

**МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ**  
**МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ**  
**КАТЕДРА ПО ВЪТРЕШНИ БОЛЕСТИ**  
**КЛИНИКА ПО ЕНДОКРИНОЛОГИЯ,**  
**УМБАЛ „АЛЕКСАНДРОВСКА“**

---

**Д-р Пламена Петрова Кабакчиева-Георгиева**

**НОВИ БИОМАРКЕРИ И АНАЛИЗ НА ВРЪЗКАТА ИМ С**  
**КЛИНИЧНИ, МЕТАБОЛИТНИ И ХОРМОНАЛНИ**  
**ПОКАЗАТЕЛИ ПРИ ПАЦИЕНТИ СЪС СИНДРОМ НА**  
**ПОЛИКИСТОЗНИ ЯЙЧНИЦИ**

**АВТОРЕФЕРАТ**

на дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен  
„доктор“

Област на висше образование 7. Здравеопазване и спорт  
Професионално направление 7.1. Медицина  
Научна специалност „Ендокринология“

**Научен ръководител: Проф. Д-р Здравко Асенов Каменов, д.м.н.**

**София**

**2022**

Дисертационният труд е написан на 193 стандартни машинописни страници, онагледен с 24 таблици и 32 фигури. Литературната справка включва 408 заглавия – 3 на кирилица и 405 на латиница. Във връзка с дисертационния труд са реализирани 6 публикации, 4 от които са с импакт фактор, 3 участия в международни научни форуми и 4 научни проекта към Медицински университет - София.

Дисертационният труд е обсъден на заседание на Катедрен съвет на Катедрата по вътрешни болести към Медицински университет – София на 13.09.2022 г. и е насочен за представяне пред научно жури в състав:

1. Доц. д-р Антоанета Трифонова Гатева, д.м.н. – Клиника по ендокринология и болести на обмяната, УМБАЛ „Александровска“ – София; Катедра по вътрешни болести, МФ, Медицински университет – София, вътрешен член;

2. Доц. д-р Ралица Николаева Робева, д.м. - Първа Клиника по хипоталамо-хипофизно, надбъбречни и гонадни заболявания, УСБАЛЕ „Акад. Иван Пенчев; МФ, Медицински университет – София, вътрешен член;

3. Проф. д-р Мария Миткова Орбецова, д.м. – Клиника по ендокринология и болести на обмяната, УМБАЛ „Св. Георги“ – Пловдив; Катедра по ендокринология, МФ, Медицински университет – Пловдив, външен член;

4. Доц. д-р Катя Николова Тодорова, д.м. – Клиника по ендокринология и болести на обмяната, УМБАЛ "Д-р Георги Странски"-Плевен; Катедра „Кардиология, пулмология, ендокринология“, Медицински университет – Плевен, външен член;

5. Доц. д-р Живка Бонева Асьова, д.м. – Клиника по ендокринология и болести на обмяната, Медицински институт – МВР, София, външен член.

#### **Резервни членове:**

1. Доц. д-р Атанаска Петрова Еленкова, д.м. - Първа Клиника по хипоталамо-хипофизно, надбъбречни и гонадни заболявания, УСБАЛЕ „Акад. Иван Пенчев; МФ, Медицински университет – София;

2. Доц. д-р Митко Димитров Митков, д.м. – Клиника по ендокринология и болести на обмяната, УМБАЛ „Пълмед“ – Пловдив, Катедра по ендокринология, МФ, Медицински университет – Пловдив.

Публичната защита на дисертационния труд ще се състои на открито заседание на 14.12.2022 г. в 14 ч. в аудитория „Проф. Константин Чилив“, ул. Св. Георги Софийски № 1, гр. София.

Материалите по защитата са публикувани и са на разположение на интернет страницата на Медицински университет – София.

# СЪДЪРЖАНИЕ

<b>1. Въведение.....</b>	<b>5</b>
<b>2. Цел и задачи.....</b>	<b>6</b>
<b>3. Материали и методи.....</b>	<b>7</b>
3.1. Пациенти и контроли.....	7
3.2. Използвани методи.....	9
<b>4. Резултати.....</b>	<b>17</b>
4.1. Антропометрични и клинични параметри в групите.....	17
4.2. Анализ във фенотипните групи на СПЯ.....	21
4.3. Оценка на качеството на живот .....	24
4.4. Оценка на сексуална функция... ..	27
4.5. Хиперандрогенизъм, PSA и маркери за хрущялна загуба .....	29
4.6. Изследване на ендоканабиноиди .....	34
4.7. Изследване на цитокини, адипокини и миокини.....	43
<b>5. Обсъждане .....</b>	<b>54</b>
<b>6. Изводи .....</b>	<b>86</b>
<b>7. Приноси .....</b>	<b>87</b>
<b>8. Публикации и научни съобщения .....</b>	<b>88</b>

## ЧЕСТО ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

- АКТХ** - адренекортикотропен хормон  
**ГнРХ** - гонадотропин-рилизинг хормон  
**ИР** – инсулинова резистентност  
**ИРИ** - серумен имунореактивен инсулин  
**ИТМ** – индекс на телесна маса  
**ЛХ** - лутеинизираща хормон  
**ОА** - остеоартроза  
**ОГТТ** - орален глюкозо-толерантен тест  
**ПГГ** - плазмена глюкоза на гладно  
**ПКМЯ** - поликистозна морфология на яйчниците  
**СПЯ** – синдром на поликистозни яйчници  
**ФСХ** - фоликулостимулиращ хормон  
**2-AG** - 2-арахидоноилглицерол  
**АЕА** - анандамид  
**ASRM** - American Society for Reproductive Medicine  
**BDNF** - brain-derived neurotrophic factor  
**CB1R** – канабиноиден рецептор 1  
**CB2R** – канабиноиден рецептор 2  
**COMP** - хрущялни олигомерен матриксен протеин  
**CREPCOS** - The Centre for Research Excellence in Polycystic Ovary Syndrome  
**DHEAS** - dehydroepiandrosterone sulfate  
**ELISA** - ензимно-свързан имуносорбентен анализ  
**ESHRE** - European Society for Human Reproduction and Embryology  
**FAI** - free androgen index  
**HC** – обиколка на ханш  
**HOMA-IR** - Homeostatic model assessment of insulin resistance  
**Metnl** - meteorin-like protein  
**mFG score** – модифицирана скала на Ferriman-Gallway  
**MPCOS-Q** - modified polycystic ovary syndrome health-related quality-of-life questionnaire  
**SHBG** - секс-хормон свързващ глобулин  
**WC** – обиколка на талия  
**WHR** – талия-ханш отношение  
**WHtR** – талия-ръст отношение

## 1. ВЪВЕДЕНИЕ

Синдромът на поликистозни яйчници (СПЯ) е едно от най-честите ендокринни нарушения сред жените в репродуктивна възраст. Описан е за пръв път от Stein и Leventhal през 1935 година като съчетание от поликистозни яйчници, олиго-/аменорея, хирзутизъм и инфертилитет.

В последните десетилетия концепцията за СПЯ претърпя съществено развитие. Днес синдромът не се разглежда само като репродуктивно нарушение, проявяващо се клинично с хиперандрогенизъм, овулаторна дисфункция, поликистозни яйчници и инфертилитет, но и като метаболитна ендокринопатия. Спрямо здравите жени, пациентите със СПЯ имат по-често затлъстяване и инсулинова резистентност, което увеличава неколкократно риска им от предиабет, захарен диабет тип 2, артериална хипертония, дислипидемия и метаболитен синдром особено в постменопаузална възраст. Тези състояния се асоциират с хронично нискостепенно възпаление, което допълнително увеличава сърдечно-съдовия им риск.

Хроничната ановулация, ацикличната хиперестрогенемия и недостатъчната секреция на прогестерон водят до липса на секреторна трансформация на ендометриума, което повишава риска от развитие на ендометриален карцином. Жените със СПЯ имат повишен риск от ранни спонтанни аборти и усложнения на бременността като гестационен диабет, прееклампсия, еклампсия и преждевременно раждане. Вероятно при тях рискът от поява на остеоартроза, венозен тромбемболизъм, сънна апнея и яйчников карцином е също повишен. Допълнително жените със СПЯ страдат по-често от депресивни разстройства, което влошава тяхното качество на живот и психологическо благополучие.

На фона на тази многолика и комплексна клинична картина основните патофизиологични механизми на СПЯ остават все още недоведени. Водеща патогенетична роля се предполага, че имат хиперандрогенизъмът, хиперинсулинемията и хроничното нискостепенно възпаление на мастната тъкан. От друга страна нарушенията в секрецията на гонадотропините вероятно също участват в генезата на синдрома. Изучаването на възможните патофизиологични механизми и анализирането на взаимовръзката между тях будят научния интерес на поколения клиницисти и изследователи за изясняване на това често ендокринно нарушение сред младите жени с подчертано хетерогенно клинично представяне.

## **2. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ**

### **2.1. Цел**

Целта на дисертационния труд е да се анализира връзката между нови биомаркери и утвърдени клинични, метаболитни и хормонални показатели при пациенти със СПЯ и здрави контроли.

### **2.2. Задачи**

1. Да се извърши задълбочен анализ на пациентите със СПЯ по антропометрични и клинични показатели, включително и във фенотипните групи, и да се сравнят с данните от съответстващи им по възраст и индекс на телесна маса здрави контроли.

2. Да се оцени качеството на живот и сексуалната функция при жени със СПЯ, сравнени със здрави доброволци, включително и във фенотипните групи на синдрома.

3. Да се анализира взаимовръзката между СПЯ и остеоартроза, оценена посредством измерване на биомаркер за ранна хрущялна загуба (хрущялен олигомерен матриксен протеин [COMP]), ултразвуково изследване на двете коленни стави и въпросник Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS) при пациенти със СПЯ и здрави доброволци.

4. Да се сравнят серумните нива на общ и свободен PSA между жени със СПЯ и здрави доброволци и да се оцени връзката им с клиничните и биохимични данни за хиперандрогенизъм.

5. Да се оцени връзката на ендоканабиноидите (AEA и 2-AG) с метаболитните и хормонални нарушения и най-често срещаните характеристики на синдрома като овулаторна дисфункция и поликистозна морфология на яйчниците при пациенти със СПЯ и здрави жени.

6. Да се изследват биомаркерите - зонулин, meteorin-like protein, IL-15, мионектин, brain-derived neurotrophic factor и IL-18, и оцени асоциацията им с метаболитните, хормонални и клинични нарушения при синдрома.

### 3. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

#### 3.1. Пациенти и контроли

В настоящето срезово проучване са включени общо 161 жени, от които 124 жени със СПЯ и 37 здрави контроли. Пациентите са на средна възраст (mean  $\pm$  SD) – 26,9  $\pm$  6 години, постъпили за хоспитализация в Клиниката по ендокринология на УМБАЛ „Александровска“, гр. София, или пациенти от доболничната ендокринологична помощ, потърсили самостоятелно или след препоръка от друг специалист (акушер-гинеколог, дерматолог) консултация с ендокринолог във връзка с кожни прояви, менструални нарушения, репродуктивни проблеми и др. Здравите доброволци в проучването са селектирани да съответстват по възраст и ИТМ на пациентите. Тяхната средна възраст е 28,4  $\pm$  5,5 години. Всички участници са дали своето писмено информирано съгласие преди включване в проучването. Те отговарят на включващите и изключващите критерии, представени по-долу.

##### *3.1.1. Включващи критерии за двете групи са жени:*

- на възраст от 18 до 40 години,
- ИТМ между 18,5 и 40 кг/м<sup>2</sup>.

##### *3.1.1.1. Включващи критерии за пациентите със СПЯ*

Включените пациенти в проучването изпълняват Ротердамските критерии на ESHRE/ASRM от 2004 г. за поставяне на диагнозата СПЯ, т.е. наличие на 2 от следните 3 компонента. За дефиниране им са използвани международните препоръки за оценка и лечение на СПЯ на CREPCOS, разработен в колаборация с ESHRE и ASRM през 2018 г.:

##### **1. Хиперандрогенизъм:**

• биохимичен (повишени нива на андрогените – тестостерон [ $\geq$  1.6 nmol/L], FAI [ $\geq$  5], DHEAS [ $\geq$  9.2 mkmol/L], андростендион [ $\geq$  3.1 ng/mL])  
**и/или**

• клиничен (наличие на хирзутизъм с mFG score > 8 точки, акне или андрогенна алопеция).

##### **2. Олиго-/ановулация:**

- нередовен менструален цикъл < 21 или > 35 дни **и/или**
- < 8 менструални цикъла годишно **и/или**

- редовен менструален цикъл, но с данни за ановулация (оценена посредством овулаторен тест, измерване на прогестеронови нива на 19-22 ден от менструалния цикъл или при ултразвуков преглед).

**3. Ехографски белези за поликистозна морфология на яйчниците** (достатъчно е изменението да засягат само единия яйчник):

- $\geq 10$  мл обем при липса на ехографски данни за доминантен фоликул, жълто тяло или яйчникова киста **и/или**

- $> 20$  фоликула с диаметър 2-9 мм в яйчник.

*3.1.1.2. Включващи критерии за здравите контроли са жени:*

- без диагноза СПЯ,

- без друга причина за инфертилитет (с изключение на мъжки фактор).

**3.1.2. Изключващи критерии за двете групи**

Изключващите критерии в проучването са: наличие на друго ендокринно нарушение като заболяване на щитовидната жлеза, хиперпролактинемия, преждевременна овариална недостатъчност, хипоталамична аменорея, вродена надбъбречна хиперплазия, андроген-продуциращ тумор, синдром или болест на Cushing, възпалително/автоимунно ревматично заболяване и/или белодробно заболяване. Участници, използващи системни кортикостероиди, комбинирани орални контрацептиви, антиандрогени или инсулинови очувствители (метформин, тиазолидиндиони) през последните 3 месеца, са изключени от изследването. Бременни и лактиращи жени, и професионални спортисти също не са обект на това проучване. Друг изключващ фактор е употребата на марихуана в последните 3 месеца.

**3.1.3. Фенотипни групи при СПЯ**

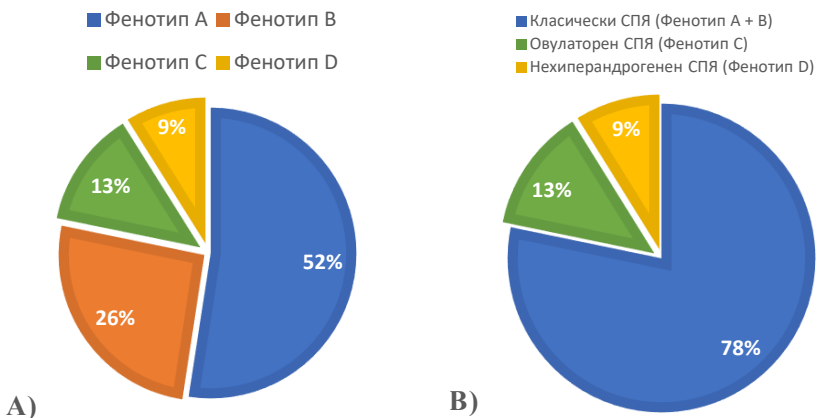
Съгласно Ротердамските критерии всички 124 пациенти са разделени в четири фенотипни групи, както следва:

**1. Фенотип А (n = 65)** - наличие и на трите диагностични компонента - биохимичен/клиничен хиперандрогенизъм, олиго-ановулация, поликистозна морфология на яйчниците.

**2. Фенотип В (n = 32)** - наличие на два от трите диагностични компонента - биохимичен/клиничен хиперандрогенизъм и олиго-ановулация, без поликистозна морфология на яйчниците.

**3. Фенотип С (n = 16)** - наличие на биохимичен/клиничен хиперандрогенизъм и поликистозна морфология на яйчниците, без олиго-ановулация.

**4. Фенотип D (n = 11)** - наличие на олиго-ановулация и поликистозна морфология на яйчниците, без биохимичен/клиничен хиперандрогенизъм.



**Фигура 3.1. Процентно разпределение на 124 жени със СПЯ:**

**А)** в класическите 4 фенотипни групи – фенотип А (n = 65, 52%), В (n = 32, 26%), С (n = 16, 13%) и D (n = 11, 9%) и **В)** в класически СПЯ (фенотип А+В, [n = 97], 78%), овулаторен СПЯ (фенотип С, [n = 16], 13%) и нехиперандрогенен СПЯ (фенотип D, [n = 11], 9%)

## 3.2. Използвани методи

### 3.2.1. Анамнестични данни

- **менструална** - възраст на менархе, продължителност на менструалния цикъл (между 21-35 дни; друг интервал), вариации в продължителността на цикъла, наличие на по-малко от 8 менструални цикъла годишно, дата на последната менструация, продължителност на менструалното кървене (< 3 дни; между 3-4 дни; между 5-6 дни или > 6 дни), прием на медикаменти за предизвикване на менструално кървене, провеждани тестове за оценка на овулацията, прием на медикаменти в последните 3 месеца.

- **репродуктивна** – анамнеза за бременности, раждания, извънматочни бременности, аборти; анамнестични данни инфертилитет в двойката (неуспешни опити за забременяване > 12 месеца); асистиран репродуктивни техники (IVF, ICSI) или провеждано лечение за индукция на овулацията; провеждани изследвания на партньора в насока инфертилитет (спермограма и други); наличие на данни за мъжки инфертилитет.

- **навици** - тютюнопушене, алкохол (> 30 мл концентрат или > 1 чаша вино (150 мл)/бира (330 мл)), употреба на марихуана или друг вид наркотик.

Всички 161 жени, включени в проучването, са помолени да попълнят въпросници, свързани с качеството на живот и сексуалната функция. На 80 жени (54 жени със СПЯ и 26 здрави контроли) от тях се раздаде допълнително и въпросник за оценка на колянна става сред млади и физически активни хора - Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS).

#### *3.2.1.1. Въпросник за оценка на качество на живот*

Въпросникът е специализиран и разработен насочено за оценка на качеството на живот сред жени със СПЯ – модифициран въпросник за оценка на качество на живот при синдром на поликистозни яйчници (Modified polycystic ovary syndrome health-related quality-of-life questionnaire, MPCOS-Q). Въпросникът включва 30 въпроса, оценяващи качеството на живот в последните 2 седмици или в рамките на последната менструация, разпределени в 7 домейна:

- **емоционално нарушение** – въпроси № 2, 6, 11, 14, 17, 18, 24;
- **телесно тегло** – въпроси № 3, 4, 10, 12, 23, 25;
- **инфертилитет** – въпроси 5, 13, 26;
- **акне** - въпроси № 22, 27, 28, 30;
- **хирзутизъм** – въпроси № 1, 9, 15, 16, 29;
- **менструални симптоми** - въпроси № 7, 19, 21;
- **регулярност на менструацията** – въпроси № 8 и 20.

За всеки въпрос има 7 възможни опции за отговор. Опция 1 съответства на най-висока степен на нарушение, докато Опция 7 съответства на най-ниската степен на нарушение. Необходимо е да се избере само една от възможните опции за отговор на всеки въпрос. Избраната опцията следва да съответства в най-голяма степен на субективните усещания на анкетирания.

Оценка на въпросника се извършва по домейни, като резултатите от всеки отговор на въпрос в съответен домейн се сумират и след това техният сбор се разделя на броя на въпросите, включени в него. Полученият резултат се използва за последващия статистически анализ. Общият скор на въпросника се изчисли посредством сбора от точките във всеки домейн, разделен на броя домейни.

#### *3.2.1.2. Въпросник за оценка на сексуална функция*

Всички участници в проучването са помолени да попълнят специализиран въпросник за оценка на сексуалната функция – Индекс за сексуална функция при жени (Female Sexual Function Index, FSFI). Въпросникът съдържа 19 въпроса, свързани със сексуалните усещания и

реакции на жената в 4 седмичния предшествващ период. Въпросите са разделени в 6 домейна:

- *желание* – въпроси № 1 и 2;
- *възбуда* – въпроси № 3, 4, 5, 6;
- *лубликация* – въпроси № 7, 8, 9, 10;
- *оргазъм* – въпроси № 11, 12, 13;
- *удовлетворение* – въпроси 14, 15, 16;
- *болка* – въпроси 17, 18 и 19.

За всеки въпрос има 6 възможни опции за отговор, с изключение на въпроси 1 и 2, където възможните опции за отговор са 5 (от 1 до 5). Опция 0 съответства на липса на сексуална активност в последните 4 седмици. Опция 1 съответства на най-висока степен на нарушение, докато опция 5 съответства на най-ниска степен на нарушение. Оценяването се извършва първо поотделно за всеки домейн, като сборът от резултатите на всеки въпрос се умножава по съответен коефициент и след това се изчислява общ скор, получен от сбора на резултатите във всички домейни. Минималният възможен общ скор съответства на 2 точки, а максималният на 36 точки. Сексуална дисфункция се приема при наличие на < 26 точки.

### *3.2.1.3. Въпросник за оценка на ранни клинични прояви на колянна остеоартроза*

Общо 80 жени – 54 пациента със СПЯ и 26 здрави контроли попълниха международно утвърден въпросник за оценка на симптоми и прояви, свързани с колянната става сред млади и физически активни хора - Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS). Чрез него се проведе оценка в двете изследвани групи на следните свързани с колянната става показатели: *болка, симптоми, качеството на живот, ежедневни дейности и спортна функция*. Въпросникът съдържа скала на Likert и всички елементи имат пет възможни опции за отговор, отбелязани от 0 (без проблеми) до 4 (екстремни проблеми) и всеки от петте резултата се изчислява като сума от включените елементи. Резултатите се трансформират в скала от 0 до 100, като нула съответства на най-тежките докладвани от пациента нарушения в коляното, а 100 съответства на липса на проблеми с коляното. Резултатите между 0 и 100 представляват процент от общия възможен постигнат резултат. Общият резултат не се изчислява, тъй като се счита за желателно да се анализират и интерпретират отделно петте домейна.

Резултатите от въпросника се сравняват между здрави и пациенти със СПЯ, при които допълнително се анализира връзката с клиничните и лабораторни характеристики на хиперандрогенизма при синдрома.

### **3.2.2. Антропометрични данни**

1. ръст (м),
2. тегло (кг),
3. индекс на телесна маса (ИТМ) - изчислен посредством теглото разделено на височината на квадрат ( $\text{кг}/\text{м}^2$ ),
4. обиколка на талията (WC) - измерена в хоризонтална равнина по средата между върха на горния илиачен гребен и долния ръб на последното ребро в средноаксиларна линия в см,
5. обиколка на ханша (HC) – измерен на нивото на големия трохантер в см,
6. съотношение талия/ханш (WHR) - изчислено като обиколката на талията се раздели на обиколката на ханша,
7. съотношение талия/ръст (WHtR) – изчислено като обиколката на талията се раздели на ръста.

Съгласно критериите на Световната Здравна организация (СЗО) наличие на затлъстяване се прие, че има при стойности на ИТМ  $\geq 30 \text{ кг}/\text{м}^2$ , наднормено тегло - при ИТМ между 25 и 29,9  $\text{кг}/\text{м}^2$  и нормално тегло - при ИТМ между 18,5  $\text{кг}/\text{м}^2$  и 24,9  $\text{кг}/\text{м}^2$ . Централен (андроиден) тип мастно разпределение се определи при: WC  $\geq 80$  см, WHR  $\geq 0,85$  или WHtR  $\geq 0,5$  (50), а гиноиден тип съответно при WC  $< 80$  см, WHR  $< 0,85$  или WHtR  $< 0,5$  (50).

### **3.2.3. Клинични данни**

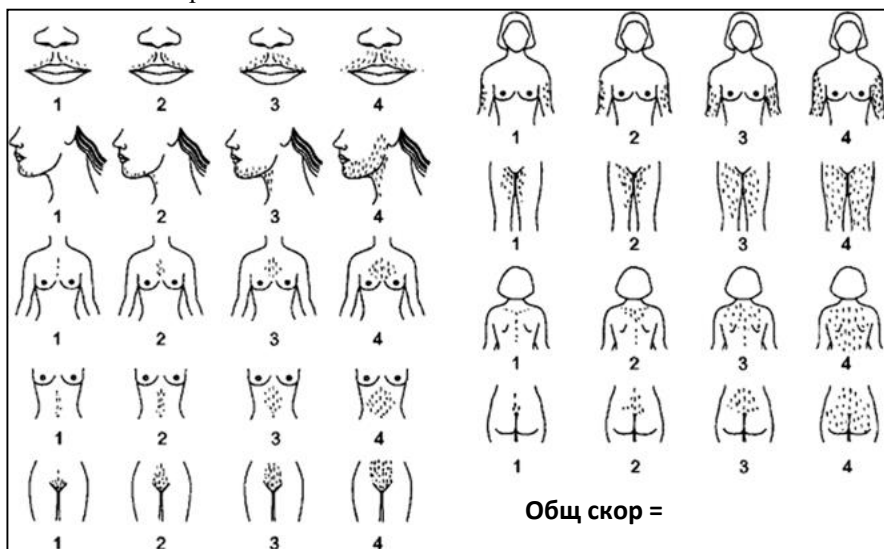
Всички участници в изследването са внимателно изследвани за наличие на белези за клиничен хиперандрогенизъм (хирзутизъм, акне, алопеция), acanthosis nigricans и им се измери артериалното налягане след поне 15 мин покой. Клиничната оценка се извърши съгласно алгоритъм, разписан в международните препоръки за оценка и лечение на СПЯ на CREPCOS в колаборация с ESHRE и ASRM през 2018г.

#### **3.2.3.1. Клиничен хиперандрогенизъм**

**Хирзутизъм.** Оценка на белезите за хирзутизъм се извърши посредством модифицираната скала на Ferriman-Gallwey (mFG score) (**фигура 3.2.**). Скалата изследва признаците на ексцесивно окосмяне (поява на дълги  $> 5$  мм, пигментирани, задебелени косми, наричани още терминални косми) в 9

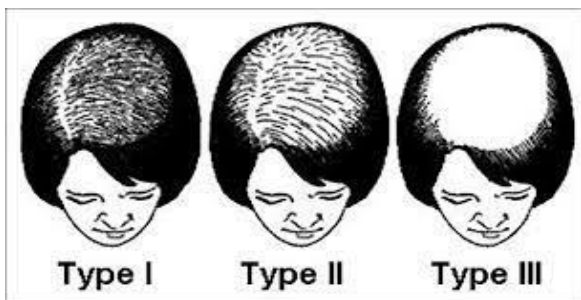
андроген-зависими зони - горна устна, брадичка и шия, гърди (с изключение на зърната), горна и долна част на гърба, горна и долна част на корема, мишницата и вътрешната страна на бедрата по скала от 1 (минимално наличие на терминални косми) до 4 (наличие на терминални косми, подобни на тези при добре окосмен мъж). Липсата на терминални косми в изследваната област се отбелязва с 0. Наличие на хирзутизъм се прие, че има при общ брой точки  $\geq 8$ .

**Акне.** За целите на настоящето проучване клинични белези за акне се прие, че има при наличие на леко, умерено или тежко акне, класифирано съгласно Консенсусна конференция за класификация на акне. В нашата база данни липсата на акне се отбелязва с 0, докато наличието му с 1, независимо от степента на проява.



**Фигура 3.2.** Модифицирана скала на Ferriman-Gallwey

**Алопеция.** Клинична оценка на андрогенната алопеция се извърши посредством визуалната скала на Ludwig (фигура 3.3.).



Фигура 3.3. Визуална скала за оценка на андрогенна алопеция на Ludwig

В обема от клинични изследвания на участниците се включи допълнително оценка наличието на acanthosis nigricans (AN) и измерване на артериалното налягане (АН). Всички участници в проучването са изследвани и отразени с 0 при липса на AN и с 1 при наличие на данни за AN в базата данни.

Двукратно се измери АН на участниците след поне 15 минути покой по стандартен начин с мануален сфингоманометър, разположен на мишницата, на около 2 см над кубиталната ямка. Данни за артериална хипертонията се прие, че има при стойности на систолното артериално налягане в покой над 140 mmHg и/или стойности на диастолното АН над 90 mmHg.

### 3.2.4. Лабораторни методи

#### 3.2.4.1. Рутинни биохимични и хормонални тестове

Посредством стандартна венепункция са взети кръвни проби от общо 106 участника в проучването на гладно по време на ранна фоликуларна фаза (между 3-ти и 5-ти ден) на спонтанен менструален цикъл или предизвикано от гестаген менструално кървене. Пробите са незабавно обработени за измерване на плазмена глюкоза на гладно (ПГГ), серумен имунореактивен инсулин (ИРИ) на гладно, ЛХ, ФСХ, естрадиол, общ тестостерон, DHEAS и андростендион.

Допълнително при тях е проведен стандартен ОГТТ със 75 g глюкоза. Посредством резултатите от кръвната захар в mmol/l и инсулин на гладно в mU/l се изчисли хомеостатичния модел за оценка на инсулинова резистентност (НОМА-IR) чрез следната формула:

$$\text{НОМА-IR} = \text{Кръвна захар (mmol/l)} \times \text{Инсулин (mU/l)} / 22,5.$$

Данни за инсулинова резистентност се прие, че има при НОМА-IR > 2,5 и/или пикови нива на инсулин по време на ОГТТ > 100 IU/mL.

Свободният андрогенен индекс (FAI) се изчисли с помощта на математическа формула, която включва общите нива на тестостерон и SHBG съгласно следното уравнение:

$$\text{FAI} = \text{Тестостерон (nmol/L)} / \text{SHBG (nmol/L)} \times 100.$$

Гранична стойност, диференцираща нормални от повишени нива на FAI, се прие да бъде 5.

Всички тези хормонални и биохимични изследвания са извършени в Централната клиничната лаборатория на УМБАЛ „Александровска”, гр. София, която е референтна лаборатория за България.

#### 3.2.4.2. Нови биомаркери

За определяне биомаркерите - AEA, 2-AG, SHBG, IL-18, общ и свободен PSA, COMP, зонулин, meteorin-like protein, мионектин, IL-15 и BDNF, се използва ELISA метод. Спазени са всички условия за анализ, съгласно съответните характеристики на ELISA кита:

- **Хрущялен олигомерен матриксен протени (COMP)** - BioVendor Laboratory Medicine, Modrice Czech Republic (Cat. No: RD194080200) с аналитична чувствителност на теста, равняваща се на 0,4 ng/mL
- **Общ простат-специфичен антиген (PSA)** - Abbexa Ltd., Cambridge, United Kingdom (Cat. No: abx350483) с референтни граници на теста (0,312 ng/ml-20 ng/ml) и чувствителност < 0,19 ng/mL
- **Свободен PSA** - Antibodies, Germany (Cat. No: ABIN625348) с референтни граници на теста - 45-12,000 pg/mL
- **2-arachidonoylglycerol (2-AG)** - Abbexa Ltd., Cambridge, United Kingdom (Cat. No: abx 258337) с чувствителност на теста < 1,44 ng/mL и референтни граници на кита – 3,7 ng/mL-300 ng/mL
- **Sex Hormone-binding Globulin (SHBG)** - DIAsource ImmunoAssays S.A., Louvain-la-Neuve, Belgium (Cat. No: KAPD 2996) с референтни граници на теста между 0,408-260 nmol/L
- **Anandamide (AEA)** - Abbexa Ltd., Cambridge, United Kingdom (Cat. No: abx258779) с чувствителност на теста < 0,91 ng/mL и референтни граници между 2,47 ng/mL-200 ng/mL
- **IL-18** - Medical & Biological Laboratories Co., Ltd, Nagoya, Japan (code No: 7620) с аналитична чувствителност на теста, равняваща се на 12,5 pg/mL

- **Зонулин** – MyBiosource, Southern California, San Diego, USA (Cat.No MBS167049) с референтни граници на теста между 0,3 ng/ml-90 ng/ml и чувствителност – 0,13 ng/mL
- **Meteorin-like protein (Metrn1)** – MyBiosource, Southern California, San Diego, USA (Cat. No: MBS764456), референтни граници между 78-5000 pg/ml и чувствителност на теста < 46,9 pg/mL
- **Мионектин** - MyBiosource, San Diego, USA (Cat.No: MBS1600042), референтни граници между 0,05 ng/ml-10 ng/ml и чувствителност на теста, равняваща се на 0,03 ng/mL
- **IL-15** - Thermo Fisher Scientific, Vienna, Austria (Cat. No: BMS2106 ) с аналитична чувствителност на теста, равняваща се на 3,4 pg/mL
- **Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)** - MyBiosource, San Diego, USA (Cat.No: MBS264773) с референтни граници на теста между 31,2 pg/ml-2000 pg/ml и чувствителност, достигаща до 8 pg/mL.

### **3.2.5. Ултразвукова диагностика**

3.2.5.1. *Ултразвукова диагностика на яйчници* – за определяне наличието/липсата на поликистозна морфология на яйчниците.

#### 3.2.5.2. *Ултразвукова диагностика на коленни стави*

На 41 пациенти със СПЯ и 15 здрави доброволци се определи дебелината на хрущяла на двете коленни стави посредством ултразвуково изследване от един сертифициран ревматолог. Дебелината на хрущяла се измери в средните точки на медиалния кондил (MC) и латералния кондил (LC) на всяко коляно в положение на пълна флексия.

### **3.2.6. Статистически анализ**

Статистическите анализи са извършени с помощта на статистическите софтуерни продукти SPSS IBM v21.0 и GraphPad Prism v8.4. За изпълняване на поставената цел и задачи са използвани дескриптивна статистика, параметрични и непараметрични тестове, post-hoc анализ, множествен регресионен анализ и receiver operating characteristic (ROC) анализ. Нивото на значимост за всички анализи се определи да е  $p < 0,05$ , при което нулевата хипотеза се отхвърля.

## 4. РЕЗУЛТАТИ

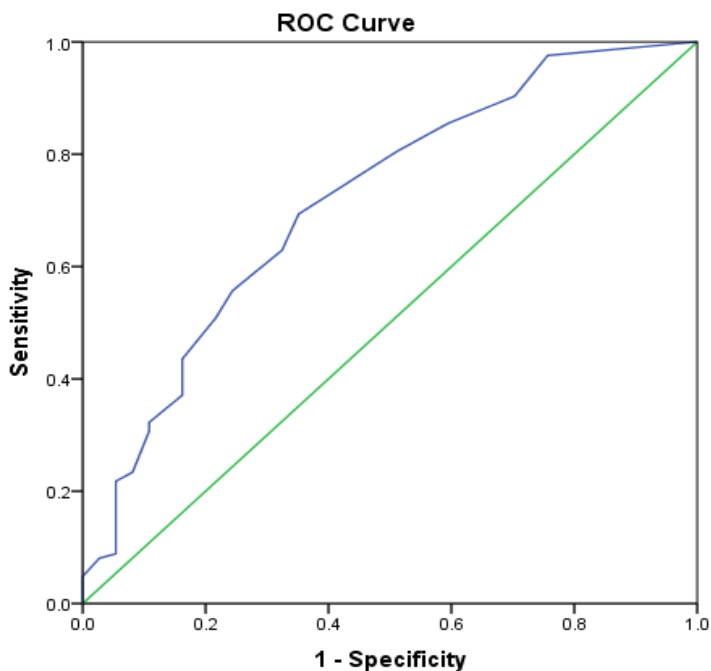
### 4.1. Антропометрични и клинични параметри в групите

В настоящето срезово проучване са включени общо 161 жени, разпределени в две групи – 124 пациенти със СПЯ и 37 здрави контроли. Пациентите са на средна възраст (mean  $\pm$  SD) – 26,9  $\pm$  6 години, докато средната възраст на контролната група е 28,4  $\pm$  5,5 години. Пациентите и контролите показват сходство по отношение на ИТМ и всички изследвани антропометрични параметри (ръст, тегло, обиколка на талията и ханша, WHR и WHtR).

По отношение на изследваните клинични белези за хиперандрогенизъм - акне и алоpecia, двете групи показват също сходство. Сред пациентите със СПЯ акне се установи при 22,6% (28/124) жени, докато при здравите жени акне се установи при 18,9% (7/37). Алоpecia не се установи сред нито една от жените в контролната група. В пациентската група само 2 жени показват клинични признаци за алоpecia, като и при двете тя съответства на I степен, оценена по визуалната скала на Ludwig. Макар да не се установи сигнификантна разлика по отношение клиничните белези за acanthosis nigricans (AN) ( $p = 0,057$ ), пациентите със СПЯ показват тенденция към по-честа изява на този дерматологичен белег за хиперинсулинизъм и инсулинова резистентност. При нито един участник в изследването не се установи артериална хипертония.

Очаквано хирзутизмът, представен чрез mFG score, е сигнификантно по-висок в пациентската група ( $p < 0,001$ ), като хирзутизм се установи при 50,8% (63/124) от жените със СПЯ, докато в контролната група техният дял е 21,6% (8/37). Подобни са данните и по отношение на ехографските признаци за поликистозна морфология на яйчниците (ПКМЯ), където всички здрави жени са без ехографски белези за поликистоза и очаквано делът на пациентите с ПКМЯ е значимо по-голям ( $p < 0,001$ ).

Проведе се receiver operating characteristic (ROC) анализ, за да се определи чувствителността и специфичността на стойностите на mFG score в нашия анализ. Площта под кривата (AUC) за серумните нива на mFG score е 0,717 с 95% доверителен интервал от 0,621 до 0,813 (фигура 4.1). В таблица 4.1. са представени чувствителността и специфичността при съответните стойности на mFG score.



Diagonal segments are produced by ties.

**Фигура 4.1.** ROC крива на стойностите на mFG score, дискриминиращи здрави от пациенти със СПЯ

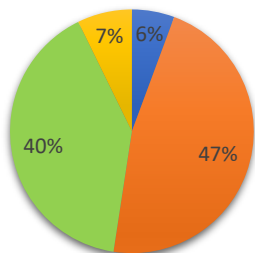
**Таблица 4.1.** Чувствителност и специфичност на mFG score, получен посредством ROC анализ

mFG score	Чувствителност %	Специфичност %
3,5	80,6	48,6
4,5	69,4	64,9
5,5	62,9	67,6
6,5	55,6	75,7
7,5	50,8	78,4
8,5	43,5	83,8
9,5	37,1	83,8
10,5	32,3	89,2

Менструалните нарушения по типа олиго-аменорея очаквано са сигнификантно по-изразени сред пациентите със СПЯ – 86,3% (107/124) жени. В контролната група менструални нарушения от този тип се установяват при 16,2% жени (6/37).

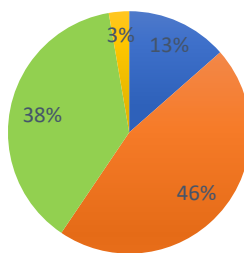
При 63,6% (68/107) от жените с олиго-аменорея в пациентската група менструалните нарушения датират от менархе. Възрастта на настъпване на менархе сред двете групи е сходна:  $12,4 \pm 1,7$  за жените със СПЯ и  $12,4 \pm 1,5$  за контролната група. Също така и в двете групи делът на жените с продължителност на менструалното кървене между 3-4 дни е най-голям – 47% и 46%, съответно за пациенти и контроли (фигура 4.2).

### Пациенти със СПЯ



■ < 3 дни    ■ 3 - 4 дни  
■ 5 - 6 дни    ■ > 6 дни

### Здрави контроли



■ < 3 дни    ■ 3 - 4 дни  
■ 5 - 6 дни    ■ > 6 дни

**Фигура 4.2.** Разпределение на дела на жените според средната продължителност на менструално кървене в двете изследвани групи

Анамнеза за реализирана/и бременност/и в миналото има при 22 жени от групата на пациентите със СПЯ (17,7%), докато в контролната група този дял е сигнификантно по-голям (13 от общо 37 жени или 35,1%). При задълбочения анализ на гинекологичната анамнеза се установи, че при общо 10 от 22-те жени (45,5%) сред пациентите със СПЯ и реализирана бременност има предшестваща анамнеза за инфертилитет. При всяка една от тях е изключен мъжки фактор за инфертилитета. При 2 жени бременността е реализирана след провеждана терапия за индукция на овулацията или с помощта на други асистиращи репродуктивни техники, докато при останалите 8 пациенти - бременността е настъпила спонтанно.

Независимо от анамнезата за наличие или не за реализирана бременност в миналото, анамнестични данни за инфертилитет в двойката се установи при 15 жени в групата пациенти със СПЯ (15/124; 12,1%) и при 5 здрави жени (5/37; 13,5%). И докато мъжкият фактор е причината за инфертилитета сред всички здрави доброволци, подобна информация има само при 1 жена от групата на пациентите.

**Таблица 4.2.** представя данните от анализите на демографските, антропометрични, клинични и анамнестични параметри в двете изследвани групи.

**Таблица 4.2.** Сравнение по демографски, антропометрични и клинични параметри в групите - пациенти със СПЯ и здрави контроли

Параметър	Пациенти със СПЯ (n = 124)	Здрави контроли (n = 37)	p value
<b>Демографски и антропометрични параметри</b>			
<b>Възраст (години)</b>	26,9 ± 6	28,4 ± 5,5	NS
<b>ИТМ (кг/м<sup>2</sup>)</b>	28,1 ± 7,9	27,7 ± 7,4	NS
<b>Нормално тегло (18,5-24,9 кг/м<sup>2</sup>)%</b>	43,6 (54/124)	46 (17/37)	NS
<b>Наднормено тегло (25-29,9 кг/м<sup>2</sup>)%</b>	15,3 (19/124)	24,3 (9/37)	NS
<b>Затлъстяване (≥ 30 кг/м<sup>2</sup>)%</b>	41,1 (51/124)	29,7 (11/37)	NS
<b>Ръст (м)</b>	1,64 ± 0,07	1,64 ± 0,06	NS
<b>Тегло (кг)</b>	75,8 ± 21,9	74,8 ± 21,5	NS
<b>Обиколка на талията</b>	89,7 ± 18,1	86,5 ± 16,4	NS
<b>5. &lt; 80 см (%)</b>	38,7 (48/124)	40,5 (15/37)	NS
<b>6. ≥ 80 см (%)</b>	61,3 (76/124)	59,5 (22/37)	NS
<b>Обиколка на ханша</b>	103,5 ± 12,8	103,7 ± 12,4	NS
<b>WHR</b>	0,87 ± 0,13	0,83 ± 0,11	NS
• <b>&lt; 0,85 (%)</b>	55,6 (69/124)	64,9 (24/37)	NS
• <b>≥ 0,85 (%)</b>	44,4 (55/124)	35,1 (13/37)	NS
<b>WHtR</b>	55 ± 11,7	52,8 ± 10,1	NS
• <b>&lt; 50 (%)</b>	45,2 (56/124)	51,4 (19/37)	NS
• <b>≥ 50 (%)</b>	54,8 (68/124)	48,6 (18/37)	NS

### Клинични параметри

<b>Acanthosis nigricans (%)</b>	35,5 (44/124)	18,9 (7/37)	NS
<b>mFG score</b>	8 (4; 12)	4 (0,5; 6,5)	<b>&lt; 0,001</b>
<b>Акне (%)</b>	22,6 (28/124)	18,9 (7/37)	NS
<b>Алопеция (%)</b>	1,6 (2/124)	0 (0/37)	NS
<b>ПКМЯ (%)</b>	74,2 (92/124)	0 (0/37)	<b>&lt; 0,001</b>

### Параметри, свързани с менструацията и фертилитета

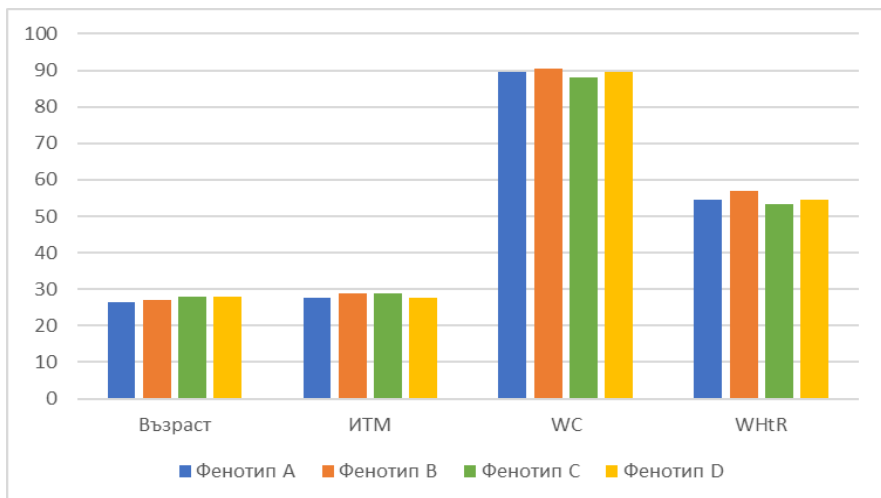
<b>Менархе (години)</b>	12,4 ± 1,7	12,4 ± 1,5	NS
<b>Олиго-аменорея (%)</b>	86,3 (107/124)	16,2 (6/37)	<b>&lt; 0,001</b>
<b>Реализирана бременност (%)</b>	17,7 (22/124)	35,1 (13/37)	0,024
<b>Анамнеза за инфертилитет (%)</b>	12,1 (15/124)	13,5 (5/37)	NS

### Вредни навици

<b>Пушачи (%)</b>	36,3 (45/124)	21,6 (8/37)	NS
<b>Употреба на алкохол (%)</b>	8,9 (11/124)	8,1 (3/37)	NS
<b>Употреба на наркотици (%)</b>	0 (0/124)	0 (0/37)	NS

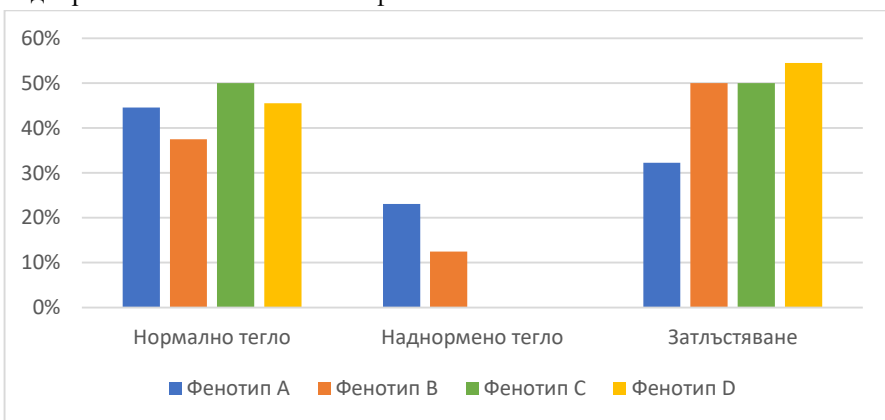
#### 4.2. Анализ във фенотипните групи на СПЯ

Подробен анализ на демографските, антропометричните и клиничните параметри се извърши на пациентите по фенотипни групи. Четирите фенотипа на СПЯ (фенотип А, В, С и D) не показват сигнификантна разлика по нито един от изследваните антропометрични параметри и възрастта (фигура 4.3).



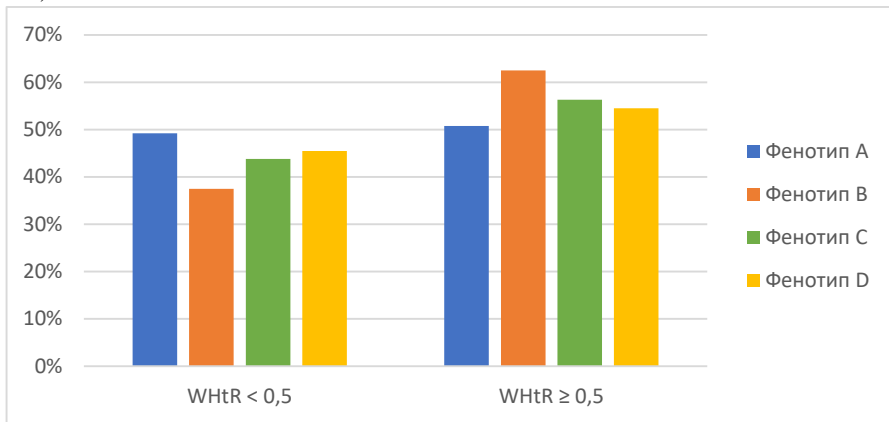
**Фигура 4.3. Разпределение по възраст, ИТМ, WC и WHtR в четирите фенотипни групи на СПЯ**

Процентното съотношение на жените с нормално тегло, наднормено тегло и затлъстяване във всеки фенотип е представено във **фигура 4.4**. Не се установява сигнификантна разлика между всеки фенотип. Най-голям дял на жените със затлъстяване се установява във фенотип D, докато пациенти с наднормено тегло има само във фенотип А и В.



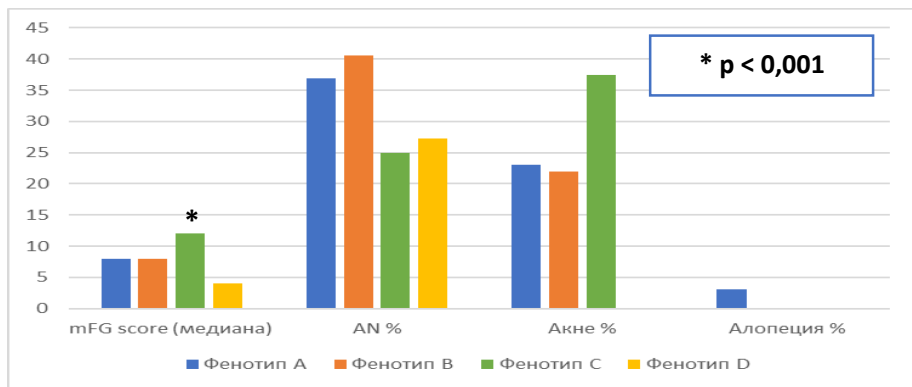
**Фигура 4.4. Процентно съотношение на жените с нормално, наднормено тегло и затлъстяване във всеки фенотип**

Във всеки фенотип лек превес има на дела на жените с висцерален тип преразпределение на мастната тъкан, оценен посредством WHtR (фигура 4.5).



**Фигура 4.5.** Разпределение на жените според типа преразпределение на мастната тъкан в четирите фенотипа на СПЯ

По отношение на клиничните параметри интерес представлява анализът на данните от разпределението на клиничните признаци на хиперандрогенизъм в четирите фенотипни групи. Той показва, че медианата на mFG score е най-висока в групата на фенотип С - 12 (8,3; 20), докато във фенотип А тя е - 8 (4; 13), също така и във фенотип В - 8 (2; 11,8). Медианата за mFG score във фенотип D е 4 (2; 6). По отношение на AN, акне и алоpecia четирите фенотипа на СПЯ не показват сигнификантна разлика (фигура 4.6).

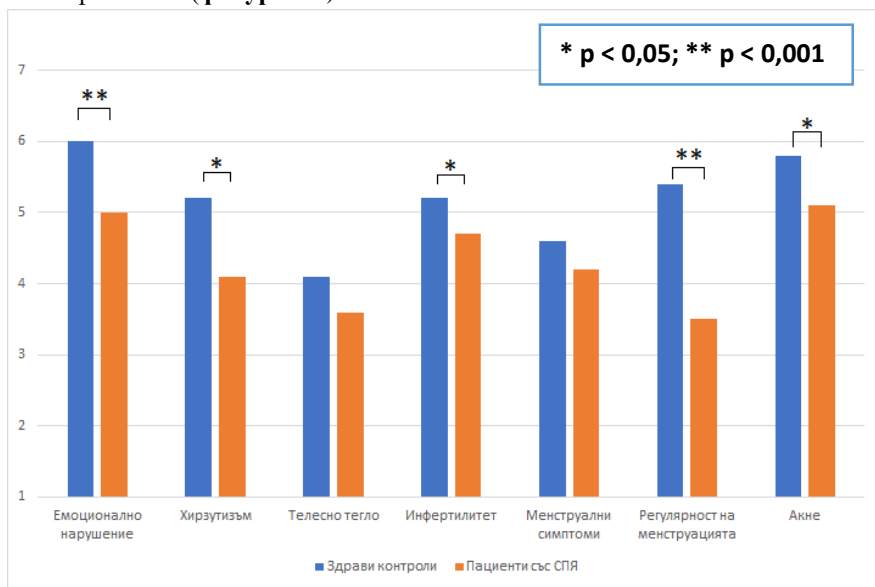


**Фигура 4.6.** Разпределение по mFG score, acanthosis nigricans (AN), акне и алоpecia в четирите фенотипа на СПЯ

### 4.3. Оценка на качество на живот

Средната стойност (mean) на общия скор за пациентите със СПЯ е  $4,3 \pm 1$  и сигнификантно по-ниска ( $p < 0,001$ ) от средната стойност в здравата група ( $5,2 \pm 1$ ).

В анализа на домейните поотделно се показва, че в пет от домейните на MPCOS-Q пациентите имат сигнификантно по-ниска средна стойност на скората от контролите. В домейните *емоционално нарушение* и *регулярност на менструацията* тя достигна статистическа значимост ( $p < 0,001$ ). В домейните *хирзутизъм*, *инфертилитет* и *акне* статистическата значимост е  $p = 0,008$ ,  $p = 0,044$  и  $p = 0,043$ , съответно. Само по отношение на домейните *телесно тегло* и *менструални симптоми* двете групи не се различават сигнификантно (фигура 4.7).



Фигура 4.7. Средни стойности на 7-те домейна на MPCOS-Q в групите

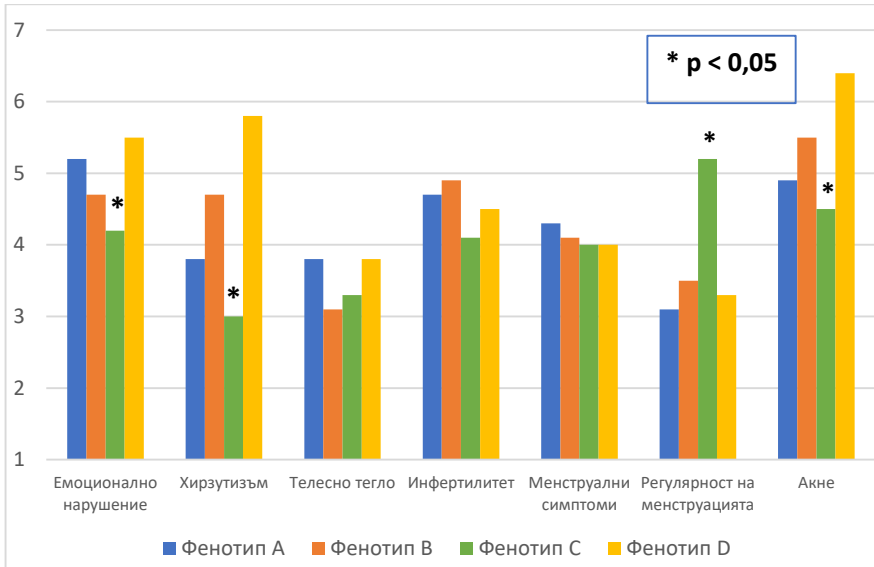
Корелационен анализ между възрастта, ИТМ, WHR, WHtR и mFG score от една страна и 7-те домейна на MPCOS-Q в групата на пациентите със СПЯ е представен в таблица 4.3.

Таблица 4.3. Корелационен анализ между домейните от MPCOS-Q и параметрите – възраст, ИТМ, WHR, WHtR и mFG score сред пациенти със СПЯ

	Емоционално нарушение	Хирзутизъм	Телесно тегло	Инфертилитет	Менструални симптоми	Регулярност на менструацията	Акне
<b>Възраст</b>	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
<b>ИТМ</b>	NS	r = -0,328 <b>p &lt; 0,001</b>	r = -0,590 <b>p &lt; 0,001</b>	NS	NS	NS	r = 0,243 p = 0,007
<b>WHR</b>	NS	r = -0,274 p = 0,002	r = -0,371 <b>p &lt; 0,001</b>	NS	NS	NS	NS
<b>WHtR</b>	NS	r = -0,293 p = 0,001	r = -0,571 <b>p &lt; 0,001</b>	NS	NS	NS	r = 0,222 p = 0,013
<b>mFG score</b>	r = -0,318 <b>p &lt; 0,001</b>	r = -0,645 <b>p &lt; 0,001</b>	r = -0,285 p = 0,001	r = -0,252 p = 0,005	NS	NS	NS

#### 4.3.1. Поданализ на резултатите от MPCOS-Q сред четирите фенотипа на СПЯ

От проведения Kruskal-Wallis тест, сравняващ резултатите от 7-те домейна на MPCOS-Q в четирите фенотипни групи на СПЯ (фенотип А, В, С и D), се установи статистически значима разлика в 4 от домейните – **емоционално нарушение**, **хирзутизъм**, **регулярност на менструацията** и **акне** между групите, представени на **фигура 4.8**.



**Фигура 4.8.** Средни стойности на всеки от 7-те домейна на MPCOS-Q в четирите фенотипни групи на СПЯ – фенотип А, В, С и D

От post-hoc анализа става ясно, че по отношение на домейн **емоционално нарушение** фенотип С докладва най-голямо нарушение, което достигна статистическа значимост само с фенотип А ( $p = 0,048$ ). В домейн **хирзутизъм** статистическа значима разлика се наблюдава между фенотип А и D ( $p = 0,015$ ); фенотип С и В ( $p = 0,031$ ) и фенотип С и D ( $p = 0,002$ ). По отношение на домейн **регулярност на менструацията** фенотип С докладва сигнификантно по-леко нарушение спрямо фенотип А ( $p = 0,002$ ) и фенотип В ( $p = 0,033$ ). В последния домейн **акне** post-hoc анализът показва сигнификантност между фенотип А и фенотип D ( $p = 0,02$ ), както и между

фенотип С и D ( $p = 0,022$ ). В домейните *телесно тегло, инфертилитет и менструални симптоми* групите не показват сигнификантна разлика.

#### 4.4. Оценка на сексуалната функция

Посредством въпросник - Индекс за сексуална функция при жени (Female Sexual Function Index, FSFI), се проведе оценка на сексуалната функция в двете групи. Както по отношение общия скор, така и в 6-те домейна поотделно (*желание, възбуда, лубрикация, оргазъм, удовлетворение и болка*), здрави и пациенти със СПЯ не показват сигнификантна разлика (**таблица 4.4**). Сексуална дисфункция (FSFI score < 26) се установи сред 42,7% (53/124) от пациентите със СПЯ и сред 45,9% (17/37) от здравите контроли.

**Таблица 4.4. Средни стойности на FSFI въпросника по домейни и общ скор в двете изследвани групи – пациенти със СПЯ и здрави контроли**

FSFI домейн	Пациенти със СПЯ (n = 124)	Здрави контроли (n = 37)	p value
Желание	3,4 ± 1,2	3,3 ± 1,1	NS
Възбуда	3,8 ± 2,1	3,8 ± 2,1	NS
Лубрикация	4,1 ± 2,4	4,4 ± 2,3	NS
Оргазъм	3,6 ± 2,3	3,9 ± 2,2	NS
Удовлетворение	4,3 ± 1,8	4,4 ± 1,8	NS
Болка	3,8 ± 2,5	3,9 ± 2,4	NS
Общ скор	23 ± 11,1	23,2 ± 10,7	NS

Проведе се корелационен анализ в групата на пациентите със СПЯ между 6-те домейна на FSFI въпросника и антропометричните, демографски и клинични параметри, както и домейните от MPCOS-Q, представени в **таблица 4.5**.

Таблица 4.5. Корелационен анализ между домейните на FSFI, възрастта, ИТМ, WHR, WHtR, mFG score и домейните от MPCOS-Q сред пациентите със СПЯ

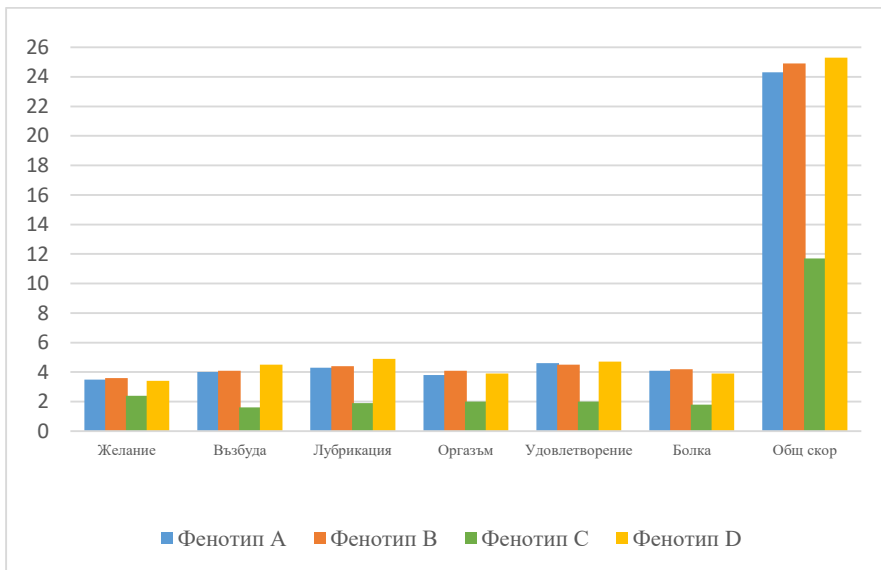
Параметри	Желание	Възбуда	Лубрикация	Оргазъм	Удовлетворение	Болка
Възраст	NS	NS	NS	NS	NS	r = 0,248 p = 0,006
ИТМ	r = 0,176 p = 0,051	NS	r = 0,210 p = 0,019	NS	NS	r = 0,190 p = 0,035
WHR	NS	NS	NS	NS	NS	NS
WHtR	NS	NS	NS	NS	NS	NS
mFG score	NS	r = -0,206 p = 0,021	NS	NS	r = -0,278 p = 0,002	NS

*Домейни на MPCOS-Q*

Емоционално нарушение	r = 0,188 p = 0,036	r = 0,286 p = 0,001	r = 0,333 <b>p &lt; 0,001</b>	r = 0,354 <b>p &lt; 0,001</b>	r = 0,332 <b>p &lt; 0,001</b>	r = 0,351 <b>p &lt; 0,001</b>
Хирзутизъм	NS	NS	NS	NS	r = 0,221 p = 0,014	NS
Телесно тегло	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Инфертилитет	r = 0,179 p = 0,047	NS	r = 0,249 p = 0,005	r = 0,262 p = 0,003	r = 0,260 p = 0,003	r = 0,277 p = 0,002
Менструални симптоми	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Регулярност на менструацията	NS	NS	NS	NS	r = -0,239 p = 0,008	NS
Акне	NS	<b>r = 0,332</b> <b>p &lt; 0,001</b>	<b>r = 0,303</b> <b>p = 0,001</b>	<b>r = 0,324</b> <b>p &lt; 0,001</b>	<b>r = 0,307</b> <b>p = 0,001</b>	<b>r = 0,296</b> <b>p = 0,001</b>

#### 4.4.1. Поданализ на домейните от FSFI въпросника сред четирите фенотипа на СПЯ групата

От проведения Kruskal-Wallis тест, сравняващ резултатите от общия скор и от 6-те домейна поотделно на FSFI въпросника в четирите фенотипни групи на СПЯ (фенотип А, В, С и D), се установи статистически значима разлика както във всички домейни поотделно, така и в общия скор, онагледена чрез **фигура 4.9**. Фенотип С показва най-изразени нарушения във всеки един от изследваните пунктове.



**Фигура 4.9.** Сравнение между средните стойности на всеки домейн и общия скор на FSFI въпросника сред четирите фенотипни групи на СПЯ

#### 4.5. Хиперандрогенизъм, PSA и маркери за хрущялна загуба

4.5.1. СПЯ и (пре)остеоартроза: оценка на връзката между хиперандрогенизма и серумните нива на хрущялен олигомерен матриксен протеин (COMP) като ранен маркер за хрущялна загуба

Съответните демографски, антропометрични, клинични, биохимични и хормонални характеристики на пациентите със СПЯ и контролите са представени в **таблица 4.6**.

Таблица 4.6. Демографски, антропометрични, клинични, биохимични и хормонални характеристики в групите

Параметри	Жени със СПЯ (n = 54)	Здрави жени (n = 26)	p value
<i>Демографски и антропометрични характеристики</i>			
Възраст (години)	25,9 (± 5,3)	27,9 (± 5,1)	NS
Тегло (кг)	74,2 (± 20,4)	76,9 (± 19)	NS
Ръст (м)	163 (± 7)	164 (± 5,3)	NS
ИТМ (кг/м <sup>2</sup> )	27,5 (21; 33,1)	25,6 (22,5; 37,9)	NS
WC (см)	83,5 (76; 101,3)	85,5 (74; 96,8)	NS
HC (см)	100 (92; 110)	102 (94,5; 110)	NS
WHR	0,84 (0,78; 0,97)	0,81 (0,77; 0,91)	NS
<i>Хормонални и биохимични характеристики</i>			
LX (mU/mL)	7,64 (± 4,49)	6,19 (± 2,47)	NS
ФСХ (mU/mL)	5,2 (± 1,32)	5,54 (± 1,33)	NS
LX/ФСХ отношение	1,49 (± 0,81)	1,11 (± 0,36)	0,035
Естрадиол (pmol/L)	130,5 (95,5; 183)	147,2 (99,5; 184,6)	NS
DHEAS (µmol/L)	9,3 (6,5; 11,6)	5,5 (4,2; 7,3)	< 0,001
Андростендион (ng/mL)	4,49 (± 2,12)	2,27 (± 0,94)	< 0,001
SHBG (nmol/L)	42 (28,6; 74,3)	54 (28,3; 79)	NS
<i>Биохимични признаци на хиперандрогенизма</i>			
Общ тестостерон (nmol/L)	1,65 (± 0,73)	0,91 (± 0,34)	< 0,001
FAI	3,37 (1,8; 6,8)	1,51 (1,1; 3,1)	0,002
<i>Клинични признаци на хиперандрогенизма</i>			
mFG score	8 (4; 14)	3 (0,8; 6,3)	0,001
Акне	13/54	4/26	NS
Алопеция	1/54	0/26	NS

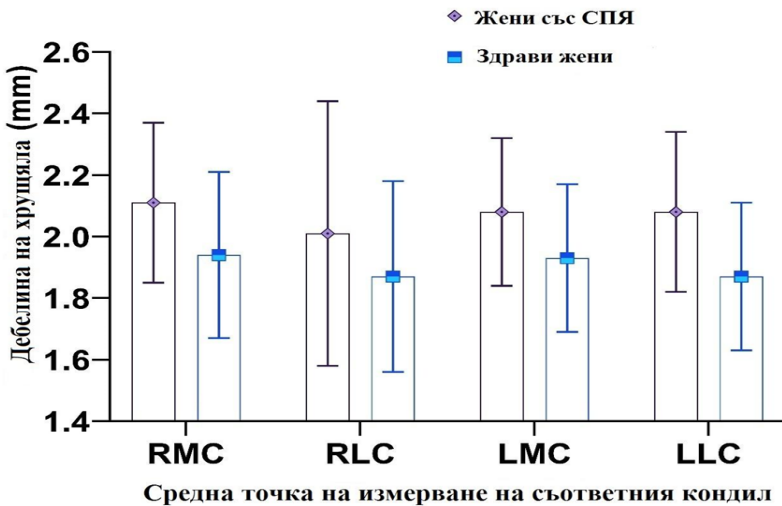
4.5.1.1. Сравнения на показатели, свързани с коляното, между пациенти със СПЯ и здрави контроли

Таблица 4.7. показва стойностите и сравненията на изследваните параметри, свързани с коляното между СПЯ пациенти и здрави контроли.

Таблица 4.7. Сравнения между пациенти със СПЯ и здрави контроли

Параметри	Жени със СПЯ (n = 54)	Здрави жени (n = 26)	p value
KOOS болка	97,5 (92; 100)	100 (97; 100)	NS
KOOS симптоми	96 (85; 100)	100 (93; 100)	0,035
KOOS QoL	98 (79; 100)	100 (95; 100)	NS
KOOS ADL	92,5 (76; 98)	100 (97; 100)	0,001
KOOS спорт и почивка	89 (77; 100)	96,5 (80; 100)	NS
sCOMP (ng/mL)	464 (332; 645)	434 (372; 546)	NS

Ултразвуковите измервания показват, че феморалният хрущял на левия медиален кондил (MC) и латерален кондил (LC) и десния MC са значително по-дебели сред СПЯ пациентите (n = 41), отколкото в контролната група (n = 15) (p = 0,05, p = 0,006 и p = 0,036, съответно), както е показано на фигура 4.10.



Фигура 4.10. Сравнение между ултразвуковите данни за дебелина на хрущяла, представен като средна точка на измерване на съответен кондил, между жени със СПЯ (n = 41) и здрави контроли (n = 15)

#### *4.5.1.2. Корелации между измерванията, свързани с коляното, и особеностите на хиперандрогенизма при пациенти със СПЯ*

Дебелината на хрущяла на LC на дясното коляно корелира сигнификантно с FAI ( $r = 0,31$ ,  $p = 0,049$ ). След корекция по отношение на ИТМ, корелацията се загуби. Дебелината на хрущяла на другите изследвани места не показва корелация с особеностите на хиперандрогенизма. sCOMP корелира значимо и отрицателно с нивата на общия тестостерон ( $r = -0,297$ ,  $p = 0,029$ ) при жени със СПЯ, като корелацията остана значима и след контролиране на ИТМ.

#### *4.5.2. Общ и свободен PSA в диагностиката на хиперандрогенизма при СПЯ*

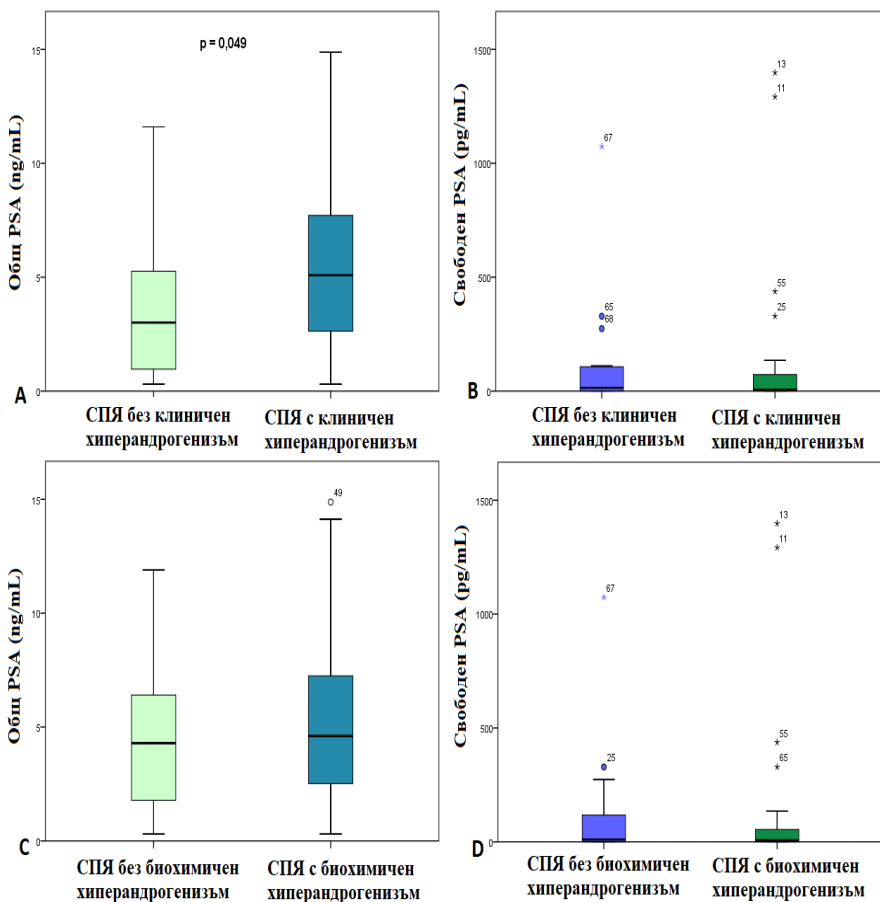
Серумните нива на общ и свободен PSA в двете групи - пациенти със СПЯ и здрави контроли, не показват сигнификантна разлика (4,49 [2,3; 7,1] срещу 4,18 [2,9; 7,3] ng/mL,  $p > 0,05$  за общия PSA и 7,56 [0,5; 94,7] срещу 6,97 [0,5; 66,6] pg/mL,  $p > 0,05$  за свободния PSA, съответно).

#### *4.5.2.1. Корелации между серумните нива на общ и свободен PSA и особеностите на хиперандрогенизма при пациентите със СПЯ*

Общият PSA показва сигнификантна положителна корелация с mFG score ( $r = 0,305$ ,  $p = 0,025$ ) и с нивата на ИРИ на 120 минута ( $r = 0,310$ ,  $p = 0,022$ ), докато свободният PSA не корелира с нито един от изследваните показатели.

#### *4.5.2.2. Поданализ на серумните нива на общ и свободен PSA в СПЯ групата според критериите - клиничния/биохимичен хиперандрогенизъм*

В първия поданализ се установи сигнификантно по-високи серумни нива на общ PSA сред пациентите с клиничен хиперандрогенизъм спрямо тези без клиничен хиперандрогенизъм (5,1 [2,6; 7,8] срещу 3,7 [0,7; 5,3],  $p = 0,049$ ). Подобна зависимост не се наблюдава по отношение на свободния PSA. Във втория поданализ сред пациентите с/без биохимичен хиперандрогенизъм не се наблюдава сигнификантна разлика както по отношение на нивата на общия, така и на свободния PSA (**фигура 4.11**).



**Фигура 4.11. Сравнение на нивата на общ и свободен PSA в СПЯ подгрупите:**

**А)** Сравнение на нивата на общ PSA между СПЯ с/без клиничен хиперандрогенизъм ( $n = 38$  срещу  $n = 16$ , съответно); **В)** Сравнение на нивата на свободен PSA между СПЯ с/без клиничен хиперандрогенизъм ( $n = 38$  срещу  $n = 16$ , съответно); **С)** Сравнение на нивата на общ PSA между СПЯ с/без биохимичен хиперандрогенизъм ( $n = 35$  срещу  $n = 19$ , съответно); **Д)** Сравнение на нивата на свободен PSA между СПЯ с/без биохимичен хиперандрогенизъм ( $n = 35$  срещу  $n = 19$ , съответно)

#### 4.6. Изследване на ендоканабиноиди

4.6.1. Анализ на серумните нива на ендоканабиноида - анандамид и SHBG сред пациенти със СПЯ и изследване на връзката му с метаболитните и хормонални параметри

Основните демографски и антропометрични характеристики на групите са представени в таблици 4.8. и 4.9.

Таблица 4.8. Антропометрични характеристики на групите

Параметър	Жени със СПЯ (n = 58)	Здрави (n = 30)	p value
Възраст (години)	25,9 ± 5,2	27,6 ± 5,2	NS
ИТМ (кг/м <sup>2</sup> )	27,7 ± 7,3	29,3 ± 7,4	NS
Тегло (кг)	73,0 (58,0; 87,0)	70,0 (59,5; 97,3)	NS
Ръст (м)	1,64 (1,60; 1,68)	1,65 (1,60; 1,69)	NS
WC (см)	83,5 (76; 101,3)	84 (74; 96,8)	NS
HC (см)	100,5 (92; 110)	102 (92,8; 110,3)	NS
WHR	0,84 (0,77; 0,96)	0,81 (0,76; 0,90)	NS
WHtR	50,4 (45,3; 63,6)	48,7 (44,9; 57,4)	NS

Таблица 4.9. Клинични и метаболитни характеристики на групите

Параметър	Жени със СПЯ (n = 58)	Здрави (n = 30)	p value
Acanthosis nigricans	36,2% (21/58)	20% (6/30)	NS
Акне	24,1% (14/58)	20% (6/30)	NS
mFG score	8 (4; 14)	3,5 (1; 6,3)	< 0,001
ПГГ (mmol/L)	5,0 (4,8; 5,3)	5,05(4,8; 5,2)	NS
ПГ 60 мин (mmol/L)	6,7 (5; 8,8)	6,8 (5,1; 8)	NS
ПГ 120 мин (mmol/L)	5,5 (4,8; 6,5)	5,5 (4,8; 6,3)	NS
ИРИ 0 мин (mU/L)	9,4 (5,9; 16,8)	9,3 (6,0; 14,4)	NS
ИРИ 60 мин (mU/L)	80,7 (46,1; 127,5)	61,9 (30,9; 124,3)	NS
ИРИ 120 мин (mU/L)	42,3 (23,4; 85)	30,1 (17,2; 49)	NS
НОМА-IR	2,15 (1,25; 3,74)	2,18 (1,28; 3,27)	NS

4.6.1.1. Хормонални параметри и изследване на нивата на SHBG и АЕА в групите

Нивата на АЕА, SHBG и хормоналните данни на двете изследвани групи са представени в **таблица 4.10**.

**Таблица 4.10. Хормонални и биохимични характеристики на групите**

Параметри	Жени със СПЯ (n = 58)	Здрави (n = 30)	p value
<b>LX (mU/mL)</b>	6,6 (4,7; 8,5)	5,8 (4,1; 8,1)	NS
<b>ФСХ (mU/mL)</b>	5,1 (4,3; 6,1)	5,5 (4,8; 6,5)	NS
<b>LX/ФСХ отношение</b>	1,2 (1,0; 1,8)	1,0 (0,8; 1,2)	0,023
<b>Естрадиол (pmol/L)</b>	133,7 (97; 194)	147 (105; 190)	NS
<b>Тестостерон (nmol/L)</b>	1,6 (1,1; 2,0)	0,9 (0,7; 1,1)	<b>&lt; 0,001</b>
<b>DHEAS (μmol/L)</b>	8,9 (6,5; 11,6)	5,5 (4,2; 7,5)	<b>&lt; 0,001</b>
<b>Андростендион (ng/mL)</b>	4,4 (3,0; 5,5)	2,3 (1,5; 2,7)	<b>&lt; 0,001</b>
<b>FAI</b>	3,4 (1,7; 6,8)	1,5 (1,0; 3,1)	0,002
<b>SHBG (nmol/L)</b>	45,1 (29; 79)	54,0 (28; 81)	NS
<b>АЕА (ng/mL)</b>	3,8 (2,0; 6,8)	3,4 (2,1; 8,4)	NS

4.6.1.2. Корелационен анализ между нивата на АЕА и SHBG, хормоналните и метаболитните параметри в СПЯ групата

- **АЕА**

Анализира се връзката между нивата на АЕА с нивата на метаболитните и хормоналните показатели при пациентите със СПЯ. Установи се сигнификантна негативна корелация между нивата на ендоканабиноида с кръвната захар на 120 минута ( $r = -0,304$ ,  $p = 0,020$ ) и WHR ( $r = -0,266$ ,  $p = 0,044$ ). С останалите метаболитни и хормонални показатели корелации не се установяват.

- **SHBG**

При корелационен анализ между нивата на SHBG и антропометричните, метаболитните и хормоналните показатели при СПЯ се установи негативна корелация между него и повечето от изследваните антропометрични и метаболитни показатели, представени в **таблица 4.11**. С

останалите изследвани хормонални показатели, включително и с нивата на АЕА, корелация не се установи.

**Таблица 4.11. Корелационен анализ между SHBG, антропометричните и метаболитни показатели в СПЯ групата**

Параметри	SHBG	
	Корелационен коефициент (r)	p value
ИТМ (кг/м <sup>2</sup> )	-0,590	< 0,001
Тегло (кг)	-0,513	< 0,001
НС (см)	-0,413	0,001
WC (см)	-0,570	< 0,001
WHR	-0,524	< 0,001
ИРИ на 120 мин (mU/L)	-0,487	< 0,001
ПГ на 120 мин (mmol/L)	-0,405	0,002
ИРИ на 0 мин (mU/L)	-0,377	0,004
НОМА-IR	-0,362	0,005
mFG score	-0,323	0,013

#### 4.6.1.3. Поданализ на пациентите със СПЯ спрямо техния ИТМ

При разделяне на пациентската група според техния ИТМ на група със затлъстяване (ИТМ  $\geq$  30 кг/м<sup>2</sup>; n = 24) и група без затлъстяване (ИТМ < 30 кг/м<sup>2</sup>; n = 34) се проведе анализ на изследваните параметри, представени в таблици 4.12., 4.13. и 4.14. АЕА не показва сигнификантна разлика в двете изследвани групи – СПЯ със затлъстяване и СПЯ без затлъстяване.

**Таблица 4.12. Антропометрични и клинични характеристики на пациентите със и без затлъстяване**

Параметър	СПЯ със	СПЯ без	p value
	затлъстяване (n = 24)	затлъстяване (n = 34)	
Тегло (кг)	90,5 (81,3; 100,4)	60 (55,9; 66,3)	< 0,001
WC (см)	104,0 (96; 116,8)	77,0 (71,8; 81)	< 0,001
НС (см)	111 (102,5; 119,8)	96 (91; 100)	< 0,001
WHR	0,97 (0,85; 1,03)	0,79 (0,77; 0,84)	< 0,001

<b>Acanthosis nigricans</b>	54,2% (13/24)	23,5% (8/34)	0,017
<b>mFG score</b>	11 (8; 16)	5 (3; 10)	0,001
<b>Акне</b>	20,8% (5/24)	26,5% (9/34)	NS
<b>Олиго-аменорея</b>	83,3% (20/24)	97,1% (33/34)	NS
<b>ПКМЯ</b>	87,5% (21/24)	88,2% (30/34)	NS

Таблица 4.13. Метаболитни характеристики на пациентите със и без затлъстяване

Параметър	СПЯ със затлъстяване (n = 24)	СПЯ без затлъстяване (n = 34)	p value
<b>ПГГ</b>	5 (4,8; 5,6)	5 (4,7; 5,2)	NS
<b>ПГ 120 мин</b>	5,8 (5,3; 7,1)	5,1 (4,2; 6)	0,003
<b>ИРИ 0 мин</b>	14,5 (9,7; 22,9)	6,4 (4,8; 10,4)	<b>&lt; 0,001</b>
<b>ИРИ 120 мин</b>	75,5 (41; 138,4)	32,3 (21,2; 49,7)	0,001
<b>НОМА-IR</b>	3,31 (2,36; 5,44)	1,38 (1,02; 2,5)	<b>&lt; 0,001</b>

Таблица 4.14. Хормонални и биохимични характеристики на пациентите със и без затлъстяване

Параметър	СПЯ със затлъстяване (n = 24)	СПЯ без затлъстяване (n = 34)	p value
<b>ЛХ (mU/mL)</b>	5,5 (4; 7,9)	7 (5,1; 9,3)	0,048
<b>ФСХ (mU/mL)</b>	5,1 (4,7; 6,2)	5,1 (4,3; 5,9)	NS
<b>ЛХ/ФСХ отношение</b>	1,1 (0,8; 1,4)	1,5 (1,1; 2,1)	<b>0,011</b>
<b>Естрадиол</b>	131,9 (113,4; 187,6)	133,8 (89,5; 215,8)	NS
<b>Тестостерон</b>	1,6 (1,3; 2)	1,5 (1,1; 2,1)	NS
<b>DHEAS (mkmol/L)</b>	9,9 (7,5; 11,5)	7,7 (6,4; 11,6)	NS
<b>Андростендион (ng/mL)</b>	4,1 (3; 5,5)	4,5 (3,5; 5,5)	NS
<b>FAI</b>	6,7 (3,4; 9,6)	2,4 (1,1; 3,6)	<b>&lt; 0,001</b>
<b>SHBG (nmol/L)</b>	29,3 (18; 43)	54 (34,5; 103,9)	<b>&lt; 0,001</b>
<b>AEA (ng/mL)</b>	3,1 (2; 6,1)	4,3 (1,9; 7,4)	NS

#### 4.6.2.4. Поданализ на пациентите със СПЯ спрямо WHR

При разделяне на пациентската група спрямо WHR на група с андроиден тип преразпределение на мастната тъкан (WHR  $\geq$  0,85; n = 26) и гиноиден тип (WHR < 0,85; n = 32) се анализирани отново всички изследвани параметри. Разпределението на пациентите със затлъстяване, наднормено и нормално тегло в групите са представени в **таблица 4.15**.

**Таблица 4.15. Разпределение на пациентите със затлъстяване, наднормено и нормално тегло в групите**

	СПЯ с андроиден тип (n = 26)	СПЯ с гиноиден тип (n = 32)
<b>Затлъстяване (ИТМ <math>\geq</math> 30 кг/м<sup>2</sup>)</b>	69,2% (18/26)	18,7% (6/32)
<b>Наднормено тегло (ИТМ 25÷29,9 кг/м<sup>2</sup>)</b>	19,2% (5/26)	12,5% (4/32)
<b>Нормално тегло (ИТМ <math>\leq</math> 24,9 кг/м<sup>2</sup>)</b>	11,6% (3/26)	68,8% (22/32)

Наблюдава се сигнификантна разлика в полза на СПЯ с андроиден тип преразпределение на мастната тъкан по отношение на всички изследвани антропометрични показатели, метаболитните показатели (с изключение на кръвната захар на гладно) и при част от клиничните параметри – хирзутизъм и acanthosis nigricans. СПЯ с андроиден тип са с по-високи нива на FAI от пациентите с гиноиден тип преразпределение на мастната тъкан (**таблицы 4.16., 4.17., 4.18**).

**Таблица 4.16. Антропометрични и клинични характеристики в групите**

Параметър	СПЯ с андроиден тип (n = 26)	СПЯ с гиноиден тип (n = 32)	p value
<b>Възраст (години)</b>	26,9 $\pm$ 6,2	25,0 $\pm$ 4,1	NS
<b>Тегло (кг)</b>	84 (74,8; 95,9)	60 (56; 74,3)	< <b>0,001</b>
<b>Ръст (м)</b>	1,61 (1,55; 1,65)	1,65 (1,61; 1,72)	0,008
<b>ИТМ (кг/м<sup>2</sup>)</b>	32,7 $\pm$ 6,1	23,7 $\pm$ 5,6	< <b>0,001</b>
<b>WC (см)</b>	101,5 (96; 115,3)	77 (71,3; 82,3)	< <b>0,001</b>
<b>HC (см)</b>	104,5 (99,3; 112,8)	99 (91,3; 103)	0,009
<b>Acanthosis nigricans</b>	57,7% (15/26)	18,8% (6/32)	0,002
<b>mFG score</b>	10 (6,8; 16,5)	5,5 (3,3; 10,5)	0,010

Акне	23,1% (6/26)	25% (8/32)	NS
Олиго-аменорея	88,5% (23/26)	93,8% (30/32)	NS
ПКМЯ	80,8% (21/26)	90,6% (29/32)	NS

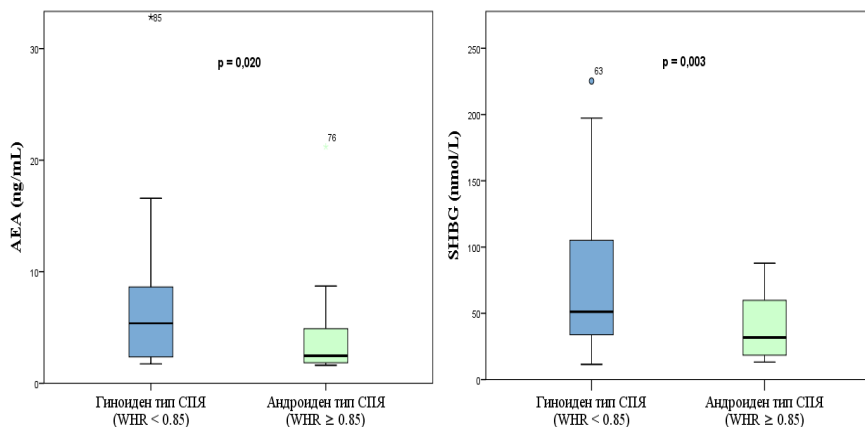
Таблица 4.17. Метаболитни характеристики в групите

Параметър	СПЯ с андроген	СПЯ с гиноиден	p value
	тип (n = 26)	тип (n = 32)	
ПГГ (mmol/L)	5 (4,7; 5,4)	5 (4,8; 5,3)	NS
ПГ 120 мин (mmol/L)	5,9 (5,4; 6,9)	5,1 (4,2; 5,9)	0,002
ИРИ 0 мин (mU/L)	15,2 (9,9; 23,4)	6,6 (5; 9,4)	< 0,001
ИРИ 120 мин (mU/L)	73,1 (38,7; 135,9)	32 (21,8; 48,4)	0,003
НОМА-IR	3,42 (2,3; 5,66)	1,4 (1,03; 2,31)	< 0,001

Таблица 4.18. Хормонални и биохимични характеристики на групите

	СПЯ с андроген	СПЯ с гиноиден	p value
	тип (n = 26)	тип (n = 32)	
ЛХ (mU/mL)	6,3 (3,7; 8,4)	6,7 (5; 9)	NS
ФСХ (mU/mL)	5,3 (4,5; 6,1)	5,1 (4,2; 5,9)	NS
ЛХ/ФСХ отношение	1,2 (0,9; 1,5)	1,3 (1; 1,9)	NS
Естрадиол (pmol/L)	137,4 (111,8; 183)	129,7 (89,7; 237)	NS
Тестостерон (nmol/L)	1,6 (1,1; 2)	1,5 (1,1; 2,2)	NS
DHEAS (μmol/L)	9,1 (5,6; 11,5)	8,9 (6,5; 12,3)	NS
Андростендион (ng/mL)	4,1 (2,6; 5,5)	4,6 (3,5; 5,8)	NS
FAI	6,1 (2,4; 10)	2,6 (1,2; 4,8)	0,004
SHBG (nmol/L)	31,8 (18,3; 60,8)	51,2 (33,7; 106,4)	0,003
AEA (ng/mL)	2,5 (1,8; 5,1)	5,4 (2,3; 8,8)	0,020

Сред СПЯ с гиноиден тип се наблюдават по-високи серумни нива на АЕА и SHBG спрямо групата на СПЯ с андроген тип разпределение на мастната тъкан, представени във **фигура 4.12**.



**Фигура 4.12.** Сравнение на нивата на AEA и SHBG в двете подгрупи на СПЯ – гиноиден тип (WHR < 0,85) и андроилен тип (WHR ≥ 0,85)

**4.6.2. Анализ на серумните нива на 2-arachidonoylglycerol при СПЯ в контекста на хормоналните и метаболитни нарушения и сред класическите фенотипове**

**4.6.2.1. Сравнение между пациенти със СПЯ и здрави контроли**

Нивата на 2-AG са по-високи в здравата контролна група, въпреки че не достигат статистическа значимост ( $p = 0,053$ ). Нивата на AEA между здрави и пациенти със СПЯ в този анализ също са сходни. Всички сравнения между пациентите със СПЯ и здравите контроли са представени в **таблица 4.19**.

**Таблица 4.19.** Сравнение между пациенти със СПЯ и здрави контроли

Показател	Жени със СПЯ (n = 54)	Здрави контроли (n = 26)	p value
<i>Хормонални и биохимични параметри</i>			
ЛХ (mU/mL)	7,64 (± 4,49)	6,19 (± 2,47)	NS
ФСХ (mU/mL)	5,2 (± 1,32)	5,54 (± 1,33)	NS
ЛХ/ФСХ отношение	1,49 (± 0,81)	1,11 (± 0,36)	0,035
Естрадиол (pmol/L)	131 (96; 183)	147 (99,5; 184,6)	NS
Общ тестостерон (nmol/L)	1,65 (± 0,73)	0,91 (± 0,34)	< 0,001

<b>DHEAS (mcmol/L)</b>	9,3 (6,5; 11,6)	5,5 (4,2; 7,3)	<b>&lt; 0,001</b>
<b>Андростендион (ng/mL)</b>	4,49 ( $\pm$ 2,12)	2,27 ( $\pm$ 0,94)	<b>&lt; 0,001</b>
<b>FAI</b>	3,37 (1,8; 6,8)	1,51 (1,1; 3,1)	0,002
<b>SHBG (nmol/L)</b>	42 (28,6; 74,3)	54 (28,3; 79)	NS
<b>Метаболитни параметри</b>			
<b>ПГГ (mmol/L)</b>	5,0 (4,7; 5,3)	5,1 (4,9; 5,3)	NS
<b>ПГ 120` (mmol/L)</b>	5,7 (4,9; 6,6)	5,5 (4,8; 6,3)	NS
<b>ИРИ на гладно (mU/L)</b>	9,6 (5,9; 16,8)	9,3 (6,2; 14,4)	NS
<b>ИРИ 120` (mU/L)</b>	43,4 (27,2; 85)	30,1 (17,2; 58,6)	NS
<b>НОМА-IR</b>	2,3 (1,3; 3,7)	2,2 (1,3; 3,3)	NS
<b>Клинични характеристики</b>			
<b>mFG score</b>	8 (4; 14)	3 (0,8; 6,3)	0,001
<b>Акне</b>	13/54	4/26	NS
<b>Алопеция</b>	1/54	0/26	NS
<b>Ендоканабиноид</b>			
<b>2-AG (ng/mL)</b>	41,8 (6,8; 103)	102,6 (21; 206)	NS
<b>AEA (ng/mL)</b>	3,5 (1,9; 6,5)	2,8 (2,1; 8,4)	NS

Наблюдавани са слаби отрицателни корелации между нивата на 2-AG и ЛХ/ФСХ отношението ( $r = -0,298$ ,  $p = 0,029$ ), също така и с mFG score ( $r = -0,306$ ,  $p = 0,025$ ). 2-AG не показва сигнификантна корелация с нивата на другия изследван ендоканабиноид - АЕА.

#### 4.6.2.2. Сравнения между СПЯ фенотипове А и В и здравите контроли

Резултатите сочат, че поотделно фенотип А и В не се различават от здравите контроли по демографски, антропометрични и метаболитни параметри. Серумните нива на андрогените (общ тестостерон, DHEAS и андростендион) и mFG score са сигнификантно по-високи във фенотип А и В поотделно в сравнение с контролната група. ЛХ/ФСХ отношението е сигнификантно по-високо в групата на фенотип А спрямо фенотип В и здравите контроли, но FAI е по-висок в групата на фенотип В в сравнение с фенотип А и контролната група. Сравненията между групите са представени в **таблица 4.20**.

Таблица 4.20. Сравнения между СПЯ фенотипове А и В и здравите контроли

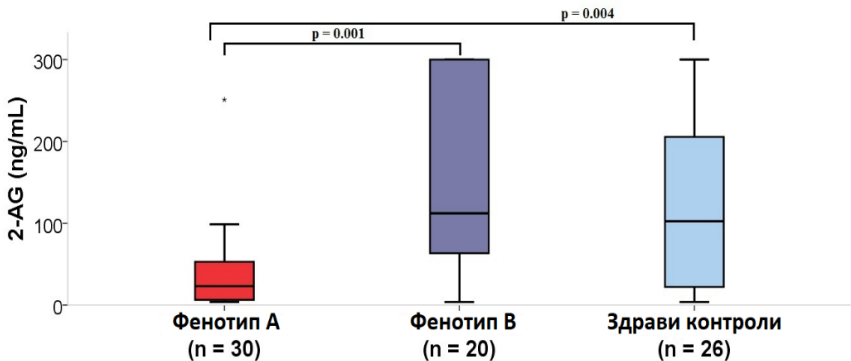
Показатели	Жени със СПЯ (n = 50)		Здравите жени (n = 26)
	Фенотип А (n = 30)	Фенотип В (n = 20)	
ЛХ/ФСХ отношение	1,67 (± 0,96)*	1,25 (± 0,58)	1,11 (± 0,36)
Общ тестостерон	1,62 (± 0,77)*	1,63 (± 0,73)†	0,91 (± 0,34)
DHEAS	8,7 (6,3; 11,5)*	9,3 (6,5; 12,8)†	5,5 (4,2; 7,3)
Андростендион	4,64 (± 1,89)*	4,14 (± 2,35)†	2,27 (± 0,94)
FAI	2,54 (1,41; 6,27)	3,56 (2,36; 6,48)†	1,51 (1,1; 3,1)
mFG score	7,5 (4; 12,5)*	8 (2,3; 12)	3 (0,8; 6,3)
2-AG (ng/mL)	23,2 (6; 55,5)*§	112,3 (61,6; 300)	102,6 (21,3; 206)
AEA (ng/mL)	3,1 (1,8; 6,8)	3,8 (2,1; 6,2)	2,8 (2,1; 8,4)

\* сигнификантност между фенотип А и контролите.

† сигнификантност между фенотип В и контролите.

§ сигнификантност между фенотип А и фенотип В.

Серумните нива на 2-AG са значително по-високи в групата на фенотип В и здравите контроли в сравнение с групата на фенотип А, както е представено на **фигура 4.13**. Нивата на ендоканабиноида остават сходни между фенотип В и контролите.



Фигура 4.13. Серумни нива на 2-AG между фенотип А, В и здравите контроли

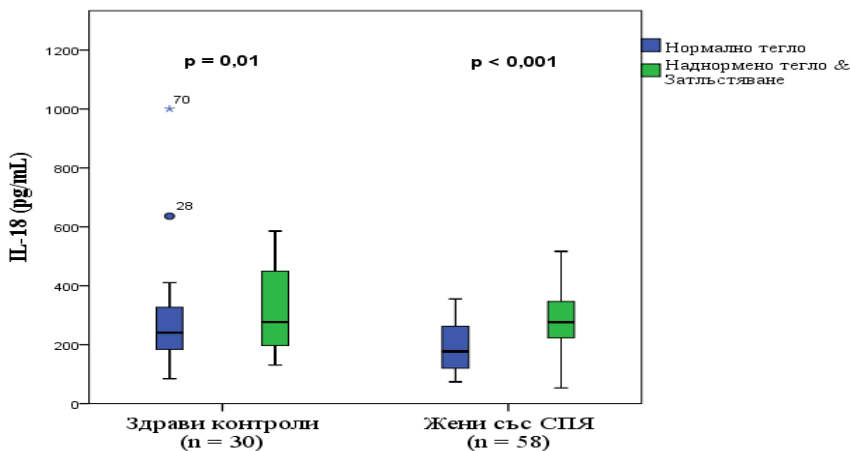
#### 4.7. Изследване на цитокини, адипокини и миокини

##### 4.7.1. Серумни нива на IL-18 при пациенти със СПЯ

Сравненията по антропометрични, метаболитни, хормонални и клинични параметри са същите като представените в анализа на SHBG и АЕА (подраздел 4.6.1). По отношение на серумните нива на IL-18 двете групи не се различават сигнификантно (211,8 [134,6; 308,3] pg/mL за пациенти със СПЯ срещу 249,8 [179,9; 367,1] pg/mL за контролите,  $p = 0,081$ ).

##### 4.7.1.1. Сравнение между жени с наднормено тегло/затлъстяване и жени с нормално тегло в групите

Когато всички участници са вземат под внимание ( $n = 88$ ), нивата на IL-18 са по-високи при жените с наднормено тегло/затлъстяване ( $n = 50$ ) в сравнение с жените с нормално тегло ( $n = 38$ ) (300,8 [211,4; 357] срещу 177,5 [114,5; 210,9] съответно,  $p < 0,001$ ), както и в двете групи поотделно – контролна група (313,5 [199,6; 461,6] срещу 202,5 [132,3; 249,8] съответно,  $p = 0,01$ ) и група на СПЯ (295,4 [223,1; 344,3] срещу 135 [112,3; 192,3] съответно,  $p < 0,001$ ) (фигура 4.14).



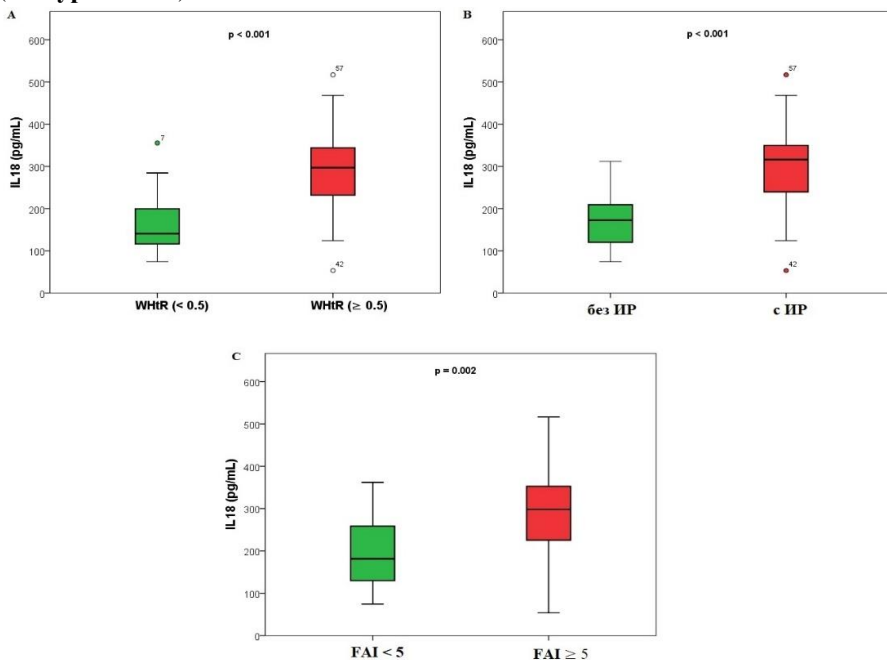
Фигура 4.14. Анализ на нивата на IL-18 в изследваната популация

Когато се сравняват нивата на IL-18 между жените със СПЯ с наднормено тегло/затлъстяване ( $n = 33$ ) и здравите контроли с наднормено тегло/затлъстяване ( $n = 17$ ), те не показват значителна разлика (313,5 [199,6; 41,6] срещу 295,4 [223,1; 344,3],  $p = 0,208$ ). Подобни резултати се наблюдават при сравняване на жени с нормално тегло в двете групи – пациенти ( $n = 25$ )

срещу здрави контроли (n = 13) (202,5 [132,3; 249,8] срещу 135 [112,3; 192,3] съответно, p = 0,064).

#### 4.7.1.2. Субанализи в групата на СПЯ

Подробен анализ в групата на СПЯ показва, че пациентите с висок WHtR  $\geq 0,5$  имат по-високи нива на IL-18, отколкото участниците с нисък WHtR  $< 0,5$  (296,8 [227,5; 344,1] срещу 140,8 [115,7; 200,8], **p < 0,001**) (Фигура 4.15.A). Нивата на IL-18 са значително повишени при пациенти със СПЯ и инсулинова резистентност (ИР), отколкото тези без ИР (316.3 [237,1; 352,5] срещу 172,5 [119; 211,8], **p < 0,001**) (Фигура 4.15.B). Нивата на IL-18 също са по-високи при жени със СПЯ и висок FAI  $\geq 5$ , отколкото при пациенти с нормален FAI  $< 5$  (298,3 [214,5; 355,3] срещу 181,1 [129,1; 262,4], p = 0,002) (Фигура 4.15.C).



#### Фигура 4.15. Анализ на нивата на IL-18 при жени със СПЯ

(A) Разлика в серумните нива на IL-18 между жени с WHtR  $< 0,5$  (n = 28) и WHtR  $\geq 0,5$  (n = 30). (B) Разлика в серумните нива на IL-18 между пациенти без ИР (n = 33) и с ИР (n = 25). (C) Разлика в серумните нива на IL-18 между групата с нормални нива на FAI  $< 5$  (n = 39) и високи FAI  $\geq 5$  (n = 19)

4.7.1.3. Корелационен анализ на нивата на IL-18 при пациенти и контроли

Нивата на IL-18 корелират положително с почти всички антропометрични и метаболитни параметри в групата на СПЯ, представени в таблица 4.21.

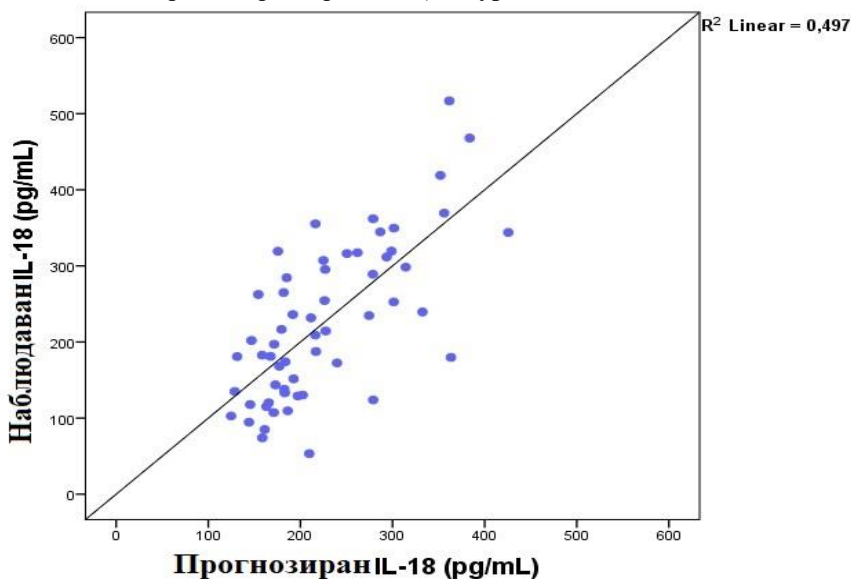
**Таблица 4.21. Корелационен анализ на нивата на IL-18 в групата на СПЯ**

Параметър	r	p
ИТМ (кг/м <sup>2</sup> )	0,556	< 0,001
Тегло (кг)	0,544	< 0,001
Ръст (м)	-0,089	NS
WC (см)	0,598	< 0,001
HC (см)	0,506	< 0,001
WHR	0,420	0,001
WHtR	0,553	< 0,001
ПГГ (mmol/L)	0,351	0,007
ПГ 60` (mmol/L)	0,322	0,015
ПГ 120` (mmol/L)	0,227	NS
ИРИ 0` (mU/L)	0,634	< 0,001
ИРИ 60` (mU/L)	0,352	0,008
ИРИ 120` (mU/L)	0,356	0,006
НОМА-IR	0,639	< 0,001
mFG score	0,286	0,030
ЛХ (mU/mL)	-0,169	NS
ФСХ (mU/mL)	-0,099	NS
ЛХ/ФСХ отношение	-0,102	NS
Естрадиол (pmol/L)	0,073	NS
Общ тестостерон (nmol/L)	0,055	NS
DHEAS (μmol/L)	-0,040	NS
Андростендион (ng/mL)	-0,099	NS
FAI	0,232	NS
SHBG (nmol/L)	-0,240	NS

В контролната група серумните нива на IL-18 не показват корелация с хормоналните и повечето от антропометричните и метаболитните параметри. В здравата група нивата на IL-18 корелират слабо и положително само с WHtR ( $r = 0,381$ ;  $p = 0,038$ ) и ИРИ 60 мин ( $r = 0,434$ ;  $p = 0,017$ ).

#### 4.7.1.4. Множествена линейна регресия в групата на СПЯ

Множествена линейна регресия се извърши, за да се определят кои от докладваните демографски, антропометрични и метаболитни характеристики в пациентската група прогнозираят в най-голяма степен нивата на IL-18. Използвайки forward stepwise регресионен анализ се установи, че параметрите - възраст, WC и ИРИ на гладно, най-силно отразяват нивата на IL-18. Тези променливи значително предсказват нивата на IL-18,  $F(3, 55) = 17,817$ ,  $p < 0,001$ ,  $R^2 = 0,497$ , като и трите променливи добавят статистическа значимост към модела за прогнозиране,  $p < 0,05$  (Фигура 4.16).



**Фигура 4.16. Диаграма на разсейване**

Изобразява връзката между наблюдаваните и прогнозираните стойности на IL-18 според модел на линейна регресия с IL-18 като зависима променлива и независимите променливи – възраст, WC и ИРИ на гладно. Приблизително 50% от вариациите в IL-18 могат да бъдат обяснени с тези три променливи

#### 4.7.2. Изследване на адипокините – Зонулин и Meteorin-like (Metrn1)

Анализите на демографските, антропометричните, клиничните и хормоналните параметри в двете групи на пациенти и контроли са аналогични на проведените в изследванията на АЕА, SHBG и IL-18 (раздели 4.6.1. и 4.7.1). При анализа на двата адипокина пациентите и контролите не показват

сигнификантна разлика. Средните стойности на Metrnl в СПЯ групата и при здравите контроли са съответно  $365 \pm 74,1$  pg/mL срещу  $369,7 \pm 93,3$  pg/mL,  $p > 0,05$ . Медианата за изследвания адипокин зонулин в двете групи е както следва: 8 [6,9; 11] ng/mL за СПЯ групата и 9,2 [6,2; 14,6] ng/mL за контролната група ( $p > 0,05$ ).

#### 4.7.2.1. Сравнение между жени с наднормено тегло/затлъстяване и жени с нормално тегло в групите

Подобно на анализа с IL-18 и в това изследване се проведе сравнение на нивата на Metrnl между жени с наднормено тегло/затлъстяване и жени с нормално тегло, представени на **фигура 4.17**.



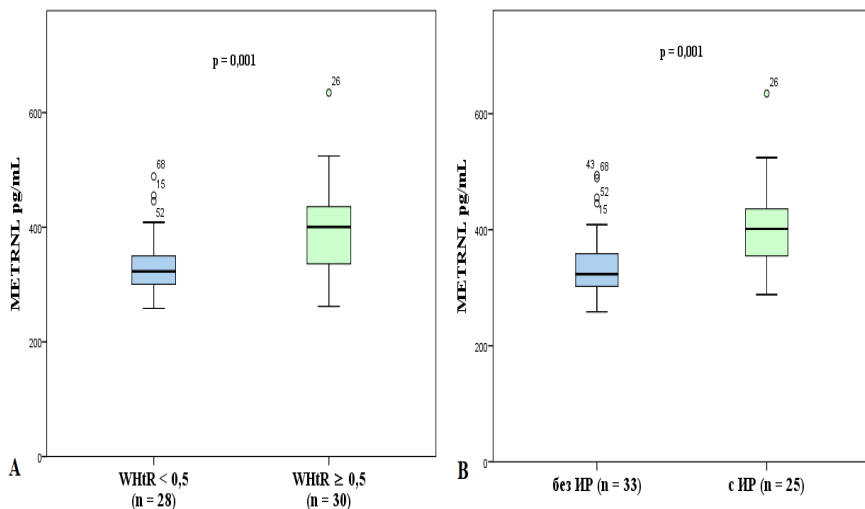
**Фигура 4.17.** Сравнение на нивата на Metrnl между жени с наднормено тегло/затлъстяване и жени с нормално тегло в общата изследвана популация ( $n = 88$ ) и в двете групи поотделно: Нивата на Metrnl са сигнификантно по-високи сред жените с наднормено тегло/затлъстяване ( $n = 50$ ) срещу жените с нормално тегло ( $n = 38$ ) сред всички 88 участници ( $p < 0,001$ ). В анализа на СПЯ-групата отделно жените с наднормено тегло/затлъстяване ( $n = 33$ ) имат също по-високи нива спрямо пациентите с нормално тегло ( $n = 25$ ) ( $p = 0,001$ ). В анализа на здравата група отделно подобна зависимост между жените с наднормено тегло/затлъстяване ( $n = 17$ ) и нормално тегло ( $n = 13$ ) не се установи. Няма сигнификантна разлика между пациенти и контроли при сравнение само между жените с наднормено тегло/затлъстяване или между жените с нормално тегло в двете групи

#### 4.7.2.2. Субанализи в групата на СПЯ

Подобно на изследването на IL-18 и в този анализ на зонулин и Metrnl са проведени три поданализа. Групата на пациентите със СПЯ се раздели последователно на подгрупи с висок WHtR ( $\geq 0,5$ ;  $n = 30$ ) и нисък WHtR ( $< 0,5$ ;  $n = 28$ ), като анализът показва сигнификантно по-високи нива на адипокина в групата на WHtR  $\geq 0,5$  спрямо групата с нисък WHtR ( $395,1 \pm 76,1$  срещу  $332,7 \pm 57,3$  съответно,  $p = 0,001$ ) (фигура 4.18А).

Във втория поданализ групата на СПЯ се раздели според инсулиновата резистентност (ИР) на СПЯ с ИР ( $n = 25$ ) и СПЯ без ИР ( $n = 33$ ). Резултатите от този поданализ показват значимо по-високи нива на Metrnl в подгрупа СПЯ с ИР спрямо СПЯ без ИР ( $399,6 \pm 74,6$  срещу  $338,7 \pm 62,9$  съответно,  $p = 0,001$ ) (фигура 4.18В).

В субанализа на СПЯ групата спрямо FAI сигнификантна разлика не се наблюдава между групите FAI  $< 5$  ( $n = 39$ ) и FAI  $\geq 5$  ( $n = 19$ ) – ( $354,1 \pm 62,5$  срещу  $387,2 \pm 91,4$  съответно,  $p > 0,05$ ), за разлика от анализа с IL-18. Серумните нива на зонулин показват сходни стойности във всеки от трите поданализа.



**Фигура 4.18. Сравнение в нивата на Metrnl в двете субгрупи на СПЯ:**

А) Сравнение между групите с нисък и висок WHtR В) Сравнение между групите с/без ИР

#### 4.7.2.3. Корелационен анализ на зонулин и Metrn1 в групите

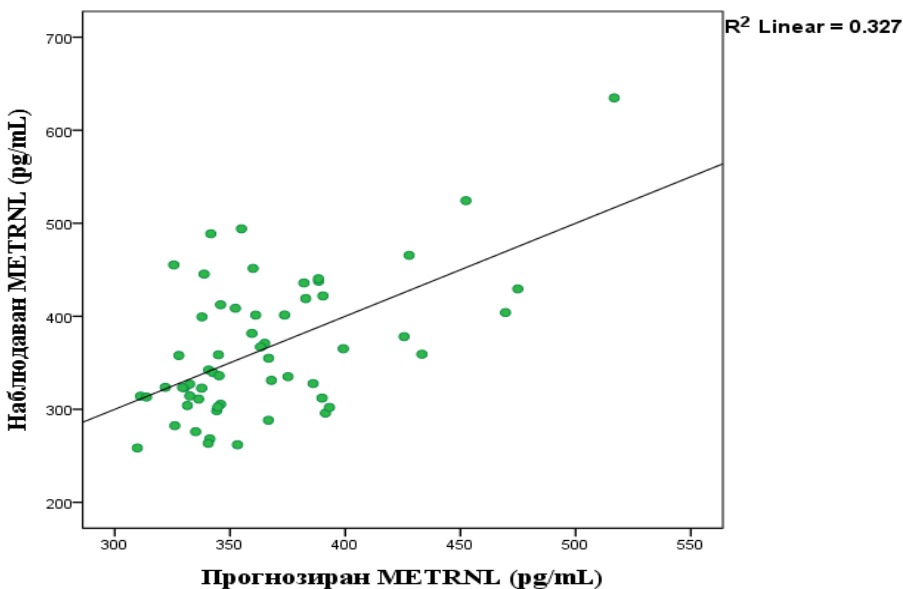
Нивата на Metrn1 корелират сигнификантно с повечето от антропометричните и метаболитни параметри, също със SHBG и IL-18 в групата на СПЯ, представени в **таблица 4.22**. При здравите контроли се наблюдава само една позитивна корелация между Metrn1 и WHtR ( $r = 0,369$ ;  $p = 0,045$ ). Зонулин не показва сигнификантна корелация с нито един от изследваните параметри в групите.

**Таблица 4.22. Корелационен анализ на Metrn1 в СПЯ групата**

Параметър	r	p
Възраст (години)	0,169	NS
Тегло (кг)	0,452	< <b>0,001</b>
Ръст (м)	0,011	NS
ИТМ (кг/м <sup>2</sup> )	0,368	0,004
WC	0,423	0,001
HC	0,445	< <b>0,001</b>
WHR	0,257	NS
WHtR	0,401	0,002
ПГГ (mmol/L)	0,319	0,015
ПГ 60` (mmol/L)	0,178	NS
ПГ 120` (mmol/L)	0,148	NS
ИРИ 0` (mU/L)	0,391	0,002
ИРИ 60` (mU/L)	0,247	NS
ИРИ 120` (mU/L)	0,235	NS
НОМА-IR	0,411	0,001
mFG score	0,114	NS
ЛХ (mU/mL)	-0,012	NS
ФСХ (mU/mL)	-0,137	NS
ЛХ/ФСХ отношение	0,058	NS
Естрадиол (pmol/L)	0,051	NS
Общ тестостерон	0,062	NS
DHEAS (μmol/L)	0,045	NS
Андростендион (ng/mL)	-0,092	NS
FAI	0,255	NS
SHBG (nmol/L)	-0,272	0,039
IL-18 (pg/mL)	0,312	0,017

#### 4.7.2.4. Множествен линеен регресионен анализ на нивата на Metrn1 в групата на СПЯ

Множествен линеен регресионен анализ се проведе, за да се определи кой от демографския, антропометричните и метаболитни показатели прогнозира в най-голяма степен нивата на Metrn1. В анализа се заложи Metrn1 като зависим параметър и показателите – възраст, ИТМ и НОМА-IR като независими предиктори. Те предсказват нивата на Metrn1,  $F(3; 54) = 8,75$ ,  $p < 0,001$ ,  $R^2 = 0,327$ , като от трите показателя само НОМА-IR добавя статистическа значимост към модела за прогнозиране,  $p = 0,001$  (фигура 4.19).



**Фигура 4.19. Диаграма на разсейване**

Изобразява връзката между наблюдаваните и прогнозираните стойности на Metrn1 според модел на линейна регресия с Metrn1 като зависима променлива и независимите променливи – възраст, ИТМ и НОМА-IR. Приблизително 33% от вариациите в Metrn1 могат да бъдат обяснени с тези три променливи, от които само НОМА-IR допринася за статистическата значимост

4.7.3. Изследване на миокините – Мионектин, IL-15 и BDNF при пациенти със СПЯ и здрави контроли

Анализите по антропометрични, демографски, метаболитни, клинични и хормонални параметри между двете групи са идентични (раздели 4.6.1, 4.7.1 и 4.7.2).

При сравнение на нивата на IL-15 между двете групи се установи, че пациентите със СПЯ имат сигнификантно по-ниски нива спрямо здравите контроли. По отношение на мионектин анализът показва, че неговите нива също са по-ниски сред пациентите отколкото при здравите, но разликата не достигна статистическа значимост ( $p = 0,066$ ). Изследванията с BDNF установяват, че нивата му са по-високи сред жените със СПЯ отколкото при здравите доброволци, но и тук не се наблюдава статистическа разлика ( $p = 0,066$ ) (таблица 4.23).

**Таблица 4.23. Сравнение на нивата на IL-15, Мионектин и BDNF между здрави и пациенти със СПЯ**

Параметър	Жени със СПЯ (n = 58)	Здрави контроли (n = 30)	p value
<b>IL-15 (pg/mL)</b>	13,9 [11,3; 320]	77,8 [13,5; 1049]	0,027
<b>Мионектин (ng/mL)</b>	0,99 [0,66; 1,47]	1,32 [0,78; 2,05]	NS
<b>BDNF (pg/mL)</b>	1552,7 [1091; 1982]	1334 [920,8; 1740]	NS

4.7.3.1. Корелационен анализ на миокините – IL-15, мионектин, BDNF в СПЯ групата

IL-15 показва сигнификантна негативна корелация с WHR и някои от метаболитните параметри, отразени в **таблица 4.24**. С всички останали антропометрични, клинични, метаболитни, хормонални параметри и биомаркери сигнификантна корелация не се наблюдава. Мионектин показва само една позитивна корелация със серумните нива на зонулин ( $r = 0,403$ ;  $p = 0,002$ ). От своя страна BDNF корелира позитивно само със SHBG ( $r = 0,284$ ;  $p = 0,031$ ).

**Таблица 4.24. Корелационен анализ на IL-15 в СПЯ групата**

Параметър	r	p
Възраст (години)	-0,011	NS
ИТМ (кг/м <sup>2</sup> )	-0,059	NS
WHR	-0,266	0,044
WhtR	-0,129	NS
ПГГ (mmol/L)	-0,203	NS
ПГ 60` (mmol/L)	-0,505	< 0,001
ПГ 120` (mmol/L)	-0,371	0,004
ИРИ 0` (mU/L)	-0,172	NS
ИРИ 60` (mU/L)	-0,338	0,012
ИРИ 120` (mU/L)	-0,294	0,025
НОМА-IR	-0,199	NS

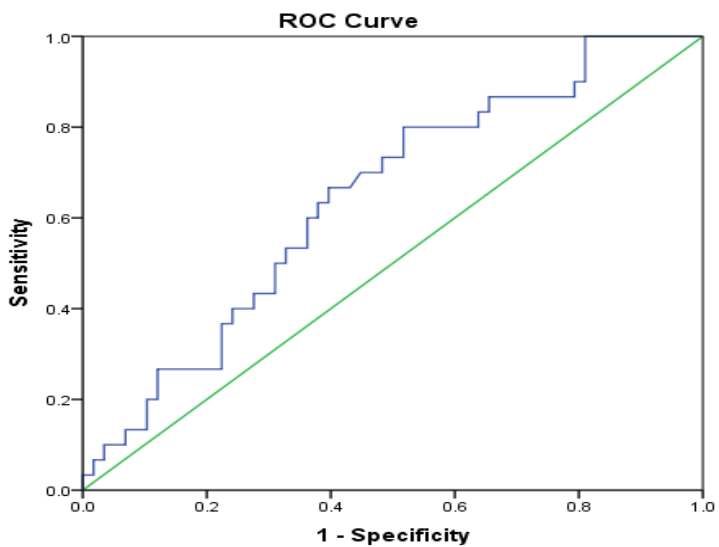
#### 4.7.3.2. Субанализи на IL-15 в групата на СПЯ

В два субанализа нивата на IL-15 се сравнени в пациентската група, стратифицирана според ИТМ и WHR.

В първия поданализ жените с нормално тегло и тези с наднормено тегло/затлъстяване не се различават сигнификантно (12,7 [11,3; 647,7] срещу 14,2 [11,2; 191,6], съответно,  $p = 0,621$ ). Във втория поданализ жените с нормално WHR ( $< 0,85$ ) също не се различават сигнификантно по отношение на IL-15 спрямо жените с повишен WHR ( $\geq 0,85$ ) (17,2 [11,5; 711,6] срещу 12,2 [6,7; 135,8], съответно,  $p = 0,052$ ).

#### 4.7.3.3. ROC анализ на нивата на IL-15 в групите – пациенти със СПЯ и здрави контроли

С цел определяне коя стойност на IL-15 би могла да диференцира здрави от пациенти със СПЯ се проведе ROC анализ и построи крива. AUC за серумните нива на IL-15 е 0,644 с 95% доверителен интервал от 0,526 до 0,762. ROC анализът определи гранични нива на IL-15 от 23,5 pg/mL с чувствителност 63,3% и специфичност 62,1% за диференциация между здрави и пациенти (фигура 4.20).



Diagonal segments are produced by ties.

**Фигура 4.20. ROC крива на серумните нива на IL-15, дискриминиращи здрави от пациенти със СПЯ**

## 5. ОБСЪЖДАНЕ

В настоящото проучване си поставяме за цел да извършим комплексна клинична оценка на нашата кохорта от пациенти със СПЯ, като сравним показателите им с тези при здрави контроли. Фокусът в първата част от анализите ни е да проведем анализ на всеки от клиничните показатели, част от които са и диагностични компоненти, както сред всички участници в изследването, така и сред фенотипните групи на СПЯ. Проведените изследвания за качество на живот и сексуална функция в групите обогати допълнително клиничния анализ, като позволи да се извърши оценка на СПЯ и по отношение аспектите на психологическо благополучие. Анализира се също връзката между СПЯ и често срещаното метаболитно-асоциирано заболяване остеоартроза през призмата на хиперандрогенизма.

Фокусът във втората част от анализите ни е да изследваме и съпоставим резултатите на добре познати и използвани в рутинната клинична практика показатели за диагноза с други иновативни и малко проучени биомаркери, с цел постигане на по-задълбочен анализ на СПЯ в патофизиологичен аспект и по-комплексна оценка в диагностичен план. По този начин се извлече ценна информация от една страна за клиничните характеристики на синдрома като хиперандрогенизъм, менструация, фертилитет, психологическо благополучие и сексуална функция както за групата като цяло, така и за всяка от фенотипните подгрупи. От друга страна получената информация ни позволи да дообогатим и в някои аспекти затвърдим познанията си относно сложните и взаимосвързани патофизиологични механизми на синдрома.

### *5.1. Общ анализ по демографски, антропометрични и клинични характеристики в групите*

Средната възраст в двете групи е около 27 години, а средните стойности на ИТМ сред пациентите и контролите е около 27-28 кг/м<sup>2</sup>. Въпреки че групите не се различават сигнификантно по ИТМ прави впечатление, че процентът на жените със затлъстяване е по-голям в групата на СПЯ отколкото в здравата група, макар да не се достига статистически значима разлика.

Налице е добре позната асоциацията между СПЯ и затлъстяването, като по литературни данни затлъстяване се установява при поне 30% от жените със СПЯ, а според други изследователи честотата може да достига до

75%. В нашия анализ процентът на жените със затлъстяване в групата на СПЯ е 41,1%, за сравнение при контролите той е 29,7%. Все пак като процентното съотношение във всяка от групите, жените с нормално тегло преобладават (43,6% в СПЯ групата срещу 46% в здравата кохорта). Не бива да бъде пренебрегван и делът на жените с наднормено тегло в групите, който като процентно съотношение е по-голям в контролната група (24,3%) срещу 15,3% в пациентската кохорта. Тези резултати ни дават информация за степента на изява на генерализирано затлъстяване сред групите, но реално не получаваме информация за преразпределението на мастната тъкан и делът на жените с абдоминален и гиноиден тип.

В настоящето проучване пациентите и контролите показват сходство в данните и по отношение на антропометричните показатели – тегло, ръст, WC, HC, WHR и WHtR. Прави впечатление, че средната стойност на WC и в двете групи е над 80 см, която надвишава препоръчаната норма за жени според WHO. Съответно делът на жените с WC над нормата надвишава този на жените с нормална обиколка на талията в двете групи (61,3% за СПЯ групата и 59,5% за контролната група). За разлика от данните за WC, резултатите ни от анализа на WHR не показват същата тенденция. Въпреки че средната стойност на WHR в групата на пациентите е  $\geq 0,85$ , която също надвишава препоръчаната норма за жени според WHO, в контролната група средната стойност е нормална ( $< 0,85$ ) и делът на жените с нормално съотношение талия/ханш преобладава в двете групи (55,6% в СПЯ групата срещу 64,9% в контролната група).

По отношение на WHtR резултатите отново показват нормална средна стойност в контролната група ( $< 0,5$  или 50 при пресмятане на ръста в м) и повишена в групата на пациентите, където и делът на жените с патологично отношение талия/ръст има лек превес над тези с нормално отношение. В обобщение на тези данни може да се каже, че преобладават жените с наднормено тегло и затлъстяване в нашата пациентска група и по-важното е, че при тях по-често се установява андроиден тип преразпределение на мастната тъкан, което се наблюдава и в други проучвания. Влияние върху тези резултати може да оказва глобалната тенденция към затлъстяване на населението. Когато се вземе под внимание и известната тясна връзка между синдрома и затлъстяването, можем да предположим, че делът на жените със СПЯ ще се увеличава в бъдеще. Тези тревожни данни подчертават още повече необходимостта от извършване на задълбочена клинична оценка при всяка

жена още при поставяне на диагноза СПЯ, включваща и антропометричните показатели - ръст, тегло, обиколка на талия и ханш, изчисляване на индекс на телесна маса, както и отношенията талия/ханш и талия/ръст, които са лесни за изпълнение, евтини и неинвазивни методи за клинична оценка.

Известно, че СПЯ в комбинация със затлъстяване се асоциира с повишен риск за метаболитни и сърдечно-съдови заболявания, които се изявяват предимно в постменопаузална възраст при жената. От друга страна обичайно с напредване на възрастта се наблюдава тенденция към увеличаване теглото. Именно затова е много важно още в млада възраст да се диференцират високорисковите от нискорисковите пациенти и насочи вниманието и терапевтичния ресурс в посока намаляване на тези рискове.

В настоящето проучване клинична оценка на хирзутизма се извърши съгласно съвременните препоръки за диагностика и лечение на СПЯ от 2018 г., според които хирзутизмът се оценява посредством модифицираната скала на Ferriman-Gallwey в 9 андроген-зависими зони и наличието му се потвърждава при скор  $\geq 4-6$ . В нашия анализ се заложи гранична стойност на хирзутизма да бъде mFG score  $\geq 8$ . Съображенията ни за това са две. Първата е, че в препоръките, публикувани от Teede et al., се обръща допълнително внимание на етнически-свързаните вариации в хирзутизма. Обичайно се наблюдава по-тежка изява на андроген-зависимо окосмяване сред жените от Близкия изток, Испания и Средиземноморието, с които ние споделяме фенотипни и генотипни характеристики. Втората е, че в голям обзор на Escobar-Morreale се отбелязва, mFG score  $\geq 8$  точки следва да се приеме за гранична стойност на хирзутизма при липса на друга ясна граница за съответната популация. В съображение влизат и данните, че във всички предходни анализи, проведени сред българска популация жени със СПЯ, mFG score  $\geq 8$  точки е определената гранична стойност за хирзутизма.

Процентът на жените с хирзутизм в нашата кохорта от пациенти е 50,8%, като той остава по-нисък спрямо докладваната от Azziz et al. и Carmina et al. - около 75-80%, където хирзутизмът е потвърден при скор  $> 5-6$ , и също така по-ниска от докладваната от Гатева (72-85%) при заложена гранична стойност на mFG score  $\geq 8$ . Проведеният ROC анализ със стойностите на mFG score в нашия анализ показва, че най-добър баланс между чувствителност и специфичност се постига при стойности скор = 4,5-5,5 (69,4% срещу 64,9% за 4,5 точки и 62,9% срещу 67,6% за 5,5 точки). При общ скор 6,5 чувствителността намалява на 55,6%, а специфичността се повишава на

75,7%, докато при скор равен на 8,5 - чувствителността намалява на 43,5%, а специфичността се увеличава на 83,8% в нашия анализ. От друга страна медианата на mFG score в нашия анализ е 4 при здравите контроли, също така и при пациентите със СПЯ от фенотип D, където липсват белези за хиперандрогенизъм, а 75-ия перцентил на interquartile range (IQR) в групите достига до 6,5 и 6 точки, съответно. В обобщение на тези анализи може да заключим, че mFG score  $\geq 6,5$  би могъл да бъде надеждна гранична стойност за хирзутизъм при СПЯ в българската популация със задоволителна чувствителност и специфичност и използван за диагностични цели. Бъдещи изследвания сред по-голяма кохорта от пациенти ще потвърди или отхвърли това предположение.

Предиктивната роля на акнето и алоpeciaята, използвани самостоятелно в диагностиката на СПЯ, е ясна. Допълнително липсва точен инструмент за оценка на акнето. Предвид и по-малката си честота на изява и специфичност, акнето и алоpeciaята се предполага да имат по-скоро второстепенна роля в диагностиката на клиничния хиперандрогенизъм. В нашата кохорта от пациенти акне се установи сред 22,6% от жените със СПЯ, която е близка до докладваната в други проучвания, докато алоpecia се установи само при 1,6% от жените в пациентската група.

Най-интересната хипотеза за патогенеза на синдрома е изказана от Frank et al., според която СПЯ е генетично детерминирано овариално нарушение, характеризиращо се със свръхпродукция на андрогени. Експозицията на андрогенен ексцес през интраутробното развитие на фетуса се смята, че обуславя типичните фоликуларни нарушения и предопределя като цяло клиничната изява на СПЯ в adolescentна възраст. Най-критичният период за изява на синдрома за уязвимия индивид се счита, че е пубертетът, когато се активира хипоталамо-хипофизо-гонадната ос. В този период се оформят и метаболитните прояви, свързани с преразпределение на мастната тъкан и физиологично се наблюдава повишаване на инсулиновите нива, което от една страна води до намаляване на нивата на SHBG и амплифициране ефектите на циркулиращите андрогени и от друга страна - стимулация на овариална стероидогенеза. При жени със СПЯ се предполага, че физиологично наблюдаваната хиперинсулинемия в пубертетна възраст може да е тригериращ фактор за последваща поява на хиперандрогенемия и ановулация.

В тази връзка възможно е резултатите от нашето проучване, които показват, че при по-голямата част от жените в пациентската група менструалните нарушения датират от менархе (63,6%), да не са случайни и да са обвързани със зародена в пубертетна или дори в интраутробна възраст дисфункция. Възрастта на менархе в нашия анализ е сходна между пациентите и контролите - 12,4 години. Очаквано менструалните нарушения в групата на пациентите са по-често по типа на олиго-аменорея, както показват данните на Azziz et al. Все пак при 16,2% от здравите контроли (6 жени) има също анамнеза за олиго-аменорея, която в хода на диагностичния процес бе обяснена със съпътстващата хиперинсулинемия и инсулинова резистентност. Близо 50% от жените във всяка от двете групи съобщава за нормална продължителност на менструалното кървене - между 3-4 дни.

В литературата има данни, че преждевременното пубархе (< 8 години) увеличава риска от изява на СПЯ на по-късен етап, докато по-скоро пряка връзка между синдрома и възрастта на менархе не се намира, показва нашата литературна справка. Fruzzetti et al. и Zore et al. докладват, че подрастващи и млади възрастни жени не проявяват разлика по отношение на клинични и хормонални характеристики на СПЯ, т.е. с напредване на възрастта клиничната картина не се променя съществено. В тази връзка изследване на Ibáñez et al. показва, че започването на инсулиноочувствяващо лечение още в пубертета има дългосрочни ползи за жените със СПЯ. От друга страна Elting et al. съобщават обратното, че честотата на изява на менструалните нарушения намалява с увеличаването на възрастта, което е свързано с промяната в нивата на андрогените. Все пак при 20 до 30% от жените със СПЯ и еуменорея би могло да има данни за олиго-ановулация, което е важно да се има предвид при всяка жена със синдрома и насочено да се провежда диагностика за установяване на овулацията, особено сред тези от тях, които планират концепция.

Известно е, че СПЯ е причина за репродуктивни нарушения при около 80% от жените с ановулаторен инфертилитет. Макар репродуктивните нарушения да не бяха сред водещите причини за това нашите пациенти със СПЯ да се обърнат към ендокринолог, анамнестични данни за инфертилитет сред тях се установи при 12,1%. Този резултат не показва сигнификантна разлика от здравата група, където анамнеза за инфертилитет съобщават да имат 13,5% от контролите. Все пак подробната гинекологична анамнеза сочи,

че при всяка една от жените-контроли с анамнеза за инфертилитет са налице данни за мъжки фактор.

При анализа на жените с реализирана бременност в миналото е налице сигнификантна разлика между двете групи. В контролната група анамнеза за реализирана бременност има при 35,1% от жените срещу 17,7% (22/124) от пациентите със СПЯ. По интересен е анализът сред тези жени със синдрома и реализирана бременност в миналото, показващ че сред 45,5% (10/22) от тях е имало анамнеза за инфертилитет. За сравнение в друго изследване докладваната честота за инфертилитет се установява при 66% от жените със СПЯ. При 8 от нашите пациенти бременността е постигната спонтанно, докато при 2 е имало нужда от провеждане на лечение за индукция на овулацията или асистирана репродуктивна терапия. В заключение може да обобщим, че макар данните ни да са сред малка група жени и сведенията за инфертилитет в двойката да са сходни в двете групи, следва да отбележим, че 45,5% от жените с реализирана бременност в пациентската група съобщават за затруднения със зачеването.

### ***5.2. Оценка на качество на живот***

Доказано жените със СПЯ имат повишена тревожност и по-изразена склонност към депресии. Водещи фактори, влияещи за появата на тези психологически разстройства сред тях, се счита, че имат хирзутизмът, акнето, затлъстяването и инфертилитета. Допълнително хроничният ход на протичане, комплексната и хетерогенна природа на СПЯ влияят също негативно върху психологическото благополучие на жените със синдрома. Всички тези данни извеждат на преден план необходимостта от оценка на качеството на живот в комплексната клинична оценка на всички пациенти със СПЯ. Това залегна и като препоръка в съвременните ръководства за диагностика и лечение на СПЯ, според които оценка на качеството на живот следва да се прави при всички жени с тази диагноза изходно и в хода на лечение, като един от препоръчаните инструменти затова е Modified Polycystic Ovary Syndrome health-related quality-of-life Questionnaire (MPCOS-Q). Доколкото ни е известно, подобен анализ не е извършван за българска популация жени до този момент.

Нашият анализ потвърждава факта, че жените със СПЯ имат по-често нарушено качество на живот от здравите жени, което нагледно се представя чрез сигнификантната разлика в общия скор от въпросника на MPCOS-Q между здрави и пациенти. Анализът поотделно на 7-те домейна сочи, че в

домейните *емоционално нарушение* и *регулярност на менструацията* двете групи достигат сигнификантност с най-висок афинитет. Такава се наблюдава и в домейните *хирзутизъм*, *инфертилитет* и *акне*. Barnard et al. докладва подобни резултати, където сигнификантността между групите е наблюдавана във всеки от седемте домейна. Интересно е, че в нашия анализ сигнификантна разлика между пациенти и здрави не се наблюдава в домейните *телесно тегло* и *менструални симптоми*, което донякъде не е изненадващ резултат. От една страна *менструалните симптоми*, в това число влияние на главоболието, подуването на корема и менструалните болки при последната менструация върху качеството на живот, са неспецифични симптоми и често срещани оплаквания сред голяма част от жените по време на менструация. От друга страна *телесното тегло*, както показват погорните анализи, е сходно в двете ни групи. И макар жените със затлъстяване да са повече в групата на пациентите, тези с наднормено тегло превалят в контролната група и отчасти изравняват съотношението жени с нормално тегло и жени с нарушение в теглото.

Корелационният анализ показва, че по-ниските резултати в домейните *емоционално нарушение* и *инфертилитет* в MPCOS-Q се дължат на андроген-зависимото окосмяване, оценено чрез mFG score. Влошените резултати в домейн *хирзутизъм* се влияят преди всичко на повишените ИТМ и антропометрични показатели. Очаквано те също влияят негативно и върху възприетията на пациентите със СПЯ по отношение на *телесното тегло*, върху които също така роля оказва и патологичното окосмяване. Интересна и отчасти необяснима е позитивната корелация, която се установява между домейн *акне*, ИТМ и WHtR. Логично е с покачането на тегло да се влошава акнето, но нашите корелационни анализи подсказват по-скоро, че акнето не е бил определящ фактор за влошеното качество на живот сред пациентите с повишено тегло и отношение талия/ръст. В обобщение пациентите със СПЯ споделят за по-лошо качество на живот спрямо здравите и това в най-голяма степен зависи от нарушената емоционалност, повишеното окосмяване, акнето и репродуктивните нарушения. Антропометричните и клинични параметри, които влияят върху тези резултати, са предимно ИТМ, отношение талия/ръст и хирзутизъм.

### 5.3. Оценка на сексуалната функция

Жените със СПЯ съобщават за по-изразено сексуално неудовлетворение и по-ниска сексуална самооценка спрямо жените без

синдрома. Доказано сексуалната дисфункция влияе значимо върху взаимоотношенията им. Затова в препоръките за диагностика и лечение на СПЯ се включва също провеждането на скрининг за сексуална функция, като Female Sexual Function Index (FSFI) е един от често използваните инструменти за оценка.

Нашият анализ показва, че пациентите и здравите нямат сигнификантна разлика в нивата на общия скор и всеки от домейните на FSFI поотделно, както и че делът на жените със сексуална дисфункция е сходен в двете групи. Подобни резултати се докладват от Ercan et al. Интересно е, че нивата на ИТМ корелират позитивно с три от домейните на въпросника – *желание*, *лубликация* и *болка*, което предполага, че покачването на телесното тегло не е негативен фактор за сексуалността при жената. Тези наши предположения са потвърдени от изследване на Гатева, където се установява, че жените със затлъстяване без СПЯ имат значимо по-рядко сексуална дисфункция отколкото жените със синдрома, независимо от наличието или отсъствието на затлъстяване. Донякъде очакван резултат е този от анализа на данните, показващ че ексцесивното окосмяването влияе негативно върху *възбудата* и *удовлетворението*. Това ни дава основание да предполагаме, че при жените в голяма степен сексуалната удовлетвореност се влияе от сексуалната самооценка, като всяко нарушение в тази насока оказва негативен ефект както върху възбудата, така и върху цялостните сексуални възприятия.

Тази зависимост се потвърждава и в корелационния анализ между резултатите от двата въпросника за оценка на качество на живот и сексуална функция. Наблюдаваната позитивна връзка между *емоционалното нарушение*, *хирзутизма*, *инфертилитета* и *акнето* и повечето от домейните на FSFI затвърждават нашата хипотеза, че сексуалността при жената е комплексно детерминирана. В заключение нашите анализи върху резултатите от двата въпросника сочат, че в основата на добрата сексуална функция при жените със СПЯ стои предимно добрата сексуална самооценка.

#### **5.4. Анализи във фенотипните групи на СПЯ**

Съгласно Ротердамските критерии съществуват 4 фенотипа на СПЯ – фенотип А, В, С и D. Фенотип А и В се назовават още като класически фенотипове и докато фенотип А е т.нар. „завършена“ форма на СПЯ, характеризираща се с трите диагностични компонента (хиперандрогенизъм, олиго-ановулация и поликистозна морфология на яйчниците (ПКМЯ)), при

фенотип В отсъстват поликистозните яйчници. Тези два фенотипа са и основните форми на СПЯ, съгласно по-старите критерии - на NIH, САЩ. Обичайно клиничната манифестация при тях е най-богато представена, метаболитните прояви и инсулиновата резистентност са чести и най-изразени. С по-лека клинична картина се характеризира т.нар. овулаторен СПЯ фенотип, презентиращ се само с хиперандрогенизъм и ПКМЯ (фенотип С). При този фенотип рискът от хиперстимулационен овариален синдром е по-висок, а метаболитните прояви са по-умерено представени. Най-лека клинична манифестация по отношение на инсулиновата резистентност и метаболитните прояви се наблюдава при т. нар. нехиперандрогенен СПЯ фенотип, при който хиперандрогенизмът отсъства (фенотип D).

В нашето изследване преобладават пациентите с фенотип А (52%), след което като честота се нареждат фенотип В (26%), фенотип С (13%) и фенотип D (9%). За разлика от проучването на Пехливанов и Орбецова, където в класическите фенотипове преобладават жените със затлъстяване, в нашия анализ групите не показват сигнификантна разлика по отношение на ИТМ и останалите антропометрични показатели. Нещо повече прави впечатление, че процентът на жените със затлъстяване е най-голям във фенотип D и най-малък във фенотип А, докато пациентите с наднормено тегло са представени само в класическите фенотипове. Жените с висцерален тип преразпределение на мастната тъкан с малък превес преобладават във всяка фенотипна група пред тези с гиноиден тип.

Значима разлика между четирите фенотипа на СПЯ се установява по отношение на скалата за оценка на хирзутизма, като медианата на mFG score е сигнификантно най-висока във фенотип С в сравнение с останалите фенотипове. В тази подгрупа е и най-голям дялът на жените с акне, макар да не достигат сигнификантна разлика с другите подгрупи. Докато тези два клинични белега за хиперандрогенизъм преобладават във фенотип С, дерматологичният признак на инсулинова резистентност е най-слабо представен във фенотип С, отново несигнификантно обаче.

В анализа за оценка на качество на живот прави впечатление, че при фенотип С се установява най-значимо нарушение по отношение на *домейните емоционално нарушение, хирзутизъм и акне*. Единствено по *домейн регулярност на менструацията* фенотип С не проявява нарушение, което е очакван резултат предвид това, че менструалните нарушения не са техен диагностичен критерий. Още по-голям интерес събуждат резултатите от FSHI

въпросника във фенотипните групи. Категорично може да се заключи, че жените от фенотип С проявяват в най-голяма степен сексуална дисфункция спрямо другите фенотипове. Това нарушение се установява както в анализа на общия скор, така и при всеки домейн поотделно. В обобщение на всички анализи направени по фенотипни групи стигахме до заключението, че при фенотип С клиничните белези на хиперандрогенизъм са най-изразени и това вероятно допринася за тяхната в най-голяма степен влошена емоционалност и сексуална функция спрямо другите фенотипове.

### ***5.5. Хиперандрогенизъм и изследване на връзката му с клинични и серумни маркери за ранна хрущялна загуба - sCOMP, KOOS въпросник и анализ на ултразвуковите мускулно-скелетни прояви***

Доколкото ни е известно, настоящото проучване е първото, оценяващо връзката между хиперандрогенизъм и (пре)остеоартроза на коляното при млади жени със СПЯ, като се фокусира върху ранните симптоми на колянна остеоартроза (КОА), ултразвуковите мускулно-скелетни прояви и изследването на относително надежден биомаркер за разграждане на хрущяла. sCOMP, един от най-изследваните биомаркери, е доказано свързан с диагнозата КОА и нарушенията на колянната става, асоцииращи се с нараняване или със затлъстяване. Освен това има данни, че по-високият изходен sCOMP е свързан с бърза прогресия на разграждането на хрущяла и по-лоша прогноза.

В настоящото проучване се установи, че пациентите със СПЯ не се различават значително в серумните нива на COMP от здравите жени. Установи се обаче слаба отрицателна корелация между sCOMP и нивата на тестостерона, която остава значима след контролиране по ИТМ. В светлината на тази констатация се повдигна въпроса: може ли хиперандрогенемията при жени със СПЯ да бъде свързана с по-нисък търновър на хрущяла, тъй като sCOMP отразява дегенерацията на ставите? При мъже андрогените са показали, че предпазват хрущяла от възпалително-индуцирана деградиация.

Обсервационни и интервенционални проучвания показват, че появата и прогресията на остеоартроза (ОА) при жените значително се влияе от половите хормони и това е довело до въвеждането на термина „хормоналнозависима“ остеоартроза. Това твърдение се подкрепя от факта, че при 64% от жените с ОА на колянна става симптомите започват през първите 5 години след менопауза. Има установена корелация между ниските нива на естроген и рентгенови белези за стеснение на колянното пространство

(индиректен признак за загуба на хрущял) при жени в постменопаузална възраст. Важно е да се отбележи, че СПЯ не се характеризира обаче с ниски нива на естрогените. Повишеното производство на андрогени в яйчниците и надбъбречните жлези осигурява достатъчно естроген при ароматизацията им и неговите серумни нива обикновено са нормални или дори повишени. Докато хиперандрогенизмът и нормо-/хиперестренизмът обикновено се наблюдават в репродуктивна възраст, имаща предполагаема положителна роля за здравето на ставите на младите жени със СПЯ, инволюцията на яйчниците и половият хормонален дисбаланс в постменопаузална възраст могат да попречат на защитата на ставите и по този начин да доведат до по-голямо разпространение на ОА. В нашето проучване не се наблюдава корелация между sCOMP и серумните нива на естрадиола; средните нива на естрадиола обаче са в рамките на нормалните лабораторни граници.

Известно е, че жените с СПЯ имат по-често наднормено тегло или затлъстяване, което се потвърждава и в нашето проучване, и инсулинова резистентност, за които се предполага, че имат водеща роля в повишеното разпространение на свързаните с възрастта заболявания. Наскоро широкомащабно проучване разкри по-голямо разпространение и ускорена поява на ОА както при натоварени, така и при ненаатоварени стави сред пациенти със СПЯ. Независимо от това, сравнението е направено с контроли, съответстващи по възраст, но не и по ИТМ. Интересното е, че нашите данни показват по-изразено нарушение по отношение домейн *симптоми* на KOOS въпросника сред младите пациенти със СПЯ в сравнение със здравите жени. Това не може да се обясни изцяло със затлъстяването и свързаното с него по-голямо натоварване на коляното, тъй като контролите имат подобни демографски и антропометрични характеристики, включително ИТМ. Следователно, пациентите със СПЯ могат да имат оплаквания, свързани с коляното, по-често и тези симптоми могат да доведат до нарушение в ежедневните дейности. От друга страна, лошото самочувствие и нарушеното качество на живот сред жените със СПЯ, което се потвърждава от нашите изследвания и е потвърдено също така от Barnard et al., е възможно отчасти да обясни резултатите от KOOS въпросника. Машабни проспективни проучвания са необходими, за да се потвърди нашата хипотеза и да се анализира причинно-следствената връзка между СПЯ и оплакванията, свързани с коляното.

В съответствие с две предишни проучвания, ние също откриваме значителни разлики в дебелината на хрущяла на изследваните кондили, но само в три от четирите тествани области. Докато изтъняването или загубата на хрущяла е патогномонична характеристика на ОА, значимостта на по-голямата дебелина на хрущяла при млади възрастни остава неясна, тъй като нарастването на височината на хиалинния хрущял може също да означава влошаване на тъканите в най-ранните стадии на ОА. Известно е, че дебелината на хрущяла на коляното варира в зависимост от възрастта и антропометричните характеристики, а именно теглото и височината. Хиперандрогенизмът, основна характеристика на СПЯ, може също да повлияе на метаболизма на хрущяла и да допринесе за по-голямата му дебелина при жените със СПЯ. Независимо от това, нашите резултати разкриват слаба корелация между FAI и една от точките на измерване, която загуби сигнификантността си след контролиране по ИТМ. Многофакторни механизми, различни от хиперандрогенизма, могат да играят водеща роля за по-голямата дебелина на хрущяла при жените със СПЯ, спрямо тази при здравите индивиди.

Ограниченията на настоящото проучване са малкият брой на изследваните жени и кроссекционният дизайн на изследването. Освен това не оценяваме дебелината на хрущяла на всички участници, а на произволно избрани участници от двете групи. На второ място, нашето проучване е по-скоро изследователско и има за цел да постави основите за мащабни проспективни проучвания, които ще ни позволят да оценим причинно-следствената връзка на хиперандрогенизма и КОА. Трябва също да отбележим, че sCOMP може да бъде повишен при няколко условия, различни от КОА. За тази цел изключихме пациенти с възпалителни/автоимунни ревматични заболявания и известни белодробни заболявания, свързани с високи нива на sCOMP. Други локализации на ставни симптоми обаче не са взети под внимание.

В заключение младите жени със СПЯ могат да изпитват по-често симптоми, свързани с коляното и нарушения в ежедневните активности, спрямо съответстващи на тях по възраст и ИТМ контроли. Пациентите със СПЯ имат по-голяма дебелина на хрущяла на колянната става в сравнение с контролите. По-ниски серумни нива на COMP, биомаркер за хрущялен търновър, е възможно да бъдат присъщи за СПЯ пациенти с повишени нива на тестостерона.

## *5.6. Хиперандрогенизъм и роля на общия и свободен PSA в диагностиката му при СПЯ*

PSA е добре познат серумен маркер при мъжете, като чувствителен показател в диагностиката на простатния карцином. Нивата му добре корелират с тези на андрогените при тях. Днес обаче познанията около PSA далеч не се ограничават единствено до диагностика на заболявания при мъжете. PSA се изолира от много тъкани при жените, включително млечни жлези, периуретрално, овариална, ендометриална, слюнчена и тиреоидна тъкан, амниотична течност, кърма, серум, включително и от много тумори. Допълнително се доказва, че в млечните жлези и при експериментални модели на клетъчни линии за карцином на млечната жлеза генната експресия за PSA се увеличава под въздействие на андрогените и прогестините. За разлика от тях естрогените косвено контролират нивата на простатния антиген като нарушават андроген-индуцираната PSA синтеза. В светлината на тези данни се повдигна хипотезата за ролята на PSA в диагностиката на хиперандрогенизма при СПЯ.

В проучване сред жени със синдрома уринните нива на PSA са били почти 200-пъти по-високи отколкото при здравите контроли. За сравнение в нашето изследване нивата на общ и свободен PSA не показват значима разлика между пациенти със СПЯ и здрави контроли, но все пак сравнението е извършено на базата на анализ на серумни, а не уринни нива на PSA. В друго проучване се установява корелация между двата показателя с нивата на общ и свободен тестостерон сред жените със СПЯ и здравите контроли. Макар, че резултатите от нашето проучване не потвърждават сигнификантна корелация с биохимичните показатели за хиперандрогенизма, слаба такава се наблюдавана с най-специфичния от клиничните белези, а именно mFG score за оценка на хирзутизъм, и потвърждава данните от предходни проучвания посочващи, че жените с хирзутизъм имат значително по-високи нива на PSA.

Интересни са резултатите от двата поданализа, показващи че значимо по-високи нива на общ PSA се установяват в групата на жените с клиничен хиперандрогенизъм, спрямо тези без клинични белези за хиперандрогенизъм. Между двете подгрупи обаче, диференцирани спрямо наличието или отсъствието на биохимичен хиперандрогенизъм, нивата на общ и свободен PSA остават сходни. В обобщение нашият анализ не установява разлика в нивата на общ и свободен PSA между пациенти със СПЯ и здрави жени и в този смисъл не се потвърждава ролята им в диагностиката на СПЯ, каквато се

установява в други проучвания. Все пак данните ни показват, че серумните нива на общ PSA позитивно отразяват степента на хирзутизъм сред жените със синдрома и показват по-високи нива сред пациентите с клиничен хиперандрогенизъм. Бъдещи изследвания с нови по-чувствителни методики ще позволят да разкрият потенциала на този така добре познат и изследван маркер сред мъжете, но все още по-малко проучен показател при жените.

### **5.7. Анализ на ендоканабиноидите (анандамид и 2-arachidonoylglycerol)**

#### **5.7.1. Изследване на Анандамид (AEA) и SHBG и анализ на връзката им с метаболитните и хормонални характеристики при СПЯ**

Ролята на ендоканабиноидната система в етиопатогенезата на СПЯ се предполага на базата на тясната връзка между затлъстяването и синдрома, като тези две състояния се комбинират в 30 до 70% от случаите в зависимост от етническата принадлежност и използваните критерии за диагноза. От друга страна връзката между ендоканабиноидната система и затлъстяването е безспорна, като за това говорят данните от проучванията с първия ендоканабиноид-рецепторен блокер (римонабант) с доказан ефект по отношение на редукцията на тегло.

Все още не са ясни точните механизми, с които ендоканабиноидната система може да съучаства в патогенезата на СПЯ. Почти всички до момента натрупани данни в литературата предполагат за най-вероятна връзка на ендоканабиноидите с метаболитните нарушения и по-конкретно с инсулиновата резистентност при СПЯ. Известно е, че тя и компенсаторната на нея хиперинсулинемия са едни от най-доказаните патогенетични механизми при синдрома, в които затлъстяването играе адитивна роля.

В тайванско проучване при жени със синдрома е установено, че нивата на ендоканабиноидите (AEA и 2-arachidonoylglycerol (2-AG)) в периферни мононуклерни клетки са по-високи спрямо тези при здрави контроли. Двете групи в проучването са показали също сигнификантна разлика по отношение на НОМА-IR, ИРИ на 0 и 120 минута в полза на групата със СПЯ. Допълнително е установена повишена експресия на СВ1R в периферни мононуклеарни клетки и висцерална мастна тъкан сред жените със СПЯ, спрямо здравата популация. Наличието на позитивна корелация между експресията на СВ1 mRNA и нивата на ендоканабиноидите с тези на кръвната захар и ИРИ на втория час в хода на ОГТТ дава основание на авторите да стигнат до заключението, че ендоканабиноидната система е тясно свързана с

инсулиновата резистентност при СПЯ и по-конкретно СВ1R е единственият фактор, независимо асоцииращ се с нея.

В друго проучване китайски изследователи са установили, че нивата на fatty acid amide hydrolase (ФААН, ензимът отговорен за разграждането на АЕА) при жените със СПЯ са значимо по-ниски във всяка фаза на менструалния цикъл, спрямо жените без СПЯ. Установена е и сигнификантна позитивна корелация между инсулиновата резистентност (оценявана посредством QUICKI) и експресията на ФААН в пролиферативна и секреторна фаза на менструалния цикъл в групата със СПЯ. Това дава основания на авторите да предполагат, че ФААН играе роля в генезата на инсулиновата резистентност при СПЯ.

В друго лонгитудинално проучване на същия авторски колектив се установяват по-високи изходни плазмени нива на АЕА при жени със СПЯ, сравнени с жени без СПЯ, но с инфертилитет. Ефектите, които са наблюдавани след 3-месечно комбинирано лечение с етинил естрадиол 35 мкг и ципротерон ацетат 2 мг в комбинация с метформин при жените със СПЯ, са били редуциране на нивата на АЕА и повишаване нивата на експресия на ФААН в ендометриума.

За разлика от изброените проучвания резултатите от нашето изследване не показват значими различия в нивата на АЕА между здрави и пациенти със СПЯ. Това от части може да се обясни с факта, че двете групи нямат сигнификантна разлика и по отношение на всички метаболитни показатели, антропометрични данни и нивата на SHBG. В дизайна на проучването е заложено групите да бъдат сходни по ИТМ и възраст. От друга страна двете групи се различават значимо както по ЛХ/ФСХ отношението, така и по отношение на всички маркери за хиперандрогенизъм, който е задължителен диагностичен компонент съгласно диагностичните критерии на АЕ-PCOS. В корелационния анализ сред пациентите със СПЯ се установи сигнификантна негативна корелация между нивата на АЕА и WHR, както и с нивата на кръвната захар на 120 минута. На базата на тези резултати можем да заключим, че макар инсулиновата резистентност да е предполагаем водещ патогенетичен механизъм в генезата на СПЯ, вероятно в нашата кохорта от пациенти превес имат някои от другите предполагаеми патофизиологични механизми. В подкрепа на тази хипотеза са данните, показващи че при необезните жени, при които не се установява инсулинова резистентност, се

предполагат предимно невроендокринни нарушения като водещ патогенетичен механизъм.

Доколкото ни е известно, в последните 5 години проведените изследвания в областта на ендоканабиноидната система при СПЯ са ограничени само до азиатска популация, като само в две от тях са изследвани техните лиганди – АЕА и 2-AG. В повечето от тях проучванията на ендоканабиноидната система включват изследване на СВ1, СВ2-рецепторите и/или FAAH и връзката им с инсулиновата резистентност е отнесена именно към тях.

Данните обаче за взаимоотношенията между отделните фактори – рецептор, лиганд, ензим на разграждане в литературата са противоречиви. В проучване сред постменопаузални жени със затлъстяване установената връзка между повишени циркулиращи нива на ендоканабиноидите и понижена генна експресия на СВ1-рецептори в мастната тъкан на същите пациенти предполага, че между лиганд-рецептор съществува негативна обратна регулация. В друго изследване, индуцираното с диета затлъстяване е довело до намаляване на броя на СВ1-рецепторите в екстрахипоталамични региони от мозъка на плъхове, но не и в хипоталамуса. В едно от проучванията, описани по-горе, сред жените със СПЯ е отчетено едновременно повишение в нивата (изследвани в периферни мононуклеарни клетки) на двата ендоканабиноида – АЕА и 2-AG, както и повишение в експресията на СВ1-рецептори в същите клетки и в мастната тъкан, което е в противоречие с по-рано предположената негативна обратна регулация. Възможно е тези различия в данните да се дължат на особености в методологията на двете изследвания, но е възможно също те да се дължат на особености в регулацията на системата. Вероятно тя е различна на централно и периферно ниво. В тази регулация е възможно допълнително да имат отношение други фактори, принадлежащи към ендоканабиноидната система, като адипоцитокени и/или хормони от гастроинтестиналния тракт.

Известно е, че мастната тъкан е голям ендокринен орган, в който протичат множество метаболитни процеси. Тя играе важна роля в етиопатогенезата на инсулиновата резистентност. Висцералната мастна тъкан е метаболитно по-активна от подкожната. По тази причина андронидният тип затлъстяване се асоциира с по-висок риск от инсулинова резистентност, сърдечно-съдови заболявания, развитие на захарен диабет и метаболитен синдром спрямо гиноидния тип. В подкрепа на това твърдение са данните,

които показват, че обиколката на талията и отношението талия/ханш са по-надеждни индикатори за повишен метаболитен риск от ИТМ.

Въз основа на тези факти, решихме да проведем поданализ. Използвайки рутинен в клиничната практика показател за диференциране на андроидно от гиноидно преразпределение на мастната тъкан, ние разделихме пациентите със СПЯ спрямо тяхното отношение талия/ханш на две групи – СПЯ с андроиден и гиноиден тип. По отношение на повечето клинични, антропометрични и метаболитни показатели очаквано се установи сигнификантна разлика с по-високи нива при андроидния тип, докато SHBG остана значимо по-висок в групата на СПЯ с гиноиден тип. Сигнификантна разлика в групите се установи и по отношение на АЕА, като изненадващи за нас са резултатите, че нивата на ендоканабиноида са по-високи в групата на СПЯ с гиноиден тип преразпределение на мастната тъкан. Тези резултати и данните от корелационния анализ са в противоречие с общоприетата взаимовръзка между затлъстяването, инсулиновата резистентност и активираната ендоканабиноидна система.

Патофизиологично е трудно да се обясни сигнификантността в нивата на АЕА сред жените със СПЯ и гиноиден тип преразпределение на мастната тъкан. Възможните обяснения за това са само хипотези, като една от тях е, че тук влияние може да оказват външни за системата фактори, като лептин и/или различни микро- и макронутриенти в диетата. В подкрепа на тази идея са и данните, че лептинът и грелинът участват в регулацията на ендоканабиноидната система. Подобна взаимовръзка се предполага в проучване, проведено сред жени с хранителни разстройства, разделени в три групи - *anorexia nervosa* (AN), *binge-eating disorders* (BED) и *bulimia nervosa* (BN). В него се установява, че нивата на АЕА са били сигнификантно по-високи при жени с AN и BED, спрямо такива с BN и здрави контроли. В групата с AN и здравите контроли се установява негативна корелация с нивата на лептина. Заключениеята на авторите са, че нарушенията в летиновите нива или сигнали влияят върху получените резултати в нивата на АЕА в двете групи – AN и BED, но не и в групата на BN. Авторите не изключват възможността различни микро- и макронутриенти в приетата храна да оказват влияние върху нивата на АЕА в групите (както това е наблюдавано при изследвания с животни). Бъдещи изследвания, включващи комплексно изследване на нивата на лептина, CB1R и CB2R и FAAH сред групите би дало отговори на многото възникнали въпроси в резултат на нашето изследване.

Съществува добре документирана връзка между SHBG и инсулиновата резистентност, която се потвърждава и в нашето изследване. SHBG показва негативна корелация с повечето от метаболитните параметри, най-силна с ИРИ на 120 минута, и с почти всички антропометрични данни. След разделянето на пациентската група на две подгрупи спрямо техния ИТМ – СПЯ със и без затлъстяване, се установи сигнификантна разлика при повечето от метаболитните показатели (най-силна с инсулиновите нива на гладно и НОМА-IR), както и в нивата на SHBG, но не и при тези на АЕА. В обобщение на резултатите от този поданализ може да се заключи, че нивата на АЕА остават сходни между жени с и без затлъстяване и СПЯ, докато нивата на SHBG в голяма степен се влияят от наличието на инсулинова резистентност и затлъстяване.

Доколкото ни е известно нашето проучване изследва за първи път серумните нива на АЕА при жени от кавказката раса посредством широко използван и достъпен метод за анализ, а именно – ELISA. Той е посочван, като възможен начин за изследване на ендоканабиноидите, но по-утвърден и използван метод в повечето научни проучвания на ендоканабиноидната система е течната хроматография с тандем маспектрометрия. Бъдещи изследвания посредством този високочувствителен и скъп метод за анализ и сравняване с данните от ELISA би ни дало информация дали ELISA е надеждна методика за изследване на ендоканабиноидни лиганди.

Участието на ендоканабиноидната система в репродуктивната функция на жената хвърля друга светлина върху системата, различна от метаболитните ѝ ефекти. Изказана е хипотеза, че ендоканабиноидната система може да има връзка с нарушенията на хипоталамо-хипофизогонадната ос и променената пулсативност в секрецията на гонадотропин рилийзинг хормон (ГнРХ) при СПЯ. Те могат да се повлияят благоприятно от терапия с СВ1-рецепторен антагонист. В нашето проучване не се установи корелация между нивата на АЕА и някой от изследваните хормони. Вероятно по-точна оценка на ролята на ендоканабиноидите в овариалната функция и интраовариалните патогенетични механизми при СПЯ може да се направи чрез изследване на нивата им във фоликуларна течност.

Ограничения на настоящето изследване са малкият брой изследвани лица и липсата на детайлен анализ на останалите компоненти, участващи в сложната регулация на ендоканабиноидната система. Бъдещи изследвания, включващи и други представители на системата, адипоцитокени и

фоликуларни нива на ендоканабиноидите сред по-голяма група пациенти със СПЯ са необходими да се проведат, за да дадат отговор на много въпроси, оставащи отворени, относно тази сложна система.

В заключение нивата на изследвания ендоканабиноид АЕА са сходни при здрави и пациенти, но те показват съществени различия според разпределението на мастната тъкан при СПЯ. Установената корелация с постпрандиалната кръвна захар загатва все пак за ролята на АЕА в сложната взаимовръзка на ендоканабиноидната система с метаболитните промени при синдрома. Потвърди се връзката на SHBG с инсулиновата резистентност и затлъстяването при СПЯ.

*5.7.2. Анализ на серумните нива на 2-arachidonoylglycerol (2-AG) при СПЯ в контекста на хормоналните и метаболитни нарушения и сред класическите фенотипове*

Както стана ясно в предходния анализ, ендоканабиноидната система участва в метаболитния контрол и в регулиращата на множество физиологични процеси в женския репродуктивен тракт. И докато проучванията с АЕА в известна степен потвърждават неговата връзка с метаболитните промени, включително и в нашия анализ, 2-AG остава слабо проучен биомаркер и ролята му в патогенезата на СПЯ е все още неизвестна. Целта на нашето проучване е да намери отговор на въпроса: може ли 2-AG да участва в хормоналните и метаболитни промени и най-често срещаните характеристики на СПЯ като овулаторна дисфункция и поликистозна морфология на яйчниците (ПКМЯ)?

Доколкото ни е известно има само две проучвания, изследващи нива на 2-AG сред жени със СПЯ, и резултатите от тях са напълно противоречиви. Juan et al. съобщават за повишени нива на 2-AG при инсулин-резистентни жени със СПЯ в сравнение със здрави контроли, докато в проучването на Cui et al. нивата му не са показали сигнификантна разлика между жени със или без СПЯ. Резултатите от нашето проучване показват, че нивата на 2-AG са сходни между пациенти и съответстващи им по възраст и ИТМ здрави контроли. Освен това нашите групи имат сходни антропометрични характеристики и метаболитни параметри, а серумните нива на 2-AG не корелират с нито един измерен метаболитен параметър, свързан с инсулиновата резистентност. Въпреки че се предполага, че ендоканабиноидите могат да повлияят функцията на яйчниците чрез модулиране на механизми, участващи в енергийния баланс и метаболитния

контрол, можем да предположим, че по-скоро 2-AG е слабо свързан с метаболитна дисфункция при СПЯ.

Има достатъчно много данни в литературата показващи, че ендоканабиноидната система играе важна роля в регулацията на много репродуктивни процеси като фоликулогенеза, овулация, имплантиране на ембриона, ранна бременност и раждане. Всички елементи на системата са локализирани и измерени в различни репродуктивни течности, клетки и тъкани като човешки серум, фоликуларна течност, яйчници, матка и плацента. Установи се също, че ендоканабиноидите са под хормонален контрол от оста хипоталамус-хипофиза-яйчник (ХХЯ) и нивата им варират по време на менструалния цикъл. По-високите нива във фоликуларна фаза и пикът по време на овулацията предполагат, че за нормалното протичане на фоликулогенезата и овулацията са необходими повишени нива на ендоканабиноидите. Нещо повече връзката между нарушената експресия на ендоканабиноидите и нарушената фоликулогенеза, съзряването на овоцитите и съответно намаления фертилитет е вече потвърдена.

Овулаторната дисфункция е често срещано нарушение при СПЯ, което прави синдрома основна причина за ановулаторен инфертилитет. От друга страна, фоликуларният арест, увеличеният обем на яйчниците и нарушеното съзряване на овоцитите обикновено характеризират ПКМЯ – един от диагностичните компоненти при СПЯ. Всички тези факти повдигат въпроса: възможно ли нарушената ендоканабиноидна секреция да се асоциира с овулаторната дисфункция и поликистозната морфология на яйчниците при СПЯ?

Затова от съществен интерес за нас е анализът на нивата на 2-AG в различните фенотипове СПЯ. Както се отбеляза по-горе фенотип А и В често се посочват като „класически“ СПЯ. Единствената разлика между тях е наличието на ПКМЯ, която във фенотип В не е представена. Непараметричният post-hoc анализ показва, че фенотип В има значително по-високи нива на 2-AG в сравнение с фенотип А. Интересното е, че нивата на 2-AG в контролната група също са по-високи от тези във фенотип А. Сравнявайки фенотип В и контролната група, нивата на 2-AG са сходни. Въз основа на тези резултати можем да предположим, че нивата на ендоканабиноида не могат да бъдат диагностични маркери за СПЯ, както и, че серумните нива на 2-AG не са свързани с олиго-ановулацията при СПЯ, но най-вероятно по-високите нива на 2-AG са необходими за нормалния

фоликуларен растеж и биха могли да играят протективна роля в оформянето на поликистозна структура на яйчниците. Доколкото ни е известно нашето проучване изследва за първи път нивата на този ендоканабиноид сред класическите фенотипове на СПЯ и в светлината на свързаните със синдрома олиго-ановулация и ПКМЯ.

Допълнително интересни са данните, показващи че съотношението ЛХ/ФСХ е значително по-високо в групата на фенотип А, но не и при фенотип В при сравняването им със здравите контроли. Въпреки, че съотношението ЛХ/ФСХ не е диагностичен параметър при СПЯ, то е показателно за наличие на нарушение в регулацията на оста ХХЯ. Предвид това, че ендоканабиноидите са под хормонален контрол от ХХЯ-оста, можем да предположим, че нарушената регулация в нея допринася за намалените нива на 2-АГ в тази група. В подкрепа на тази хипотеза са също данните за наличие на негативна корелация между ендоканабиноида и ЛХ/ФСХ отношението. За разлика от 2-АГ, другият ендоканабиноид (АЕА) не показва сигнификантна хормонална корелация, както и с нивата на 2-АГ. В обобщение на анализите от двата ендоканабиноида може да предположим, че докато АЕА се асоциира повече с метаболитните прояви при СПЯ, 2-АГ показва повече връзка с неметаболитните прояви на синдрома и предполага по-скоро неговата нарушена секреция или активност да повлиява нормалните фоликуларни процеси в яйчника.

Наскоро публикувано проучване на Kamnate et al. установява, че диацилглицерол липаза  $\beta$ , чрез производството на 2-АГ, участва в посттранскрипционната регулация на първичните овоцити в постнатални мишки. Тези открития допълнително хвърлят светлина върху участието на 2-АГ във физиологичната регулация на яйчниците и ролята му в нормалния растеж на овоцитите. Като се има предвид нашата хипотеза, че по-ниските нива на 2-АГ могат да бъдат свързани с нарушен фоликуларен растеж и образуване на ПКМЯ, бъдещи изследвания, измерващи нивата на 2-АГ във фоликуларна течност, са необходими за потвърждаване или опровергаване на тази хипотеза.

Ограниченията в нашето проучване са малкият брой изследвани пациенти и контроли и крос-секционният дизайн на изследването. Допълнително, ние не анализирахме всички фенотипове на СПЯ, а само двете класически форми. Бъдещи проучвания сред по-голяма група от жени със СПЯ, представени в четирите фенотипа и измерване на нивата на 2-АГ във

фоликуларна течност ще ни позволи да оценим причинно-следствената връзка между системата, ПКМЯ и овулаторната дисфункция - да развие или опровергае нашите наблюдения.

Вярваме, че настоящото проучване е първото, което изследва серумните нива на 2-AG сред жени, използвайки широко използвания и достъпен ELISA метод, предложен като потенциална алтернатива за анализ на ендоканабиноиди. Като се има предвид, че течната хроматография с тандемна масспектрометрия (LC/MS) остава златен стандарт за тестване на нивата на ендоканабиноидите, допълнителни проучвания с или без съчетани измервания на LC/MS и ELISA са оправдани за сравняване на тези два метода за количествено определяне на нивата на ендоканабиноидите.

В заключение серумните нива на 2-AG са сходни между пациентите със СПЯ и здравите контроли. Независимо от това, пациентите със СПЯ и ПКМЯ имат значително по-ниски нива на ендоканабиноида, спрямо пациентите без поликистозни яйчници и контролите. Взети заедно тези резултати предполагат, че серумните нива на 2-AG не са диагностичен маркер за СПЯ, въпреки това тяхната променена секреция или активност може да повлияе на нормалните фоликуларни процеси в яйчника.

### **5.8. Изследване на цитокини, адипокини и миокини**

*5.8.1. Серумни нива на IL-18 при пациенти със СПЯ – анализ на връзката им с индекси за инсулинова резистентност, генерализирано и висцерално затлъстяване*

Асоциираните метаболитни нарушения, наблюдавани при жените със СПЯ, несъмнено са свързани с хронично нискостепенно възпаление. Дали обаче СПЯ *per se* е възпалително състояние или докладваната връзка между синдрома и нискостепенното възпаление се дължи на т. нар. замъгляващи фактори (confounding factors)? Настоящото проучване има за цел да отговори на този въпрос чрез сравняване на нивата на IL-18, като мощен провъзпалителен биомаркер, при пациенти със СПЯ и здрави контроли. Освен това в настоящето проучване определяме променливите, които независимо предсказват нивата на IL-18 при пациенти със СПЯ.

Нашето изследване не установи разлика в нивата на IL-18 между пациенти със СПЯ и здрави контроли. Както във всички анализи досега двете групи са съпоставени по възраст и ИТМ, които вероятно предопределят сходните стойности на повечето метаболитни параметри. За разлика от тях,

пациентите със СПЯ са по-хиперандрогенни и също по-хирзутни от контролите.

Клиничните проучвания, изследващи връзката между СПЯ *per se* и IL-18, съобщават противоречиви резултати. Някои от тези проучвания показват, че СПЯ независимо от затлъстяването се свързва с повишени нива на IL-18. Кауа et al. обаче демонстрират, че затлъстяването определя нивата на IL-18 при жените със СПЯ и съответно предопределя значимостта на разликата в нивата му между пациентите и контролите. Същото проучване показва, че жените със затлъстяване и СПЯ и здравите контроли със затлъстяване имат сходни нива на IL-18. В друго проучване на Lindholm et al. се демонстрира също липса на значимост в нивата на IL-18 сред трите групи в техния анализ: слаби жени със СПЯ, жени с наднормено тегло и СПЯ и контроли с наднормено тегло. По-интересното е, че при анализиране на mRNA за възпалителни маркери (включително IL-18) в мастната тъкан, авторите не наблюдават разлики между пациентите с наднормено тегло и контролите с наднормено тегло, но във всеки случай и при двете групи възпалителните маркери остават по-високи в сравнение със слабите пациенти със СПЯ. Подобна липса на пряка връзка между СПЯ и IL-18 беше по-рано предположена, тъй като и синдрома, и повишените нива на интерлевкина са поотделно свързани със затлъстяването, а то играе ролята на замъгляващ фактор между тях. В съответствие с последните проучвания, в които нивата на IL-18 са повишени при участниците със затлъстяване, ние откриваме подобни резултати. В трите изследвани групи (всички участници, здрави контроли и група на СПЯ) жените с наднормено тегло/затлъстяване имат значително по-високи нива на IL-18 от жените с нормално тегло. Важно е също да се отбележи, че наличието или липсата на СПЯ не повлиява нивата на IL-18 нито при участниците с наднормено тегло/затлъстяване, нито при слабите от тях.

За да се изясни напълно каква е връзката между възпалението и СПЯ, проучването има за цел от една страна да допринесе към настоящите познания, както и да погледне от различен ъгъл на сложната взаимовръзка, като вземе предвид по-нататък в анализа съответните маркери за глобално и централно затлъстяване, инсулинова резистентност и хиперандрогенизъм. Важно е да се отбележи, че резултатите от нашето проучване по-скоро подкрепят хипотезата, че връзката между СПЯ и повишените нива на IL-18 зависи от замъгляващи фактори като затлъстяване и инсулинова

резистентност, които влияят на нивата на цитокина и водят до нискостепенно възпаление при синдрома. Подобно на предишни изследвания в областта, ние потвърждаваме, че нивата на IL-18 са по-високи при пациенти със СПЯ и инсулинова резистентност (ИР), спрямо тези без ИР. В нашето проучване обаче по-голям интерес предизвика изследването на пациенти със СПЯ, разделени на подгрупи според WHtR и FAI, използвайки клинично значими гранични стойности. Доколкото ни е известно подобни анализи се извършват за първи път в световен мащаб. WHtR е ефективен маркер за диференциране на ниско от високорисковите метаболитни и сърдечно-съдови профили. От друга страна андрогенният ексцес е асоцииран вече с влошен метаболитен профил, а FAI е релевантен параметър за оценка на хиперандрогенизма. Резултатите от нашите два субанализа с WHtR и FAI показват, че нивата на IL-18 са значително по-високи при пациентите с висцерално затлъстяване и хиперандрогенизъм. По-нататъшни проучвания трябва да оценят ролята на IL-18 като предразполагащ фактор за повишен сърдечно-съдов и допълнителен метаболитен риск при пациенти със СПЯ.

Данните ни сочат също, че нивата на IL-18 корелират положително с няколко индекса за генерализирано и висцерално затлъстяване и повечето от метаболитните параметри, свързани с ИР в групата на СПЯ. Въпреки че пациентите с хиперандрогенизъм имат по-високи нива на IL-18 от тези с нормални андрогенни нива, само хирзутизмът показва слаба корелация с нивата на изследвания интерлевкин. Тези резултати и установената връзка между IL-18 и влошения метаболитен профил предполагат, че по-скоро висцералното затлъстяване и инсулиновата резистентност предразполагат към повишеното възпаление сред пациентите със СПЯ, а не толкова хиперандрогенизмът. В множествения регресионен анализ се вижда, че приблизително 50% от вариациите в нивата на IL-18 се обясняват с възрастта, обиколката на талията и инсулинемия на гладно.

Ограниченията на нашето изследване са относително малкият брой изследвани лица, както и неговият крос-секционен дизайн. Допълнително не можем да определим дали съществува причинно-следствена връзка между нивата на IL-18 и метаболитния и сърдечно-съдов риск при жените със СПЯ, за което са необходими по-мощни, проспективни, лонгитудинални проучвания.

В заключение може да отбележим, че в нашето проучване нивата на IL-18 остават сходни сред пациенти със СПЯ и здрави контроли. Въпреки това

нивата на интерлевкина показват връзка с няколко индекса за генерализирано и висцерално затлъстяване и инсулинова резистентност в групата на СПЯ, където възрастта, обиколката на талията и инсулинемията на гладно определят в най-голяма степен серумните нива на този провъзпалителен биомаркер.

### *5.8.2. Адипокини*

При СПЯ ролята на Metrnl е все още слабо проучена и неясна област. До този момент има само едно проучване, изследващо нивата на адипокина сред жени със синдрома. Резултатите от изследването показват, че нивата му са били сигнификантно по-ниски сред жените със СПЯ, спрямо здравите контроли. Metrnl негативно е корелирал с нивата на инсулина и кръвната захар на гладно сред СПЯ групата и позитивно с ИТМ, нивата на адипонектина и хомоцистеина в контролната група.

Нашите резултати са противоположни на данните от това проучване, изследващо Metrnl сред жени със СПЯ. В нашия анализ нивата на адипокина не показват сигнификантна разлика между изследваните групи – пациенти със СПЯ и здрави контроли. По-интересни са данните от анализа при стратифициране на участниците според ИТМ на група с нормално тегло и група с наднормено тегло/затлъстяване. Нивата на Metrnl са сигнификантно по-високи сред жените с наднормено тегло/затлъстяване спрямо тези с нормално тегло както сред всички участници, така и в пациентската група. Подобни данни се докладват от AlKhaifi et al., които установяват по-високи серумни нива на Metrnl сред участниците със затлъстяване. Допълнително те установяват сигнификантна разлика в нивата на адипокина при пациенти със затлъстяване и захарен диабет тип 2 спрямо незатлъстелите диабетици. В контролната група обаче значима разлика между участниците със и без затлъстяване не се установява. В нашия анализ сред здравата група също не установяваме разлика в нивата на Metrnl между жени с нормално тегло и жени с наднормено тегло/затлъстяване.

Интересно е, че резултатите с Metrnl се доближават до тези, които получаваме в изследването на IL-18 в групите стратифицирани по ИТМ. Единствената разлика, която наблюдаваме е, че в здравата група разлика в нивата на адипокина не се установява между жените с нормално тегло и тези с наднормено тегло/затлъстяване. Въз основа на тези данни можем да предположим, че нивата на Metrnl при СПЯ зависят в известна степен от телесното тегло, като нашият анализ показва, че те са по-високи при жените

с наднормено тегло или затлъстяването, но вероятно други фактори повлияват нивата му в по-значима степен.

Резултати от предклинични проучвания на ефектите на Metrn1 върху мастната тъкан при мишки показват, че експресията му от адипоцити може да увеличи чувствителността към инсулин чрез стимулиране на peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR $\gamma$ ) рецепторите. От друга страна, свръхекспресията на Metrn1 има обратните ефекти - намалява липогенезата и инхибира експресията на PPAR $\gamma$  в човешките адипоцити, с което е възможно да доведе до хиперинсулинемия и инсулинова резистентност. Всъщност резултатите на Löffler et al. в изследване при деца опровергават наблюдаваната при мишки асоциация между Metrn1 и повишената термогенеза и покафеняването на мастната тъкан. В своя обширен анализ изследователите установяват, че адипокинът не се асоциира с експресията на гени свързани с покафеняването на мастната тъкан и допълнително установяват, че Metrn1 инхибира адипоцитната диференциация, увеличава хипертрофията на адипоцитите и вторично води до хиперинсулинемия. На практика тези резултати опровергават представените по-рано анти-инфламаторни и анти-метаболитни ефекти на Metrn1, като свързват установената му свръхекспресия в адипоцити при деца със затлъстяване с последващите клинични наблюдения на ИТМ-независимо асоциирана хиперинсулинемия и възпаление в мастната тъкан при хора.

В светлината на тези резултати може да заключим, че нашето изследване наблюдава подобна клинична връзка между повишените нива на Metrn1, висцералното затлъстяване, инсулиновата резистентност, хиперинсулинемията и провъзпалителния фактор (IL-18). В подкрепа на това са първо данните ни от анализите на адипокина в подгрупите, стратифицирани според WHtR и според наличието или липсата на ИР. И в двата анализа нивата на Metrn1 остават сигнификантно по-високи сред жените със СПЯ и висцерален тип затлъстяване спрямо тези с гиноидният тип, както и сред тези от тях с ИР в сравнение с пациентите без ИР.

В корелационния анализ се потвърждава връзката между висцералния тип затлъстяване и влошения метаболитен профил с повишените нива на Metrn1. Наблюдава се позитивна корелация с ИТМ и повечето от антропометричните показатели в групата на СПЯ, както и с нивата на кръвната захар и инсулина на гладно, и с НОМА-IR съответно. Интересно е също, че нивата на Metrn1 корелират позитивно с IL-18, който е доказан

проинфламаторен биомаркер. Сигнификантна негативна корелация се наблюдава единствено със SHBG, което е очаквана асоциация. Това се дължи от една страна поради добре известната неблагоприятна връзка между SHBG и ИР, а от друга – поради негативната асоциацията с висцералния тип затлъстяване, документирана и в нашите анализи.

В множествения регресионен анализ се установи, че възрастта, ИТМ и НОМА-IR обясняват едва 33% от вариациите в Metrn1, но от тях само НОМА-IR допринася за статистическата значимост на модела.

Въпреки че Zhang et al. докладват значително повишени нива на адипокина зонулин сред жени със СПЯ в сравнение с контролите и демонстрират силна корелация с инсулиновата резистентност, затлъстяването, дислипидемията и тежестта на менструалните нарушения при СПЯ, спекулирайки че нарушеният пермеабилитет на червата може да играе роля в патофизиологията на СПЯ, ние не установяваме подобни резултати. Изследванията със зонулин не показват нито разлика в нивата му между двете групи – здрави и пациенти със СПЯ, нито значими корелации от допълнителните анализи. Въз основа на получените данни и подобно на резултатите на Cetin et al., можем да заключим, че зонулин не е надежден диагностичен маркер при жени със СПЯ.

В заключение може да обобщим, че Metrn1 и зонулин не могат да бъдат диагностични маркери на СПЯ. Въпреки това нашият анализ установява ясна връзка между повишените нива на Metrn1 и няколко индекса за генерализирано и висцерално затлъстяване, инсулинова резистентност и проинфламаторния маркер – IL-18. Взети заедно тези резултати предполагат, че повишените нива на Metrn1 се асоциират повече с проинфламаторни и метаболитни нарушения при СПЯ. Допълнителни проучвания с адипокина са необходими сред жени със синдрома, за да се оценят комплексно неговите метаболитни ефекти.

### 5.8.3. Миокини

Участието на миокините в патогенезата на СПЯ обаче остава все още слабо проучена област. Мионектинът е може би вторият по честота изследван миокин, хомоложен по структура на адипонектина, който се експресира и секретира предимно от мускулните тъкани, а плазмените му нива подлежат на метаболитен контрол. В областта на СПЯ, на този етап, в литературата се намират само три проучвания, изследващи нивата на миокина сред жени със синдрома и данните от тях са също противоречиви. В две от проучванията

нивата на мионектина са били значително по-ниски при пациенти със СПЯ в сравнение със здрави контроли, докато в третото нивата на миокина са били значимо по-високи сред жените със синдрома спрямо здрави.

В нашия анализ мионектин показва тенденция към по-ниски серумни нива в пациентската група спрямо контролите, без да се достига статистически значима разлика. Въпреки че в част от предходните проучвания се наблюдава негативна корелация между мионектин и ИТМ, инсулиновата резистентност, триглицеридите и андрогените (FAI, общ тестостерон) и позитивна връзка със SHBG и HDL-C, ние не установяваме наличие на значима корелация с нито един метаболитен, антропометричен или хормонален показател. Наблюдаваната единствена позитивна корелация с малко проучения адипокин зонулин не би могла на този етап да бъде интерпретирана. Зонулин е наскоро открит адипокин, аналог на произведения от *Vibrio cholera* - *Zonula occludens* токсин, и участва в регулацията на пропускливостта на червата. В литературата резултатите с него при СПЯ са също противоречиви, докато в нашето проучване не се откри разлика в нивата му между двете групи, както и някаква връзка с изследваните други параметри. Необходими са още изследвания сред по-голям брой участници, за да може да се направи по-пълен и точен анализ на взаимовръзките между мастна тъкан и скелетна мускулатура и съответно адипокини-миокини в патогенезата на СПЯ.

Доколкото ни е известно нашето проучване изследва за пръв път серумните нива на IL-15 при пациенти със СПЯ в контекста на метаболитните нарушения. Анализът ни установява, че пациентите със СПЯ имат значимо по-ниски серумни нива на IL-15 спрямо здравите контроли. Съгласно ROC анализа серумни нива на IL-15 над 23,5 pg/mL би могло да диференцират здрави от пациенти със СПЯ с чувствителност и специфичност 62-63%.

Като част от семейството на миокините IL-15 се експресира силно в скелетните мускули, но се произвежда също и от много други клетки и тъкани в тялото. Секретираният от скелетните мускули IL-15 повлиява процесите в мастната тъкан, където стимулира редукцията на мастна маса и тегло, потиска адипогенезата и така намалява нивата триглицеридите и VLDL-холестерола в кръвта, главно чрез UCP и PPAR- $\delta$  сигнални пътища. Всички тези ефекти са наблюдавани при опити с животни третирани с рекомбинантен IL-15 при липса на промяна в калорийния прием. Допълнително е установено, че IL-15 има роля в метаболизма на липидите в мастната тъкан, включващ инхибиране

на липопротеин-липазната активност, усвояването на липиди и липогенезата, и също така роля в насърчаването на липолизата, окислението на свободните мастни киселини и термогенезата. Очевидно IL-15 функционира като един антиобезигенен фактор и по-конкретно ефектите му са насочени към висцералната мастна тъкан.

Резултати от изследвания при хора сочат, че плазмените нива на IL-15 са значително намалени при хора със затлъстяване и отрицателно са корелирали с мастната маса. За разлика от тях ние не установяваме значима връзка между нивата на IL-15 и ИТМ, както и с другите антропометрични параметри. Нещо повече при разделяне на пациентката група според ИТМ на подгрупи с нормално тегло и наднормено тегло/затлъстяване не се установи значима разлика в нивата на IL-15. Все пак при разделянето на СПЯ групата според WHR на подгрупи с нормално WHR ( $< 0,85$ ) и повишено WHR ( $\geq 0,85$ ) анализът показва тенденция към по-ниски серумни нива на миокина сред жените с повишено съотношение талия/ханш спрямо тези с нормално отношение.

В корелационния анализ допълнително се наблюдава негативна корелация между нивата на IL-15 и WHR. Взети заедно тези данни ни карат да предполагаме, че висцералният тип затлъстяване при СПЯ се асоциира с понижени серумни нива на IL-15. Все пак вземайки предвид фактът, че нашите две групи – пациенти със синдрома и здрави контроли, не се различават сигнификатно по показателя WHR, можем да предполагаме, че е възможно и други фактори да влияят върху понижените серумни нива на миокина в пациентската група.

Изследвания при плъхове показват, че експресията на IL-15 се повишава след 12 седмична прогресивна тренировка, което се е съпътствало и с подобрене на глюкозната толерантност в мускулите. От нашите анализи до момента знаем, че жените със СПЯ имат нарушено качество на живот. От друга страна физическата активност доказано се свързва с повишена мотивация, добро настроение и подобрене в качеството на живот, което ни кара да предполагаме, че може би нашите пациенти не водят редовно физическа активност. Разбира се това са само спекулации, защото в нашия анализ физическата активност на участниците не бе подробно снета и анализирана като част от анамнезата. Бъдещи изследвания на миокина сред здрави жени и пациенти със СПЯ, съпоставени според нивото на физическата

им активност може да даде отговор на въпроса - дали серумните нива на IL-15 се влияят от спортната активност при хора.

Благоприятната роля на миокина в превенцията на затлъстяването включва също ефектите му върху глюкозната хомеостаза и инсулиновата резистентност. В скелетните мускули и черния дроб IL-15 може да подобри инсулиновата чувствителност, благодарение на редуциране нивата на кръвната захар на гладно и намаляване на инсулиновите нива. Тези ефекти са съпроводени с покачване 1,8 пъти на mRNA експресията на глюкозен транспортер 4 (GLUT4) в мускулите и намаляване на експресията в черния дроб на mRNA на Pdk4 (ключов ген, участващ в инхибицията на глюкозната оксидация), фосфоенолпируват карбоксикиназата и глюкозо-6-фосфат, ген ангажиран в чернодробната глюконеогенеза, при третиранни мишки с хидродинамична доставка на плазмид, съдържащ IL-15 ген. Подобни ефекти са наблюдавани също при IL-15/sIL-15 R $\alpha$  – третиранни мишки със затлъстяване, докато в друго изследване отново сред мишки със затлъстяване, третиранни с Ad-експрециращ вектор на човешки IL-15, се наблюдава значително подобрене на глюкозните нива и инсулиновата резистентност, но при липса на повлияване на инсулинемията на гладно и инсулиновата секреция от остро прилаганата IL-15-терапия.

Обобщено тези резултати от изследвания при опитни животни показват, че IL-15 има благоприятни ефекти върху глюкозния метаболизъм, като подобрява гликемията и инсулинова резистентност, благодарение на ефектите си свързани с увеличаване на глюкозно усвояване в мускулите и намаляване на глюкозната чернодробна продукция.

В подкрепа на тези благоприятни ефекти върху глюкозната хомеостаза говорят и резултатите от нашия корелационен анализ, в който наблюдаваме негативна връзка между IL-15 и нивата на кръвната захар и инсулина на първия и втория час в хода на ОГТТ. Интересно обаче е, че нивата на гликемията и инсулина на гладно, и НОМА-IR съответно не показват значима връзка с тези на миокина. Очевидно понижените серумни IL-15 нива се асоциират предимно с постпрандиална хипергликемия и хиперинсулинемия и значително по-малко с нивата им на гладно.

Връзката между IL-15 и чревния микробиом е вече установена, като има данни, че суплементация с IL-15 води до намаляване на липидната абсорция сред плъхове, а абсорбцията на макронутриети се влияе от чревната бактериална композиция. В този смисъл възниква въпроса: възможно ли е

гастроинтестинални фактори да влияят допълнително на нивата на миокина и затова да не се установява връзка между инсулина и глюкозата на гладно в нашия анализ, а такава да е налице в хода на ОГТТ след поглъщане на 75 г глюкоза? Възможен отговор на този въпрос вероятно би се получил след проследяване на нивата на IL-15 заедно с тези на инсулина и глюкозата в хода на ОГТТ. Необходими са още изследвания сред жени със СПЯ, които да развият или отхвърлят нашите предположения.

От изложеното до тук можем да направим извода, че IL-15 повлиява глюкозната хомеостаза, като понижените му нива се асоциират с хипергликемия, хиперинсулинемия, инсулинова резистентност и висцерален тип затлъстяване. Вероятно всички тези фактори влияят върху по-ниските нива на миокина сред жените със СПЯ спрямо контролите в нашия анализ, но все пак не се изключва допълнително участието и на други фактори като намалената физическа активност или чревния микробиом например да влияят допълнително върху тях.

В края на нашия анализ на миокините ще се спрем на резултатите с третия изследван миокин brain-derived neurotrophic factor (BDNF), който е член от семейството на невротрофичните фактори, синтезира се от скелетните мускули и проявява благоприятни ефекти върху въглехидратната и мастната обмяна, но също така се счита, че играе важна роля и във фоликулогенезата и овогенезата, като физиологичен регулатор на нормалното фоликуларно зреене. Нашите резултати не показват сигнификантна разлика в нивата на BDNF между здрави и пациенти със СПЯ, въпреки че все пак има тенденция нивата да са по-високи сред жените със синдрома. За разлика от нашите резултати в проучване, проведено сред жени със СПЯ и здрави контроли, пациентите със СПЯ са имали сигнификантно по-високи нива на невротрофина спрямо здравите контроли. Хипотезата на авторите е, че повишението им е свързано с повишеното съотношение ЛХ/ФСХ при жените със СПЯ, като вероятно високите нива на ЛХ повишават и секрецията на BDNF от гранулозните клетки. Подобна връзка в нашия анализ не се установява и ние не можем да предполагаме подобна зависимост. В заключение на данните от нашите изследвания - серумните нива на BDNF не могат да бъдат диагностичен маркер за СПЯ.

Ограниченията на настоящото проучване са малкият брой на изследваните жени и кроссекционният дизайн на изследването. Нашето проучване е по-скоро изследователско и има за цел да постави основите за по-

мащабни проспективни проучвания, включително и анализи, които ще ни позволят да оценим причинно-следствената връзка между IL-15, диагнозата СПЯ и наблюдаваните метаболитни нарушения при синдрома.

В заключение на всички анализи с миокини, серумните нива на мионектин и BDNF остават сходни между пациенти със СПЯ и здрави контроли и не показват значима връзка с метаболитните и хормонални промени сред жените със синдрома. Серумните нива IL-15 са значимо по-ниски сред пациентите със СПЯ в сравнение със здравите. Нивата на миокина показват негативна връзка с хипергликемията, хиперинсулинемията, инсулиновата резистентност и висцералния тип затлъстяване. IL-15 е възможен диагностичен маркер при СПЯ. Необходимо е провеждането на повече изследвания сред жени със синдрома, за да се постигне по-комплексна оценка на причинно-следствената връзка между миокина и СПЯ.

## 6. ИЗВОДИ

1. Извършването на комплексна клинична оценка посредством достъпни и неинвазивни диагностични инструменти като антропометричните показатели позволява диференцирането на високорискови от нискорискови за метаболитни нарушения пациенти.

2. Пациентите със СПЯ страдат от по-лошо качество на живот спрямо здравите жени, влияние върху което в най-голяма степен оказват нарушената емоционалност, повишеното окосмяване, акнето и репродуктивните нарушения. Съвкупността от тези фактори влияе негативно върху сексуалната им функция.

3. Пациентите със СПЯ се характеризират с по-голяма дебелина на феморалния хрущял на колянната става. Хиперандрогенизмът е възможно да играе протективна роля върху ставния хрущял сред жени със синдрома.

4. Серумните нива на общ PSA позитивно отразяват степента на хирзутизъм сред жените със синдрома и показват по-високи нива в групата с клиничен хиперандрогенизъм, но не и с биохимичен.

5. Серумните нива на ендоканабиноида АЕА показват връзка с метаболитните прояви при СПЯ, докато 2-AG – предимно с неметаболитните. Нарушената секреция или активност на 2-AG е възможно да повлиява нормалните фоликуларни процеси в яйчника.

6. Повишените серумни нива на IL-18 и Metrnl се асоциират с наличието на генерализирано и висцерално затлъстяване и инсулинова резистентност при пациентите със СПЯ. Възрастта, обиколката на талията и инсулинемията на гладно определят в най-голяма степен нивата на IL-18, докато НОМА-IR – на Metrnl.

7. Понижените серумни нива на миокина IL-15 при СПЯ се асоциират с хипергликемия, хиперинсулинемия, инсулинова резистентност и висцерален тип затлъстяване.

## **7. ПРИНОСИ**

### **Приоритетни научно-теоретични с международна значимост:**

1. Оценена е връзката между хиперандрогенизъм и (пре)остеоартроза на коляното при млади жени със СПЯ чрез изследване на ранни симптоми на гонартроза, ултразвукови показатели и надежден биомаркер за хрущялен търновър.

2. Изследвани са серумни нива на ендоканабиноидите АЕА и 2-AG при пациенти със СПЯ от кавказка раса. Анализирани са сред класическите фенотипове на СПЯ и в светлината на свързаните със синдрома олиго-ановулация и поликистозна морфология на яйчниците.

3. Проведена е оценка на серумните нива на IL-18 при пациенти със СПЯ, стратифицирани съгласно клинично-значими и ефективни параметри за диференциране на ниско- от високорискови профили за метаболитни и сърдечно-съдови нарушения.

4. Изследвани са серумните нива на IL-15 сред пациенти със СПЯ в контекста на метаболитните нарушения на синдрома.

### **Приоритетно научно-теоретични с национална значимост:**

1. Извърши се оценка на качеството на живот посредством модифицираната версия на специализирания въпросник за оценка на качество на живот сред жени със СПЯ - Modified Polycystic Ovary Syndrome health-related quality-of-life Questionnaire (MPCOS-Q).

2. Проведе се анализ на нивата на общ и свободен PSA в контекста на хиперандрогенизма при СПЯ.

### **С потвърдителен характер:**

1. Изследваните антропометрични показатели позволяват лесното диференциране на пациентите със СПЯ на високорискови и нискорискови по отношение на метаболитните нарушения.

2. Потвърди се, че пациентите със СПЯ страдат от по-лошо качество на живот в сравнение със здравите жени.

3. Потвърди се връзката на SHBG с инсулиновата резистентност и затлъстяването при СПЯ.

### **С приложен характер:**

1. Оцени се качеството на живот и сексуалната функция в отделните фенотипове на СПЯ.

2. Проведе се изследване на серумните нива на ендоканабиноидите АЕА и 2-AG посредством широко използван и достъпен метод за анализ ELISA.

3. Оцени се диагностичния потенциал на IL-15 за разграничаване на пациенти със СПЯ от здрави жени.

## 8. ПУБЛИКАЦИИ И НАУЧНИ СЪОБЩЕНИЯ

Статии в международни списания, индексирани в WoS (Общ IF = 14,22) - 4:

1. **Kabakchieva P**, Gateva A, Hristova J, Georgiev T, Kamenov Z. Analysis of 2-Arachidonoylglycerol Levels in Polycystic Ovary Syndrome in the Context of Hormonal and Metabolic Alterations and Across the Classical Phenotypes. *Cannabis Cannabinoid Res.* 2022. doi: 10.1089/can.2021.0183. (**Q1, IF = 4,786**)

2. **Kabakchieva P**, Georgiev T, Gateva A, Hristova J, Kamenov Z. Polycystic ovary syndrome and (pre)osteoarthritis: assessing the link between hyperandrogenism in young women and cartilage oligomeric matrix protein as a marker of cartilage breakdown. *Clin Rheumatol.* 2021; 40(10): 4217-4223. doi: 10.1007/s10067-021-05753-0. (**Q2, IF = 3,65**).

3. **Kabakchieva P**, Gateva A, Velikova T, Georgiev T, Kamenov Z. Anandamide is associated with waist-to-hip ratio but not with body mass index in women with polycystic ovary syndrome. *Minerva Endocrinol (Torino).* 2022. doi: 10.23736/S2724-6507.21.03336-4. (**Q3, IF = 3,757**)

4. **Kabakchieva P**, Gateva A, Velikova T, Georgiev T, Yamanishi K, Okamura H, Kamenov Z. Elevated levels of interleukin-18 are associated with several indices of general and visceral adiposity and insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome. *Arch Endocrinol Metab.* 2022; 66(1): 3-11. doi: 10.20945/2359-3997000000442. (**Q3, IF = 2,03**)

### Статии в български списания - 2:

1. **Кабакчиева П**, Каменов З. Синдромът на поликистозните яйчници – най-честата ендокринна патология при жените в репродуктивна възраст. *GP News.* 2018; 19(8): 5-11.

2. **Кабакчиева П**, Гатева А, Каменов З. Ендоканабиноидна система – ролята ѝ в метаболизма и фертилитета. *Ендокринология.* 2020; 25(2): 73-82.

### Участие в международни научни конгреси с постер/резюме – 3:

1. **Kabakchieva P**, Georgiev T, Gateva A, Kamenov Z. Assessment of knee-related symptoms, activities, and quality of life in patients with polycystic ovary syndrome. Annual European Congress of Rheumatology EULAR, 2-5 June, 2021. *Ann Rheum Dis.* 2021; Abstract book: Ab0591, pp:1332-1333. (**Q1, IF = 16.1**).

2. **Kabakchieva P**, Gateva A, Velikova T, Georgiev T, Kamenov Z. Serum levels of endocannabinoids in patients with polycystic ovary syndrome and comparison with healthy controls. 19<sup>th</sup> International Congress of Endocrinology, 24-28 February, 2021; Abstract/poster: ICE2021-1618.

3. **Kabakchieva P**, Gateva A, Velikova T, Georgiev T, Yamanishi K, Okamura H, Kamenov Z. Interleukin-18 linked to anthropometric, biochemical and metabolic markers of visceral adiposity and insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome. 18th Annual Meeting of Androgen Excess & PCOS Society, November 7, 2020; Abstract book: pp: 50.

#### **Участия в научни проекти – 4:**

1. **Грант 2019** на МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ-СОФИЯ - Проект с вх. № 8302/21.11.2018 г (Договор № Д-102/23.04.2019 г.) на тема „Роля на ендоканабиноидната система в метаболитните и хормоналните нарушения при синдром на поликистозните яйчници“ с ръководител д-р Антоанета Трифонова Гатева, д.м. и базова организация УМБАЛ “Александровска“ ЕАД.

2. **Млад изследовател 2020** на МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ-СОФИЯ - Проект с вх. № 8378/20.11.2019 г. (Договор № Д - 85/24.06.2020 г.) на тема „Хиперандрогенизъм при синдром на поликистозни яйчници и изследване на връзката му с PSA и серумни маркери за ранна хрущялна загуба“ – с изпълнител (докторант) д-р Пламена Петрова Кабакчиева-Георгиева и научен ръководител проф. д-р Здравко Асенов Каменов, д.м.н. и базова организация УМБАЛ “Александровска“ ЕАД.

3. **Грант 2020** на МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ-СОФИЯ – Проект с вх. № 8379/20.11.2019 г. (Договор № Д-130/24.06.2020 г.) на тема „Маркери за овариална дисфункция при синдром на поликистозни яйчници“ с ръководител доц. д-р Антоанета Трифонова Гатева, д.м. и базова организация УМБАЛ “Александровска“ ЕАД.

4. **Грант 2021** на МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ-СОФИЯ - Проект с вх. № 7944/19.11.2019 г. (Договор № Д-113/04.06.2021 г.) на тема „Роля на висцералната мастна тъкан и скелетната мускулатура в патогенезата на синдрома на поликистозни яйчници“ с ръководител доц. д-р Антоанета Трифонова Гатева, д.м. и базова организация УМБАЛ “Александровска“ ЕАД.