena stanja insulinske rezistencije, merenjem glikemije i insulina našte (radi određivanja prva dva značajna prediktora-insulin našte i HOMA-IR), kao i merenjem glikemije u 0, 30 i 60.min i insulina u 0 i 30.min OGTT-a (radi određivanja druga dva značajna prediktora-IGI i OGTT_{Glukoza60.min}) možemo dobiti zadovoljavajuću procenu IR, a bez sprovođenja komplikovane procedure kao što je EHK. Dodatno, na ovaj način se još jedanput ističe neophodnost sprovođenja OGTT-a kod svih ispitanica sa PCOS.

5.6.5. Prevalenca insulinske rezistencije

Obzirom da smo u prethodno navedenim analizama dobili da su u našoj studiji insulin našte, HOMA-IR, IGI i nivo glikemije u 60.min OGTT-a najbolji surogat markeri IR, prevalencu IR kod naših ispitanica smo određivali na osnovu vrednosti 75.percentila u KG ovih markera. Pri tome smo koristili ovaj percentil (a ne neki veći) obzirom da je naša populacija žena iz kontrolne grupe ipak imala visok stepen IR (npr. mediana HOMA-IR u KG: 2.26), iako značajno manji u odnosu na PCOS. Svi korišćeni markeri IR u našoj populaciji ispitanica su na sličan način odredili prevalencu IR koja je u PCOS grupi bila nešto manja od 50% pri korišćenju insulina našte, HOMA-IR i OGTT_{Glukoza60.min}, dok je samo IGI pokazao da je prevalenca IR u PCOS populaciji oko 60%. Pri tome je ova prevalenca bila značajno veća u odnosu na KG.

Do sada je kod žena sa PCOS je pokazano da je HOMA-IR senzitivna metoda za detekciju IR [347], dok drugi indeksi IR, a naročito oni izvedeni iz OGTT-a nisu u velikoj meri korišćeni za procenu IR kod žena sa PCOS. Obzirom da se različiti indeksi koji služe kao surogat markeri IR međusobno razlikuju po pitanju preciznosti određivanja IR i

prevalenca IR može razlikovati u zavisnosti od indeksa koji se koriste. Dodatno razlike u prevalenci IR u PCOS u studijama koje koriste iste markere IR se mogu tumačiti etničkom raznolikošću proučavanih populacija, različitim graničnim vrednostima markera, a koji najčešće zavise i od stepena IR u kontrolnim zdravim populacijama žena, kao i velikim varijacijama u insulinskim esejima koji se koriste u različitim laboratorijama. Tako je u drugim studijama pokazano da je prevalenca IR u PCOS određivana pomoću HOMA-IR uglavnom veća od naše [282,347] ali ima i studija u kojima je prevalenca IR u PCOS značajno niža [130,169]. Pri tome je svaka od navedenih studija koristila drugačiju graničnu vrednost za HOMA-IR obzirom da nema konsenzusa kojim se definiše granična vrednost HOMA-IR koja određuje IR. Smatra se da je IR baš ta koja modifikuje kliničku sliku PCOS i utiče na formiranje različitih fenotipova [162]. Yilmaz i sar. su korišćenjem značajno niže granične vrednosti HOMA-IR (2.24) pokazali prevalencu IR u PCOS fenotipovima: A 48%, B 41%, C 33%, D 29% i KG 29% [166]. U velikoj multicentričnoj studiji na većem broju žena sa PCOS, Daan i sar. su pokazali da hiperandrogeni fenotipovi gledani zajedno, u odnosu na normoandrogeni fenotip imaju značajno veću prevalencu IR merenu sa $1/\text{HOMA-IR}$ [170]. U našoj studiji, IGI je kao i pri analizi cele PCOS grupe pokazao veću prevalencu IR u fenotipovima u odnosu na ostala tri indeksa IR. Pri tome, najveću prevalencu IR je imao fenotip B (40-74%), potom fenotip A (43-65%), fenotip C (31-57%) i najmanju fenotip D (35-51%). Klasični fenotipovi A i B su imali značajno veću prevalencu IR u odnosu na KG pri merenju prevalencu IR insulinom našte, sa HOMA-IR i sa $\text{OGTT}_{\text{Glc60.min}}$. Fenotip C je takođe imao veću prevalencu u odnosu na KG pri merenju prevalencu IR sa insulinom našte i sa HOMA-IR, dok je fenotip D imao veću prevalencu IR od KG samo pri određivanju prevalencu IR pomoću insulina našte. Interesantno je da se prevalenca IR merena pomoću IGT nije razlikovala između fenotipova i KG, a što je posledica pre svega značajno veće prevalencu insulin rezistentnih zdravih žena kada se IR meri pomoću IGT. Pri međusobnom poređenju fenotipova, veća prevalenca IR je bila identična u svim fenotipovima bez obzira na to koji su se markeri koristili.

Naši rezultati prevalencu IR kod žena sa PCOS ukazuju na to da se korišćenjem navedenih graničnih vrednosti, insulin našte, HOMA-IR i $\text{OGTT}_{\text{Glukoza60.min}}$ mogu koristiti

praktično podjednako dobro za procenu prevalencije IR, dok je se sa korišćenjem IGI dobija nešto veća prevalenca IR u PCOS populaciji.

5.7. Dislipidemija

Lipidni poremećaji su jedan od pokretača aterogeneze i nalaze se, pored drugih faktora kao što su hiperglikemija, gojaznost i hipertenzija, u osnovi ishemijske bolesti srca (IBS) i drugih KVB i cerebrovaskularnih bolesti. Tako se procenjuje da iako je aterogeneza multifaktorijalni proces, dislipidemija nosi oko 50% rizika za nastanak KVB u opštoj populaciji [348]. Aterosklerozu karakterišu promene u zidovima krvnih sudova u kojima dolazi do deponovanja lipida i proliferacije različitih ćelija. Pored LDL holesterola, koji ima najveću sklonost za deponovanje u zidovima krvnog suda, u aterogene lipoproteine spadaju i gotovo sve klase lipoproteina koje sadrže apo B (VLDL, VLDL ostaci, IDL, Lp(a) i oksidisani LDL). Na osnovu studija *Framingham Heart* i *PROCAM* zaključeno je da je u proceni ukupnog individualnog rizika važan nivo ukupnog holesterola, ali je kao cilj terapije lipidnih abnormalnosti uzeta vrednost LDL holesterola. Tako je nivo LDL u fokusu vodiča u SAD, kao i preporuka Evropskog društva za primarnu prevenciju KVB i T2DM kod pacijenata koji su u riziku [349,350]. Onda se postavlja pitanje zbog čega LDL kao jedan od glavnih fokusa preventivne terapije za sprečavanje neželjenih KVS efekata nije deo dijagnostičkih kriterijuma za MetS? Prvi razlog je tehničke prirode obzirom da se pri nivou TG > 3.36 mmol/L, LDL ne može pouzdano izračunati [287]. Drugi razlog je taj što u većini studija u opštoj populaciji TC i LDL često slabije koreliraju sa adipozitetom [197]. Takođe, normalan nivo LDL ne isključuje prisustvo drugih poremećaja aterogenih lipoproteina kao što su nizak HDL, visok apoB, prisustvo malih gustih LDL [351]. Nivo TG je zajednička mera sadržaja TG u svim cirkulišućim lipoproteinima sa većinom koja potiče iz lipoproteina koji sadrže apolipoprotein B. Partikule koje sadrže apolipoprotein B su primarni transporteri TG u krvi, transportujući ih ka periferiji. Lipoproteini koji sadrže Apo B se mogu podeliti na: 1) partikule koje sadrže apoB₄₈ –hilomikroni koji potiču od lipida koje se unose hranom a koji nastaju u enterocitima u digestivnom traktu i 2) partikule koje sadrže apoB₁₀₀ – VLDL, IDL, LDL, Lp(a). Primarna lipoproteinska partikula koju sekretuje jetra je VLDL, i ona je bogata sa TG. IR u jetri i perifernim tkivima dovodi do

povećane mobilizacije slobodnih masnih kiselina do jetre što uzrokuje povećanu sekreciju VLDL iz jetre koje su dodatno obogaćene sa TG, a što se klinički manifestuje kao povećana koncentracija TG našte [197]. Kada se jednom nađu u cirkulaciji VLDL razmenjuju svoj sadržaj sa HDL i LDL. Kada ove TG bogate partikule podlegnu dejstvu različitih lipaza dolazi do stvaranja npr. malih HDL partikula koje su sposobne da lako podlegnu metabolizmu i ekskreciji bubrezima, zbog čega i nastaje nizak HDL. Slično, i kada TG bogate LDL partikule podlegnu lipolizi, nastaju manje i visoko aterogene LDL partikule koje su mnogo više podložne oksidaciji nego obične LDL partikule i mnogo lakše se preuzimaju u subintimalni sloj krvnih sudova [352]. Ovakvo stvaranje malih gustih LDL počinje već na nivou serumskih TG većih od 1.13 mmol/L, a što je značajno niži nivo u odnosu na onaj koji je prihvaćen kao abnormalan prema sadašnjim vodičima [353].

Prema istraživanjima u opštoj populaciji dislipidemija je najčešći komorbiditet gojaznosti, i to češće nego T2DM i hipertenzija, a prevalenca dislipidemije značajno raste sa porastom BMI [185]. Dislipidemija je glavna posledica disfunkcije adipocita i masnog tkiva [354]. Tokom pozitivnog kalorijskog balansa, osobe sa genetskom predispozicijom mogu imati oštećenu adipogenezu tj. oštećenu proliferaciju i /ili diferencijaciju perifernog subkutanog tkiva. Zbog ograničenog prostora za deponovanje energije, dolazi do porasta slobodnih masnih kiselina u cirkulaciji. Povećan dolazak slobodnih masnih kiselina do ne-adipoznih tkiva kao što je jetra može da dovede do nastanka masne jetre što se takođe smatra indikatorom opterećenog deponovanja energije u subkutanom tkivu [197]. Tako je nalaz masne jetre najčešći među pacijentima koji su prekomerno uhranjeni i koji imaju razvijene metaboličke komplikacije kao što su T2DM, hipertenzija, dislipidemija.

Dislipidemija u PCOS predstavlja jednu od najčešćih metaboličkih komplikacija u ovom sindromu sa prevalencom od oko 70% pacijentkinja [83,85]. Samim tim, i obzirom na sve gore navedeno, procena dislipidemije kod žena sa PCOS je od izuzetne važnosti obzirom da se na taj način uvođenjem rane terapije u ovoj populaciji rizičnih žena može na vreme prevenirati nastanak posledica dislipidemije, a pre svega KVB.

Kao i svi drugi parametri kod žena sa PCOS, i analiza lipidograma u različitim studijama daje različite rezultate, a ovi heterogeni podaci su posledica različitih etničkih, rasnih, demografskih karakteristika ispitivanih populacija, ali i posledica toga što se često u studijama ne uzimaju u obzir i razlike u godinama starosti i BMI pri poređenju nalaza žena sa PCOS sa zdravim ženama.

Dislipidemija u PCOS populaciji se najčešće javlja u vidu niskog HDL, povećanih TG i nešto ređe povećanog LDL i TC [84,355]. Skorašnja meta analiza je pokazala da žene sa PCOS bez obzira na BMI, imaju veće koncentracije TC, TG, LDL i niže koncentracije HDL u odnosu na reproduktivno zdrave žene [129]. Visok nivo triglicerida i nizak HDL koreliraju sa postojanjem IR i ujedno su i nezavisni prediktori KVB [356]. Smanjeni HDL, povećani TG, povećana koncentracija malih gustih LDL partikula predstavljaju aterogenu dislipidemiju koja je postala važni marker za povećani rizik za KVB kod pacijenata sa gojaznošću, MetS, IR i T2DM [357]. Međutim, do sada sprovedene studije nisu konzistentne po pitanju prevalencije različitih oblika aterogene dislipidemije kod žena sa PCOS, a što može biti povezano i sa genetskim i sredinskim faktorima, ali i sa heterogeničnošću PCOS fenotipova. Svakako način života, fizička aktivnost i navike u ishrani imaju ulogu u nivou lipida zbog čega su na primer Carmina i sar. ukazali da su ovi faktori bar delom odgovorni za razlike u nivou lipida koji je uočen između američke i italijanske populacije žena sa PCOS [134]. Takođe, koliko etnička pripadnost, pored navika u ishrani i drugih sredinskih faktora ima uticaja na nivo lipida, govori studija Zhang i sar. koji su pokazali da najveći stepen dislipidemije od svih fenotipova ima fenotip D koji je inače imao i najveći stepen gojaznosti od svih ostalih fenotipova [358]. U našoj studiji su žene sa PCOS, u odnosu na zdrave žene ujednačene prema BMI i godinama starosti imale značajno veće vrednosti TC, LDL i TG, dok su vrednosti HDL bile iste. Nizak HDL spada u najvažnije prediktore rizika za KVB i kod žena i kod muškaraca nezavisno od etničke pripadnosti [359]. HDL je glavni lipoprotein reverznog holesterolskog transporta koji omogućava mobilizaciju, eksteralizaciju i dostavljanje viška sistemskog holesterola nazad u jetru za uklanjanje. Dodatno HDL partikule održavaju endotelijalni integritet potenciraju vaskularnu relaksaciju inhibišu adheziju krvnih ćelija na vaskularni endotel, redukuju

agregabilnost trombocita i koagulaciju, potenciraju fibrinolizu, antagonizuju lipidnu oksidaciju inflamaciju i trombozu učestvuju u imunskim procesima i funkcionišu kao rezervoar apoproteina [360,361]. Sumarno, za razliku od lipoproteina koji sadrže apoB, HDL su antiaterogene i njihov glavni apoprotein je apo-A1. Iako postoji veliki broj genetskih polimorfizama koji može da individuu predisponira da ima nizak HDL, skorašnja studija na Framinghamskim potomcima je pokazala da nizak HDL povećava rizik za koronarnu bolest samo ukoliko postoji u prisustvu IR (HR 2.83 u poredjenju sa osobama bez IR) [362]. U drugoj studiji je sugerisano da za svakih 0.03mmol/L redukcije HDL, rizik za nastanak DM2T raste za 4 % [260].

U studiji Rocha i sar. prevalenca dislipidemije je u PCOS grupi bila duplo veća nego u kontrolnoj grupi (76.1% vs. 32.3%), a najčešća registrovana abnormalnost je bila nizak HDL (57.6%) i visoki TG (28.3%) [363]. Slično, Shroff i sar. su pokazali prevalencu niskog HDL od 46.5% [164]. U našoj studiji je prevalenca niskog HDL bila takođe najviše zastupljena od svih drugih tipova dislipidemije, ali je bila značajno visoka i u KG, što je i uslovalo da između ove dve grupe ispitanica nema značajne razlike. Ovakav rezultat može biti karakteristika naše populacije uopšte. Druga po redu zastupljenosti je bila visoka prevalenca visokog LDL kao i non-HDL, i oba ova parametra su bila značajno viša kod žena sa PCOS u odnosu na KG. Procentualno najmanje zastupljena je bila prevalenca hipertrigliceridemije, ali je bila značajno veća kod PCOS u odnosu na KG. Ovi rezultati su u suprotnosti sa podacima koji pokazuju da PCOS žene iz podneblja Mediterana najčešće imaju TG i LDL u granicama normale ali koji su značajno veći od kontrola, dok je HDL obično snižen ispod referentnih vrednosti [135,220,364]. U drugim studijama se često nalaze niže vrednosti HDL kod žena sa PCOS u odnosu na KG [135,164,166,364] a postoje i studije u kojima nije pokazana razlika u koncentraciji triglicerida između PCOS i zdravih žena [135,194].

Iako je LDL primarni ciljni lipoprotein za redukciju KVS bolesti, visoka prevalenca MetS kod žena sa PCOS [101,124] je uslovila da se pažnja koncentriše na promene u nivou TG i HDL dok se relativno malo pažnje poklanja drugim lipidima. Međutim u proteklim godinama veliki broj studija je registrovao povećan nivo LDL kod žena sa PCOS [83,365-

367], uključujući i ovo istraživanje. I skorašnja meta analiza Wild i sar. je pokazala da je LDL povećan kod žena sa PCOS u odnosu na KG, čak i kada se sprovede BMI uparivanje, ali da postoji značajan varijabilitet nivoa LDL u različitim studijama, što je verovatno posledica više faktora kao što su etnička pripadnost, fenotip, kvalitet ishrane i telesna masa [129]. Zbog toga su skoro Društvo za višak androgena i PCOS Društvo u svom vodiču preporučili da kod žene sa PCOS treba analizirati kompletan lipidni profil kao i lipoproteine u sklopu analize KVS rizika [70]. Nije poznat razlog povećanog LDL kod žena sa PCOS, ali se smatra da može imati veze sa viškom androgena. Smatra se da androgeni povećavaju aktivnost lipoproteinske lipaze što dovodi do konverzije VLDL u LDL holesterol [368,369]. Dodatno insulinska rezistencija u PCOS doprinosi postojanju niskog HDL, visokog TG, LDL i non-HDL [287]. Pankreasne beta ćelije eksprimiraju LDL receptor, pa izlaganje ovih ćelija LDL, VLDL, oksidovanom LDL, redukuje insulinsku sekreciju i može da indukuje apoptozu što dovodi do progresivnog gubitka beta ćelija [370]. Sa druge strane HDL sprečava ćelijsku apoptozu izazvanu ovim stimulusima i dodatno zajedno sa ApoA1 stimulišu insulinsku sekreciju [197].

Pri podeli PCOS na fenotipove, razlike u nivou LDL između fenotipova i zdravih žena kao i između samih fenotipova su bile neznačajne, a to je verovatno posledica smanjenja veličine grupa kao i činjenice da je oko trećina ispitanica svake subgrupe imala visoke vrednosti LDL. U studiji Shroff i sar. kao i u našoj studiji, nije bilo razlike u koncentraciji LDL između fenotipova i KG [164]. I generalno, u studijama je čest nalaz izostanka značajnih razlika u vrednostima lipida između fenotipova kao i kontrola uparenih prema godinama starosti i BMI ili nakon ujednačavanja rezultata prema godinama starosti i BMI [127,162,168,203,242].

U našoj studiji, međutim, pri poređenju fenotipova sa zdravom populacijom su zaostale značajne razlike u nivou TC i non-HDL, koji su bili značajno veći u sva tri hiperandrogena fenotipa, a dobijen je i interesantan rezultat značajno većeg nivoa TG kod svih fenotipova (uključujući i fenotip D) u odnosu na zdrave žene. Ovaj poslednji nalaz visokih vrednosti TG u fenotipu D je u skladu sa našim nalazima povišene IR u ovom fenotipu u odnosu na zdrave žene. Slično našim rezultatima, Chae i sar. su pokazali da i

pored manjeg obima struka, žene sa fenotipom D u odnosu na BMI uparene kontrole imaju više trigliceride, uz sličan TC i HDL [127], ali je nalaz identičnog lipidnog profila između fenotipa D i zdravih žena sličnog BMI i obima struka češći nalaz u studijama [164,203,242].

Hipertrigliceridemija je definišuća karakteristika MetS i nastaje kao posledica povećane sekrecije TG-ima bogatih VLDL i smanjene hidrolize VLDL i hilomikrona u plazmi sekundarno zbog smanjene aktivnosti lipoproteinske lipaze (LPL). Insulinska rezistencija je jedan od faktora koji mogu da smanje aktivnost LPL [371]. Rezultat ovoga je povećanje koncentracija hilomikronskih i VLDL ostataka kao i TG. Sa smanjenom hilomikronskom lipolizom manje se oslobadja i apoA1 zbog čega se i smanjuje formiranje HDL čiji je apoA1 glavni sastojak. Dodatno HDL postaju sve bogatiji trigliceridima, a time postaju i bolji substrati za lipolizu od strane hepatične lipaze. Njihova progresivna lipoliza dovodi do toga da postaju termodinamski nestabilni i mogu da disociraju od apoA1. Apo A1 ovako slobodan se metaboliše u bubregu i to dovodi do dalje redukcije nivoa HDL. Dodatno, kako se masno tkivo uvećava i postaje više insulin rezistentno ono biva infiltrirano makrofazima koji formiraju proinflamatorni milje. Citokini koji se ovde oslabadjaju indukuju nishodnu regulaciju multiplih holesteroliskih transportnih proteina što smanjuje HDL lipidaciju [197]. Povećane koncentracije TG su glavni izvor produkcije malih gustih LDL koje su nezavisni prediktor kardiovaskularnih bolesti [372] a pokazano je da su povećani TG u PCOS udruženi sa postojanjem malih gustih LDL [85]. Cirkulišući TG su visoko zavisni od telesne mase i kvaliteta ishrane, ali i uglavnom ukazuju na stepen IR.

Non-HDL holesterol je mera sadržaja holesterola u LDL, IDL i VLDL partikulama i zbog toga je preporučen kao sekundarni terapijski cilj kod osoba sa visokim nivoom TG i smatra se da može biti surgat marker serumske koncentracije apoB u kliničkoj praksi [373]. Međutim nije uvek u korelaciji sa apoB naročito u prisustvu hipertrigliceridemije [374]. Kao i u našoj studiji i druge studije često pokazuju veće vrednosti non-HDL holesterola kod žena sa PCOS u odnosu na zdravu populaciju [129,364]. Prema vodičima za prevenciju KVS rizika u opštoj populaciji preporučuje se da se računa i non-HDL holesterol i čak da se ovaj lipidni indikator koristi kao jedan od najznačajnijih lipidnih parametara koje treba

pratiti i analizirati radi eventualnog uvođenja hipolipemijske terapije i to odmah nakon LDL[349].

Istraživanja su pokazala da pored klasičnih lipida, poremećaji u različitim lipoproteinima značajno povećavaju kardiovaskularni rizik [65,372]. Apolipoprotein A1 je glavna strukturalna proteinska komponenta HDL partikula i ima plejotropnu biološku funkciju: potenciranje efluksa holesterola iz makrofaga i stimulacija reverznog lipidnog transporta, inhibicija oksidacije LDL i razlaganje toksičnih fosfolipida kao i antiinflamaotorno dejstvo [88,375]. Insulin igra značajnu ulogu u regulaciji hepatične ApoA1 ekspresije i kada dodje do insulinske rezistencije u jetri, dolazi do smanjene apoA1 transkripcije kao i HDL sinteze [376]. Dodatno zbog postojanja elementa u promotoru ApoA1 koji odgovara na ugljene hidrate, u prisustvu visokih koncentracija glukoze u krvi dolazi do inhibicije ApoA1 sinteze [377]. Gojaznost i IR dovode dodatno do povećanja glomerularne filtracije u bubrezima čime se povećava klirens HDL sa jedne strane [378]. Sa druge strane dovode do smanjenja HDL funkcionalnosti obzirom da je HDL u tom slučaju obično više oksidovan i glikoliziran što smanjuje kapacitet za reverzni holesterolski transport i antioksidativnu funkciju [379]. Smatra se da je ApoA1 mnogo pouzdaniji parametar za merenje HDL nego sadržaj holesterola jer nije podložan varijaciji [373] ali su u našoj studiji oba rezultata komparabilna, obzirom da nije pokazana razlika ni u koncentraciji HDL ni ApoA1 kod naših žena sa PCOS u odnosu na KG. Apolipoprotein B je ligand LDL receptora pa samim tim tačno reprezentuje totalnu količinu potencijalno aterogenih cirkulišućih lipoproteina, obzirom da po jednoj partikuli koja sadrži apoB lipoproteine (LDL, lipoprotein intremedijarne gustine (IDL), VLDL i Lp(a) i hilomikroni) postoji samo po jedan apoB domen [89]. Iako postojanje malih gustih LDL partikula korelira sa nastankom koronarnih neželjenih događaja, [353] pokazano je da je kod pacijenata sa koronarnom bolešću mnogo veća prevalenca onih sa visokim ApoB u odnosu na one sa visokim LDL [380]. Tako su studije i pokazale da je apoB bolji prediktor velikih vaskularnih događaja nego LDL [197]. U PCOS populaciji su u nekim studijama pokazane veće koncentracije apoB u odnosu na KG [381] dok u drugim razlika nije bilo [382,383]. Odnos apoB/ApoA1 pokazuje balans između dva kompletno suprotna procesa: transport holesterola do perifernih tkiva sa njegovom posledičnom arterijskom internalizacijom i

reverzni transport u jetru [384]. Što je ovaj odnos veći, veća je količina holesterola iz aterogenih lipoproteina koji cirkulišu plazmom i veća je verovatnoća za indukciju endotelijalne disfunkcije i nastanak aterogenog procesa. Sa druge strane niži odnos ApoB/ApoA1 vodi u manju vaskularnu agresiju plazma holesterola i ukazuje na povećan i efikasniji reverzni transport holesterola čime se redukuje kardiovaskularni rizik [373]. Zbog svega navedenog odnos ApoB/ApoA1 se smatra kao dobar indikator koji reflektuje poremećaje lipida i potencijal za razvoj ateroskleroze [89,385,386]. Dodatno pokazano je da ApoB/ApoA1 kao odnos aterogenih i antianterogenih lipida je jako povezan sa MetS i IR i da bolje prediktuje KVS rizik u odnosu na bilo koje druge tradicionalno merene lipide [89,387-389]. Pored MetS i IR, ApoB/ApoA1 je asociran i sa incidencom DM2T, visceralnim adipozitetom i povećanim FAI [385]. Naša populacija žena sa PCOS je imala značajno veće vrednosti ApoB kao i odnosa apoB/ApoA1 u odnosu na zdrave žene sličnih godina i BMI, ali su se prilikom podele na fenotipove ove razlike izgubile verovatno kao posledica značajnog smanjenja veličine ispitivanih subgrupa. Slično našoj studiji, u dve studije na mediteranskoj populaciji žena sa PCOS nisu pokazane razlike u koncentraciji Lp(a)u PCOS i KG [382,383], dok je u trećoj studiji pokazana veća koncentracija Lp(a) u PCOS odnosu na KG [390].

U proceni rizika za budući razvoj aterosklerotskih bolesti, tj. kardiovaskularnih i cerebrovaskularnih bolesti, koriste se i različiti tzv. aterogeni indeksi. Pokazano je da kod osoba sa IR odnos TC/HDL bolje predviđa nastanak IBS u odnosu na LDL, HDL ili LDL/HDL odnos, a razlog za to je značajan doprinos visokog nivoa TG iz VLDL frakcije ukupnom nivou holesterola [351,391,392]. Odnos TC/HDL obuhvata poznate protektivne efekte HDL, loše efekte povećanog LDL, a podrazumeva i doprinos povećanog nivoa TG iz VLDL frakcije [391,393]. Odnosi TC/HDL i LDL/HDL su indikatori vaskularnog rizika i njihova prediktivna vrednost je veća nego njihovi pojedinačni parametri [359,373]. Odnos TG/HDL je identifikovan kao jednostavan način kojim se mogu otkriti insulin rezistentne osobe koje imaju povećani kardiovaskularni rizik [394]. Tako je nekoliko studija pokazalo da kod pacijenata koji nemaju dijabetes, TG i odnos TG/HDL pozitivno korelišu sa IR pa su i ove dve varijable predložene kao surogat markeri IR [394]. Međutim, ima i studija koje

nisu uspele da dokažu pozitivnu korelaciju između ovih varijabli i IR [395]. Pokazano je da odnos TG/HDL sposoban da identifikuje povećan kardiometabolički rizik uključujući razvoj DM2T i KVB kod naizgled zdravih osoba [396,397].

Svi navedeni lipidni odnosi su u našoj populaciji žena sa PCOS bili značajno veći u odnosu na zdrave žene sličnog BMI i godina starosti. Za razliku od nalaza lipoproteina, nakon podele na fenotipove nije došlo do gubitka značajnosti u razlikama lipidnih odnosa između fenotipova i KG, sem za odnos LDL/HDL koji se nisu razlikovali između fenotipova i zdravih žena. Pri tome je značajno veći odnos TC/HDL bio prisutan u fenotipovima A i C u odnosu na KG, dok se TG/HDL značajno razlikovao između svih hiperandrogenih fenotipova i KG. Ovaj poslednji nalaz je verovatno posledica veće IR u fenotipu B a koja se održava na odnos TG/HDL. Po svemu sudeći, lipidni odnosi su možda osetljiviji od nivoa lipoproteina prilikom ispitivanja lipidograma kod PCOS fenotipova, naročito ukoliko se radi o manjim grupama.

Naši rezultati ukazuju da kod fenotipa D ipak može postojati intrinzični metabolički poremećaj u smislu dislipidemije, manifestovane u našoj populaciji u vidu hipertrigliceridemije. Imajući u vidu vezu između IR i hipertrigliceridemije, ovaj nalaz dislipidemije u fenotipu D u odnosu na zdrave žene je u skladu i sa rezultatom povećane IR u fenotipu D merene QUICKI indeksom i nivoom SHBG. I dislipidemija prisutna u fenotipu C u odnosu na KG je u skladu sa povećanom IR u ovom fenotipu s tim da je spektar dislipidemije u ovom fenotipu veći u odnosu na fenotip D i podrazumeva da pored visokih TG, postoji i visoki TC i non-HDL, kao i odnosi TG/HDL i TC/HDL. U našoj studiji, sem SHBG i FAI, androgeni nisu korelirali sa lipidima i lipoproteinima, a što je u skladu sa nekim drugim studijama [287,398]. Zbog toga se može reći da sami androgeni, bar u našoj populaciji ispitanica, nemaju ulogu u modulaciji aterogene dislipidemije, već je to uslovljeno pre svega insulinskom rezistencijom.

U našoj studiji pri međusobnom poređenju fenotipova ujednačenih prema godinama starosti i BMI, nije dobijena razlika ni u jednom merenom lipidnom parametru. Ovaj nalaz je značajan jer ukazuje da nezavisno od gojaznosti svi fenotipovi, i klasični i neklasični, imaju isti rizik za postojanje aterogene dislipidemije. Slično našoj studiji, ni Shroff i sar.

nisu dobili razlike u nivou TC, TG, HDL i LDL kao ni lipidnih odnosa između fenotipova koji se međusobno nisu razlikovali ni prema BMI ni prema godinama starosti [164]. U studiji Barber i sar. viši HDL i niži TG u fenotipovima C i D u odnosu na fenotip A nisu održali statističku značajnost nakon prilagodjavanja prema BMI [203]. Takođe, većina studija nije utvrdila postojanje razlika u nivou lipida između fenotipa A i B, kao što je to slučaj i sa našom studijom [137,139,162-164,289]. Međutim postoje i studije u kojima je pokazano da i pored slične težine, BMI i odnosa obima struka i kuka, fenotip B u odnosu na fenotip A ima veći nivo LDL [168], LDL i ukupni holesterol [399] kao i trigliceride [127]. Suprotno tome, Ates i sar. su pokazali najveće koncentracije LDL u fenotipovima A i D, a koje su se značajno razlikovale od fenotipa B gde su bile najniže [168]. Neke studije su pokazale da PCOS žene sa fenotipom C u odnosu na ostale anovulatorne fenotipove a nakon ujednačavanja ispitanica prema godinama starosti i BMI pored nižih TG i viših HDL, imaju i niži UH, i LDL, povećan Lp(a) i niže koncentracije malih gustih LDL [193,287]. Sa druge strane u drugim studijama nakon ujednačavanja ispitanica prema BMI i godinama starosti, nema razlike u nivou lipida između fenotipa C i klasičnih fenotipova [162,203]. Daan i sar. su u studiji na velikoj populaciji žena sa PCOS i pre i nakon ujednačavanja ispitanica prema godinama starosti i BMI, dobili značajno niže koncentracije LDL i HDL kod fenotipa D u odnosu na klasične fenotipove, ali se nivo TG nije razlikovao između fenotipova [170]. Moghetti i sar. verifikovali niže koncentracije TG i više koncentracije HDL kod fenotipa D u odnosu na klasične PCOS fenotipove pri čemu je između njih postojala značajna razlika u BMI [183]. Slično našoj studiji, Kauffman i sar. su pokazali da žene sa fenotipom D u odnosu na klasične fenotipove uparene prema BMI i godinama starosti nemaju razlike u nivou lipida [242]. Suprotno tome postoji i studija u kojoj žene sa fenotipom D imaju čak i veće koncentracije TG u odnosu na klasične fenotipove [330]. Postoji veoma mali broj studija koji je poredio žene sa fenotipom C i D. Tako su slično našoj studiji, Kauffman i sar. su zaključili da između ova dva fenotipa nema razlike u lipidnom profilu [242].

5.8. Lipidni akumulacioni produkt

Lipidni akumulacioni produkt (LAP) je indeks formulisan od strane Kahn i saradnika, koji odražava stepen visceralne akumulacije masnog tkiva [146]. Ovaj indeks je formiran na osnovu podataka iz *Third National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES III), a baziran je na kombinaciji obima struka (minimalni obim struka specifičan za pol) i serumskih triglicerida, čime odražava i anatomske i fiziološke promene koje su udružene sa lipidnom hiperakumulacijom [146]. Iako je OS pokazatelj abdominalne gojaznosti, smatra se da ipak ne može da napravi razliku između subkutanog i visceralnog masnog tkiva [400]. Zbog toga je i postavljen koncept “fenotip hipertrigliceridemijskog struka” koji podrazumeva da osoba pored velikog OS ima i hipertrigliceridemiju, a za šta se pokazalo da je marker aterogene metaboličke trijade i prediktor hiperinsulinemije [401-404]. Imajući u vidu ove podatke, LAP bi mogao da služi kao jednostavan marker koji objedinjuje i OS i hipertrigliceridemiju. Tako je pokazano da je LAP moćan prediktor MetS u zdravoj populaciji [405,406], kao i nezavisni prediktor rizika za KVS bolesti i T2DM, i to bolji od OS i BMI pojedinačno [146,405,407,408]. Takođe je pokazano da LAP korelira sa mortalitetom pacijenata koji imaju visoki KVS rizik, a koji nemaju T2DM, kao i sa steatozom jetre [409,410]. LAP je jednostavan, jeftin i lak za izračunavanje i njegova primena u svakodnevnoj kliničkoj praksi bi značajno olakšala i ubrzala mogućnost raspoznavanja MetS kod žena sa PCOS. U populaciji žena sa PCOS postoji samo nekoliko studija koje su proučavale LAP kao marker metaboličkih poremećaja u ovom sindromu.

U našoj studiji žene sa PCOS su imale značajno veće vrednosti LAP-a u odnosu na zdrave žene sličnih godina starosti i BMI. Prosečna vrednost LAP-a u našoj studiji u PCOS grupi je komparabilna sa vrednostima LAP-a dobijenim u drugim studijama a koje najčešće pokazuju, kao i naša, značajno veće vrednosti LAP-a kod žena sa PCOS u odnosu na zdrave žene sličnih godina i BMI [408,411,412]. Jedino u studiji Hosseinpanah i sar.nije bilo značajne razlike u nivou LAP između zdravih i PCOS žena, a razlog za to bi mogao biti identičan OS i nivo TG u obe grupe ispitanica [411].

Značajne i jake korelacije između LAP-a i masnog tkiva celog tela kao i trbušnog masnog tkiva koje smo pokazali u našoj grupi žena sa PCOS, potvrđuju ulogu LAP-a kao surogat markera centralne akumulacije masnog tkiva. Istovremeno, jake korelacije LAP-a sa svim ovde proučavanim markerima insulinske rezistencije ukazuju na mogućnost korišćenja LAP-a kao surogat markera i insulinske rezistencije. Dodatno, ova jednostavna formula značajno korelira i sa vrednostima sistolnog i dijastolnog pritiska. Da hiperandrogenemija nema uticaja na LAP govori izostanak korelacija između LAP-a i svih merenih androgena, a jedina i jaka korelacija između LAP-a i SHBG-a ponovo ističe SHBG kao marker IR kod žena sa PCOS. Značajna korelacija LAP-a i SHBG-a je i jedini razlog postojanja značajne korelacije LAP-a i FAI.

Wehr i sar. su tako pokazali da LAP predviđa postojanje IGT-a kod žena sa PCOS, a predložena granična vrednost u ovoj studiji je 41.8 (AUC 0.86, SEN 82.3%, SP 90.5) [412]. I rezultati našeg istraživanja govore u prilog toga da LAP može da služi kao surogat marker i IFG-a i IGT-a, s tim da je granična vrednost u našoj studiji za LAP značajno niža (25.94). Ovaj rezultat može biti posledica populacionih razlika u našoj i studiji Wehr i sar. Treba napomenuti da je statistička značajnost naše granične vrednosti od 25.94 nešto slabija u odnosu na Wehr i sar. a to je posledica pre svega značajno manje prevalence IGT-a u našoj studiji (4.2%) u odnosu na gore pomenutu (10.4%). Wiltgen i sar. su u svojoj studiji pokazali da slična granična vrednost našoj, (34.5) predviđa postojanje IR (merene sa HOMA-IR) kod žena sa PCOS [408]. Dodatno, Hosseinpanah i sar. su pokazali da granična vrednost LAP-a u (34.1) u populaciji žena sa PCOS, ne samo da predviđa IR merenu sa HOMA-IR, već je značajno bolji prediktor i od BMI, OS ili odnosa OS/OK [411].

Do sada se ni jedna studija nije bavila proučavanjem LAP-a u PCOS fenotipovima. U našem istraživanju smo verifikovali značajno veće vrednosti LAP-a kod žena sa hiperandrogenim fenotipovima (A, B i C) u odnosu na zdrave žene sličnih godina starosti, dok razlika nije bilo između zdravih žena i fenotipa D, koje se istovremeno nisu razlikovale prema OS. Pri međusobnom poređenju fenotipova, obzirom na visinu vrednosti LAP-a i razlika između fenotipova, najveći kardiometabolički rizik meren LAP-om su imali klasični

fenotipovi A i B, intermedijaran C i najmanji fenotip D. Ovo inicijalno poređenje je urađeno bez ujednačavanja prema BMI, obzirom da bi smo na taj način isključili efekat gojaznosti koja je preko OS sadržana u samoj formuli LAP-a. Međutim, treba imati u vidu da su naše žene sa PCOS fenotipom D istovremeno imale i isti OS, a manji BMI od zdravih žene sličnih godina starosti. Iz tog razloga je ponovljena analiza po ujednačavanju ispitanica i prema godinama starosti i BMI, a koja je pokazala da pored hiperandrogenih fenotipova i žene sa fenotipom D imaju značajno veći LAP u odnosu na zdrave žene. Istovremeno između fenotipova nije bilo značajne razlike u nivou LAP-a. Ovaj nalaz je samo još jedan koji govori u prilog toga da i fenotip D, a naročito fenotip C imaju ako ne identičan onda vrlo sličan kardiometabolički rizik kao i ostali klasični PCOS fenotipovi.

5.9. Metabolički sindrom

Metabolički sindrom (MetS) je skup kardiometaboličkih faktora koji predisponira osobu za nastanak T2DM i KVB [413]. Tako se procenjuje da osobe sa metaboličkim sindromom imaju tri puta veći rizik za pojavu koronarne bolesti i T2DM [414]. Rizik za pojavu MetS kod žena sa PCOS je oko 11 puta veći u odnosu na zdrave žene [415]. To ujedno i znači da žene sa PCOS imaju istovremeno i bar 11 puta veći rizik za pojavu KVS bolesti već u ranoj životnoj dobi. Još uvek nije jasno da li je MetS samo o jednostavan skup udruženih faktora rizika ili se zaista radi o sindromu. Sama etiologija MetS nije u potpunosti poznata ali se smatra da su predisponirajući faktori starenje, inflamacija, sedentarni način života i genetika. Eksperimentalne i epidemiološke studije su pokazale da bi IR i visceralni adipozitet mogli biti osnova ovog sindroma [416].

Rana i tačna identifikacija osoba koje su u visokom riziku za nastanak MetS je važna obzirom da omogućava prevenciju KVS bolesti i T2DM. Obzirom da nekoliko faktora rizika za KVB i T2DM imaju tendenciju da se javljaju zajedno (hipertenzija, dislipidemija, hiperglikemija i abdominalna gojaznost), Evropsko društvo je dalo niz preporuka za kliničare koji bi trebalo da tokom rutinskih kliničkih pregleda analiziraju postojanje istih, i to kod svih pacijenata koji su u riziku, a među koje spadaju i žene sa PCOS [349]. Tako se prema ovim preporukama osobe sa visokim metaboličkim rizikom

definišu kao one koje najčešće imaju povećane lipoproteine koje sadrže apolipoprotein B (LDL i VLDL) sa povećanim TG, redukovan nivo HDL, povećanu glikemiju hipertenziju, povećan obim struka, protrombotsko i proinflamatorno stanje [349]. Tako se preporučuje da se ispitivanje svih komponenti MetS kod pacijenata u riziku sprovodi na svake 3 godine, dok kod osoba kod kojih je verifikovan predijabetes (IFG ili IGT) ispitivanje postojanja T2DM treba da se sprovodi na 1-2 godine. Prepoznavanje postojanja rizika za MetS kao i već razvijenog MetS je od izuzetne važnosti obzirom da se različitim higijensko-dijetetskim merama i medikamentima može prevenirati razvoj njegovih komplikacija. Tako je u jednoj studiji pokazano da intenzivna modifikacija života može da smanji rizik za nastanak dijabetesa za 58% a prevalencu MetS za 41%, a što je čak i bolji efekat nego efekat insulinskog senzitivizera metformina koji je u istoj studiji redukovao dijabetes kod 31%, a prevalencu MetS za 17% [250].

Obzirom da je prevencija KVB i T2DM od izuzetnog značaja naročito kod osoba koje su u riziku, postoji potreba da se razvije jednostavan, tačan i ekonomični prediktor MetS kod žena sa PCOS.

Metabolički sindrom ima mnogo sličnosti sa PCOS uključujući i često prisustvo abdominalne gojaznosti i IR pa pojedini istraživači smatraju da PCOS može biti jedna od MetS karakteristika [417]. Naše analize su pokazale da je PCOS sam po sebi svakako nezavisan prediktor postojanja MetS dijagnostikovanog prema sve tri definicije. Pri tome, žene sa PCOS imaju prosečno oko 3.5 veći rizik za pojavu MetS definisanog prema NCEP-ATP III od zdravih žena, dok je rizik za pojavu MetS definisanog prema Joint i IDF kriterijumima nešto manji i iznosi oko 1.8. Razlog ovih razlika su najverovatnije sami kriterijumi svake od primenjenih definicija. Naime, i IDF i JIS definicije podrazumevaju postojanje granične vrednosti za OS 80cm, dok NCEP-ATP III definicija ima nešto veću graničnu vrednost ovog parametra od 88cm. Obzirom na prevalencu pojedinačnih MetS kriterijuma u našoj populaciji ispitanica, vidi se da i PCOS i u KG oko 50% žena ima OS veći ili jednak 80cm. Ovaj nalaz može biti karakteristika naše populacije ispitanica zbog načina regrutovanja za ovu studiju, ali eventualno i naše populacije žena generalno, obzirom da ne postoje podaci o prosečnom obimu struka (niti o jednom drugom parametru

MetS) kod žena u našoj populaciji. I pored toga što smo pokazali da je prevalenca MetS u PCOS pri korišćenju sve tri definicije veća nego u KG, nalaz veće prevalencije OS ≥ 88 cm kod žena sa PCOS u odnosu na KG, a istovremeno ista prevalenca OS ≥ 80 cm u ove dve grupe, ukazuje da je možda za našu populaciju žena sa PCOS najbolje koristiti ATP III kriterijume radi bolje diskriminacije žena sa MetS. Slična situacija je i sa kriterijumom disglukemije, obzirom na nalaz iste prevalencije rigidnijeg kriterijuma (5.6mmol/L) IDF definicije u PCOS i KG, u odnosu na kriterijum glikemije naše od 6.1mmol/l iz NCEP-ATP III definicije.

Iako postoje studije u kojima nije pokazana povećana prevalenca MetS kod žena sa PCOS u odnosu na KG [418,419], ipak se u literaturi češće viđa povećana prevalenca MetS i njegovih individualnih komponenti kod žena sa PCOS, ali su rezultati vrlo heterogeni [101,124,134,418,420-425]. Naime, prevalenca metaboličkih abnormalnosti kod žena sa PCOS značajno varira između različitih etničkih grupa i zemalja, čak i između različitih regija iste zemlje, a što je verovatno posledica razlika u dijeti, načinu života i genetskim faktorima [164,420,426,427].

Rezultati naše studije pokazuju da žene sa PCOS imaju značajno veću prevalencu u odnosu na KG bez obzira na to koje se definicije tj kriterijumi za MetS koriste. Međutim prevalenca MetS razlikuje u zavisnosti od toga koji se kriterijumi primenjuju. Naime, NCEP-ATP III, pokazuje nešto nižu prevalencu MetS u PCOS u odnosu na druge dve definicije (IDF i Joint). Ista situacija je i u KG s tim da je prevalenca MetS prema IDF i Joint kriterijumima u ovoj grupi čak 2 puta veća u odnosu na prevalencu MetS prema NCEP-ATP III definiciji. Ovi rezultati pokazuju da se korišćenjem manje rigidnih kriterijuma (kao što je npr. OS ≥ 80 cm u IDF i Joint definiciji) ujedno povećava i prevalenca MetS i u kontrolnoj grupi zdravih žena, a što može biti objašnjenje za nalaze istih prevalencija MetS u PCOS i zdravoj populaciji u nekim drugim studijama. Pri tome se može reći da obaveznost OS kriterijuma u IDF definiciji ne igra značajnu ulogu u konačnom rezultatu prevalencije MetS imajući u vidu da skoro 50% naše i PCOS i zdrave populacije žena ima zadovoljen ovaj kriterijum svakako. Kao što je prethodno i objašnjeno, i ovi

rezultati ukazuju da je radi bolje diskriminacije žena sa MetS, bar u našoj populaciji, možda najbolje koristiti NCEP-ATP III, a ne druge definicije MetS.

U studiji Panidis i sar. prevalenca MetS je u PCOS populaciji bila značajno veća u odnosu na zdrave žene ujednačene sa PCOS prema BMI jedino pri korišćenju NCEP-ATP III kriterijuma, dok se prevalence MetS nisu razlikovale pri korišćenju IDF i Joint kriterijuma, i istovremeno su bile oko 2 puta veće u odnosu na prevalencu MetS prema NCEP-ATP III kriterijumima (kao i u našem istraživanju) [111]. U nekoliko drugih studija je pokazano da se prevalenca MetS prema IDF i Joint kriterijumima ne razlikuje između PCOS i prema BMI ujednačenih kontrola [418,423]. U svakom slučaju, i pored navedenog, prevalenca MetS prema sve tri korišćene definicije je kod naših žena sa PCOS bila značajno veća u odnosu na zdrave žene sličnog BMI i godina starosti. To ujedno znači da naša populacija ispitanica sa PCOS ima značajno veću prevalencu MetS nezavisno od godina starosti i BMI u odnosu na zdravu populaciju žena, bez obzira na vrstu korišćenih definicija. Za razliku od naše studije, u većini drugih studija u kojima je pokazana veća prevalenca MetS u PCOS populaciji u odnosu na zdravu, žene sa PCOS su bile gojaznije u odnosu na zdravu populaciju žena zbog čega se na osnovu ovih studija nije moglo zaključiti da li je veća prevalenca MetS u PCOS posledica gojaznosti ili sindroma *per se* [124,134,418,423-425].

U Tabeli 48. su prikazani podaci o prevalenci MetS u našoj populaciji žena sa PCOS u odnosu na druge studije. Kao što se vidi, rezultati različitih studija su heterogeni i često se u radovima viđa odsustvo kontrolne grupe zdravih žena u odnosu na koje bi se ispitanice sa PCOS poredile. Rezultati prevalence MetS u našoj populaciji žena sa PCOS su slični nekim, a značajno se razlikuju od drugih studija. Međutim, ono što je karakteristično je da je ipak prevalenca MetS u našoj KG značajno niža nego u drugim studijama. Ovo može biti posledica metodoloških razlika, obzirom da nisu u svim studijama korišćene metode ujednačavanja ispitanica prema godinama starosti i/ili BMI ili uparivanja ispitanika prema ovim karakteristikama. U svakom slučaju oko petina naših žena sa PCOS koje su istovremeno populacija žena mlađe životne dobi (druga i treća decenija života) ima već razvijen MetS bez obzira definiciju koja se koristi za postavljanje dijagnoze. To znači da

one već sad imaju bar tri zadovoljena kriterijuma za MetS, odnosno istovremeno i bar tri kardiometabolička faktora rizika. Ovaj deo populacije naših ispitanica sa PCOS bi već mogao da ima koristi od različitih mera prevencije daljih komplikacija MetS koje su se pokazale efikasnim u opštoj ali i u PCOS populaciji. Dodatno brza i pravovremena dijagnoza MetS kod ovih žena bi mogla značajno da utiče na njihovo zdravstveno stanje ali i buduće ekonomsko opterećenje zdravstvenog sistema.

Tabela 48. Prevalenca MetS prema različitim definicijama u PCOS populaciji vs. kontrolna grupa u našoj i drugim studijama

Studija	ATP III	IDF	Joint
Naša studija	20.4% vs. 2.7% p<0.001	23.5% vs. 9.7% p=0.002	24.1% vs. 9.5% p=0.001
Kyrkou i sar. 2015 [428]		12.6% vs. 1.9% p<0.001	
Sharma i sar. 2015 [429]	39.2% vs. 23.8% p=0.034		
Li i sar. 2014 [430]	14.2% vs. 9.3% p<0.001		
Moggetti i sar. 2013 [183] *	31.3%		32.8%
Panidis i sar. 2013 [111]	15.3% vs 10% p=0.021	28.9% vs 23.8% p>0.05	29.5% vs 23.8% p>0.05
Kar i sar. 2013 [169] *			35%
Xiang i sar. 2012 [431] *		42.8%	
Zhang i sar. 2012 [358]	25.6% vs 4.7% p<0.001		
Yildiz i sar. 2012 [131]	10.3%		
Mandrelle i sar. 2012 [432] *	37.5%		

*studija nije imala kontrolnu grupu

Tabela 48 (nastavak). Prevalenca MetS prema različitim definicijama u PCOS populaciji vs. kontrolna grupa u našoj i drugim studijama

Studija	ATP III	IDF	Joint
Yilmaz i sar. 2011 [166]	18.9% vs. 6.8% p=0.058		
Rizzo i sar. 2011 [364]			7.1% vs. 3.5% p<0.05
Mehrabian i sar. 2011 [433] *	25%		
Goverde i sar. 2009 [130] *	15.9%		
Bhattacharya i sar. 2008 [434] *	46.2%		
Hahn i sar. 2007 [423]		33.8% vs.7.3% p<0.001	
Carmina i sar. 2006 [134]	8.2% vs. 2.4% p<0.05		
Dokras i sar. 2005 [415]	47.3% vs. 4.3% p<0.001		

*studija nije imala kontrolnu grupu

U našoj populaciji žena sa PCOS, najzastupljeniji kriterijum MetS su obim struka i nivo HDL, potom hipertenzija, zatim nivo triglicerida i u najmanjoj meri disglukemija. U KG postoji sličan redosled zastupljenosti MetS kriterijuma s tim da su prevalenca hipertrigliceridemije i hipertenzije pre svega, a potom i NCEP-ATP III kriterijumi za OS i disglukemiju značajno niži u odnosu na PCOS. Ovi rezultati se uglavnom poklapaju sa studijom Ehrmann i sar. koji su na velikoj populaciji PCOS ispitanica, pokazali da su najčešće MetS karakteristike prisutne kod žena sa PCOS povećan OS, nizak HDL, povećani TG, ali i, za razliku od našeg istraživanja, i hiperglikemija [201].

Analizom prevalencije broja zadovoljenih NCEP-ATP III kriterijuma vidi se da se naše ispitanice iz PCOS i KG grupe, ujednačene prema godinama starosti, ne razlikuju prema postojanju 1 ili 2 (bilo kog) kriterijuma MetS, ali postoji značajno veća prevalenca žena sa PCOS koje imaju 3 ili 4 bilo koja kriterijuma, odnosno veća prevalenca zdravih žena koje nemaju ni jedan zadovoljen kriterijum za MetS. To znači da žene sa PCOS imaju istovremeno i veću prevalencu odnosno veći broj zadovoljenih pojedinačnih kriterijuma MetS u odnosu na zdrave žene istih godina i BMI, što vodi i u veću prevalencu samog MetS kod ovih žena. Ovaj nalaz ukazuje i na značajnost evaluacije MetS i pri inicijalnoj prezentaciji PCOS obzirom da će već pri prvom kontaktu sa zdravstvenim sistemom, većina žena sa PCOS, iako mlade, imati već dovoljan broj zadovoljenih kriterijuma za postojanje MetS.

Do sada sprovedene studije još uvek nisu dale odgovor na pitanje da li neklasični PCOS fenotipovi (C i D) imaju iste metaboličke posledice kao i klasični PCOS fenotipovi (A i B). Samim tim otvara se i pitanje u svakodnevnom kliničkom radu – da li bi trebalo da razmatramo i redovno evaluiramo postojanje metaboličkog sindroma kod svih PCOS fenotipova?

Kao i pri analiziranju cele PCOS grupe, i pri analizi fenotipova je pokazano da je prevalenca MetS prema NCEP-ATP III kriterijumima nešto niža u odnosu na prevalencu MetS prema IDF i Joint kriterijumima i to u svim fenotipovima, sem u fenotipu D u kome su sva tri kriterijuma pokazala identičnu prevalencu. Razlog ovih rezultata je korišćenje veće granične vrednosti obima struka u NCEP-ATP III kriterijumim (88cm) u odnosu na druge dve definicije (80cm). Dodatno, obzirom da su u našoj studiji žene sa fenotipom D imale prosečno i najmanji obim struka, prevalenca MetS u ovom fenotipu je praktično proizašla iz postojanja drugih kriterijuma a koji su isti u svim definicijama MetS pa je to ujedno i razlog iste prevalencije MetS u fenotipu D prema svim MetS definicijama, i pre i nakon ujednačavanja ispitanica prema BMI.

Rezultati naše studije pokazuju da žene sa fenotipom A i B imaju značajno veću prevalencu MetS prema svim definicijama, u odnosu na zdrave žene istih godina starosti.

Fenotip C ispoljava veću prevalencu MetS prema NCEP-ATPIII i Joint kriterijumima u odnosu na KG istih godina starosti, ali ne i prema IDF kriterijumima MetS. Razlog ovog rezultata je najverovatnije najpre taj što se sa snižavanjem granične vrednosti obima struka kao uslova za postojanje MetS značajno povećava prevalenca MetS u KG i prema IDF i prema Joint kriterijumima. Dodatno, obaveznost kriterijuma povećanog obima struka u IDF definiciji snižava prevalencu MetS u PCOS fenotipu C u odnosu na Joint kriterijume i ovaj efekat je ujedno prisutan samo u fenotipu C i ni u jednom drugom fenotipu (čak ni u fenotipu D). Ovaj nalaz je značajan obzirom na to da bi u budućim studijama praćenja razvoja kardiom metaboličkih komplikacija kod ovih žena, mogao da ukaže da je korišćenje IDF kriterijuma za analizu postojanja MetS u fenotipu C pa i u PCOS generalno, neprihvatljivo, ukoliko bi se u budućim studijama praćenja pokazalo da žene sa fenotipom C razvijaju iste kardiom metaboličke posledice kao i žene sa drugim PCOS fenotipovima.

Inicijalno, fenotip D u našem istraživanju se prema prevalenci MetS nije razlikovao od zdravih žena istih godina starosti ni prema jednoj primenjenoj definiciji. Međutim, pri isključivanju BMI kao faktora koji doprinosi razlikama između fenotipova i zdravih žena, jedino je prema NCEP-ATP III definiciji pokazano da fenotip D ima veću prevalencu MetS u odnosu na KG. To bi bilo posledica pre svega povećane prevalencije hipertenzije obzirom da je jedino prevalenca ovog pojedinačnog kriterijuma veća kod fenotipa D u odnosu na KG po ujednačavanju ispitanica prema godinama starosti i BMI.

Poređenje rezultata naše studije i drugih je dato u Tabeli 49. Studije uglavnom pokazuju da se prevalenca MetS u fenotipu D ne razlikuje od prevalencije MetS u kontrolnoj grupi, dok fenotipovi A, B i C imaju 6-8 puta veću verovatnoću da imaju MetS u odnosu na kontrolne žene slične životne dobi i BMI [164,203]. Yilmaz i sar. su pokazali da PCOS sa OS manjim od 88cm nemaju MetS [166], a Daskalopoulos i sar. da normalno uhranjene žene sa PCOS nemaju MetS prema Joint definiciji [220]. U istoj studiji je verifikovana identična prevalenca MetS kod gojaznih PCOS i gojaznih kontrola, i između fenotipova nije bilo značajne razlike.

Generalno se smatra da su fenotipovi A i B u većem metaboličkom riziku nego ostali PCOS fenotipovi [162,220,293]. U velikoj multicentričnoj studiji Daan i sar. u kojoj je analizirano preko 1000 žena sa PCOS pokazano je da sva tri fenotipa sa HA (fenotipovi A, B i C) imaju značajno veći kardiometabolički rizik u odnosu na normoandrogeni fenotip D čak i nakon prilagođavanja rezultata godinama starosti, etničkoj pripradnosti i pušenju [170]. I druge pojedinačne studije su pokazale da žene sa normoandrogenim fenotipom najčešće imaju niže prevalencije MetS i hipertenzije u odnosu na hiperandrogene fenotipove i prema ovim parametrima su komparabilne sa zdravim ženama, a sa druge strane su gojaznost i povišen LDL relativno česti kod ovog fenotipa [101,105,435].

Tabela 49. Prevalenca MetS prema različitim definicijama u PCOS fenotipovima u našoj i drugim studijama

Studije	ATP III					IDF					Joint				
	A	B	C	D	KG	A	B	C	D	KG	A	B	C	D	KG
Naša studija	22.3%	27.5%	18%	6.9%	2.7%	25.3%	34.1%	21.3%	7%	9.7%	25.9%	33.4%	23.1%	7.1%	9.5%
Daan i sar. 2014 [170]	25.8%			6.5%	/										
Moghetti i sar. 2013 [183]	39.1%		28.6%	9.5%											
Ates i sar. 2013 [168]	11.4%	9.3%	6.9%	6.6%	5.2%										
Kar i sar. 2013 [169]	20.3%	53.3%	/	2.9%							28%	53%	/	3%	
Zhang i sar. 2012 [358]	23.2%	18.9%	20%	34.7%	4.7%										
Yilmaz i sar. 2011 [166]	23.2%	16.6%	20.7%	8.3%											

Tabela 49 (nastavak). Prevalenca MetS prema različitim definicijama u PCOS fenotipovima u našoj i drugim studijama

Studije	ATP III					IDF					Joint				
	A	B	C	D	KG	A	B	C	D	KG	A	B	C	D	KG
Goverde i sar. 2009 [130]	20.8%	100%	/	0%											
Shroff i sar. 2007 [164]	36.1%	41.3%	42.3%	20.3%	8.3%										
Barber i sar. 2007 [203]						29.3%		6.6%	7.1%	3.9%					
Welt i sar. 2006 [162]	22.2%		10.5%	5.6%	11.1%										

Ovi rezultati su u skladu sa nalazom nekih studija koje su pokazale da je hiperandrogenizam kod žena sa PCOS udružen sa povećanom prevalencom metaboličkih poremećaja [101,129-131,436]. Međutim, u nekim pojedinačnim studijama, žene sa fenotipom C iako su hiperandrogene ipak imaju manju prevalencu MetS u odnosu na klasične PCOS fenotipove [162,203]. Dodatno, ispitivanje žena sa idiopatskim hiperandrogenizmom nije pokazalo postojanje veće prevalencije različitih kardiometaboličkih rizika u odnosu na zdrave žene [193], pa se analogno ovome ne može tvrditi da fenotip D ima blažu kliničku sliku zato što je normoandrogen, kao i da androgeni generalno imaju eksplicitnu ulogu u razvoju kardiometaboličkih komplikacija. Sa druge strane postoje i studije koje nisu verifikovale nikakve razlike između fenotipova međusobno kao ni pri poređenju sa kontrolnom grupom zdravih žena u prevalenciji MetS [168], ali i one u kojima je, iznenađujuće, prevalencija MetS u fenotipu D bila veća nego u hiperandrogenim fenotipovima [358]. Primer poslednje navedene studije je još jedan od pokazatelja koliko etnička pripadnost može da ima efekta na metabolički status žena sa PCOS.

Rezultati naše studije govore da se fenotipovi A i B veću prevalencu MetS prema svim korišćenim definicijama u odnosu na fenotip D u situaciji kada su fenotipovi slični prema godinama starosti. Fenotip C je imao veću prevalencu MetS u odnosu na fenotip D pri korišćenju IDF i Joint definicija, ali ne i prema ATP III definiciji. Interesantno je da kada se fenotipovi ujednače i prema BMI, ni prema jednoj definiciji ne postoje razlike u prevalenciji MetS između fenotipova, što bi ujedno moglo da znači i da na ovaj način i neklasični fenotipovi imaju identičan kardiometabolički rizik kao i klasični fenotipovi, a koji se javlja kao posledica postojanja MetS. Ovaj nalaz ukazuje na značaj gojaznosti u nastanku MetS, obzirom da bi žene iz naše studije, sa fenotipom C i D u slučaju da povećaju svoj BMI imale isti kardiometabolički rizik kao i žene sa fenotipovima A i B. Takođe, važi i suprotno – smanjenje BMI kod naših žena sa fenotipovima A i B bi dovelo i do smanjenja kardiometaboličkog rizika na nivo koji postoji kod fenotipova C i D.

U našoj studiji su se fenotipovi prema vrsti zastupljenog kriterijuma za MetS razlikovali samo prema prevalenciji $OS \geq 88\text{cm}$ koji je bio značajno više zastupljen u

fenotipovima A, B i C u odnosu na fenotip D i $TG \geq 1.7 \text{ mmol/L}$ koji je bio više zastupljen u klasičnim fenotipovima A i B u odnosu na fenotip D. Treba napomenuti da je prevalenca $OS \geq 80 \text{ cm}$ bila identična u svim fenotipovima, a što je još jedan razlog koji ide u prilog tome da je ova granična vrednost suviše niska za diskriminaciju postojanja MetS, barem kod naših žena sa PCOS. Prema ostalim MetS karakteristikama se fenotipovi nisu međusobno razlikovali. Po izjednačavanju prema BMI, prevalencije svih pojedinačnih MetS kriterijuma su bile iste u svim fenotipovima.

Ukoliko OS smatramo surogat markerom abdominalne gojaznosti [201], naši rezultati se poklapaju sa drugim studijama u kojima je gojaznost najzastupljenija karakteristika MetS u svim PCOS fenotipovima, sem u fenotipu D [164,415]. Redosled zastupljenosti pojedinačnih kriterijuma u fenotipovima je bio identičan u klasičnim fenotipovima. Tako su u fenotipovima A i B najzastupljeniji kriterijumi bili $OS \geq 80 \text{ cm}$ i nizak HDL, potom $OS \geq 88 \text{ cm}$, hipertenzija, trigliceridi i najmanje disglukemija. U fenotipu C je bilo slično, s tim da su oba kriterijuma za OS bila podjednako i najviše zastupljena, zatim prevalenca niskog HDL i hipertenzije, i na poslednjem mestu hipertrigliceridemija i disglukemija. U fenotipu D najzastupljeniji su bili $OS \geq 80 \text{ cm}$ i nizak HDL, potom hipertenzija, $OS \geq 88 \text{ cm}$ i na poslednjem mestu hipertrigliceridemija i disglukemija. Najzastupljeniji kriterijum MetS u svim fenotipovima uključujući i fenotip D je bio $OS \geq 80 \text{ cm}$ što takođe ukazuje na to da je u našoj PCOS populaciji, radi bolje diskriminacije žena sa i bez MetS poželjnije koristiti graničnu vrednost NCEP-ATP III definicije ($OS \geq 88 \text{ cm}$). Druga po redu najčešća manifestacija MetS je nizak HDL, podjednako zastupljena u svim fenotipovima, što je i očekivano obzirom da je po svemu sudeći karakteristika naše ženske populacije (uključujući i zdrave žene) nizak HDL. Visoka prevalenca hipertenzije definisane prema kriterijumu za MetS i to u svim fenotipovima čak i više od prevalencije hipertrigliceridemije i disglukemije ukazuje na važnost praćenja arterijskog krvnog pritiska kod žena sa PCOS, a ujedno i na mogućnost bržeg nastanka KVS komplikacija kod ovih žena.

5.10. LAP i HOMA-IR kao prediktori MetS prema NCEP-ATP III kriterijumima kod žena sa PCOS

Obzirom da se poremećaji kardiometaboličkog profila žena sa PCOS javljaju još u ranom životnom dobu, u ovoj populaciji se preporučuje rano traganje za kardiovaskularnim rizicima i smatra se da je terapija u cilju njihovog smanjenja indikovana kod nekih žena sa PCOS već u ranoj mladosti [437]. Imajući u vidu da je više puta do sada dokazano da menjanje životnih navika kao i različiti medikamenti mogu uspešno da deluju na smanjenje kardiometaboličkog rizika pa čak i na izlečenje MetS, nameće se potreba za postojanjem tačnog, praktičnog i brzog testiranja pacijenata na postojanje MetS u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Sve postojeće definicije MetS u sebi sadrže kriterijume sa graničnim vrednostima kojima se predviđa MetS, a koje su formirane na osnovu istraživanja u opštoj populaciji. Međutim, granične vrednosti ovih kriterijuma često nisu primenljive u specifičnim populacijama kao što je i PCOS, a razlog tome su pre svega razlike izazvane etničkim, rasnim, demografskim i kulturološkim karakteristikama opštih populacija kao i specifičnim karakteristikama populacija ljudi obolelih od određenih bolesti. Tako se, na primer smatra da smatra se da nije adekvatno koristiti univerzalnu graničnu vrednost za OS za definisanje gojaznosti u različitim populacijama pri analiziranju kardiovaskularnog rizika [438,439]. U skladu sa tim, korišćenje univerzalnih graničnih vrednosti kriterijuma MetS u PCOS populaciji možda nije adekvatno.

Da bi smo procenili efekat samog PCOS i njegovih fenotipova na postojanje MetS definisanog prema NCEP-ATP III, analizirali smo najpre celokupnu ispitivanu populaciju žena zajedno (i PCOS i KG). Tom prilikom smo pokazali da u našoj populaciji žena hiperandrogenizam i anovulacija predstavljaju značajne prediktore MetS, dok morfološki policistični jajnici ne predstavljaju rizik za MetS. Takođe, pripadnost hiperandrogenim fenotipovima je važan faktor rizika za postojanje MetS, dok normoandrogeni fenotip ima isti rizik za MetS kao i naša zdrava populacija žena. Pri tome je rizik za MetS u fenotipu B najveći (prosečno 5 puta veći u odnosu na zdrave žene), a fenotipovi A i C imaju međusobno sličan rizik koji je 3 puta veći od zdravih žena.

Iako su svi postojeći kriterijumi pojedinačno bili značajno povezani sa postojanjem MetS prema NECP-ATP III definiciji kod naših žena sa PCOS, multivarijantnom analizom je pokazano da kada se svi oni zajedno analiziraju, obim struka veći od 88cm zaostaje kao jedini značajan i nezavisan faktor koji predviđa postojanje MetS. Da bi smo utvrdili da li u našoj populaciji žena sa PCOS postoje neki drugi netradicionalni faktori kojima bi možda bolje i sa većom verovatnoćom mogao da se predvidi MetS, sprovedeno je ispitivanje svih parametara koji su rađeni u ovoj studiji. Pojedinačno analizirane grupe parametara su pokazale nekoliko karakterističnih rezultata. Tako je dobijeno da je pripadnost samo klasičnim fenotipovima A i B faktor rizika za postojanje MetS kod žena sa PCOS ali u multivarijantnoj analizi pripadost bilo kome fenotipu nije bila značajni prediktor MetS. Sličan rezultat je dobijen i u studiji Panidis i sar. gde fenotip takođe nije bio značajni prediktor MetS u multivarijantnoj analizi [111]. Jedan od interesantnih nalaza u našem istraživanju je i taj, da od svih antropometrijskih parametara merenih bioelektričnom impendancijom, jedini značajni prediktor MetS je bio BMI, koji međutim nije ostao u konačnoj multivarijantnoj analizi kao značajni prediktor MetS. Ovaj nalaz ukazuje da bioelektrična impedanca generalno možda i nije superiornija u odnosu na jednostavno izračunavanje BMI kod žena sa PCOS, što je važno znati pri radu u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Iako su svi lipidni parametri pojedinačno bili značajno udruženi sa MetS, u multivarijantnoj analizi su samo odnosi TG/HDL i ApoB/ApoA1 ostali kao značajni prediktori MetS. Međutim u konačnom modelu ni jedan ni drugi odnos nisu zadržani kao značajni prediktori MetS. Od svih hormonskih analiza značajni prediktori MetS u našoj studiji u PCOS populaciji su bili SHBG, testosteron i LH, s tim da ovi prediktori nisu ostali kao značajni u konačnom modelu. U nekoliko studija uključujući i jednu meta analizu, je potvrđeno da su i SHBG i testosteron nezavisni prediktori i MetS i T2DM kod žena sa PCOS [440,441], međutim postoje i studije u kojima je hiperandrogenizam povezan samo sa IR kao komponentom MetS, a ne i direktno sa MetS [442], kao i one u kojima nije nađena nikakva povezanost sa MetS [443]. Poznato je da je SHBG metabolički marker povezan i sa IR i sa MetS nezavisno od testosterona [42]. U cilju izbegavanja uticaja SHBG-a na efekat FAI-a u MetS, i direktnu procenu efekta samog testosterona na MetS, ciljano smo u predviđanju koristili odvojeno SHBG i testosteron, a ne FAI. Naš rezultat

ukazuje na postojanje veze ne samo SHBG već i testosterona ali i LH sa MetS u PCOS, iako ovi faktori u prisustvu drugih gube na svojoj značajnosti u konačnom modelu. Pri odvojenoj analizi povezanosti MetS sa bazalnim i dinamskim markerima IR, a koji su istovremeno i značajni prediktori potrošnje glukoze u poslednjih 30.min EHK-a, pokazali smo da iako su svi pojedinačni značajno povezani sa MetS, u multivarijantnim analizama zaostaju samo HOMA-IR, IGI i OGTT_{Glc.60min}.

I na kraju, konačni model u kome su analizirani svi gore navedeni značajni prediktori MetS je pokazao da kod naših žena sa PCOS bez obzira na to da li se radi ili ne radi OGTT, jedini neklasični, nezavisni prediktori MetS su LAP i HOMA-IR. I LAP i HOMA su se u ROC analizi pokazali kao parametri sa odličnom diskriminativnom sposobnošću za dijagnostikovanje MetS prema NCEP-ATP III kriterijumima. Pri tome, vrednost LAP > 25.94 ima senzitivnost 99% i specifičnost 76% za dijagnostikovanje MetS prema NCEP-ATP III kriterijumima kod naših žena sa PCOS, a HOMA-IR>3.31 ima nešto nižu senzitivnost 80% i specifičnost 64%. Obe navedene vrednosti su se pokazale kao značajni nezavisni prediktori MetS u našoj populaciji žena sa PCOS prema NCEP-ATP III kriterijumima. Na ovaj način smo pokazali da kod žena sa PCOS praktično IR predstavlja glavni determinišući faktor za postojanje MetS. Analiza postojanja multikolinearnosti u ovom modelu je isključila postojanje iste, tako da, iako LAP i HOMA-IR međusobno koreliraju, oni verovatno predstavljaju dva komplementarna elementa insulinske rezistencije kod žena sa PCOS. Naime, LAP nosi elemente periferne insulinske rezistencije kao dugotrajnijeg stanja sa uzrokom (gojaznost merena obimom struka) i posledicom (nivo triglicerida) iste. Dodatno, pokazali smo da u našoj populaciji žena sa PCOS, LAP efikasno predviđa IGT. Na taj način on može da predstavlja surogat marker OGTT-a, koji je i itekako važan u PCOS populaciji. Sa druge strane HOMA-IR više predstavlja trenutno stanje i to pre svega IR na nivou jetre. I u najnovijoj studiji Ranasinha i sar. su kompleksnim statističkim modelovanjem zaključili da je MetS kod žena sa PCOS dominantno određen sa IR (čiji su surogati dominantno insulin našte, zatim glukoza u 120.min OGTTa i najmanje glikemija našte) i gojaznošću (u većoj meri BMI nego odnos OS/OK), a u manjoj meri sa nivoom lipida (dominantno trigliceridima i HDL) i najmanje

krvnim pritiskom (podjednako učešće i sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska) [442]. I prethodna studija Woolstona i sar. koja je istraživala alternativne pristupe za identifikaciju MetS je koristila IR kao jednu od determinišućih karakteristika MetS [444].

Da bi smo procenili značaj svakog klasičnog i sada dobijenih novih prediktora MetS (LAP i HOMA-IR) analizirali smo površine ispod ROC krivih svih prediktora. Pri analizi PCOS grupe uopšte i kontrolne grupe zdravih žena, LAP je imao najjaču diskriminacionu sposobnost za dijagnostikovanje MetS, u odnosu na sve druge klasične prediktore kao i HOMA-IR. Posle LAP, u PCOS grupi su značajni prediktori bili redom OS, TG, HDL i na petom mestu HOMA-IR, koja je bila značajniji prediktor od krvnog pritiska i disglukemije. U kontrolnoj grupi zdravih žena je situacija bila slična, s tim da je nakon LAP-a redosled bio obrnut u odnosu na PCOS grupu i to: HDL, TG, OS. Takođe na petom mestu po značajnosti je i u KG bila HOMA-IR. U kontrolnoj grupi zdravih žena sistolni krvni pritisak i disglukemija nisu bili dovoljno jaki parametri kojima bi se diskriminisale osobe sa i bez MetS.

Na ovaj način smo pokazali da LAP ima najjaču diskriminacionu sposobnost pri dijagnostikovanju MetS prema NCEP-ATP III kriterijumima i u PCOS grupi i u grupi zdravih žena, a koja je veća i u odnosu na postojeće kriterijume. Ovaj nalaz potvrđuje naš nalaz u prethodnoj studiji na manjem broju ispitanica sa PCOS u kojoj smo pokazali da je LAP bolji prediktor MetS definisanog i prema NCEP-ATP III, i IDF i Joint kriterijumima u odnosu na sve postojeće klasične prediktore navedenih MetS definicija [445]. Jedina studija, pored naše prethodno navedene, koja je proučavala prediktivnu sposobnost LAP-a za postojanje MetS u PCOS populaciji, je bila studija Xiang i sar. koji su na značajno manjem broju ispitanica u odnosu na naše istraživanje pokazali da LAP granična vrednost 54.2 (SEN 93.3% SP 96.7%) predviđa postojanje MetS definisanim prema IDF kriterijumima kod žena sa PCOS [431]. Istovremeno je AUC ROC kriva za LAP bila značajno superiornija u odnosu na AUC ROC krive drugih determinantni MetS po IDF kriterijumima [431]. Superiornost LAP-a je pokazana i jednoj studiji u opštoj populaciji zdravih žena. Tako su Taverna i sar. na opštoj populaciji zdravih žena pokazali da je LAP superiorniji u predikciji MetS prema NCEP-ATP III kriterijumima u odnosu na nekoliko

drugih metaboličkih markera (svi pojedinačni kriterijumi za MetS, TG/HDL, BMI) [405]. Dodatno u istoj studiji, LAP se pokazao i kao značajan prediktor MetS definisanog prema IDF kriterijumima, mada je u ovoj situaciji njegova sposobnost bila diskretno manja nego u slučaju MetS definisanog prema NCEP-ATP III [405].

Do sada ni jedna studija nije proučavala diskriminativnu sposobnost LAP-a za predikciju MetS u PCOS fenotipovima. U našem istraživanju smo pokazali da je kod svih PCOS fenotipova LAP superiorniji za dijagnostikovanje MetS u odnosu na HOMA-IR kao i sve druge kriterijume MetS definisanog prema NCEP-ATP III kriterijumima. Interesantan je i nalaz različitih diskriminacionih sposobnosti drugih klasičnih prediktor MetS u različitim fenotipovima. Tako na primer, u svim fenotipovima sem u fenotipu A, drugi po redu značajan prediktor su vrednosti TG, dok je u fenotipu A to OS. Nakon toga slede OS, TG i HDL sa različitim stepenom značaja u različitim fenotipovima, s tim da je karakteristično da se u fenotipu C, OS nalazi na pretposlednjem mestu prema značajnosti, ispred HOMA-IR (i disglukemije koja nije značajan kriterijum u ovom fenotipu). Istovremeno, žene sa fenotipom C su imale istu prevalencu uvećanog OS u odnosu na fenotipove A i B pa je ovaj nalaz možda i neočekivan. Iako metabolički najugroženiji, u fenotipu B hipertenzija po svemu sudeći ne doprinosi značajno riziku za postojanje MetS obzirom da u ovom fenotipu ni sistolni ni dijastolni krvni pritisak nemaju značajnu diskriminacionu sposobnost. Što se tiče HOMA-IR, njen doprinos u dijagnostici MetS kod naših žena sa PCOS nije zanemarljiv, obzirom da je diskriminaciona sposobnost ovog markera IR bolja od krvnog pritiska i disglukemije u fenotipovima A i D, dok je u fenotipu B bolja čak i od nivoa HDL, koji i inače spada u potentnije prediktore MetS u našoj populaciji ispitanica.

Shodno dobijenim rezultatima LAP predstavlja jednostavan, ekonomičan i što je najvažnije tačan surogat marker postojanja MetS u populaciji žena sa PCOS, koji ima veću diskriminacionu sposobnost i od postojećih markera MetS sadržanih u kriterijumima za postavljanje dijagnoze istog. Obzirom da je za postavljanje dijagnoze MetS prema svim postojećim definicijama kod žena sa PCOS potrebno znati ukupno 6 parametara (OS, TG, HDL, krvni pritisak, glikemiju našte ali i glikemiju tokom OGTT-a), korišćenje ovog

markera za čije izračunavanje je potrebno znati samo dva parametra (OS i TG), bi ubrzalo i olakšalo rad u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Istovremeno bi to omogućilo ne samo brzu orijentaciju u smislu postojanja povećanog kardiometaboličkog rizika u ovoj populaciji mladih žena već bi sa velikom vjerojatnošću omogućilo i postavljanje dijagnoze MetS. Pri tome, za razliku od svih drugih parametara MetS čiji značaj je različit u svakom fenotipu, sposobnost LAP-a da predvidi MetS u svakom PCOS fenotipu je slična, pa nema rizika da bi dijagnoza MetS u nekom fenotipu mogla biti propuštena. Imajući u vidu i značajnu korelaciju i sposobnost LAP-a da previdi postojanje insulinske rezistencije i oštećene tolerancije na glukozu, LAP bi mogao da služi i kao brzi orijentacioni marker za navedene poremećaje pre obavljanja dvočasovnog OGTT-a ili čak i umesto njega. Ne smemo zanemariti ni značaj HOMA-IR koji se takođe pokazao kao značajan marker za predviđanje postojanja MetS, a koji u svakom slučaju daje više informacija o kardiometaboličkom riziku u svakom PCOS fenotipu u odnosu na neke druge već postojeće kriterijume za MetS.

6. Zaključci

1. Od ukupne populacije žena sa PCOS u našem istraživanju, 57% je imalo fenotip A, 11% fenotip B, 22% fenotip C i 10% fenotip D.
2. Hiperandrogene fenotipove A, B i C karakteriše značajno viši nivo serumskog ukupnog testosterona i androstenediona (slični nivo u fenotipovima A i B, i značajno niži u fenotipu C) u odnosu na fenotip D, kod koga su i ukupni testosteron i androstenedion istog nivoa kao kod zdravih žena sličnog indeksa telesne mase i godina starosti.
 - 2.1. Serumski nivo DHEAS je povećan kod žena sa fenotipovima A i C u odnosu na zdrave žene sličnih godina starosti i indeksa telesne mase, i značajno je veći u odnosu na fenotip B i D.
 - 2.2. Niske vrednosti serumskog SHBG-a u odnosu na zdrave žene sličnih godina starosti i indeksa telesne mase su karakteristične za sve fenotipove podjednako. Estradiol je kod svih žena sa PCOS značajno niži u odnosu na zdrave žene sličnih godina starosti i indeksa telesne mase, a pri međusobnom poređenju fenotipova, najniži je u fenotipu D i kao takav se značano razlikuje u odnosu na fenotip A.
 - 2.3. Niži nivo serumskog progesterona u lutealnoj fazi menstrualnog ciklusa (mereno samo kod žena koje su imale redovne menstrualne cikluse) u odnosu na zdrave žene sličnog indeksa telesne mase i godina starosti je karakterističan za sve fenotipove uključujući i žene sa ovulatornim fenotipom C, kod kojih je nivo progesterona istovremeno značajno veći u odnosu na ostale fenotipove.
 - 2.4. Inverzan odnos gonadotropina je karakteristika fenotipa A PCOS. Iako u granici referentnih vrednosti, žene sa fenotipovima A i C imaju značajno veću prolaktinemiju u odnosu na zdrave žene i fenotipove A i B.
3. Žene sa fenotipovima A, B i C karakteriše veći indeks telesne mase i apsolutni sadržaj abdominalnog masnog tkiva u odnosu na zdrave žene, i žene sa fenotipom D sličnih godina starosti. Žene sa fenotipom D imaju značajno veći relativni sadržaj

abdominalnog masnog tkiva u odnosu na zdrave žene sličnih godina starosti obzirom da istovremeno imaju značajno niži indeks telesne mase.

3.1. Insulinska rezistencija je dominantno karakteristika fenotipova A i B, i po tome se značajno razlikuju od zdravih žena sličnih godina starosti i indeksa telesne mase. Žene sa fenotipovima C i D imaju sličan stepen insulinske rezistencije, s tim da je prema većini sprovedenih testova insulinska rezistencija u fenotipu D najčešće sličnog nivoa kao i u fenotipovima A i B, dok je rezistencija u fenotipu C značajno niža od fenotipova A i B. Prevalenca oštećene glikemije našte i oštećene glukozne tolerancije je bila mala i ista u svim fenotipovima. Ni jedna žena sa PCOS u našem istraživanju nije imala razvijen dijabetes melitus tip 2.

3.2. U odnosu na zdrave žene sličnog indeksa telesne mase i godina starosti, sve PCOS fenotipove karakteriše hipertrigliceridemija, a hiperandrogene fenotipove A, B i C dodatno karakteriše hiperholesterolemija, visok non-HDL i odnos TG/HDL. Pri tome su vrednosti lipida u svim fenotipovima isti i međusobno se ne razlikuju.

4. Prevalenca metaboličkog sindroma je značajno veća u celoj grupi PCOS u odnosu na zdrave žene ujednačene prema godinama starosti, i to prema sve tri korišćene definicije MetS: NCEP-ATP III (20.4% vs. 2.7%, $p < 0.001$), IDF (23.5% vs. 9.7%, $p = 0.002$) i Joint (24.1% vs. 9.5%, $p = 0.001$). Prevalenca MetS u PCOS fenotipovima A, B, C i D prema NCEP-ATP III definiciji je iznosila: 22.3%, 28.3%, 18% i 6.9%; prema IDF definiciji: 25.3%, 34.1%, 21.3% i 7%, a prema Joint definiciji: 25.9%, 33.4%, 23.1% i 7.1%. U odnosu na zdrave žene sličnih godina starosti, fenotipovi A i B imaju veću prevalencu MetS nezavisno od vrste kriterijuma koji se koriste. Fenotip C ima veću prevalencu MetS u odnosu na zdrave žene sličnih godina starosti, ali samo pri korišćenju NCEP-ATP III ili Joint definicije, dok u IDF definiciji obavezan kriterijum obima struka, smanjuje prevalencu MetS u fenotipu C i izjednačava je sa zdravim ženama. Fenotip D se prema prevalenci MetS, nezavisno od definicije, ne razlikuje od zdravih žena sličnih godina starosti. Po ujednačavanju ispitanica i prema godinama starosti i prema indeksu telesne mase, veću prevalencu MetS u odnosu na zdrave žene

imaju fenotipovi A i B nezavisno od definicije koja se koristi, dok žene sa fenotipovima C i D imaju veću prevalencu MetS u odnosu na zdrave žene, jedino pri korišćenju NCEP-ATP III definicije. Fenotipovi A i B imaju značajno veću prevalencu MetS u odnosu na žene sa fenotipom D ujednačene prema godinama starosti, nezavisno od definicije koja se koristi za dijagnostikovanje MetS. Fenotip C ima veću prevalencu u odnosu na prema godinama starosti ujednačenim ženama iz fenotipa D pri korišćenju IDF i Joint, ali ne i NCEP-ATP III definicije.

- 4.1.** Gojaznost je najvažnija odrednica postojanja MetS u fenotipovima naše populacije žena sa PCOS, obzirom da je po ujednačavanju ispitanica prema indeksu telesne mase, prevalenca MetS u svim fenotipovima ista.
- 4.2.** Analizom različitih prediktora MetS u našoj populaciji žena sa PCOS zaključili smo da je lipidni akumulacioni produkt (LAP) parametar sa najboljom diskriminacionom vrednošću za postavljanje dijagnoze MetS i u celoj grupi PCOS, kao i u grupi zdravih žena i u svim pojedinačnim fenotipovima. Insulinska rezistencija procenjena sa HOMA-IR predstavlja važan determinišući faktor MetS, koji je u većini fenotipova ima bolju diskriminacionu vrednost od drugih, klasičnih kriterijuma za postavljanje dijagnoze MetS.

7. Literatura

1. Stein I, Leventhal M. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *Am J Obstet Gynecol* 1935;29:181-185
2. Legro RS, Arslanian SA, Ehrmann DA, et al. Diagnosis and treatment of polycystic ovary syndrome: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:4565-4592
3. Swanton A, Storey L, McVeigh E, Child T. IVF outcome in women with PCOS, PCO and normal ovarian morphology. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2010;149:68-71
4. Conway GS, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, et al. The Polycystic Ovary Syndrome: an Endocrinological Perspective from the European Society of Endocrinology. *Eur J Endocrinol* 2014;171:489-498
5. Livadas S, Diamanti-Kandarakis E. Polycystic ovary syndrome: definitions, phenotypes and diagnostic approach. *Front Horm Res* 2013;40:1-21
6. Randevo HS, Tan BK, Weickert MO, et al. Cardiometabolic aspects of the polycystic ovary syndrome. *Endocr Rev* 2012;33:812-841
7. Mott MM, Kitos NR, Coviello AD. Practice Patterns in Screening for Metabolic Disease in Women with PCOS of Diverse Race-Ethnic Backgrounds. *Endocr Pract* 2014;20:855-863
8. Azziz R, Marin C, Hoq L, Badamgarav E, Song P. Health care-related economic burden of the polycystic ovary syndrome during the reproductive life span. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:4650-4658
9. Zawadzki A, Dunaif A. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: towards a rational approach. In: Dunaif A, Givens J, Haseltine F, Merriam G eds, *Polycystic ovary syndrome*. Boston: Blackwell Scientific Publications; 1990:377-384
10. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod* 2004;19:41-47

11. 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;91:456-488
12. Zawadzki J, Dunaif A. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: towards a rational approach. In: Dunaif A, Givens J, Haseltine F, Merriam G eds, *Polycystic ovary syndrome*. Boston: Blackwell Scientific Publications; 1992:377-384
13. Polson DW, Adams J, Wadsworth J, Franks S. Polycystic ovaries--a common finding in normal women. *Lancet* 1988;1:870-872
14. Balen AH, Laven JS, Tan SL, Dewailly D. Ultrasound assessment of the polycystic ovary: international consensus definitions. *Hum Reprod Update* 2003;9:505-514
15. MacDougall MJ, Tan SL, Jacobs HS. In-vitro fertilization and the ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod* 1992;7:597-600
16. Fauser BC, Tarlatzis BC, Rebar RW, et al. Consensus on women's health aspects of polycystic ovary syndrome (PCOS): the Amsterdam ESHRE/ASRM-Sponsored 3rd PCOS Consensus Workshop Group. *Fertil Steril* 2012;97:28-38 e25
17. Dunaif A, Fauser BC. Renaming PCOS--a two-state solution. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:4325-4328
18. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, et al. Positions statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an Androgen Excess Society guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:4237-4245
19. Cussons AJ, Stuckey BG, Walsh JP, Burke V, Norman RJ. Polycystic ovarian syndrome: marked differences between endocrinologists and gynaecologists in diagnosis and management. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005;62:289-295
20. Krowchuk DP. Managing acne in adolescents. *Pediatr Clin North Am* 2000;47:841-857
21. Falsetti L, Gambera A, Andrico S, Sartori E. Acne and hirsutism in polycystic ovary syndrome: clinical, endocrine-metabolic and ultrasonographic differences. *Gynecol Endocrinol* 2002;16:275-284
22. Lookingbill DP, Horton R, Demers LM, et al. Tissue production of androgens in women with acne. *J Am Acad Dermatol* 1985;12:481-487

23. Fraser IS, Kovacs G. Current recommendations for the diagnostic evaluation and follow-up of patients presenting with symptomatic polycystic ovary syndrome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2004;18:813-823
24. Norman RJ, Dewailly D, Legro RS, Hickey TE. Polycystic ovary syndrome. *Lancet* 2007;370:685-697
25. Unluhizarci K, Karaca Z, Kelestimur F. Hirsutism - from diagnosis to use of antiandrogens. *Front Horm Res* 2013;40:103-114
26. Carmina E, Rosato F, Janni A, Rizzo M, Longo RA. Extensive clinical experience: relative prevalence of different androgen excess disorders in 950 women referred because of clinical hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:2-6
27. Azziz R, Sanchez LA, Knochenhauer ES, et al. Androgen excess in women: experience with over 1000 consecutive patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:453-462
28. Azziz R. The evaluation and management of hirsutism. *Obstet Gynecol* 2003;101:995-1007
29. Ferriman D, Gallwey JD. Clinical assessment of body hair growth in women. *J Clin Endocrinol Metab* 1961;21:1440-1447
30. Yildiz BO, Bolour S, Woods K, Moore A, Azziz R. Visually scoring hirsutism. *Hum Reprod Update* 2010;16:51-64
31. Burger HG. Androgen production in women. *Fertil Steril* 2002;77 Suppl 4:S3-5
32. Yildiz BO, Azziz R. The adrenal and polycystic ovary syndrome. *Rev Endocr Metab Disord* 2007;8:331-342
33. Quinkler M, Sinha B, Tomlinson JW, et al. Androgen generation in adipose tissue in women with simple obesity--a site-specific role for 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 5. *J Endocrinol* 2004;183:331-342
34. Fassnacht M, Schlenz N, Schneider SB, et al. Beyond adrenal and ovarian androgen generation: Increased peripheral 5 alpha-reductase activity in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:2760-2766

35. Ehrmann DA, Barnes RB, Rosenfield RL. Polycystic ovary syndrome as a form of functional ovarian hyperandrogenism due to dysregulation of androgen secretion. *Endocr Rev* 1995;16:322-353
36. Stanczyk FZ. Diagnosis of hyperandrogenism: biochemical criteria. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2006;20:177-191
37. Balen AH, Conway GS, Kaltsas G, et al. Polycystic ovary syndrome: the spectrum of the disorder in 1741 patients. *Hum Reprod* 1995;10:2107-2111
38. Hahn S, Tan S, Elsenbruch S, et al. Clinical and biochemical characterization of women with polycystic ovary syndrome in North Rhine-Westphalia. *Horm Metab Res* 2005;37:438-444
39. Nestler JE. Obesity, insulin, sex steroids and ovulation. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000;24 Suppl 2:S71-73
40. Vermeulen A, Verdonck L, Kaufman JM. A critical evaluation of simple methods for the estimation of free testosterone in serum. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:3666-3672
41. Barth JH, Field HP, Yasmin E, Balen AH. Defining hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome: measurement of testosterone and androstenedione by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and analysis by receiver operator characteristic plots. *Eur J Endocrinol* 2010;162:611-615
42. Moran LJ, Teede HJ, Noakes M, et al. Sex hormone binding globulin, but not testosterone, is associated with the metabolic syndrome in overweight and obese women with polycystic ovary syndrome. *J Endocrinol Invest* 2013;36:1004-1010
43. Veltman-Verhulst SM, van Haeften TW, Eijkemans MJ, et al. Sex hormone-binding globulin concentrations before conception as a predictor for gestational diabetes in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2010;25:3123-3128
44. Hacıhanefioglu B, Aybey B, Hakan Ozon Y, Berkil H, Karsidag K. Association of anthropometric, androgenic and insulin-related features with polymorphisms in exon 8 of SHBG gene in women with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2013;29:361-364

45. 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;92:405-413
46. O'Reilly MW, Taylor AE, Crabtree NJ, et al. Hyperandrogenemia predicts metabolic phenotype in polycystic ovary syndrome: the utility of serum androstenedione. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99:1027-1036
47. Chiazze L, Jr., Brayer FT, Macisco JJ, Jr., Parker MP, Duffy BJ. The length and variability of the human menstrual cycle. *JAMA* 1968;203:377-380
48. Malcolm CE, Cumming DC. Does anovulation exist in eumenorrheic women? *Obstet Gynecol* 2003;102:317-318
49. Legro RS, Barnhart HX, Schlaff WD, et al. Clomiphene, metformin, or both for infertility in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 2007;356:551-566
50. Webber LJ, Stubbs S, Stark J, et al. Formation and early development of follicles in the polycystic ovary. *Lancet* 2003;362:1017-1021
51. Franks S, Mason H, White D, Willis D. Etiology of anovulation in polycystic ovary syndrome. *Steroids* 1998;63:306-307
52. Koivunen R, Laatikainen T, Tomas C, et al. The prevalence of polycystic ovaries in healthy women. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1999;78:137-141
53. Dumesic DA, Richards JS. Ontogeny of the ovary in polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2013;100:23-38
54. Kahsar-Miller MD, Nixon C, Boots LR, Go RC, Azziz R. Prevalence of polycystic ovary syndrome (PCOS) in first-degree relatives of patients with PCOS. *Fertil Steril* 2001;75:53-58
55. Barber TM, Franks S. Genetics of polycystic ovary syndrome. *Front Horm Res* 2013;40:28-39
56. Mason H, Colao A, Blume-Peytavi U, et al. Polycystic ovary syndrome (PCOS) trilogy: a translational and clinical review. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2008;69:831-844
57. Wickenheisser JK, Nelson-DeGrave VL, McAllister JM. Human ovarian theca cells in culture. *Trends Endocrinol Metab* 2006;17:65-71

58. Vendola KA, Zhou J, Adesanya OO, Weil SJ, Bondy CA. Androgens stimulate early stages of follicular growth in the primate ovary. *J Clin Invest* 1998;101:2622-2629
59. Dewailly D, Gronier H, Poncelet E, et al. Diagnosis of polycystic ovary syndrome (PCOS): revisiting the threshold values of follicle count on ultrasound and of the serum AMH level for the definition of polycystic ovaries. *Hum Reprod* 2011;26:3123-3129
60. 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;92:240-245
61. Durlinger AL, Gruijters MJ, Kramer P, et al. Anti-Mullerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary. *Endocrinology* 2001;142:4891-4899
62. Catteau-Jonard S, Dewailly D. Pathophysiology of polycystic ovary syndrome: the role of hyperandrogenism. *Front Horm Res* 2013;40:22-27
63. Arroyo A, Laughlin GA, Morales AJ, Yen SS. Inappropriate gonadotropin secretion in polycystic ovary syndrome: influence of adiposity. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:3728-3733
64. Baptiste CG, Battista MC, Trottier A, Baillargeon JP. Insulin and hyperandrogenism in women with polycystic ovary syndrome. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010;122:42-52
65. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002;106:3143-3421
66. Sprung VS, Atkinson G, Cuthbertson DJ, et al. Endothelial function measured using flow-mediated dilation in polycystic ovary syndrome: a meta-analysis of the observational studies. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2012;78:438-446
67. Macut D, Micic D, Cvijovic G, et al. Cardiovascular risk in adolescent and young adult obese females with polycystic ovary syndrome (PCOS). *J Pediatr Endocrinol Metab* 2001;14 Suppl 5:1353-1359; discussion 1365

68. Macut D, Bacevic M, Bozic-Antic I, et al. Predictors of subclinical cardiovascular disease in women with polycystic ovary syndrome: interrelationship of dyslipidemia and arterial blood pressure. *Int J Endocrinol* 2015;2015:812610
69. Carmina E, Campagna AM, Lobo RA. Emergence of ovulatory cycles with aging in women with polycystic ovary syndrome (PCOS) alters the trajectory of cardiovascular and metabolic risk factors. *Hum Reprod* 2013;28:2245-2252
70. 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;95:2038-2049
71. Barber TM, McCarthy MI, Wass JA, Franks S. Obesity and polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006;65:137-145
72. Nilsson C, Niklasson M, Eriksson E, Bjorntorp P, Holmang A. Imprinting of female offspring with testosterone results in insulin resistance and changes in body fat distribution at adult age in rats. *J Clin Invest* 1998;101:74-78
73. Lim SS, Norman RJ, Davies MJ, Moran LJ. The effect of obesity on polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev* 2013;14:95-109
74. Pasquali R. Obesity and androgens: facts and perspectives. *Fertil Steril* 2006;85:1319-1340
75. Cattrall FR, Healy DL. Long-term metabolic, cardiovascular and neoplastic risks with polycystic ovary syndrome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2004;18:803-812
76. Clark AM, Thornley B, Tomlinson L, Galletley C, Norman RJ. Weight loss in obese infertile women results in improvement in reproductive outcome for all forms of fertility treatment. *Hum Reprod* 1998;13:1502-1505
77. Barber TM, Golding SJ, Alvey C, et al. Global adiposity rather than abnormal regional fat distribution characterizes women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:999-1004
78. Villa J, Pratley RE. Adipose tissue dysfunction in polycystic ovary syndrome. *Curr Diab Rep* 2011;11:179-184

79. Repaci A, Gambineri A, Pasquali R. The role of low-grade inflammation in the polycystic ovary syndrome. *Mol Cell Endocrinol* 2010;335:30-41
80. Welt CK, Carmina E. Clinical review: Lifecycle of polycystic ovary syndrome (PCOS): from in utero to menopause. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:4629-4638
81. Corton M, Botella-Carretero JI, Benguria A, et al. Differential gene expression profile in omental adipose tissue in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:328-337
82. O'Connor A, Phelan N, Tun TK, et al. High-molecular-weight adiponectin is selectively reduced in women with polycystic ovary syndrome independent of body mass index and severity of insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:1378-1385
83. Legro RS, Kunselman AR, Dunaif A. Prevalence and predictors of dyslipidemia in women with polycystic ovary syndrome. *Am J Med* 2001;111:607-613
84. Macut D, Damjanovic S, Panidis D, et al. Oxidised low-density lipoprotein concentration - early marker of an altered lipid metabolism in young women with PCOS. *Eur J Endocrinol* 2006;155:131-136
85. Macut D, Panidis D, Glisic B, et al. Lipid and lipoprotein profile in women with polycystic ovary syndrome. *Can J Physiol Pharmacol* 2008;86:199-204
86. Macut D, Bjekic-Macut J, Savic-Radojevic A. Dyslipidemia and oxidative stress in PCOS. *Front Horm Res* 2013;40:51-63
87. Glintborg D, Mumm H, Hougaard D, Ravn P, Andersen M. Ethnic differences in Rotterdam criteria and metabolic risk factors in a multiethnic group of women with PCOS studied in Denmark. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2010;73:732-738
88. Navab M, Reddy ST, Van Lenten BJ, Fogelman AM. HDL and cardiovascular disease: atherogenic and atheroprotective mechanisms. *Nat Rev Cardiol* 2011;8:222-232
89. Sierra-Johnson J, Fisher RM, Romero-Corral A, et al. Concentration of apolipoprotein B is comparable with the apolipoprotein B/apolipoprotein A-I ratio and better than routine clinical lipid measurements in predicting coronary heart

- disease mortality: findings from a multi-ethnic US population. *Eur Heart J* 2009;30:710-717
90. Ley SH, Harris SB, Connelly PW, et al. Association of apolipoprotein B with incident type 2 diabetes in an aboriginal Canadian population. *Clin Chem* 2010;56:666-670
91. Kahn CR. The molecular mechanism of insulin action. *Annu Rev Med* 1985;36:429-451
92. Kelly CJ, Speirs A, Gould GW, et al. Altered vascular function in young women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:742-746
93. Diamanti-Kandarakis E, Spina G, Kouli C, Migdalis I. Increased endothelin-1 levels in women with polycystic ovary syndrome and the beneficial effect of metformin therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:4666-4673
94. Paradisi G, Steinberg HO, Hempfling A, et al. Polycystic ovary syndrome is associated with endothelial dysfunction. *Circulation* 2001;103:1410-1415
95. Nestler JE, Jakubowicz DJ, de Vargas AF, et al. Insulin stimulates testosterone biosynthesis by human thecal cells from women with polycystic ovary syndrome by activating its own receptor and using inositolglycan mediators as the signal transduction system. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:2001-2005
96. Ovalle F, Azziz R. Insulin resistance, polycystic ovary syndrome, and type 2 diabetes mellitus. *Fertil Steril* 2002;77:1095-1105
97. Escobar-Morreale HF, Samino S, Insenser M, et al. Metabolic heterogeneity in polycystic ovary syndrome is determined by obesity: plasma metabolomic approach using GC-MS. *Clin Chem* 2012;58:999-1009
98. Pasquali R, Gambineri A. Glucose intolerance states in women with the polycystic ovary syndrome. *J Endocrinol Invest* 2013;36:648-653
99. Morgan CL, Jenkins-Jones S, Currie CJ, Rees DA. Evaluation of adverse outcome in young women with polycystic ovary syndrome versus matched, reference controls: a retrospective, observational study. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97:3251-3260

100. 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;84:165-169
101. Moran LJ, Misso ML, Wild RA, Norman RJ. Impaired glucose tolerance, type 2 diabetes and metabolic syndrome in polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2010;16:347-363
102. Tomlinson J, Millward A, Stenhouse E, Pinkney J. Type 2 diabetes and cardiovascular disease in polycystic ovary syndrome: what are the risks and can they be reduced? *Diabet Med* 2010;27:498-515
103. DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol* 1979;237:E214-223
104. Elting MW, Korsen TJ, Bezemer PD, Schoemaker J. Prevalence of diabetes mellitus, hypertension and cardiac complaints in a follow-up study of a Dutch PCOS population. *Hum Reprod* 2001;16:556-560
105. Lo JC, Feigenbaum SL, Yang J, et al. Epidemiology and adverse cardiovascular risk profile of diagnosed polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:1357-1363
106. Wild S, Pierpoint T, McKeigue P, Jacobs H. Cardiovascular disease in women with polycystic ovary syndrome at long-term follow-up: a retrospective cohort study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2000;52:595-600
107. Glintborg D, Mumm H, Ravn P, Andersen M. Age associated differences in prevalence of individual rotterdam criteria and metabolic risk factors during reproductive age in 446 caucasian women with polycystic ovary syndrome. *Horm Metab Res* 2012;44:694-698
108. Luque-Ramirez M, Marti D, Fernandez-Duran E, et al. Office blood pressure, ambulatory blood pressure monitoring, and echocardiographic abnormalities in women with polycystic ovary syndrome: role of obesity and androgen excess. *Hypertension* 2014;63:624-629

109. Cascella T, Palomba S, Tauchmanova L, et al. Serum aldosterone concentration and cardiovascular risk in women with polycystic ovarian syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:4395-4400
110. Lansdown A, Rees DA. The sympathetic nervous system in polycystic ovary syndrome: a novel therapeutic target? *Clin Endocrinol (Oxf)* 2012;77:791-801
111. Panidis D, Macut D, Tziomalos K, et al. Prevalence of metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2013;78:586-592
112. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988;37:1595-1607
113. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 2009;120:1640-1645
114. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome--a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med* 2006;23:469-480
115. Ford ES, Li C, Sattar N. Metabolic syndrome and incident diabetes: current state of the evidence. *Diabetes Care* 2008;31:1898-1904
116. Mottillo S, Filion KB, Genest J, et al. The metabolic syndrome and cardiovascular risk a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol* 2010;56:1113-1132
117. Athyros VG, Mikhailidis DP, Papageorgiou AA, et al. Prevalence of atherosclerotic vascular disease among subjects with the metabolic syndrome with or without diabetes mellitus: the METS-GREECE Multicentre Study. *Curr Med Res Opin* 2004;20:1691-1701
118. Iribarren C, Go AS, Husson G, et al. Metabolic syndrome and early-onset coronary artery disease: is the whole greater than its parts? *J Am Coll Cardiol* 2006;48:1800-1807

119. Ferrannini E, Natali A, Bell P, et al. Insulin resistance and hypersecretion in obesity. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *J Clin Invest* 1997;100:1166-1173
120. Reaven GM. Insulin resistance and its consequences. In: LeRoith D, Taylor S, Olefasky JM eds, *Diabetes Mellitus: A Fundamental and Clinical Text*. Philadelphia: Lippincott, Williams; 2004:899-915
121. Ervin RB. Prevalence of metabolic syndrome among adults 20 years of age and over, by sex, age, race and ethnicity, and body mass index: United States, 2003-2006. *Natl Health Stat Report* 2009:1-7
122. Legro RS. Polycystic ovary syndrome and cardiovascular disease: a premature association? *Endocr Rev* 2003;24:302-312
123. Manson JE, Hsia J, Johnson KC, et al. Estrogen plus progestin and the risk of coronary heart disease. *N Engl J Med* 2003;349:523-534
124. Apridonidze T, Essah PA, Iuorno MJ, Nestler JE. Prevalence and characteristics of the metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:1929-1935
125. Panidis D, Tziomalos K, Misichronis G, et al. Insulin resistance and endocrine characteristics of the different phenotypes of polycystic ovary syndrome: a prospective study. *Hum Reprod* 2012;27:541-549
126. Pehlivanov B, Orbetzova M. Characteristics of different phenotypes of polycystic ovary syndrome in a Bulgarian population. *Gynecol Endocrinol* 2007;23:604-609
127. Chae SJ, Kim JJ, Choi YM, et al. Clinical and biochemical characteristics of polycystic ovary syndrome in Korean women. *Hum Reprod* 2008;23:1924-1931
128. Zhang HY, Zhu FF, Xiong J, Shi XB, Fu SX. Characteristics of different phenotypes of polycystic ovary syndrome based on the Rotterdam criteria in a large-scale Chinese population. *BJOG* 2009;116:1633-1639
129. Wild RA, Rizzo M, Clifton S, Carmina E. Lipid levels in polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* 2011;95:1073-1079 e1071-1011

130. Goverde AJ, van Koert AJ, Eijkemans MJ, et al. Indicators for metabolic disturbances in anovulatory women with polycystic ovary syndrome diagnosed according to the Rotterdam consensus criteria. *Hum Reprod* 2009;24:710-717
131. Yildiz BO, Bozdog G, Yapici Z, Esinler I, Yarali H. Prevalence, phenotype and cardiometabolic risk of polycystic ovary syndrome under different diagnostic criteria. *Hum Reprod* 2012;27:3067-3073
132. Kauffman RP, Baker VM, Dimarino P, Gimpel T, Castracane VD. Polycystic ovarian syndrome and insulin resistance in white and Mexican American women: a comparison of two distinct populations. *Am J Obstet Gynecol* 2002;187:1362-1369
133. Al-Fozan H, Al-Futaisi A, Morris D, Tulandi T. Insulin responses to the oral glucose tolerance test in women of different ethnicity with polycystic ovary syndrome. *J Obstet Gynaecol Can* 2005;27:33-37
134. Carmina E, Napoli N, Longo RA, Rini GB, Lobo RA. Metabolic syndrome in polycystic ovary syndrome (PCOS): lower prevalence in southern Italy than in the USA and the influence of criteria for the diagnosis of PCOS. *Eur J Endocrinol* 2006;154:141-145
135. Essah PA, Nestler JE, Carmina E. Differences in dyslipidemia between American and Italian women with polycystic ovary syndrome. *J Endocrinol Invest* 2008;31:35-41
136. Wang ET, Kao CN, Shinkai K, et al. Phenotypic comparison of Caucasian and Asian women with polycystic ovary syndrome: a cross-sectional study. *Fertil Steril* 2013;100:214-218
137. 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;67:735-742
138. Yildiz BO, Gedik O. Insulin resistance in polycystic ovary syndrome: hyperandrogenemia versus normoandrogenemia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001;100:62-66

139. Legro RS, Chiu P, Kunesman AR, et al. Polycystic ovaries are common in women with hyperandrogenic chronic anovulation but do not predict metabolic or reproductive phenotype. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:2571-2579
140. Hosseinpanah F, Barzin M, Keihani S, Ramezani Tehrani F, Azizi F. Metabolic aspects of different phenotypes of polycystic ovary syndrome: Iranian PCOS Prevalence Study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2014;81:93-99
141. Johnstone EB, Rosen MP, Neril R, et al. The polycystic ovary post-rotterdam: a common, age-dependent finding in ovulatory women without metabolic significance. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:4965-4972
142. Kousta E, White DM, Cela E, McCarthy MI, Franks S. The prevalence of polycystic ovaries in women with infertility. *Hum Reprod* 1999;14:2720-2723
143. Adams JM, Taylor AE, Crowley WF, Jr., Hall JE. Polycystic ovarian morphology with regular ovulatory cycles: insights into the pathophysiology of polycystic ovarian syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:4343-4350
144. Escobar-Morreale HF, Carmina E, Dewailly D, et al. Epidemiology, diagnosis and management of hirsutism: a consensus statement by the Androgen Excess and Polycystic Ovary Syndrome Society. *Hum Reprod Update* 2012;18:146-170
145. De Cherney AH, Nathan L, Murphy Goodwin T, Laufer N. *Current Diagnosis and Treatment Obstetrics & Gynecology*. 10th ed. Columbus: The McGraw-Hill Companies; **2006**
146. Kahn HS. The "lipid accumulation product" performs better than the body mass index for recognizing cardiovascular risk: a population-based comparison. *BMC Cardiovasc Disord* 2005;5:26
147. Mathur RS, Moody LO, Landgrebe S, Williamson HO. Plasma androgens and sex hormone-binding globulin in the evaluation of hirsute females. *Fertil Steril* 1981;35:29-35
148. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18:499-502

149. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2010;33 Suppl 1:S62-69
150. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care* 2004;27:1487-1495
151. Purves RD. Optimum numerical integration methods for estimation of area-under-the-curve (AUC) and area-under-the-moment-curve (AUMC). *J Pharmacokinet Biopharm* 1992;20:211-226
152. Ahren B, Pacini G. Importance of quantifying insulin secretion in relation to insulin sensitivity to accurately assess beta cell function in clinical studies. *Eur J Endocrinol* 2004;150:97-104
153. Retnakaran R, Shen S, Hanley AJ, et al. Hyperbolic relationship between insulin secretion and sensitivity on oral glucose tolerance test. *Obesity (Silver Spring)* 2008;16:1901-1907
154. Abdul-Ghani MA, Matsuda M, Balas B, DeFronzo RA. Muscle and liver insulin resistance indexes derived from the oral glucose tolerance test. *Diabetes Care* 2007;30:89-94
155. Matsuda M, DeFronzo RA. Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp. *Diabetes Care* 1999;22:1462-1470
156. Zou KH, O'Malley AJ, Mauri L. Receiver-operating characteristic analysis for evaluating diagnostic tests and predictive models. *Circulation* 2007;115:654-657
157. Hanley JA, McNeil BJ. A method of comparing the areas under receiver operating characteristic curves derived from the same cases. *Radiology* 1983;148:839-843
158. Davison SL, Bell R, Donath S, Montalto JG, Davis SR. Androgen levels in adult females: changes with age, menopause, and oophorectomy. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:3847-3853
159. Ferrannini E, Vichi S, Beck-Nielsen H, et al. Insulin action and age. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabetes* 1996;45:947-953

160. Spencer JB, Klein M, Kumar A, Azziz R. The age-associated decline of androgens in reproductive age and menopausal Black and White women. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:4730-4733
161. Panidis D, Tziomalos K, Macut D, et al. Cross-sectional analysis of the effects of age on the hormonal, metabolic, and ultrasonographic features and the prevalence of the different phenotypes of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2012;97:494-500
162. Welt CK, Gudmundsson JA, Arason G, et al. Characterizing discrete subsets of polycystic ovary syndrome as defined by the Rotterdam criteria: the impact of weight on phenotype and metabolic features. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:4842-4848
163. Dewailly D, Catteau-Jonard S, Reyss AC, Leroy M, Pigny P. Oligoanovulation with polycystic ovaries but not overt hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:3922-3927
164. Shroff R, Syrop CH, Davis W, Van Voorhis BJ, Dokras A. Risk of metabolic complications in the new PCOS phenotypes based on the Rotterdam criteria. *Fertil Steril* 2007;88:1389-1395
165. Guastella E, Longo RA, Carmina E. Clinical and endocrine characteristics of the main polycystic ovary syndrome phenotypes. *Fertil Steril* 2010;94:2197-2201
166. Yilmaz M, Isaoglu U, Delibas IB, Kadanali S. Anthropometric, clinical and laboratory comparison of four phenotypes of polycystic ovary syndrome based on Rotterdam criteria. *J Obstet Gynaecol Res* 2011;37:1020-1026
167. Baldani DP, Skrgatic L, Simunic V, et al. Characteristics of different phenotypes of polycystic ovary syndrome based on the Rotterdam criteria in the Croatian population. *Coll Antropol* 2013;37:477-482
168. Ates S, Sevket O, Sudolmus S, et al. Different phenotypes of polycystic ovary syndrome in Turkish women: clinical and endocrine characteristics. *Gynecol Endocrinol* 2013;29:931-935

169. Kar S. Anthropometric, clinical, and metabolic comparisons of the four Rotterdam PCOS phenotypes: A prospective study of PCOS women. *J Hum Reprod Sci* 2013;6:194-200
170. Daan NM, Louwers YV, Koster MP, et al. Cardiovascular and metabolic profiles amongst different polycystic ovary syndrome phenotypes: who is really at risk? *Fertil Steril* 2014;102:1444-1451 e1443
171. Luque-Ramirez M, Alpanes M, Sanchon R, et al. Referral bias in female functional hyperandrogenism and polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2015;173:603-610
172. Baldani DP, Skrgatic L, Goldstajn MS, et al. Clinical and biochemical characteristics of polycystic ovary syndrome in Croatian population. *Coll Antropol* 2012;36:1413-1418
173. Tehrani FR, Solaymani-Dodaran M, Hedayati M, Azizi F. Is polycystic ovary syndrome an exception for reproductive aging? *Hum Reprod* 2010;25:1775-1781
174. Stark O, Peckham CS, Moynihan C. Weight and age at menarche. *Arch Dis Child* 1989;64:383-387
175. Perry JR, Stolk L, Franceschini N, et al. Meta-analysis of genome-wide association data identifies two loci influencing age at menarche. *Nat Genet* 2009;41:648-650
176. Dahlgren E, Johansson S, Lindstedt G, et al. Women with polycystic ovary syndrome wedge resected in 1956 to 1965: a long-term follow-up focusing on natural history and circulating hormones. *Fertil Steril* 1992;57:505-513
177. Strowitzki T, Capp E, von Eye Corleta H. The degree of cycle irregularity correlates with the grade of endocrine and metabolic disorders in PCOS patients. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2010;149:178-181
178. Martin KA, Chang RJ, Ehrmann DA, et al. Evaluation and treatment of hirsutism in premenopausal women: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:1105-1120
179. Guzel AI, Kuyumcuoglu U, Celik Y. Factors affecting the degree of hirsutism in patients with polycystic ovary syndrome. *Arch Gynecol Obstet* 2012;285:767-770

180. Kim JJ, Hwang KR, Choi YM, et al. Complete phenotypic and metabolic profiles of a large consecutive cohort of untreated Korean women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2014;101:1424-1430
181. Coffey S, Mason H. The effect of polycystic ovary syndrome on health-related quality of life. *Gynecol Endocrinol* 2003;17:379-386
182. Christakou CD, Diamanti-Kandarakis E. Role of androgen excess on metabolic aberrations and cardiovascular risk in women with polycystic ovary syndrome. *Womens Health (Lond Engl)* 2008;4:583-594
183. Moghetti P, Tosi F, Bonin C, et al. Divergences in insulin resistance between the different phenotypes of the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:E628-637
184. Panidis D, Tziomalos K, Papadakis E, et al. The clinical significance and primary determinants of hirsutism in patients with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2013;168:871-877
185. Bays HE. "Sick fat," metabolic disease, and atherosclerosis. *Am J Med* 2009;122:S26-37
186. Flegal KM, Carroll MD, Kit BK, Ogden CL. Prevalence of obesity and trends in the distribution of body mass index among US adults, 1999-2010. *JAMA* 2012;307:491-497
187. Luque-Ramirez M, Escobar-Morreale HF. Polycystic ovary syndrome as a paradigm for prehypertension, prediabetes, and preobesity. *Curr Hypertens Rep* 2014;16:500
188. Alvarez-Blasco F, Botella-Carretero JI, San Millan JL, Escobar-Morreale HF. Prevalence and characteristics of the polycystic ovary syndrome in overweight and obese women. *Arch Intern Med* 2006;166:2081-2086
189. Yildiz BO, Knochenhauer ES, Azziz R. Impact of obesity on the risk for polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:162-168
190. Dunaif A, Segal KR, Shelley DR, et al. Evidence for distinctive and intrinsic defects in insulin action in polycystic ovary syndrome. *Diabetes* 1992;41:1257-1266

191. Dunaif A, Finegood DT. Beta-cell dysfunction independent of obesity and glucose intolerance in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:942-947
192. Taponen S, Martikainen H, Jarvelin MR, et al. Metabolic cardiovascular disease risk factors in women with self-reported symptoms of oligomenorrhea and/or hirsutism: Northern Finland Birth Cohort 1966 Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:2114-2118
193. Carmina E, Chu MC, Longo RA, Rini GB, Lobo RA. Phenotypic variation in hyperandrogenic women influences the findings of abnormal metabolic and cardiovascular risk parameters. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:2545-2549
194. Carmina E, Legro RS, Stamets K, Lowell J, Lobo RA. Difference in body weight between American and Italian women with polycystic ovary syndrome: influence of the diet. *Hum Reprod* 2003;18:2289-2293
195. Carmina E, Bucchieri S, Esposito A, et al. Abdominal fat quantity and distribution in women with polycystic ovary syndrome and extent of its relation to insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:2500-2505
196. Bays HE. Adiposopathy is "sick fat" a cardiovascular disease? *J Am Coll Cardiol* 2011;57:2461-2473
197. Bays HE, Toth PP, Kris-Etherton PM, et al. Obesity, adiposity, and dyslipidemia: a consensus statement from the National Lipid Association. *J Clin Lipidol* 2013;7:304-383
198. Bays HE, Gonzalez-Campoy JM, Bray GA, et al. Pathogenic potential of adipose tissue and metabolic consequences of adipocyte hypertrophy and increased visceral adiposity. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2008;6:343-368
199. Gambineri A, Pelusi C, Vicennati V, Pagotto U, Pasquali R. Obesity and the polycystic ovary syndrome. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002;26:883-896
200. Tosi F, Di Sarra D, Kaufman JM, et al. Total body fat and central fat mass independently predict insulin resistance but not hyperandrogenemia in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;100:661-669

201. Ehrmann DA, Liljenquist DR, Kasza K, et al. Prevalence and predictors of the metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:48-53
202. Huber-Buchholz MM, Carey DG, Norman RJ. Restoration of reproductive potential by lifestyle modification in obese polycystic ovary syndrome: role of insulin sensitivity and luteinizing hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:1470-1474
203. Barber TM, Wass JA, McCarthy MI, Franks S. Metabolic characteristics of women with polycystic ovaries and oligo-amenorrhoea but normal androgen levels: implications for the management of polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007;66:513-517
204. Carmina E, Bucchieri S, Mansueto P, et al. Circulating levels of adipose products and differences in fat distribution in the ovulatory and anovulatory phenotypes of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2009;91:1332-1335
205. Broekmans FJ, Knauff EA, Valkenburg O, et al. PCOS according to the Rotterdam consensus criteria: Change in prevalence among WHO-II anovulation and association with metabolic factors. *BJOG* 2006;113:1210-1217
206. Holte J, Gennarelli G, Berne C, Bergh T, Lithell H. Elevated ambulatory day-time blood pressure in women with polycystic ovary syndrome: a sign of a pre-hypertensive state? *Hum Reprod* 1996;11:23-28
207. Carmina E. Cardiovascular risk and events in polycystic ovary syndrome. *Climacteric* 2009;12 Suppl 1:22-25
208. Wild S, Pierpoint T, Jacobs H, McKeigue P. Long-term consequences of polycystic ovary syndrome: results of a 31 year follow-up study. *Hum Fertil (Camb)* 2000;3:101-105
209. Schmidt J, Landin-Wilhelmsen K, Brannstrom M, Dahlgren E. Cardiovascular disease and risk factors in PCOS women of postmenopausal age: a 21-year controlled follow-up study. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:3794-3803
210. Talbott E, Clerici A, Berga SL, et al. Adverse lipid and coronary heart disease risk profiles in young women with polycystic ovary syndrome: results of a case-control study. *J Clin Epidemiol* 1998;51:415-422

211. Conway GS, Agrawal R, Betteridge DJ, Jacobs HS. Risk factors for coronary artery disease in lean and obese women with the polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1992;37:119-125
212. Zimmermann S, Phillips RA, Dunaif A, et al. Polycystic ovary syndrome: lack of hypertension despite profound insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;75:508-513
213. Sampson M, Kong C, Patel A, Unwin R, Jacobs HS. Ambulatory blood pressure profiles and plasminogen activator inhibitor (PAI-1) activity in lean women with and without the polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1996;45:623-629
214. Cibula D, Cifkova R, Fanta M, et al. Increased risk of non-insulin dependent diabetes mellitus, arterial hypertension and coronary artery disease in perimenopausal women with a history of the polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2000;15:785-789
215. Meyer C, McGrath BP, Teede HJ. Overweight women with polycystic ovary syndrome have evidence of subclinical cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:5711-5716
216. Luque-Ramirez M, Alvarez-Blasco F, Mendieta-Azcona C, Botella-Carretero JI, Escobar-Morreale HF. Obesity is the major determinant of the abnormalities in blood pressure found in young women with the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:2141-2148
217. Armeni E, Stamatelopoulos K, Rizos D, et al. Arterial stiffness is increased in asymptomatic nondiabetic postmenopausal women with a polycystic ovary syndrome phenotype. *J Hypertens* 2013;31:1998-2004
218. Zavaroni I, Coruzzi P, Bonini L, et al. Association between salt sensitivity and insulin concentrations in patients with hypertension. *Am J Hypertens* 1995;8:855-858
219. Resnick LM. Cellular ions in hypertension, insulin resistance, obesity, and diabetes: a unifying theme. *J Am Soc Nephrol* 1992;3:S78-85

220. Daskalopoulos G, Karkanaki A, Piouka A, et al. Excess Metabolic and Cardiovascular Risk is not Manifested in all Phenotypes of Polycystic Ovary Syndrome: Implications for Diagnosis and Treatment. *Curr Vasc Pharmacol* 2015
221. Franklin SS, Larson MG, Khan SA, et al. Does the relation of blood pressure to coronary heart disease risk change with aging? The Framingham Heart Study. *Circulation* 2001;103:1245-1249
222. Li Y, Wei FF, Thijs L, et al. Ambulatory hypertension subtypes and 24-hour systolic and diastolic blood pressure as distinct outcome predictors in 8341 untreated people recruited from 12 populations. *Circulation* 2014;130:466-474
223. Burt VL, Whelton P, Roccella EJ, et al. Prevalence of hypertension in the US adult population. Results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1991. *Hypertension* 1995;25:305-313
224. Rebar R, Judd HL, Yen SS, et al. Characterization of the inappropriate gonadotropin secretion in polycystic ovary syndrome. *J Clin Invest* 1976;57:1320-1329
225. Hillier SG. Current concepts of the roles of follicle stimulating hormone and luteinizing hormone in folliculogenesis. *Hum Reprod* 1994;9:188-191
226. Taylor AE, McCourt B, Martin KA, et al. Determinants of abnormal gonadotropin secretion in clinically defined women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2248-2256
227. Panidis D, Farmakiotis D, Rousso D, et al. Serum luteinizing hormone levels are markedly increased and significantly correlated with Delta 4-androstenedione levels in lean women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2005;84:538-540
228. Tarlatzis BC, Grimbizis G, Pournaropoulos F, et al. The prognostic value of basal luteinizing hormone:follicle-stimulating hormone ratio in the treatment of patients with polycystic ovarian syndrome by assisted reproduction techniques. *Hum Reprod* 1995;10:2545-2549
229. Wisner A, Shehata F, Holzer H, et al. Effect of high LH/FSH ratio on women with polycystic ovary syndrome undergoing in vitro maturation treatment. *J Reprod Med* 2013;58:219-223

230. Chang WY, Knochelhauer ES, Bartolucci AA, Azziz R. Phenotypic spectrum of polycystic ovary syndrome: clinical and biochemical characterization of the three major clinical subgroups. *Fertil Steril* 2005;83:1717-1723
231. Carmina E. The spectrum of androgen excess disorders. *Fertil Steril* 2006;85:1582-1585
232. Blank SK, McCartney CR, Helm KD, Marshall JC. Neuroendocrine effects of androgens in adult polycystic ovary syndrome and female puberty. *Semin Reprod Med* 2007;25:352-359
233. Thathapudi S, Kodati V, Erukkambattu J, et al. Anthropometric and Biochemical Characteristics of Polycystic Ovarian Syndrome in South Indian Women Using AES-2006 Criteria. *Int J Endocrinol Metab* 2014;12:e12470
234. Eagleson CA, Gingrich MB, Pastor CL, et al. Polycystic ovarian syndrome: evidence that flutamide restores sensitivity of the gonadotropin-releasing hormone pulse generator to inhibition by estradiol and progesterone. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:4047-4052
235. Katsikis I, Karkanaki A, Misichronis G, et al. Phenotypic expression, body mass index and insulin resistance in relation to LH levels in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011;156:181-185
236. Livadas S, Pappas C, Karachalios A, et al. Prevalence and impact of hyperandrogenemia in 1,218 women with polycystic ovary syndrome. *Endocrine* 2014;47:631-638
237. Lawson MA, Jain S, Sun S, et al. Evidence for insulin suppression of baseline luteinizing hormone in women with polycystic ovarian syndrome and normal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:2089-2096
238. Moghetti P, Castello R, Negri C, et al. Metformin effects on clinical features, endocrine and metabolic profiles, and insulin sensitivity in polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled 6-month trial, followed by open, long-term clinical evaluation. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:139-146

239. Brennan K, Huang A, Azziz R. Dehydroepiandrosterone sulfate and insulin resistance in patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2009;91:1848-1852
240. Dagne A, Lekakis J, Mihas C, et al. Association of dehydroepiandrosterone-sulfate with endothelial function in young women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2006;154:883-890
241. Dilbaz B, Ozkaya E, Cinar M, Cakir E, Dilbaz S. Cardiovascular disease risk characteristics of the main polycystic ovary syndrome phenotypes. *Endocrine* 2011;39:272-277
242. Kauffman RP, Baker TE, Baker VM, DiMarino P, Castracane VD. Endocrine and metabolic differences among phenotypic expressions of polycystic ovary syndrome according to the 2003 Rotterdam consensus criteria. *Am J Obstet Gynecol* 2008;198:670 e671-677; discussion 670 e677-610
243. Panidis D, Tziomalos K, Chatzis P, et al. Association between menstrual cycle irregularities and endocrine and metabolic characteristics of the polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2013;168:145-152
244. Legro RS, Schlaff WD, Diamond MP, et al. Total testosterone assays in women with polycystic ovary syndrome: precision and correlation with hirsutism. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:5305-5313
245. Rosenfield RL. Clinical review: Adolescent anovulation: maturational mechanisms and implications. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:3572-3583
246. Lovejoy JC, Bray GA, Bourgeois MO, et al. Exogenous androgens influence body composition and regional body fat distribution in obese postmenopausal women--a clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:2198-2203
247. International, Diabetes, Federation. *Diabetes Atlas*. In. 6th edition ed; 2013
248. Rezultati istraživanja zdravlja stanovništva Srbije 2013.godina. In. Beograd: Institut za javno zdravlje Srbije "Dr Milan Jovanović Batut"; 2014
249. Zdravstveno-statistički godišnjak Republike Srbije, 2006. In. Beograd: Institut za javno zdravlje Srbije; 2007

250. Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, et al. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med* 2002;346:393-403
251. Nathan DM, Davidson MB, DeFronzo RA, et al. Impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance: implications for care. *Diabetes Care* 2007;30:753-759
252. Boudreaux MY, Talbott EO, Kip KE, Brooks MM, Witchel SF. Risk of T2DM and impaired fasting glucose among PCOS subjects: results of an 8-year follow-up. *Curr Diab Rep* 2006;6:77-83
253. Boomsma CM, Eijkemans MJ, Hughes EG, et al. A meta-analysis of pregnancy outcomes in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update* 2006;12:673-683
254. Bergman RN, Finegood DT, Kahn SE. The evolution of beta-cell dysfunction and insulin resistance in type 2 diabetes. *Eur J Clin Invest* 2002;32 Suppl 3:35-45
255. Ehrmann DA, Sturis J, Byrne MM, et al. Insulin secretory defects in polycystic ovary syndrome. Relationship to insulin sensitivity and family history of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1995;96:520-527
256. Abdul-Ghani MA, Tripathy D, DeFronzo RA. Contributions of beta-cell dysfunction and insulin resistance to the pathogenesis of impaired glucose tolerance and impaired fasting glucose. *Diabetes Care* 2006;29:1130-1139
257. Edelstein SL, Knowler WC, Bain RP, et al. Predictors of progression from impaired glucose tolerance to NIDDM: an analysis of six prospective studies. *Diabetes* 1997;46:701-710
258. Unwin N, Shaw J, Zimmet P, Alberti KG. Impaired glucose tolerance and impaired fasting glycaemia: the current status on definition and intervention. *Diabet Med* 2002;19:708-723
259. Abdul-Ghani MA, Williams K, DeFronzo RA, Stern M. What is the best predictor of future type 2 diabetes? *Diabetes Care* 2007;30:1544-1548
260. Stern MP, Williams K, Haffner SM. Identification of persons at high risk for type 2 diabetes mellitus: do we need the oral glucose tolerance test? *Ann Intern Med* 2002;136:575-581

261. Lindstrom J, Tuomilehto J. The diabetes risk score: a practical tool to predict type 2 diabetes risk. *Diabetes Care* 2003;26:725-731
262. Schmidt MI, Duncan BB, Bang H, et al. Identifying individuals at high risk for diabetes: The Atherosclerosis Risk in Communities study. *Diabetes Care* 2005;28:2013-2018
263. Ehrmann DA, Barnes RB, Rosenfield RL, Cavaghan MK, Imperial J. Prevalence of impaired glucose tolerance and diabetes in women with polycystic ovary syndrome. *Diabetes Care* 1999;22:141-146
264. Gambineri A, Pelusi C, Manicardi E, et al. Glucose intolerance in a large cohort of mediterranean women with polycystic ovary syndrome: phenotype and associated factors. *Diabetes* 2004;53:2353-2358
265. Luque-Ramirez M, Alpanes M, Escobar-Morreale HF. The determinants of insulin sensitivity, beta-cell function, and glucose tolerance are different in patients with polycystic ovary syndrome than in women who do not have hyperandrogenism. *Fertil Steril* 2010;94:2214-2221
266. Lorenzo C, Okoloise M, Williams K, Stern MP, Haffner SM. The metabolic syndrome as predictor of type 2 diabetes: the San Antonio heart study. *Diabetes Care* 2003;26:3153-3159
267. Gastaldelli A, Ferrannini E, Miyazaki Y, Matsuda M, DeFronzo RA. Beta-cell dysfunction and glucose intolerance: results from the San Antonio metabolism (SAM) study. *Diabetologia* 2004;47:31-39
268. Ferrannini E, Gastaldelli A, Miyazaki Y, et al. beta-Cell function in subjects spanning the range from normal glucose tolerance to overt diabetes: a new analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:493-500
269. Solomon CG, Hu FB, Dunaif A, et al. Long or highly irregular menstrual cycles as a marker for risk of type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 2001;286:2421-2426
270. Meigs JB, Rutter MK, Sullivan LM, et al. Impact of insulin resistance on risk of type 2 diabetes and cardiovascular disease in people with metabolic syndrome. *Diabetes Care* 2007;30:1219-1225

271. Choi SH, Ginsberg HN. Increased very low density lipoprotein (VLDL) secretion, hepatic steatosis, and insulin resistance. *Trends Endocrinol Metab* 2011;22:353-363
272. Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* 2001;414:799-806
273. Pollak MN, Schernhammer ES, Hankinson SE. Insulin-like growth factors and neoplasia. *Nat Rev Cancer* 2004;4:505-518
274. Sowers JR. Obesity as a cardiovascular risk factor. *Am J Med* 2003;115 Suppl 8A:37S-41S
275. Macut D, Simic T, Lissounov A, et al. Insulin resistance in non-obese women with polycystic ovary syndrome: relation to byproducts of oxidative stress. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2011;119:451-455
276. Savic-Radojevic A, Bozic Antic I, Coric V, et al. Effect of hyperglycemia and hyperinsulinemia on glutathione peroxidase activity in non-obese women with polycystic ovary syndrome. *Hormones (Athens)* 2015;14:101-108
277. Lehto S, Ronnema T, Pyorala K, Laakso M. Cardiovascular risk factors clustering with endogenous hyperinsulinaemia predict death from coronary heart disease in patients with Type II diabetes. *Diabetologia* 2000;43:148-155
278. Rutter MK, Meigs JB, Sullivan LM, D'Agostino RB, Sr., Wilson PW. Insulin resistance, the metabolic syndrome, and incident cardiovascular events in the Framingham Offspring Study. *Diabetes* 2005;54:3252-3257
279. Macut D, Antic IB, Bjekic-Macut J. Cardiovascular risk factors and events in women with androgen excess. *J Endocrinol Invest* 2015;38:295-301
280. DeFronzo RA, Tripathy D. Skeletal muscle insulin resistance is the primary defect in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2009;32 Suppl 2:S157-163
281. Abdul-Ghani MA, Matsuda M, DeFronzo RA. Strong association between insulin resistance in liver and skeletal muscle in non-diabetic subjects. *Diabet Med* 2008;25:1289-1294
282. DeUgarte CM, Bartolucci AA, Azziz R. Prevalence of insulin resistance in the polycystic ovary syndrome using the homeostasis model assessment. *Fertil Steril* 2005;83:1454-1460

283. Marshall JC, Dunaif A. Should all women with PCOS be treated for insulin resistance? *Fertil Steril* 2012;97:18-22
284. Borai A, Livingstone C, Kaddam I, Ferns G. Selection of the appropriate method for the assessment of insulin resistance. *BMC Med Res Methodol* 2011;11:158
285. Wang Y, Qu J, Wu X, Hou L, Erkkola R. Different phenotypes of polycystic ovary syndrome by Rotterdam criteria are differently steroidogenic but similarly insulin resistant. *Fertil Steril* 2010;93:1362-1365
286. Carmina E, Wong L, Chang L, et al. Endocrine abnormalities in ovulatory women with polycystic ovaries on ultrasound. *Hum Reprod* 1997;12:905-909
287. Rizzo M, Berneis K, Hersberger M, et al. Milder forms of atherogenic dyslipidemia in ovulatory versus anovulatory polycystic ovary syndrome phenotype. *Hum Reprod* 2009;24:2286-2292
288. Amato MC, Verghi M, Galluzzo A, Giordano C. The oligomenorrhic phenotypes of polycystic ovary syndrome are characterized by a high visceral adiposity index: a likely condition of cardiometabolic risk. *Hum Reprod* 2011;26:1486-1494
289. Hahn S, Bering van Halteren W, Roesler S, et al. The combination of increased ovarian volume and follicle number is associated with more severe hyperandrogenism in German women with polycystic ovary syndrome. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2006;114:175-181
290. Norman RJ, Mahabeer S, Masters S. Ethnic differences in insulin and glucose response to glucose between white and Indian women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 1995;63:58-62
291. Kauffman RP, Baker VM, DiMarino P, Castracane VD. Hyperinsulinemia and circulating dehydroepiandrosterone sulfate in white and Mexican American women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2006;85:1010-1016
292. Wijeyaratne CN, Nirantharakumar K, Balen AH, et al. Plasma homocysteine in polycystic ovary syndrome: does it correlate with insulin resistance and ethnicity? *Clin Endocrinol (Oxf)* 2004;60:560-567

293. Diamanti-Kandarakis E, Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome revisited: an update on mechanisms and implications. *Endocr Rev* 2012;33:981-1030
294. Vrbikova J, Cibula D, Dvorakova K, et al. Insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:2942-2945
295. Ciampelli M, Fulghesu AM, Cucinelli F, et al. Heterogeneity in beta cell activity, hepatic insulin clearance and peripheral insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 1997;12:1897-1901
296. Dunaif A, Xia J, Book CB, Schenker E, Tang Z. Excessive insulin receptor serine phosphorylation in cultured fibroblasts and in skeletal muscle. A potential mechanism for insulin resistance in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Invest* 1995;96:801-810
297. Dunaif A, Wu X, Lee A, Diamanti-Kandarakis E. Defects in insulin receptor signaling in vivo in the polycystic ovary syndrome (PCOS). *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001;281:E392-399
298. Pasquali R, Casimirri F, Venturoli S, et al. Body fat distribution has weight-independent effects on clinical, hormonal, and metabolic features of women with polycystic ovary syndrome. *Metabolism* 1994;43:706-713
299. Puder JJ, Varga S, Kraenzlin M, et al. Central fat excess in polycystic ovary syndrome: relation to low-grade inflammation and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:6014-6021
300. Escobar-Morreale HF, San Millan JL. Abdominal adiposity and the polycystic ovary syndrome. *Trends Endocrinol Metab* 2007;18:266-272
301. Corbould A. Chronic testosterone treatment induces selective insulin resistance in subcutaneous adipocytes of women. *J Endocrinol* 2007;192:585-594
302. Barbieri RL, Makris A, Randall RW, et al. Insulin stimulates androgen accumulation in incubations of ovarian stroma obtained from women with hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab* 1986;62:904-910
303. Grimmichova T, Vrbikova J, Matucha P, et al. Fasting insulin pulsatile secretion in lean women with polycystic ovary syndrome. *Physiol Res* 2008;57 Suppl 1:S91-98

304. Nestler JE, Singh R, Matt DW, Clore JN, Blackard WG. Suppression of serum insulin level by diazoxide does not alter serum testosterone or sex hormone-binding globulin levels in healthy, nonobese women. *Am J Obstet Gynecol* 1990;163:1243-1246
305. 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;72:83-89
306. Jayagopal V, Kilpatrick ES, Jennings PE, Hepburn DA, Atkin SL. The biological variation of testosterone and sex hormone-binding globulin (SHBG) in polycystic ovarian syndrome: implications for SHBG as a surrogate marker of insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:1528-1533
307. Kajaia N, Binder H, Dittrich R, et al. Low sex hormone-binding globulin as a predictive marker for insulin resistance in women with hyperandrogenic syndrome. *Eur J Endocrinol* 2007;157:499-507
308. Katsuki A, Sumida Y, Murashima S, et al. Acute and chronic regulation of serum sex hormone-binding globulin levels by plasma insulin concentrations in male noninsulin-dependent diabetes mellitus patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:2515-2519
309. Nestler JE. Metformin for the treatment of the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 2008;358:47-54
310. Dunaif A, Mandeli J, Fluhr H, Dobrjansky A. The impact of obesity and chronic hyperinsulinemia on gonadotropin release and gonadal steroid secretion in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;66:131-139
311. Edman CD, MacDonald PC. Effect of obesity on conversion of plasma androstenedione to estrone in ovulatory and anovulator young women. *Am J Obstet Gynecol* 1978;130:456-461
312. Dunaif A, Segal KR, Futterweit W, Dobrjansky A. Profound peripheral insulin resistance, independent of obesity, in polycystic ovary syndrome. *Diabetes* 1989;38:1165-1174

313. DeFronzo RA. Lilly lecture 1987. The triumvirate: beta-cell, muscle, liver. A collusion responsible for NIDDM. *Diabetes* 1988;37:667-687
314. Dantas WS, Gualano B, Rocha MP, et al. Metabolic disturbance in PCOS: clinical and molecular effects on skeletal muscle tissue. *ScientificWorldJournal* 2013;2013:178364
315. Rizza RA. Pathogenesis of fasting and postprandial hyperglycemia in type 2 diabetes: implications for therapy. *Diabetes* 2010;59:2697-2707
316. Monzillo LU, Hamdy O. Evaluation of insulin sensitivity in clinical practice and in research settings. *Nutr Rev* 2003;61:397-412
317. Singh B, Saxena A. Surrogate markers of insulin resistance: A review. *World J Diabetes* 2010;1:36-47
318. Chevenne D, Trivin F, Porquet D. Insulin assays and reference values. *Diabetes Metab* 1999;25:459-476
319. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28:412-419
320. Xiang AH, Watanabe RM, Buchanan TA. HOMA and Matsuda indices of insulin sensitivity: poor correlation with minimal model-based estimates of insulin sensitivity in longitudinal settings. *Diabetologia* 2014;57:334-338
321. Mather KJ, Hunt AE, Steinberg HO, et al. Repeatability characteristics of simple indices of insulin resistance: implications for research applications. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:5457-5464
322. Matsuda M. Measuring and estimating insulin resistance in clinical and research settings. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2010;20:79-86
323. Katz A, Nambi SS, Mather K, et al. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:2402-2410
324. Katsuki A, Sumida Y, Gabazza EC, et al. QUICKI is useful for following improvements in insulin sensitivity after therapy in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:2906-2908

325. Chen H, Sullivan G, Yue LQ, Katz A, Quon MJ. QUICKI is a useful index of insulin sensitivity in subjects with hypertension. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003;284:E804-812
326. Ascaso JF, Romero P, Real JT, et al. [Insulin resistance quantification by fasting insulin plasma values and HOMA index in a non-diabetic population]. *Med Clin (Barc)* 2001;117:530-533
327. Hrebicek J, Janout V, Malincikova J, Horakova D, Cizek L. Detection of insulin resistance by simple quantitative insulin sensitivity check index QUICKI for epidemiological assessment and prevention. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:144-147
328. Marcovina S, Bowsher RR, Miller WG, et al. Standardization of insulin immunoassays: report of the American Diabetes Association Workgroup. *Clin Chem* 2007;53:711-716
329. Pugeat M, Crave JC, Elmidani M, et al. Pathophysiology of sex hormone binding globulin (SHBG): relation to insulin. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1991;40:841-849
330. Norman RJ, Hague WM, Masters SC, Wang XJ. Subjects with polycystic ovaries without hyperandrogenaemia exhibit similar disturbances in insulin and lipid profiles as those with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 1995;10:2258-2261
331. Robinson S, Kiddy D, Gelding SV, et al. The relationship of insulin insensitivity to menstrual pattern in women with hyperandrogenism and polycystic ovaries. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1993;39:351-355
332. Lorenzo C, Haffner SM, Stancakova A, Laakso M. Relation of direct and surrogate measures of insulin resistance to cardiovascular risk factors in nondiabetic finnish offspring of type 2 diabetic individuals. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;95:5082-5090
333. Kanauchi M, Kanauchi K, Inoue T, Kimura K, Saito Y. Surrogate markers of insulin resistance in assessing individuals with new categories "prehypertension" and "prediabetes". *Clin Chem Lab Med* 2007;45:35-39

334. Albareda M, Rodriguez-Espinosa J, Murugo M, de Leiva A, Corcoy R. Assessment of insulin sensitivity and beta-cell function from measurements in the fasting state and during an oral glucose tolerance test. *Diabetologia* 2000;43:1507-1511
335. 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;23:57-63
336. Ciampelli M, Leoni F, Cucinelli F, et al. Assessment of insulin sensitivity from measurements in the fasting state and during an oral glucose tolerance test in polycystic ovary syndrome and menopausal patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:1398-1406
337. Velling Magnussen L, Mumm H, Andersen M, Glinborg D. Hemoglobin A1c as a tool for the diagnosis of type 2 diabetes in 208 premenopausal women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2011;96:1275-1280
338. Berthiaume N, Zinker BA. Metabolic responses in a model of insulin resistance: comparison between oral glucose and meal tolerance tests. *Metabolism* 2002;51:595-598
339. Ferrannini E, Bjorkman O, Reichard GA, Jr., et al. The disposal of an oral glucose load in healthy subjects. A quantitative study. *Diabetes* 1985;34:580-588
340. Radikova Z, Koska J, Huckova M, et al. Insulin sensitivity indices: a proposal of cut-off points for simple identification of insulin-resistant subjects. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2006;114:249-256
341. Penesova A, Radikova Z. Comparison of insulin sensitivity indices calculated from standard 3-sampled and frequently sampled oral glucose tolerance test. *Endocr Regul* 2004;38:167-171
342. Belfiore F, Iannello S, Camuto M, Fagone S, Cavaleri A. Insulin sensitivity of blood glucose versus insulin sensitivity of blood free fatty acids in normal, obese, and obese-diabetic subjects. *Metabolism* 2001;50:573-582

343. Abdul-Ghani MA, Abdul-Ghani T, Ali N, DeFronzo RA. One-hour plasma glucose concentration and the metabolic syndrome identify subjects at high risk for future type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2008;31:1650-1655
344. Abdul-Ghani MA, Lyssenko V, Tuomi T, DeFronzo RA, Groop L. Fasting versus postload plasma glucose concentration and the risk for future type 2 diabetes: results from the Botnia Study. *Diabetes Care* 2009;32:281-286
345. Fiorentino TV, Marini MA, Andreozzi F, et al. One-hour post-load hyperglycemia is a stronger predictor of type 2 diabetes than impaired fasting glucose. *J Clin Endocrinol Metab* 2015;jc20152573
346. Manco M, Panunzi S, Macfarlane DP, et al. One-hour plasma glucose identifies insulin resistance and beta-cell dysfunction in individuals with normal glucose tolerance: cross-sectional data from the Relationship between Insulin Sensitivity and Cardiovascular Risk (RISC) study. *Diabetes Care* 2010;33:2090-2097
347. Carmina E, Lobo RA. Use of fasting blood to assess the prevalence of insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2004;82:661-665
348. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* 2004;364:937-952
349. Rosenzweig JL, Ferrannini E, Grundy SM, et al. Primary prevention of cardiovascular disease and type 2 diabetes in patients at metabolic risk: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:3671-3689
350. Grundy SM, Cleeman JI, Merz CN, et al. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III Guidelines. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:720-732
351. Gimeno-Orna JA, Faure-Nogueras E, Sancho-Serrano MA. Usefulness of total cholesterol/HDL-cholesterol ratio in the management of diabetic dyslipidaemia. *Diabet Med* 2005;22:26-31

352. McNamara JR, Jenner JL, Li Z, Wilson PW, Schaefer EJ. Change in LDL particle size is associated with change in plasma triglyceride concentration. *Arterioscler Thromb* 1992;12:1284-1290
353. Austin MA, King MC, Vranizan KM, Krauss RM. Atherogenic lipoprotein phenotype. A proposed genetic marker for coronary heart disease risk. *Circulation* 1990;82:495-506
354. Yu YH, Ginsberg HN. Adipocyte signaling and lipid homeostasis: sequelae of insulin-resistant adipose tissue. *Circ Res* 2005;96:1042-1052
355. Cussons AJ, Stuckey BG, Watts GF. Cardiovascular disease in the polycystic ovary syndrome: new insights and perspectives. *Atherosclerosis* 2006;185:227-239
356. Laws A, Reaven GM. Evidence for an independent relationship between insulin resistance and fasting plasma HDL-cholesterol, triglyceride and insulin concentrations. *J Intern Med* 1992;231:25-30
357. Musunuru K. Atherogenic dyslipidemia: cardiovascular risk and dietary intervention. *Lipids* 2010;45:907-914
358. Zhang J, Fan P, Liu H, et al. Apolipoprotein A-I and B levels, dyslipidemia and metabolic syndrome in south-west Chinese women with PCOS. *Hum Reprod* 2012;27:2484-2493
359. Assmann G, Cullen P, Schulte H. The Munster Heart Study (PROCAM). Results of follow-up at 8 years. *Eur Heart J* 1998;19 Suppl A:A2-11
360. Calabresi L, Gomaschi M, Franceschini G. Endothelial protection by high-density lipoproteins: from bench to bedside. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:1724-1731
361. Toth PP. High-density lipoprotein: epidemiology, metabolism, and antiatherogenic effects. *Dis Mon* 2001;47:369-416
362. Weissglas-Volkov D, Pajukanta P. Genetic causes of high and low serum HDL-cholesterol. *J Lipid Res* 2010;51:2032-2057
363. Rocha MP, Marcondes JA, Barcellos CR, et al. Dyslipidemia in women with polycystic ovary syndrome: incidence, pattern and predictors. *Gynecol Endocrinol* 2011;27:814-819

364. Rizzo M, Longo RA, Guastella E, Rini GB, Carmina E. Assessing cardiovascular risk in Mediterranean women with polycystic ovary syndrome. *J Endocrinol Invest* 2011;34:422-426
365. Tiras MB, Yalcin R, Noyan V, et al. Alterations in cardiac flow parameters in patients with polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod* 1999;14:1949-1952
366. Yildiz BO, Haznedaroglu IC, Kirazli S, Bayraktar M. Global fibrinolytic capacity is decreased in polycystic ovary syndrome, suggesting a prothrombotic state. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:3871-3875
367. Chekir C, Nakatsuka M, Kamada Y, et al. Impaired uterine perfusion associated with metabolic disorders in women with polycystic ovary syndrome. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2005;84:189-195
368. Iverius PH, Brunzell JD. Relationship between lipoprotein lipase activity and plasma sex steroid level in obese women. *J Clin Invest* 1988;82:1106-1112
369. Haffner SM, Newcomb PA, Marcus PM, Klein BE, Klein R. Relation of sex hormones and dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-SO₄) to cardiovascular risk factors in postmenopausal women. *Am J Epidemiol* 1995;142:925-934
370. Abderrahmani A, Niederhauser G, Favre D, et al. Human high-density lipoprotein particles prevent activation of the JNK pathway induced by human oxidised low-density lipoprotein particles in pancreatic beta cells. *Diabetologia* 2007;50:1304-1314
371. Inukai K, Nakashima Y, Watanabe M, et al. ANGPTL3 is increased in both insulin-deficient and -resistant diabetic states. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;317:1075-1079
372. Rizzo M, Berneis K. Who needs to care about small, dense low-density lipoproteins? *Int J Clin Pract* 2007;61:1949-1956
373. Millan J, Pinto X, Munoz A, et al. Lipoprotein ratios: Physiological significance and clinical usefulness in cardiovascular prevention. *Vasc Health Risk Manag* 2009;5:757-765

374. Sniderman AD, St-Pierre AC, Cantin B, et al. Concordance/discordance between plasma apolipoprotein B levels and the cholesterol indexes of atherosclerotic risk. *Am J Cardiol* 2003;91:1173-1177
375. Shah PK. Atherosclerosis: targeting endogenous apo A-I--a new approach for raising HDL. *Nat Rev Cardiol* 2011;8:187-188
376. Mooradian AD, Haas MJ, Wehmeier KR, Wong NC. Obesity-related changes in high-density lipoprotein metabolism. *Obesity (Silver Spring)* 2008;16:1152-1160
377. Mooradian AD, Haas MJ, Wong NC. Transcriptional control of apolipoprotein A-I gene expression in diabetes. *Diabetes* 2004;53:513-520
378. Bayliss G, Weinrauch LA, D'Elia JA. Pathophysiology of obesity-related renal dysfunction contributes to diabetic nephropathy. *Curr Diab Rep* 2012;12:440-446
379. Kontush A, Chapman MJ. Why is HDL functionally deficient in type 2 diabetes? *Curr Diab Rep* 2008;8:51-59
380. Cromwell WC, Otvos JD, Keyes MJ, et al. LDL Particle Number and Risk of Future Cardiovascular Disease in the Framingham Offspring Study - Implications for LDL Management. *J Clin Lipidol* 2007;1:583-592
381. Demirel F, Bideci A, Cinaz P, et al. Serum leptin, oxidized low density lipoprotein and plasma asymmetric dimethylarginine levels and their relationship with dyslipidaemia in adolescent girls with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007;67:129-134
382. Berneis K, Rizzo M, Hersberger M, et al. Atherogenic forms of dyslipidaemia in women with polycystic ovary syndrome. *Int J Clin Pract* 2009;63:56-62
383. Berneis K, Rizzo M, Lazzarini V, Fruzzetti F, Carmina E. Atherogenic lipoprotein phenotype and low-density lipoproteins size and subclasses in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:186-189
384. Thompson A, Danesh J. Associations between apolipoprotein B, apolipoprotein AI, the apolipoprotein B/AI ratio and coronary heart disease: a literature-based meta-analysis of prospective studies. *J Intern Med* 2006;259:481-492

385. Lee YH, Choi SH, Lee KW, Kim DJ. Apolipoprotein B/A1 ratio is associated with free androgen index and visceral adiposity and may be an indicator of metabolic syndrome in male children and adolescents. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2011;74:579-586
386. Walldius G, Jungner I. The apoB/apoA-I ratio: a strong, new risk factor for cardiovascular disease and a target for lipid-lowering therapy--a review of the evidence. *J Intern Med* 2006;259:493-519
387. Sierra-Johnson J, Somers VK, Kuniyoshi FH, et al. Comparison of apolipoprotein-B/apolipoprotein-AI in subjects with versus without the metabolic syndrome. *Am J Cardiol* 2006;98:1369-1373
388. Sierra-Johnson J, Romero-Corral A, Somers VK, et al. ApoB/apoA-I ratio: an independent predictor of insulin resistance in US non-diabetic subjects. *Eur Heart J* 2007;28:2637-2643
389. Sniderman AD. The apoB/apoA-I ratio and insulin resistance: sorting out the metabolic syndrome. *Eur Heart J* 2007;28:2563-2564
390. Sahin Y, Unluhizarci K, Yilmazsoy A, et al. The effects of metformin on metabolic and cardiovascular risk factors in nonobese women with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007;67:904-908
391. Lemieux I, Lamarche B, Couillard C, et al. Total cholesterol/HDL cholesterol ratio vs LDL cholesterol/HDL cholesterol ratio as indices of ischemic heart disease risk in men: the Quebec Cardiovascular Study. *Arch Intern Med* 2001;161:2685-2692
392. Lee IT, Huang CN, Lee WJ, Lee HS, Sheu WH. High total-to-HDL cholesterol ratio predicting deterioration of ankle brachial index in Asian type 2 diabetic subjects. *Diabetes Res Clin Pract* 2008;79:419-426
393. Miller GJ, Miller NE. Plasma-high-density-lipoprotein concentration and development of ischaemic heart-disease. *Lancet* 1975;1:16-19
394. McLaughlin T, Reaven G, Abbasi F, et al. Is there a simple way to identify insulin-resistant individuals at increased risk of cardiovascular disease? *Am J Cardiol* 2005;96:399-404

395. Kim-Dorner SJ, Deuster PA, Zeno SA, Remaley AT, Poth M. Should triglycerides and the triglycerides to high-density lipoprotein cholesterol ratio be used as surrogates for insulin resistance? *Metabolism* 2010;59:299-304
396. Salazar MR, Carbajal HA, Espeche WG, et al. Identifying cardiovascular disease risk and outcome: use of the plasma triglyceride/high-density lipoprotein cholesterol concentration ratio versus metabolic syndrome criteria. *J Intern Med* 2013;273:595-601
397. Vega GL, Barlow CE, Grundy SM, Leonard D, DeFina LF. Triglyceride-to-high-density-lipoprotein-cholesterol ratio is an index of heart disease mortality and of incidence of type 2 diabetes mellitus in men. *J Investig Med* 2014;62:345-349
398. 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;54:447-453
399. Shi Y, Gao X, Sun X, Zhang P, Chen Z. Clinical and metabolic characteristics of polycystic ovary syndrome without polycystic ovary: a pilot study on Chinese women. *Fertil Steril* 2008;90:1139-1143
400. Despres JP, Lemieux I, Bergeron J, et al. Abdominal obesity and the metabolic syndrome: contribution to global cardiometabolic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28:1039-1049
401. Sam S, Haffner S, Davidson MH, et al. Hypertriglyceridemic waist phenotype predicts increased visceral fat in subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2009;32:1916-1920
402. Lemieux I, Pascot A, Couillard C, et al. Hypertriglyceridemic waist: A marker of the atherogenic metabolic triad (hyperinsulinemia; hyperapolipoprotein B; small, dense LDL) in men? *Circulation* 2000;102:179-184
403. St-Pierre J, Lemieux I, Vohl MC, et al. Contribution of abdominal obesity and hypertriglyceridemia to impaired fasting glucose and coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2002;90:15-18
404. Despres JP, Cartier A, Cote M, Arsenault BJ. The concept of cardiometabolic risk: Bridging the fields of diabetology and cardiology. *Ann Med* 2008;40:514-523

405. Taverna MJ, Martinez-Larrad MT, Frechtel GD, Serrano-Rios M. Lipid accumulation product: a powerful marker of metabolic syndrome in healthy population. *Eur J Endocrinol* 2011;164:559-567
406. Tellechea ML, Aranguren F, Martinez-Larrad MT, et al. Ability of lipid accumulation product to identify metabolic syndrome in healthy men from Buenos Aires. *Diabetes Care* 2009;32:e85
407. Bozorgmanesh M, Hadaegh F, Azizi F. Diabetes prediction, lipid accumulation product, and adiposity measures; 6-year follow-up: Tehran lipid and glucose study. *Lipids Health Dis* 2010;9:45
408. Wiltgen D, Benedetto IG, Mastella LS, Spritzer PM. Lipid accumulation product index: a reliable marker of cardiovascular risk in polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2009;24:1726-1731
409. Ioachimescu AG, Brennan DM, Hoar BM, Hoogwerf BJ. The lipid accumulation product and all-cause mortality in patients at high cardiovascular risk: a PreCIS database study. *Obesity (Silver Spring)* 2010;18:1836-1844
410. Bedogni G, Kahn HS, Bellentani S, Tiribelli C. A simple index of lipid overaccumulation is a good marker of liver steatosis. *BMC Gastroenterol* 2010;10:98
411. Hosseinpanah F, Barzin M, Erfani H, et al. Lipid accumulation product and insulin resistance in Iranian PCOS prevalence study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2014
412. Wehr E, Gruber HJ, Giuliani A, et al. The lipid accumulation product is associated with impaired glucose tolerance in PCOS women. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:E986-990
413. Ford ES. The metabolic syndrome and mortality from cardiovascular disease and all-causes: findings from the National Health and Nutrition Examination Survey II Mortality Study. *Atherosclerosis* 2004;173:309-314
414. Ford ES. Risks for all-cause mortality, cardiovascular disease, and diabetes associated with the metabolic syndrome: a summary of the evidence. *Diabetes Care* 2005;28:1769-1778

415. Dokras A, Bochner M, Hollinrake E, et al. Screening women with polycystic ovary syndrome for metabolic syndrome. *Obstet Gynecol* 2005;106:131-137
416. Gallagher EJ, LeRoith D, Karnieli E. The metabolic syndrome--from insulin resistance to obesity and diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2008;37:559-579, vii
417. Katsiki N, Athyros VG, Karagiannis A, Mikhailidis DP. Characteristics other than the diagnostic criteria associated with metabolic syndrome: an overview. *Curr Vasc Pharmacol* 2014;12:627-641
418. Hosseinpanah F, Barzin M, Tehrani FR, Azizi F. The lack of association between polycystic ovary syndrome and metabolic syndrome: Iranian PCOS prevalence study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2011;75:692-697
419. Vrbikova J, Vondra K, Cibula D, et al. Metabolic syndrome in young Czech women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2005;20:3328-3332
420. Moran L, Teede H. Metabolic features of the reproductive phenotypes of polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update* 2009;15:477-488
421. Moran C, Tena G, Moran S, et al. Prevalence of polycystic ovary syndrome and related disorders in Mexican women. *Gynecol Obstet Invest* 2010;69:274-280
422. Essah PA, Nestler JE. The metabolic syndrome in polycystic ovary syndrome. *J Endocrinol Invest* 2006;29:270-280
423. Hahn S, Tan S, Sack S, et al. Prevalence of the metabolic syndrome in German women with polycystic ovary syndrome. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2007;115:130-135
424. Cussons AJ, Watts GF, Burke V, et al. Cardiometabolic risk in polycystic ovary syndrome: a comparison of different approaches to defining the metabolic syndrome. *Hum Reprod* 2008;23:2352-2358
425. Gambineri A, Repaci A, Patton L, et al. Prominent role of low HDL-cholesterol in explaining the high prevalence of the metabolic syndrome in polycystic ovary syndrome. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2009;19:797-804

426. Cheung LP, Ma RC, Lam PM, et al. Cardiovascular risks and metabolic syndrome in Hong Kong Chinese women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2008;23:1431-1438
427. Ni RM, Mo Y, Chen X, et al. Low prevalence of the metabolic syndrome but high occurrence of various metabolic disorders in Chinese women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2009;161:411-418
428. Kyrkou G, Trakakis E, Attilakos A, et al. Metabolic syndrome in Greek women with polycystic ovary syndrome: prevalence, characteristics and associations with body mass index. A prospective controlled study. *Arch Gynecol Obstet* 2015
429. Sharma S, Majumdar A. Prevalence of metabolic syndrome in relation to body mass index and polycystic ovarian syndrome in Indian women. *J Hum Reprod Sci* 2015;8:202-208
430. Li R, Yu G, Yang D, et al. Prevalence and predictors of metabolic abnormalities in Chinese women with PCOS: a cross-sectional study. *BMC Endocr Disord* 2014;14:76
431. Xiang S, Hua F, Chen L, et al. Lipid accumulation product is related to metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2013;121:115-118
432. Mandrelle K, Kamath MS, Bondu DJ, et al. Prevalence of metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome attending an infertility clinic in a tertiary care hospital in south India. *J Hum Reprod Sci* 2012;5:26-31
433. Mehrabian F, Khani B, Kelishadi R, Kermani N. The prevalence of metabolic syndrome and insulin resistance according to the phenotypic subgroups of polycystic ovary syndrome in a representative sample of Iranian females. *J Res Med Sci* 2011;16:763-769
434. Bhattacharya SM. Metabolic syndrome in females with polycystic ovary syndrome and International Diabetes Federation criteria. *J Obstet Gynaecol Res* 2008;34:62-66

435. Lim SS, Davies MJ, Norman RJ, Moran LJ. Overweight, obesity and central obesity in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2012;18:618-637
436. Valkenburg O, Steegers-Theunissen RP, Smedts HP, et al. A more atherogenic serum lipoprotein profile is present in women with polycystic ovary syndrome: a case-control study. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:470-476
437. Perk J, De Backer G, Gohlke H, et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Eur Heart J* 2012;33:1635-1701
438. Balkau B, Deanfield JE, Despres JP, et al. International Day for the Evaluation of Abdominal Obesity (IDEA): a study of waist circumference, cardiovascular disease, and diabetes mellitus in 168,000 primary care patients in 63 countries. *Circulation* 2007;116:1942-1951
439. Herrera VM, Casas JP, Miranda JJ, et al. Interethnic differences in the accuracy of anthropometric indicators of obesity in screening for high risk of coronary heart disease. *Int J Obes (Lond)* 2009;33:568-576
440. Brand JS, van der Tweel I, Grobbee DE, Emmelot-Vonk MH, van der Schouw YT. Testosterone, sex hormone-binding globulin and the metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Int J Epidemiol* 2011;40:189-207
441. Ding EL, Song Y, Malik VS, Liu S. Sex differences of endogenous sex hormones and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2006;295:1288-1299
442. Ranasinha S, Joham AE, Norman RJ, et al. The association between Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) and metabolic syndrome: a statistical modelling approach. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2015

443. Forrester-Dumont K, Galescu O, Kolesnikov A, et al. Hyperandrogenism Does Not Influence Metabolic Parameters in Adolescent Girls with PCOS. *Int J Endocrinol* 2012;2012:434830
444. Woolston A, Tu YK, Baxter PD, Gilthorpe MS. A comparison of different approaches to unravel the latent structure within metabolic syndrome. *PLoS One* 2012;7:e34410
445. Macut D, Bozic Antic I, Bjekic-Macut J, et al. Lipid accumulation product is associated with metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome. *Hormones (Athens)* 2015; doi: 10.14310/horm.2002.1592

Spisak skraćenica

- ADA- Americka Asocijacija za dijabetes (*Engl. American Diabetes Association*)
- AES-Društvo za višak androgena (*Engl. Androgen Excess Society*)
- AESPCOSS- Društvo za višak androgena i društvo za PCOS (*Engl. Androgen Excess Society and PCOS Society*)
- AMH - anti-milerijan hormon (*Engl. Anti-müllerian hormone*)
- ANOV-anovulacija
- ASRM-Američko društvo za reproduktivnu medicinu (*Engl. American Society for Reproductive Medicine*)
- AUC- površina ispod krive (*Engl. Area under the curve*)
- BMI- indeks telesne mase (*Engl. Body mass index*)
- DKP – dijastolni krvni pritisak
- DHEA- dehidroepiandrosteron
- DHEAS – dehidroepiandrosteron-sulfat
- DHT -5 α -dihidrotestosteron
- EGIR - Evropska Grupa za Proučavanje Insuinske Rezistencije (*Engl. European Group for the Study of Insulin Resistance*)
- EHK-euglikemijski hiperinsulinemijski klamp
- ESHRE-Evropsko Društvo za humanu reprodukciju i embriologiju (*Engl. European Society for Human Reproduction and Embriology*)
- FAI – indeks slobodnih androgena (*Engl. free androgen index*)
- FG – Ferriman-Gallway sistem bodovanja stepena hirzutizma
- FSH –folikulostimulirajući hormon
- GnRH - gonadotropin oslobađajući hormon (*Engl. Gonadotropine releasing hormone*)
- HA-hiperandrogenizam
- HAIRAN - hiperandrogenemija-insulinska rezistencija-akantoza nigrikans sindrom (*Engl. Hyperandrogenemia-insulin resistance-acanthosis nigricans syndrome*)
- HDL-lipoprotein visoke gustine (*Engl. High density lipoprotein*)
- 17OHP - 17 α -hidroksiprogesteron

HIRI-indeks insulinske rezistencije na nivou jetre (*Engl. Hepatic insulin resistance index*)
HTA-hipertenzija
IBS-ishemijska bolest srca
IDF – Internacionalna federacija za dijabetes (*Engl. International Diabetes Federation*)
IGI-insulinogenični indeks (*Engl. Insulinogenic index*)
IGT – oštećena glukozna tolerancija (*Engl. Impaired glucose tolerance*)
IR – insulinska rezistencija
ISI-indeks insulinske senzitivnosti (*Engl. Insulin sensitivity index*)
ISSI-2 –indeks insulinske sekrecije i senzitivnosti (*Engl. insulin secretion–sensitivity index-2*)
KAH – kongenitalna adrenalna hiperplazija
KG-kontrolna grupa
KVS-kardiovaskularni
LAP- lipidni akumulacioni produkt (*Engl. Lipid accumulation product*)
LDL-Lipoprotein niske gustine (*Engl. Low density lipoprotein*)
LH – luteinizirajući hormon
MC-menstrualni ciklusi
MetS – metabolički sindrom
NCEP-ATP III –*Engl. The national Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III*
NGT-normalna glukozna tolerancija
NIH – Nacionalni insitut za zdravlje (*Engl. National Institutes of Health*)
NZ-neznačajno
OGTT – oralni test opterećenja glukozom (*Engl. oral glucose tolerance test*)
OS –obim struka
PCOM- morfološki policistični jajnici (*Engl. polycystic ovary morphology*)
PCOS –sindrom policističnih jajnika (*Engl. Polycystic ovary syndrome*)
ROC- *Engl. Reciever operating characteristic curve*
SAD – Sjedinjene Američke Države
Sar.-saradnici

SHBG – seks hormon vezujući globulin (*Engl. Sex hormone binding globuline*)

SKP - sistolni krvni pritisak

SN-senzitivnost

SP-specifičnost

T2DM – tip 2 dijabetes melitusa

TG-trigliceridi

VIF-faktor inflacije varijanse (*Engl. Variance inflation factor*)

VLDL-lipoprotein veoma niske gustine (*Engl. Very low density lipoprotein*)

Biografija

Ivana Božić Antić rođena je 11.05.1978. godine u Beogradu gde je završila osnovnu školu i gimnaziju sa odličnim uspehom. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu upisala je školske 1997/98.god, a diplomirala je 2004.god sa prosečnom ocenom 9.23. Radni odnos na neodređeno vreme u Klinici za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Kliničkog centra Srbije je zasnovala oktobra 2006.god. Zvanje specijaliste interne medicine je stekla oktobra 2012.godine. Užu specijalizaciju na Medicinskom fakultetu u Beogradu iz oblasti Endokrinologija je upisala 2015.godine. Magistarsku tezu pod naslovom "Osovina hipotalamus-hipofiza-nadbubrežne žlezde i *BcII* polimorfizam glukokortikoidnog receptora u posttraumatskom stres poremećaju" odbranila je maja 2010.godine i stekla zvanje magistra medicinskih nauka. Zvanje istraživač-saradnik za oblast Endokrinologija na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu je stekla 2010.godine, a reizabrana je u ovo zvanje januara 2014.godine. U periodu od 2004-2008.godine je učestvovala u međunarodnom naučno-istraživačkom projektu iz Šestog okvirnog programa (FP6) "Psychobiology of Posttraumatic Stress Disorder" (INCO-CT-2004-509213). Od 2011.godine učestvuje projektu Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije, ev.br. 41009: "Uloga steroidnih hormona u neuroendokrinoj adaptaciji na stres i patofiziologiji metaboličkog sindroma – molekularni mehanizmi i kliničke implikacije". Do sada je publikovala ukupno 25 radova *in extenso* i u 2 rada je prvi autor. Takođe, autor je i koautor u 105 radova koji su prikazani na međunarodnim skupovima i 44 rada prikazanih na skupovima od nacionalnog značaja.

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani-a Ivana Božić Antić

broj upisa _____

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

„Analiza fenotipova sindroma policističnih jajnika i njihov uticaj na metaboličke promene“

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

U Beogradu, 28.03.2016

Potpis doktoranda



Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora Ivana Božić Antić

Broj upisa _____

Studijski program _____

Naslov rada „Analiza fenotipova sindroma policističnih jajnika i njihov uticaj na metaboličke promene“

Mentor Prof dr Đuro Macut

Potpisani Ivana Božić Antić

izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 28.03. 2016



Prilog 3.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

„Analiza fenotipova sindroma policističnih jajnika i njihov uticaj na metaboličke promene“

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poledini lista).

Potpis doktoranda

U Beogradu, 28.03.2016



1. Autorstvo - Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. Autorstvo – nekomercijalno. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. Autorstvo - nekomercijalno – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. Autorstvo - nekomercijalno – deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. Autorstvo – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. Autorstvo - deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.