

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
FACULTATEA DE MEDICINĂ



REZUMAT
TEZĂ DE DOCTORAT

**O nouă abordare terapeutică a sindromului ovarelor
micropolichistice în funcție de fenotip în cadrul
reproducerii umane asistate**

Conducător de doctorat:

Acad. Prof. Dr. BOGDAN MARINESCU

Student-doctorand

Dr. LUCIA ELENA LUCHIAN

BUCUREȘTI

2017

Cuvânt înainte

Am reușit să concep și să duc la final această lucrare cu ajutorul mai multor persoane cărora, cu această ocazie doresc să le mulțumesc.

Încep prin ai mulțumi în primul rând celuiia fără de care această lucrare nu ar fi fost posibilă și anume Acad. Prof. Dr. Bogdan Marinescu, care m-a îndrumat și inițiat în tratamentul infertilității cuplului încă din timpul rezidențiatului, care m-a sprijinit și m-a învățat în primul rând să fiu om. Îi port astfel recunoștință pentru tot sprijinul acordat în dezvoltarea mea profesională.

Mulțumesc de asemenea pentru susținerea mea în continuarea activării în domeniul infertilității Dr. Andreea Carp Veliscu și Dr. Cezara Bucur.

Mulțumesc familiei mele, părinților, soțului care au fost alături de mine, sprijinindu-mă în întreaga mea carieră.

Mulțumesc colegilor cu care am colaborat în toți acești ani.

În final, îmi doresc și sper ca această teză să pună bazele individualizării terapiilor și optimizării răspunsului ovarian în cadrul procedurilor de reproducere umană asistată pentru pacientele cu sindromul ovarelor polichistice.

*Lucia Luchian
București 2017*

Cuprinsul Tezei de doctorat

PARTEA GENERALĂ.....	4
I. Noțiuni generale privind fiziologia ciclului menstrual.....	5
II. Definirea și patogenia sindromului ovarelor micropolichistice	9
III. Diagnosticul diferențial al sindromului ovarelor polichistice și implicațiile sale pe categorii de vârstă.....	24
IV. Infertilitatea feminină de cauză ovulatorie: definiții și diagnostic	27
V. Principii ale stimulării ovariene controlate	30
PARTEA SPECIALĂ	35
VI. Studiu clinic: încadrarea în 4 fenotipuri a pacientelor cu sindromul ovarelor micropolichistice și caracteristicile fiecărui fenotip.....	36
VII. Studiu clinic: protocol și outcome-ul pacientelor cu ovar polichistic în cadrul procedurilor de fertilizare in vitro în funcție de fenotip.....	57
VIII. Studiu clinic: inducerea monoovulației la pacientele cu ovar polichistic în funcție de fenotip.....	90
CONCLUZII	96
BIBLIOGRAFIE	99
LISTA ABREVIERI	109
LUCRĂRI ELABORATE, PUBLIFICATE ÎN LEGATURĂ CU SUBIECTUL TEZEI DE DOCTORAT	111

Introducere

Sindromul ovarelor micropolichistice reprezintă o afecțiune multifactorială, ce afectează femeia în perioada reproductivă și prezintă un impact important asupra sănătății și stării de bine a acesteia. Poate fi descris simplu drept o afecțiune frustrantă pentru femei ce necesită o abordare medicală complexă. De asemenea este cea mai frecventă afecțiune endocrină în perioada reproductivă a femeii.

Datorită diversității mari de fenotipuri și a lipsei unui consens asupra criteriilor de diagnostic, incidența acestuia variază între 4-18% în funcție de criteriile utilizate de către medici, frecvent sindromul ovarelor micropolichistice fiind subdiagnosticat, dar posibil și supradiagnosticat.

Importanța temei

Afecțiune complexă cu impact economic major asupra bugetelor de sănătate. Sistemul de sănătate american cheltuiește anual aproximativ 4 miliarde de dolari cu diagnosticul și tratamentul SOMPC. Un aspect important este reprezentat de infertilitatea secundară acestui sindrom, datorată anovulației. Pacientele se confruntă frecvent cu 2 probleme severe, una legată de calitatea vieții, datorită modificărilor induse de hiperandrogenism (hirsutism, acnee, tulburări menstruale), iar cea de-a doua legată de infertilitatea secundară oligo-anovulației.

Poate cea mai cunoscută și utilizată clasificare este cea propusă de către ESHRE/ASRM din 2003 Rotterdam, Olanda. Cunoscute drept criteriile Rotterdam de diagnostic pentru SOMPC acestea au evidențiat o prevalență crescută a pacienților care se confruntă cu această problemă de sănătate.(Tabel 1).

Două din următoarele trei criterii:

Oligo/Anovulație

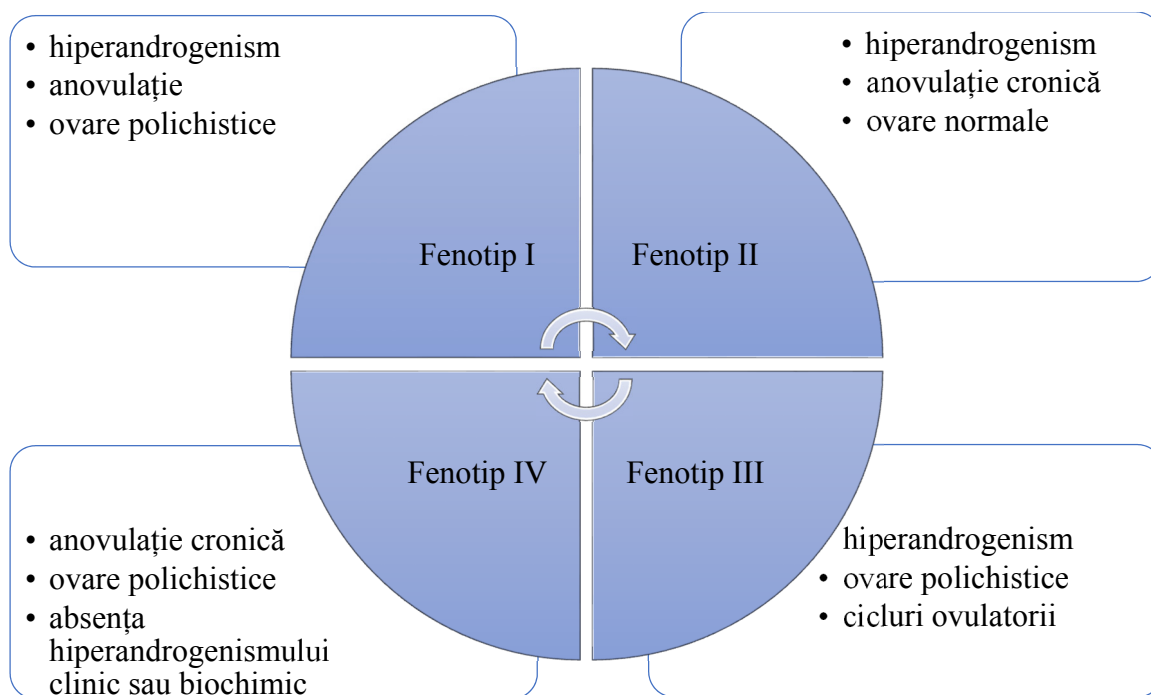
Hiperandrogenism

- **Clinic (hirsutism, alopecie caracteristică sexului masculin)**
- **Biochimic (testosteron crescut)**

Criterii ecografice

Tabel 1. Criterii Rotterdam de diagnostic SOMPC

Dacă inițial se definea un singur fenotip al acestui sindrom, caracterizat prin anovulație cronică și hiperandrogenism, în prezent sunt propuse 4 fenotipuri având la bază criteriile Rotterdam. Acestea sunt propuse cu scopul de a îmbunătăți răspunsul la tratament, mai ales în cazul pacientelor infertile, (Schema 1).



Schema 1. Cele 4 fenotipuri SOMPC – criterii încadrare

Infertilitatea reprezintă una dintre principalele cauze pentru care pacientele cu SOMPC se prezintă la medic. Sterilitatea nu este doar o problemă a femeii sau cuplului, ci una de importanță socio-economică, prezentând un impact important pentru serviciile medicale. SOMPC – cauză importantă de infertilitate anovulatorie (Tabel 2).

Tabelul 2. Clasificarea anovulației

Clasificare OMS(WHO)	Profil hormonal	Organ implicat
Clasa 1	FSH ↓, estradiol ↓	Hipotalamus- hipofiză
Clasa 2	FSH N, estradiol N	Hipofiză- ovar
Clasa 3	FSH ↑, estradiol ↓	Ovar

I. Studiu clinic: încadrarea în 4 fenotipuri a pacientelor cu sindromul ovarelor micropolichistice și caracteristicile fiecărui fenotip

Scopul tezei a fost diagnosticarea corectă a pacientelor cu ovare micropolichistice, încadrarea lor în fenotipuri și tratamentul individualizat în funcție de fenotipul aparținător. Diagnosticarea acestor paciente doar după criteriile Rotterdam fiind insuficientă pentru un tratament corespunzător. Patologia este una des întâlnită, mai ales în cadrul persoanelor tinere, acestea adresându-se medicului frecvent datorită tulburărilor de ciclu menstrual, datorită formelor de acnee sau datorită prezenței unei sterilități cu durată peste 1 an.

Material și metodă

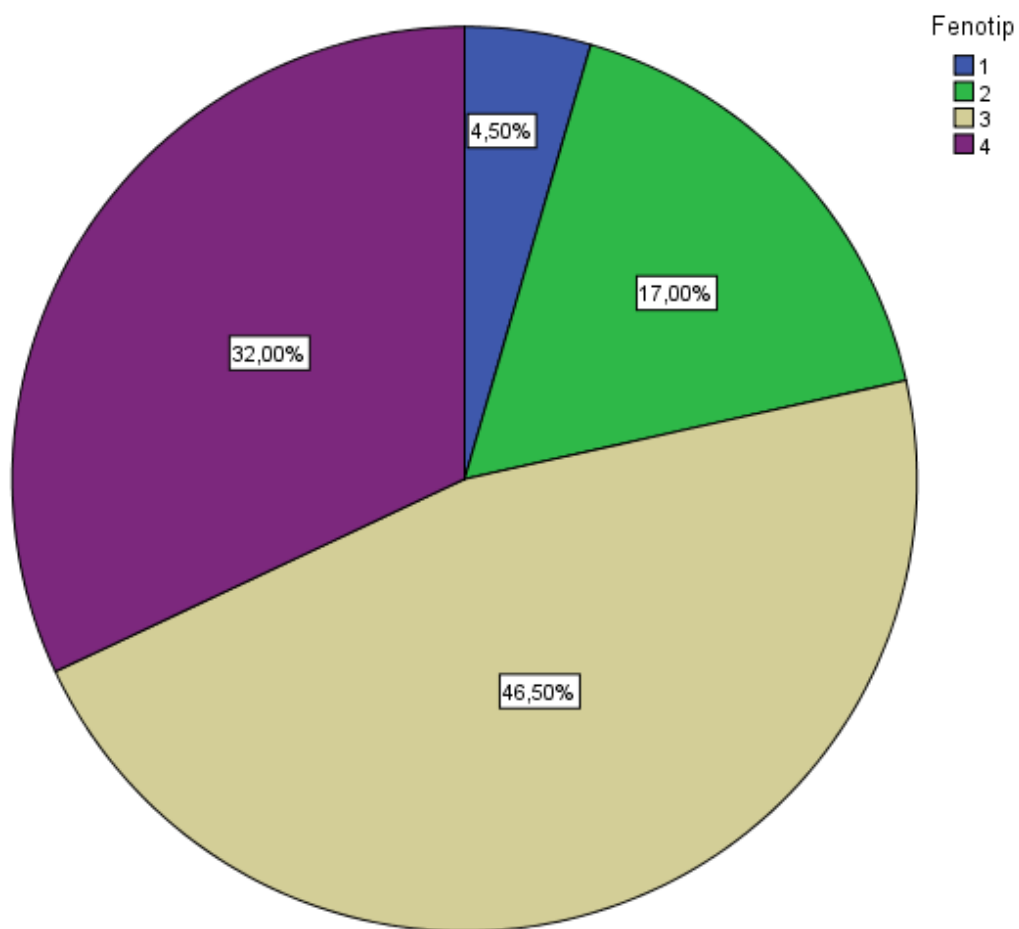
Plecând de la datele obținute din literatură și datorită faptului că încă nu există un consens exact de diagnostic și tratament între ginecologi și endocrinologi, am realizat un studiu prospectiv în care am urmărit pacientele cu ovare polichistice care s-au adresat serviciului de reproducere umană asistată și care au apelat la o procedură de fertilizare *in vitro*, în clinica privată Columna Medical Center. Au fost evaluate paciente în perioada 2013-2017. Numărul pacientelor cu ovare polichistice care s-au adresat centrului de reproducere umană asistată fiind semnificativ mai mic în urmă, în 2013, față de perioada 2015-2017. Criteriile de includere în studiu au fost: paciente cu vârsta între 25-40 ani, diagnosticate cu ovare micropolichistice după criteriile Rotterdam (minim două din trei caracteristici: oligo/anovulație, criterii ecografice, hiperandrogenism clinic sau biochimic).

Criteriile de excludere din studiu au fost: patologie ovariană asociată (chist endometriozic, dermoid), endometrioză pelvină de diverse grade, paciente care nu au avut toate investigațiile necesare sau la care embrionii nu au fost dezvoltați până la stadiul de blastocist. Astfel au fost evaluate 200 de paciente care au apelat la procedura de fertilizare *in vitro*.

Datele au fost prelucrate statistic în programul SPSS, varianta 13. În urma analizei statistice am obținut următoarele date:

Tabel 3. Date obținute în urma analizei statistice

Fenotip					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1	9	4,5	4,5	4,5
	2	34	16,8	17,0	21,5
	3	93	46,0	46,5	68,0
	4	64	31,7	32,0	100,0
	Total	200	99,0	100,0	
Missing	System	2	1,0		
Total		202	100,0		



Schema 2. Prevalența fenotipurilor

Se observă că pacientele ce aparțin fenotipului 1 sunt cele mai rare cu un procent de 4,5%, acestea având și forma cea mai severă întrunind toate cele trei criterii.

Fenotipul 2 este cu o prevalență de 17%. Fenotipul 3 se pare că este cel mai răspândit, cel care cuprinde pacientele cu hiperandrogenism, hirsutim și aspectul polichistic ecografic, este posibilă explicația pentru care multe dintre paciente sunt diagnosticate strict ecografic, acestea prezentând cicluri menstruale regulate între 28-35 zile și totodată ovulatorii.

Fenotipul 4 se găsește și el într-o proporție destul de mare de 32 %, fiind forma fără hiperandrogenism clinic sau biochimic (Schema 2).

Mai departe am vrut sa verific și să observ caracteristicile fiecărui grup de paciente. Variabilele au fost: vârsta, indicele de masă corporala (IMC), FSH-ul bazal, Lh-ul bazal, raportul LH/FSH bazal, valorile DHEAS și AMH (Tabel 4). Nu am luat în vedere și valorile testosteronului pentru că a fost unul dintre criteriile de includere pentru hiperandrogenismul biochimic și pentru că nu toate pacientele au prezentat hiperandrogenism biochimic, majoritatea prezentând manifestări clinice. Prin calcularea DHEAS-ului am vrut sa verific dacă într-adevăr determinarea acestuia se corelează semnificativ cu hiperandrogenismul.

Tabel 4. Caracteristicile fiecărui fenotip

	1	2	3	4	
	Mean± Std. Deviation	Mean± Std. Deviation	Mean± Std. Deviation	Mean± Std. Deviation	
Vârsta	30,00±1,871	32,24±3,276	31,48±3,64	31,08±3,465	NS
IMC (kg/m ²)	22,8167±3,74350	23,9553±4,07434	22,8138±3,65	21,6492±3,635	0,032
FSH	6,3700±,99751	5,5185±1,68816	5,7287±1,26	6,2723±1,502	0,028
LH	6,2400±2,19043	6,3321±2,51649	6,5872±3,89576	7,1337±2,76307	0,611
Rap LH/FSH	0,9567±0,25283	1,2412± 0,57538	2,2083± 0,54325	1,1977± 0,53072	0,750
DHEAS	302,89±54,068	283,65±40,171	282,14±77,82	229,41±48,978	0,008
AMH	15,2333 ± 7,91186	5,5603 ± 1,91917	5,1598 ±2,36550	6,2486 ± 3,37970	0,001

În ceea ce privește vârsta pacientelor incluse în studiu se pare că nu există diferențe semnificative între cele 4 grupuri, astfel că vârsta medie a pacientelor care s-au adresat clinicii a fost de 30 ± 5 ani. Observăm caracterul tânăr al acestor categorii de paciente. Valoarea FSH-ului bazal seric a fost corelat cu vârsta cu ajutorul unei curbe de specificitate și senzitivitate.

Indicele de masă corporală (IMC) l-am calculat prin raportul dintre valoarea greutatei și a înălțimii la pătrat. De obicei se știe că pacientele cu sindromul ovarelor polichistice sunt supraponderale. Acest lucru se consideră dacă IMC are valoarea peste 25. Deși au fost paciente care au avut IMC-ul peste 25, valoarea medie a acestuia pe grupuri a fost cuprinsă între $21,64 \pm 3,65$ și $23,95 \pm 4,07$. Observăm implicit o diferență semnificativ statistică între grupuri, valoarea p de 0,032 (pentru semnificație statistică se consideră p value mai mic de 0,05). Aceste valori caracterizând fenotipurile 4 și 2, tragem concluzia că pacientele din fenotipul 4 sunt de regulă normoponderale, pe când cele din fenotipul 2 pot fi atât normoponderale dar cu un IMC mai mare de 23 cât și supraponderale. Pacientele încadrate în fenotipurile 1 și 3 au fost normoponderale cu un IMC mediu de 22 ± 3 , ne semnificativ statistic față de celelalte grupuri.

În urma evaluării rezultatelor, am observat că DHEAS a fost semnificativ crescut pentru pacientele din fenotipul 1, cu o valoare medie de $302,89 \pm 54,068$ ug/dl. Observăm valori crescute ale acestei valori către limita superioară dar, doar în cazul a 2 paciente din acest fenotip a fost prezentă o valoare peste limita superioară a normalului, ceea ce ne arată că o valoare a acestuia către limita superioară a normalului, chiar și fără a o depăși ne îndreaptă către hiperandrogenism.

În cadrul celorlalte fenotipuri caracterizate prin hiperandrogenism, adică 2 și 3 valorile medii ale DHEAS au fost asemănătoare, de $283,65 \pm 40,171$ ug/dl pentru fenotipul 2 și $282,14 \pm 77,82$ ug/dl pentru fenotipul 3. Putem observa că într-adevăr în grupul pacientelor din fenotipul 4, necaracterizat de hiperandrogenism valoarea medie a DHEAS fiind cuprinsă între $229,41 \pm 48,978$ ug/dl este semnificativ statistic mai mică decât pentru fenotipul 1, p value fiind de 0,008. În ceea ce privește corelarea DHEAS cu indicele de masă corporală, în cadrul fenotipului 1, unde valoarea este cea mai mare, indicele de masă corporală este mediu. Comparând fenotipurile 1 și 2, există totuși o corelație care nu este semnificativă statistic între valoarea DHEAS și IMC, conformă cu literatura de specialitate, dar comparând și cu fenotipul 3, această corelație se anulează deoarece deși IMC-ul este asemănător cu cel din fenotipul 1, valoarea DHEAS este mai mică și este asemănătoare cu cea din fenotipul 2, unde IMC-ul este cel mai mare.

Calculând raportul LH/FSH observăm că nu la toate pacientele raportul este inversat sau 2/1. Acest lucru ne atrage atenția în ceea ce privește diagnosticul pacientelor, adică să nu luăm în calcul de rutină raportul inversat, și dacă acesta nu este să nu excludem pacientele din sindromul ovarelor polichistice.

În urma analizei statistice pe cele 4 fenotipuri a reieșit astfel: în toate cele 4 fenotipuri valoarea AMH respectă literatura de specialitate, fiind peste 3,4ng/dl. Se pare că valoarea cea mai mare este în cadrul fenotipului 1, cu o valoare medie de 15ng/dl. Posibil datorită cazurilor puține cuprinse în acest fenotip, rezultatul sa fie puțin exagerat, însă este semnificativ statistic crescut față de celelalte fenotipuri.

Concluzii

În urma acestui studiu am evaluat caracteristicile pacientelor cu ovar polichistic în funcție de fenotipul în care se încadrează. Frecvența fenotipurilor fiind diferită, cele mai rare fiind fenotipul 1 ce cuprinde toate cele 3 caracteristici Rotterdam, iar cele mai frecvente sunt pacientele din fenotipul 3, adică pacientele cu hiperandrogenism clinic sau biochimic, aspect ecografic sugestiv de ovar polichistic cu AFC peste 12 pe fiecare ovar dar cu cicluri menstruale regulate. Sunt pacientele cu care clinicienii se întâlnesc cel mai frecvent și care sunt practic cel mai ușor de diagnosticat. Paciente care pot scăpa nediate diagnosticate sunt cele din fenotipul 2, în care ovarele sunt normale din punct de vedere ecografic, cu un AFC mare, dar care nu ajunge la peste 12 foliculi pe fiecare ovar. De asemenea ele pot fi confundate cu pacientele cu rezervă ovariană normală. Fac referire la o posibilă sub sau supradiagnosticare a ovarelor polichistice în urma ultimului studiu efectuat de societatea americană care a dezvăluit că o parte dintre ginecologi și chiar endocrinologi nu cunosc toate criteriile de diagnostic pentru sindromul ovarelor polichistice, cu atât mai puțin încadrarea lor în fenotipuri.

Ulterior am observat caracterul tânăr al acestor grup de paciente. Vârsta medie fiind $31,08 \pm 3,465$ ani, nesemnificativă statistic între cele 4 grupuri.

Fenotipul 1 (4,5%) este caracterizat astfel prin paciente cu IMC cuprins în limite normale, dar spre limita superioară, cu menstruații neregulate, cicluri anovulatorii. În ceea ce privește profilul hormonal bazal, valoarea FSH-ului este în medie 6, iar cea a LH-ului este asemănătoare. Raportul calculat LH/FSH fiind subunitar. Rezerva ovariană apreciată seric prin valoarea AMH este semnificativ crescută față de celelalte loturi, având o valoare medie de

15 ng/dl, valoare pe care o propun ca și cut off pentru ovarele polichistice. Referitor la hiperandrogenism, în afară de cel clinic, dozarea DHEAS a avut o valoare medie la limita superioară a normalului sau depășind foarte puțin, prezentând corelații cu IMC-ul.

Fenotipul 2 (17%) cuprinde pacientele cu IMC-ul cel mai ridicat, sunt pacientele supraponderale, cu cicluri anovulatorii dar fără aspectul clasic ecografic al ovarelor. Sunt caracterizate de asemenea de valori mai mari ale LH-ului bazal, cu raportul LH/FSH în favoarea LH (valorile FSH fiind în limite normale între 5-6 mUI/ml). Deci simpla prezență a LH bazal mai mare ca cea a FSH bazal ne poate sugera prezența unuia dintre fenotipurile ovarelor polichistice. Valoarea determinată a AMH-ului este crescută față de persoanele cu rezervă ovariană considerată normală, având în medie valoarea 5 ng/dl. La acest fenotip hiperandrogenismul este mai mult prezent clinic, deoarece paraclinic, valoarea DHEAS este în limite normale, valoarea medie, depășind rar 320 ug/dl.

Fenotipul 3 (46,50%) cel mai frecvent este caracterizat de paciente cu IMC în limite normale dar spre limita superioară, fără a depăși sau foarte rar valoare 25. Sunt pacientele clasice cu aspectul ecografic și hiperandrogenism. Menstruațiile sunt regulate, 28-35 zile, ciclurile sunt ovulatorii. LH-ul bazal este cel puțin dublu față de FSH-ul bazal, iar AMH-ul este cuprins de obicei între 5-7 ng/dl. Hiperandrogenismul poate să fie atât clinic cât și biochimic, valorile DHEAS fiind normale, către limita superioară dar pot și depăși ne semnificativ valoarea de 350 ug/dl.

Fenotipul 4 (32%), cuprinde pacientele mai slabe cu ovare polichistice, fără hiperandrogenism clinic și nici paraclinic (valoarea DHEAS este către limita inferioară a normalului). Prezintă ovare polichistice ecografic și oligo- amenoree, cu valori ale AMH-ului ce pot fi cuprinse între 6 și 9 ng/dl și cu raport bazal inversat în favoarea LH. Valoarea raportului poate să nu ajungă la 2, dar este în medie peste 1,6. Observ și menționez de asemenea o valoare mai mare și a FSH bazal, 6-7,5 mUI/ml, ceea ce ne arată că deși raportul nu ajunge la 2, valoarea LH-ului bazal este destul de mare, între 11- 13 mUI/ml.

II. Studiu clinic: protocol și outcome-ul pacientelor cu ovar polichistic în cadrul procedurilor de FIV în funcție de fenotip

După ce am văzut încadrarea pacientelor cu sindromul ovarelor polichistice în cele 4 fenotipuri și am observat caracteristicile pe fiecare grup în parte, am urmărit ulterior răspunsul lor în cadrul procedurilor de fertilizare *in vitro*.

Material și metodă:

Pacientelor li s-a administrat un protocol de stimulare ovariană controlată, fie protocolul lung cu agonist GnRH, fie mai frecvent protocolul scurt de stimulare cu antagonist GnRH. Zilele de stimulare au variat în funcție fie de protocolul utilizat, fie de răspunsul ovarian. Monitorizarea răspunsului ovarian a fost evaluat atât prin ecografie transvaginală cât și prin dozări hormonale (estradiol și progesteron). Ecografic dimensiunea foliculilor s-a măsurat calculând media a doua diametre. Administrarea triggerului s-a efectuat când ecografic au fost vizualizați cel puțin 3 foliculi cu dimensiuni peste 18 mm. Ca și trigger a fost folosit HCG recombinant 250 μ g sau 6.500 UI sau analog GnRH 2 fiole de 0,1 mg/ml. Recoltarea ovocitelor s-a efectuat la 36 de ore de la injectarea triggerului, prin puncție transvaginală, sub anestezie generală intravenoasă. Fertilizarea ovocitelor a fost fie prin fiv standard, fie prin ICSI (injecția intracitoplasmatică a spermatozoizilor), în funcție și de existența concomitentă sau nu a unei patologii masculine. Ulterior evaluarea fertilizării a fost făcută la 16-18 ore după procedura de fiv sau ICSI, fertilizarea normală fiind definită prin prezența zigotului 2PN. Embrionii au fost cultivați până la stadiul de blastocyst (Tabel 5).

Cunoscând cât de importantă este doza de stimulare și mai ales cea de start, sunt propuse diverse nomograme ajutătoare în practica curentă. Practic utilizându-le corelăm doza start, cu vârsta și cu valoarea AMH. Nu există încă nomograme cu variabile atât AMH cât și IMC.

Valoarea estradiolului în ziua triggerului a variat între cele 4 loturi, însă nesemnificativ statistic. Așa cum ne așteptam valorile au fost în medie peste 3000 pg/mL. Deși fără semnificație statistică observăm o valoare a estradiolului mai mica în cazul fenotipul 3, față de celelalte fenotipuri, deci teoretic cu un risc mai mic de a dezvolta sindromul de hiperstimulare ovariană, și posibilitatea unui embriotransfer fresh.

Tabel 5. Răspunsul la FIV per fenotip

	Fenotip				p
	1	2	3	4	
	Mean± Std. Deviation	Mean± Std. Deviation	Mean± Std. Deviation	Mean± Std. Deviation	
Zile stimulare	10,00±,866	9,65±1,412	9,52±1,00	9,92±1,044	NS
Doza totală folosită	176,3889± 18,16208	241,1029±56,06811	210,0269±179,69	174,6746±45,240	0,084
Estradiol la trigger	4276,67±1298,586	3586,97±1568,985	3527,10±1197,62	4097,47±2047,994	NS
Nr ovocite	20,67±7,053	15,91±2,896	18,26±5,96	20,95±11,197	0,016
Nr ovocite M2	17,00±2,291	13,32±3,102	16,23±5,35	18,17±9,524	0,009
Nr blastociști	4,67±2,179	4,35±1,773	5,76±2,83	6,03±2,582	0,012

Tabel 6. Doza totală folosită

Report		
Doza totală folosită		
Fenotip	Mean	Std. Deviation
1	176,3889	18,16208
2	241,1029	56,06811
3	210,0269	179,69951
4	174,6746	45,24059
Total	202,6231	129,39208

Numărul de ovocite recoltate a fost în concordanță cu valorile mari ale estradiolului. Diferența între grupuri este semnificativă statistic. Numărul mediu a fost de 18 ovocite, cu variații în plus și în minus. Cele mai puține fiind pentru fenotipul 2, cum era și de așteptat, în cadrul acestui fenotip ovarul are aspect normal ecografic, AFC fiind mai mic de 24. Numărul cel mai mare de ovocite s-a regăsit atât în fenotipul 1 cât și în fenotipul 4, ambele fiind caracterizate de aspectul polichistic ecografic și de valorile cele mai mari ale AMH-ului.

Dar cum era de așteptat, numărul de ovocite evaluate de către embriologi ca fiind în metafază 2 (M2) a fost mai mic față de numărul total de ovocite. Acest lucru se poate observa din graficul de mai jos. Diferențele fiind la fel semnificativ statistice. Observăm că deși în grupul 2 numărul de ovocite a fost cel mai mic, se pare că a fost și cel mai mic de ovocite în metafază 2, doar 83,95% dintre ele. Fără semnificație statistică în grupul 1 și 4 procentul de ovocite în metafază 2 a fost de 86,93%, respectiv 87,43%.

După cum bănuiam procentul cel mai mare de ovocite mature, 89,39%, a fost pentru fenotipul 3, acest grup de paciente, comportându-se practic ca un normal responder.

În continuare pentru fertilizarea ovocitelor la pacienții normospermici s-a folosit majoritar tehnica FIV standard 34% și în 33,5% dintre cazuri ambele tehnici, FIV și ICSI.

Pentru patologia masculină s-a folosit majoritar tehnica ICSI în 31,5% dintre cazuri și doar 0,5% fiind împreună tehnica FIV și FIV+ICSI.

Rata de blastulație însă nu a fost mulțumitoare, confirmă cu literatura de specialitate, arătând că deși am avut un număr mare de ovocite, rata de blastulație a fost mai mică față de pacientele normo responder.

Diferența a fost semnificativă statistic. Lotul 1 care a avut practic cele mai multe ovocite, în corelație cu valoarea cea mai mare a AMH-ului a avut cea mai mică rată de blastulație, de doar 22,03%.

În lotul 3 rata de blastulație a fost cea mai mare de 31,62 %. Rată asemănătoare a fost și pentru lotul 4. În concluzie, deși am avut un număr mare de ovocite, care au fost fie fertilizate standard fie prin tehnica ICSI, rata de blastulație a fost una scăzută, sub media generală pentru normo responderi.

Rata de sarcini a apărut cu o valoare de 63% pentru lotul întreg (sarcina biochimică a fost înregistrată ca beta HCG pozitiv în ziua a 10 -a de la embriotransfer). Procentul cel mai mare de sarcini înregistrându-se pentru fenotipul 3, de 66,7%, fiind net superior față de celelalte fenotipuri, rata cea mai mică fiind înregistrată în fenotipul 4 de 54,7%.

Bineînțeles că datorită riscului de apariție a sindromului de hiperstimulare ovariană, majoritatea ciclurilor au fost segmentate, cu vitrificarea embrionilor și transferul lor într-un

ciclu ulterior. Transferul s-a efectuat fie pe ciclu natural (cn), urmărind ovulația spontană a pacientei, atât ecografic cât și hormonal, transferul efectuându-se după calculul progesteron plus 5 zile, fie pe schemă de pregătire cu 6 mg de estradiol zilnic, din ziua 2 sau 3 a ciclului menstrual, transferul fiind efectuat după 5 zile de substituție cu progesteron. Toate transferurile au fost efectuate sub ghidaj ecografic. Dacă o treime dintre sarcini au fost obținute prin ET-DEC, dintre acestea trei sferturi au fost obținute pe scheme pregătitoare. Este lesne de înțeles că schema de pregătire s-a folosit mai ales la pacientele cu anovulație, fiind foarte utilă. O monitorizare a ovulației la astfel de paciente fiind risipitoare atât de bani cât și de timp.

Concluzii:

Protocolul preferat de stimulare a fost cel scurt cu antagonist GnRH, pentru toate fenotipurile, fiind protocolul care ar trebui să devină standard pentru pacientele cu sindromul ovarelor micropolichistice.

Pentru stimularea ovariană controlată s-a preferat folosirea FSH recombinant, adaosul de LH recombinant a fost și el întâlnit frecvent la pacientele din cadrul fenotipului 2, deși o justificare mai mare ar fi pentru pacientele din fenotipul 1, care au un raport LH/FSH subunitar, chiar dacă cele două fenotipuri au valori bazale asemănătoare ale LH-ului. Doza totală de gonadotrofine a fost în corelație cu IMC-ul, corelație pozitivă, nu același lucru fiind și cu AMH-ul. Sper ca pe viitor să se folosească mai des corelația cu AMH-ul în alegerea dozei de start.

Zilele de stimulare au fost în medie 9, asemănătoare între grupuri.

Valoarea estradiolului în ziua triggerului a avut valori mari, în medie peste 3000 pg/mL, valori mai mici fiind pentru pacientele din fenotipul 3, lucru care se poate explica și prin valori mai reduse ale AMH. Numărul mediu de ovocite recoltate a fost 18, cele mai puține pentru fenotipul 2, fenotip caracterizat printr-o valoare medie a AMH de 5 ng/dL și de aspectul normal ecografic al ovarelor. Procentual însă numărul de ovocite mature M2, fiind pentru pacientele din fenotipul 3. Datorită acestui fapt și rata de blastulație a fost peste medie în acest grup, de 31,62%, spre deosebire de fenotipul 1 cu rata cea mai mică de 22%. Din aceste motive, concluzionăm că pacientele din fenotipul 3 se comportă la stimulare ca niște normo responderi.

Majoritatea partenerilor au fost cu normospermie, metoda de laborator folosită fiind FIV standard, dar au fost și cazuri la care a fost efectuată atât tehnica FIV standard cât și ICSI, fără a aduce îmbunătățiri semnificative.

Rata de sarcini biochimice per total a fost de 63%, însă cum era de așteptat cele mai multe sarcini au fost obținute de pacientele din fenotipul 3. Majoritatea sarcinilor au fost obținute pe cicluri segmentate, pe ET DEC și dintre acestea peste jumătate pe schemă de substituție, cu toate acestea fiind singurul fenotip la care s-ar fi pretat ET fresh, fiind fenotipul cu estradiolul cel mai mic la trigger și cu riscul aferent cel mai mic de a dezvolta sindromul de hiperstimulare ovariană.

VII. Studiu clinic: inducerea monoovulației la pacientele cu ovar polichistic în funcție de fenotip

Obiectivele acestui studiu au fost de a compara eficiența diferiților produși medicamentoși în inducerea monoovulației la pacientele cu ovar micropolichistic. Inițial am observat răspunsul pacientelor la tratament, ulterior am observat răspunsuri diferite în funcție de fenotipul în care se încadrează pacientele cu ovar polichistic.

Material și metodă:

Am efectuat un studiu prospectiv, în care a fost urmărit răspunsul ovarian, endometrial și apariția sarcinii la pacientele cu anovulație, cu sindromul ovarelor polichistice.

Pacientele incluse în studiu, au fost paciente cu ovare micropolichistice cu anovulație cronică, aparținând astfel fenotipurilor 1,2 și 4.

De asemenea în criteriile de includere au intrat: lipsa altor cauze de infertilitate, lipsa intervențiilor chirurgicale de tip drilling ovarian, lipsa patologiei masculine. Ca și criterii de excludere au fost prezența unor boli inflamatorii pelvine (posibilitatea unei patologii tubare) și prezența unor avorturi în antecedente (fie la cerere, fie spontane), pentru a putea exclude posibilitatea unei sinechii cervicale sau corporeale. De asemenea au fost excluse alte cauze hormonale de anovulație cum ar fi patologia tiroidiană sau hiperprolactinemia.

Au fost evaluate 60 de paciente, care s-au încadrat în criteriile prezentate. Medicația folosită a fost clomifen citratul de 50 mg, care s-a administrat 1 comprimat pe zi în zilele 3-7 ale ciclului menstrual, letrozol (inhibitor de aromatază) comprimate de 2,5mg administrat asemănător în zilele 3-7 ale ciclului menstrual și FSH recombinant 37,5 UI administrat 10 zile, începând cu ziua 2 sau 3 a ciclului menstrual (Tabel 6).

Tabel 6. Prezentarea caracteristicilor fiecărui grup

	Clomifen citrat 50 mg (n=20)	Letrozol 2,5mg (n=20)	Recombinant FSH 37,5 UI (n=20)
Vârstă	27.5±0.9	28.2±1.2	27.6±1.2
IMC (kg/m ²)	27±1.4	26.8±1.8	27.6±1.66
Infertilitate (ani)	2.5±0.6	2±0.6	2.4±0.8
Nr. Foliculi ≥17 mm	2.1±0,2	1.2±0,4	1.7±0.5
Grosimea endometrialului (mm)	7±1.4	9±0.8	9.5±0.6
Ziua triggerului (hCG)	13.7±1.4	12±1.8	13.4±1.2
Ovulația	17	18	18
Sarcini biochimice	10	9	11

Concluzii:

Privind rezultatele și încadrând pacientele în fenotipuri, am observat că pacientele care au răspuns la clomifen citrat aparțin fenotipurilor 1 și 2, care au prezent și hiperandrogenism, cu indice de masă corporală mai mare, cu valori ale AMH-ului mai mare pentru fenotipul 1, și la care valoarea LH-ului bazal nu este așa mare. Cu cât LH-ul bazal este mai mare cu atât răspunsul la clomifen este mai slab, de aceea am constatat că răspunsul cel mai bun la gonadotrofine a fost la pacientele din fenotipul 4, paciente cu IMC mai mic, fără hiperandrogenism și cu valori ale LH-ului bazal mari, în medie 10mUI/mL și valori ale AMH-ului peste 5 ng/dl.

Răspunsul la letrozol a fost proporțional împărțit între cele 3 fenotipuri, a fost un răspuns bun la stimulare atât în ceea ce privește apariția ovulației, a numărului de foliculi peste 17mm cât și a endometrialului, însă din păcate rata de apariție a sarcinilor a fost una mai mică comparativ cu celelalte preparate.

Subliniez încă o dată importanța împărțirii pacientelor în fenotipuri pentru o mai bună și practică abordare terapeutică. Cunoscându-se câteva date putem să inducem ovulația direct cu medicamentul convenabil pentru fiecare fenotip, în loc de a pierde timp și a le încerca pe rând pe fiecare, până la obținerea rezultatului dorit. Se pare că deși clomifenul este încă prima

linie de tratament al anovulației la pacientele cu sindromul ovarelor polichistice, utilizarea lui ar trebui limitată pentru fenotip țintă; iar FSH-ul recombinant ar trebui folosit mai des.

Potențialul avantaj al letrozolului ar fi obținerea monoovulației în 90% dintre cazuri, un efect de stimulare mai fiziologic asupra endometrului și mai puține reacții adverse. Este asociat de asemenea cu un nivel mai mic al estradiolului, rămânând de elecție la pacientele cu istoric de neoplasm mamar.

Dacă ovulația nu se obține cu dozele mici, pasul următor este de creștere a dozelor, deși există și varianta ca la doze mici să nu obținem ovulație iar la doze mai mari să obținem hiperstimulare ovariană. Trebuie să luăm în considerare timpul până la obținerea sarcinii și în funcție de acesta să ne adaptăm deciziile terapeutice. Uneori stimulările lungi, sunt consumatoare de bani și de timp, o dată prin tratamentul făcut dar și prin controalele, ecografiile dese și dozările hormonale efectuate la fel de des. Așa că la pacientele la care nu se obține ovulația în câteva cicluri de stimulare sau se obține foarte greu, cu mai multe zile de tratament injectabil ar trebui să explicăm pacientelor o schimbare de atitudine și propunerea unei metode mai eficiente de a obține sarcina și anume procedura de fertilizare *in vitro*.

Concluzii generale și discuții:

Ghid practic de diagnostic și tratament pentru specialiștii în reproducere umană asistată:

1. Diagnosticul corect al pacientelor cu sindromul ovarelor micropolichistice după criteriile de la Rotterdam și încadrarea într-unul dintre cele 4 fenotipuri. Propun pentru diagnostic să se țină cont de valoarea AMH; propun un nou cut off de 5 ng/dl. O valoare mai mică de 5 ng/dl, așa cum era propusă (3,4ng/dl) poate confunda pacientele cu ovare polichistice cu pacientele tinere cu rezervă ovariană bună.
2. Pentru inducerile simple de ovulație aș recomanda la pacientele din fenotipul 4, cu LH bazal crescut, ca primă linie folosirea inhibitorilor de aromatază, pentru obținerea în general a monoovulației, pentru prezența unui endometru cu dimensiuni peste 8 mm și pentru obținerea sarcinilor în procent asemănător cu clomifen citratul; mai ales datorită lipsei răspunsului acestor paciente la stimularea cu clomifen citrat. Nu s-a dovedit că inhibitorii de aromatază produc mai multe malfomații fetale comparativ cu clomifen citratul. De asemenea, recomand folosirea de gonadotrofine injectabil doar de către medicii cu specialitate în reproducere umană asistată și începerea cu doze mici de 37,5 UI. Creșterea dozei poate însemna hiperstimulare cu anularea sau convertirea ciclului într-unul de fertilizare *in vitro*, de aceea recomand medici specialiști.
3. În ceea ce privește procedurile de fertilizare *in vitro* recomand individualizarea protocolul de stimulare pentru a crește rata de succes, pentru a scădea costurile și ciclurile anulate și mai ales pentru a evita apariția sindromul de hiperstimulare ovariană.
4. Individualizarea dozei de start, care ar trebui corelată pe lângă vârstă și FSH bazal (cum există deja nomograme) și cu AMH-ul și cu indicele de masă corporală. Propun folosirea unei doze medii de start de 150 UI, poate la persoanele obeze să ajungă la 175-200 UI. În urma studiul meu propun pentru folosirea FSH-ului recombinant pentru inducerea hiperstimulării controlate, dovedindu-se suficient și eficient, fără a fi necesar adăugarea altor preparate.
5. Ulterior folosindu-se un protocol step down, cu reducerea dozei, reducându-se astfel valoarea finală a estradiolului, prin reducerea foliculilor de dimensiuni sub 12 mm și

posibilitatea efectuării embriotransferului fresh, cu evitarea sindromului de hiperstimulare ovariană.

6. Folosirea protocolul scurt de stimulare cu antagonist GnRH pentru posibilitatea declanșării ovulației fie cu agonist GnRH fie cu hcg recombinant, în funcție dacă dorim sau nu efectuarea embriotransferului fresh. Propun posibilitatea efectuării transferului fresh, fără risc de apariție a sindromului de hiperstimulare medie sau severă în cazul în care valoarea estradiolului la momentul trigerrului să fie mai mică sau egal cu 3.500 pg/ml sau dacă se recoltează până în 20 de ovocite. Pentru evitarea sindromului de hiperstimulare și pentru posibilitatea transferului de embrioni fresh propun declanșarea duală atât cu agonist GnRH cât și cu hcg recombinant (valoare mai mică decât normal, aproximativ 1500 UI), atât pentru declanșarea ovulației cât și ca suport pentru faza luteală.
7. Sunt suficiente 9 zile de stimulare, chiar dacă ciclurile sunt onovulatorii cu oligomenoree sau spaniomenoree.
8. Dacă nu există patologie masculină asociată, tehnica de fertilizare standard este suficientă; tehnica ICSI neaducând îmbunătățiri semnificative în ceea ce privește rata de fertilizare sau rata de blastulație.
9. Să comunicăm pacientelor de la început că rata de blastulație este una modestă (22-30%) comparativ cu pacientele de aceeași vârstă dar fără diagnosticul de ovar polichistic.
10. Dacă nu se poate efectua un transfer fresh, cel cu embrioni decongelați să se efectueze pentru ciclurile ovulatorii, pe ciclu natural, și poate cu susținerea fazei luteale cu progesteron intravaginal sau injectabil retard, în funcție de valoarea progesteronului în ziua transferului (o valoare optimă ar fi peste 15 ng/dl). Pentru cele cu oligomenoree, monitorizarea ovulației este anevoioasă, consumatoare de bani și de timp și atunci se preferă schema de substituție. Rata de sarcini s-a dovedit a fi asemănătoare pe ciclu natural și pe schema de substituție, deși majoritatea medicilor preferă schema de substituție pentru un control mai simplu al momentului de transfer.

Bibliografie

1. Hawkins SM, Matzuk MM. The menstrual cycle: Basic biology. In: *Annals of the New York Academy of Sciences*. Vol 1135. ; 2008:10-18. doi:10.1196/annals.1429.018.
2. Silberstein SD, Merriam GR. Physiology of the menstrual cycle. *Cephalalgia*. 2000;20(3):148-154. doi:10.1046/j.1468-2982.2000.00034.x.
3. Shannon M. Hawkins and Martin M. Matzuk. Author Manuscript Menstrual Cycle : Basic Biology. 2010:10-18. doi:10.1196/annals.1429.018.Menstrual.
4. Barbara Hoffman, John Schorge, Joseph Schaffer, Lisa Halvorson, Karen Bradshaw, F. Gary Cunningham RV. *Williams Ginecologie: Tratat Şi Atlas de Tehnici Chirurgicale*. 2nd ed. Hipocrate; 2017.
5. Mihm M, Gangooly S, Muttukrishna S. The normal menstrual cycle in women. *Anim Reprod Sci*. 2011;124(3-4):229-236. doi:10.1016/j.anireprosci.2010.08.030.
6. Daniell H. NIH Public Access. 2012;76(October 2009):211-220. doi:10.1007/s11103-011-9767-z.Plastid.
7. Falcone T, Hurd WW. Clinical Reproductive Medicine and Surgery. *www.springer.com*. 2007:831. doi:10.1007/978-1-4614-6837-0.
8. Fehring RJ, Schneider M, Raviele K. Variability in the phases of the menstrual cycle. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs*. 2006;35(3):376-384. doi:10.1111/j.1552-6909.2006.00051.x.
9. LENTON EA, LANDGREN B -M, SEXTON L. Normal variation in the length of the luteal phase of the menstrual cycle: identification of the short luteal phase. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol*. 1984;91(7):685-689. doi:10.1111/j.1471-0528.1984.tb04831.x.
10. Pfeifer S, Reindollar R, Sokol R, et al. Current clinical irrelevance of luteal phase deficiency: A committee opinion. *Fertil Steril*. 2015;103(4):e27-e32. doi:10.1016/j.fertnstert.2014.12.128.
11. Ecochard R, Bouchard T, Leiva R, et al. Characterization of hormonal profiles during the luteal phase in regularly menstruating women. *Fertil Steril*. 2017;108(1):175-182.e1. doi:10.1016/j.fertnstert.2017.05.012.
12. Yanushpolsky EH. Luteal phase support in in vitro fertilization. *Semin Reprod Med*. 2015;33(2):118-127. doi:10.1055/s-0035-1545363.
13. Boutzios G, Karalaki M, Zapanti E. Common pathophysiological mechanisms involved in luteal phase deficiency and polycystic ovary syndrome. Impact on fertility. *Endocrine*. 2013;43(2):314-317. doi:10.1007/s12020-012-9778-9.
14. Yazici G, Savas A, Tasdelen B, Dilek S. Role of luteal phase support on gonadotropin ovulation induction cycles in patients with polycystic ovary syndrome. *J Reprod Med*. 2014;59(1-2):25-30. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84892861890&partnerID=40&md5=7a9f79ce04232438467b369081cf752f>.

15. Benson RC. Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility. *West J Med.* 1974;121(2):52-64. doi:10.4183/aeb.2005.240.
16. Marc A. Fritz and Leon Speroff. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility, 8e.* 8th ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2010.
17. Dokras A, Saini S, Gibson-Helm M, Schulkin J, Cooney L, Teede H. Gaps in knowledge among physicians regarding diagnostic criteria and management of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2017;107(6):1380-1386.e1. doi:10.1016/j.fertnstert.2017.04.011.
18. Bernier D, Bernier D. Polycystic Ovary Syndrome : Pathogenesis , health consequences , and treatment of PCOS in relation to insulin resistance Pathogenesis , Health Consequences , and Treatment of PCOS in Relation to Insulin Resistance. 2012.
19. Livadas S, Diamanti-Kandarakis E. Polycystic ovary syndrome: Definitions, phenotypes and diagnostic approach. *Polycystic Ovary Syndr Nov Insights into Causes Ther.* 2012;40:1-21. doi:10.1159/000341673.
20. Teede H, Deeks a, Moran L. Polycystic ovary syndrome: a complex condition with psychological, reproductive and metabolic manifestations that impacts on health across the lifespan. *BMC Med.* 2010;8:41. doi:10.1186/1741-7015-8-41.
21. Jalilian A, Kiani F, Sayehmiri F, Sayehmiri K, Khodae Z, Akbari M. Prevalence of polycystic ovary syndrome and its associated complications in Iranian women: A meta-analysis. *Iran J Reprod Med.* 2015;13(10):607-620.
22. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, et al. *The Androgen Excess and PCOS Society Criteria for the Polycystic Ovary Syndrome: The Complete Task Force Report.* Vol 91.; 2009. doi:10.1016/j.fertnstert.2008.06.035.
23. Broekmans FJ, Knauff EAH, Valkenburg O, Laven JS, Eijkemans MJ, Fauser BCJM. PCOS according to the Rotterdam consensus criteria: Change in prevalence among WHO-II anovulation and association with metabolic factors. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol.* 2006;113(10):1210-1217. doi:10.1111/j.1471-0528.2006.01008.x.
24. Clark NM, Podolski AJ, Brooks ED, et al. Prevalence of Polycystic Ovary Syndrome Phenotypes Using Updated Criteria for Polycystic Ovarian Morphology: An Assessment of Over 100 Consecutive Women Self-reporting Features of Polycystic Ovary Syndrome. *Reprod Sci.* 2014;21(8):1034-1043. doi:10.1177/1933719114522525.
25. Goodarzi MO, Dumesic DA, Chazenbalk G, Azziz R. Polycystic ovary syndrome: etiology, pathogenesis and diagnosis 3900. *Nat Rev Endocrinol.* 2011;7(1759-5037 (Electronic)):219-231.
26. Legro RS. *Polycystic Ovary Syndrome. Phenotype to Genotype.* Vol 28.; 1999.
27. Cela E, Robertson C, Rush K, et al. Prevalence of polycystic ovaries in women with androgenic alopecia. *Eur J Endocrinol.* 2003;149(5):439-442. doi:10.1530/eje.0.1490439.
28. Lizneva D, Suturina L, Walker W, Brakta S, Gavrilova-Jordan L, Azziz R. Criteria, prevalence, and phenotypes of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2016;106(1):6-15.

- doi:10.1016/j.fertnstert.2016.05.003.
29. Raj Kamal Srivastava AK. Pathophysiology of polycystic ovary syndrome: Lesson from animal studies. *Proc Ind Nat Sci Acad.* 2006;71 (B):189-197.
 30. De Leo V, Musacchio MC, Cappelli V, Massaro MG, Morgante G, Petraglia F. Genetic, hormonal and metabolic aspects of PCOS: an update. *Reprod Biol Endocrinol.* 2016;14(1). doi:10.1186/s12958-016-0173-x.
 31. Svendsen PF, Madsbad S, Nilas L. The insulin-resistant phenotype of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2010;94(3):1052-1058. doi:10.1016/j.fertnstert.2009.04.008.
 32. Rojas J, Chávez M, Olivar L, et al. Polycystic ovary syndrome, insulin resistance, and obesity: navigating the pathophysiologic labyrinth. *Int J Reprod Med.* 2014;2014:719050. doi:10.1155/2014/719050.
 33. Koivunen R. *Endocrine and Metabolic Changes in Women with Polycystic Ovaries and Polycystic Ovary Syndrome.*; 2001.
 34. Fauser BCJM, Tarlatzis BC, Rebar RW, et al. Consensus on women's health aspects of polycystic ovary syndrome (PCOS): The Amsterdam ESHRE/ASRM-Sponsored 3rd PCOS Consensus Workshop Group. *Fertil Steril.* 2012;97(1):28-38.e25. doi:10.1016/j.fertnstert.2011.09.024.
 35. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, et al. The Androgen Excess and PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report. *Fertil Steril.* 2009;91(2):456-488. doi:10.1016/j.fertnstert.2008.06.035.
 36. The Rotterdam ESHRE/ASRM-sponsored PCOS consensus workshop group, Fauser BCJM. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long- term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod.* 2004;19(1):41-47. doi:10.1093/humrep/deh098.
 37. Azziz R. PCOS: a diagnostic challenge. *Reprod Biomed Online.* 2004;8(6):644-648. doi:10.1016/S1472-6483(10)61644-6.
 38. The Rotterdam ESHRE/ASRM-sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod.* 2004;19(1):41-47. doi:10.1093/humrep/deh098.
 39. Lujan ME, Jarrett BY, Brooks ED, et al. Updated ultrasound criteria for polycystic ovary syndrome: Reliable thresholds for elevated follicle population and ovarian volume. *Hum Reprod.* 2013;28(5):1361-1368. doi:10.1093/humrep/det062.
 40. Atiomo WU, Pearson S, Shaw S, Prentice A, Dubbins P. Ultrasound criteria in the diagnosis of polycystic ovary syndrome (PCOS). *Ultrasound Med Biol.* 2000;26(6):977-980. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10996697>.
 41. Roe AH, Prochaska E, Smith M, Sammel M, Dokras A. Using the androgen excess-PCOS society criteria to diagnose polycystic ovary syndrome and the risk of metabolic syndrome in adolescents. *J Pediatr.* 2013;162(5):937-941. doi:10.1016/j.jpeds.2012.11.019.
 42. Fauser BCJM, Tarlatzis BC, Rebar RW, et al. Consensus on women's health aspects of polycystic

- ovary syndrome (PCOS): The Amsterdam ESHRE/ASRM-Sponsored 3rd PCOS Consensus Workshop Group. In: *Fertility and Sterility*. Vol 97. ; 2012. doi:10.1016/j.fertnstert.2011.09.024.
43. Katsikis I, Kita M, Karkanaki A, Prapas N, Panidis D. Anovulation and ovulation induction. *Hippokratia*. 2006;10(3):120-127.
 44. Djuro Macut, Marija Pfeifer, Bulent Okan Yildiz ED-K. *Polycystic Ovary Syndrome*. KARGER.; 2013.
 45. Gordon KA, Tosti A. Alopecia: evaluation and treatment. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2011;4:101-106. doi:10.2147/CCID.S10182.
 46. Werner B, Mulinari-Brenner F. Clinical and histological challenge in the differential diagnosis of diffuse alopecia: female androgenetic alopecia, telogen effluvium and alopecia areata - part I. *An Bras Dermatol*. 2012;87(5):742-747. doi:10.1590/S0365-05962012000500012.
 47. Tarlatzis BC, Fauser B, Thessaloniki EA-S. Consensus on infertility treatment related to polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod*. 2008;23(3):462-477. doi:10.1093/humrep/dem426.
 48. Cahill D. Pcos. *BMJ Clin Evid*. 2009;2009(December 2007):1-45. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2907777&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
 49. Melorose J, Perroy R, Careas S. Metabolic aspects in the polycystic ovary syndrome. *Statew Agric L Use Baseline 2015*. 2015;1. doi:10.1017/CBO9781107415324.004.
 50. Wild RA. Dyslipidemia in PCOS. In: *Steroids*. Vol 77. ; 2012:295-299. doi:10.1016/j.steroids.2011.12.002.
 51. Guzick DS. Ovulation induction management of PCOS. *Clin Obstet Gynecol*. 2007;50(1):255-267. doi:10.1097/GRF.0b013e31802f361e.
 52. Diamanti-Kandarakis E, Papavassiliou AG, Kandarakis SA, Chrousos GP. Pathophysiology and types of dyslipidemia in PCOS. *Trends Endocrinol Metab*. 2007;18(7):280-285. doi:10.1016/j.tem.2007.07.004.
 53. Cussons AJ, Stuckey BGA, Watts GF. Metabolic syndrome and cardiometabolic risk in PCOS. *Curr Diab Rep*. 2007;7(1):66-73. doi:10.1007/s11892-007-0012-8.
 54. Rosa Maciel GA. Polycystic Ovary Syndrome: Correlation between Phenotypes and Metabolic Syndrome. *J Steroids Horm Sci*. 2013;5(2):2-7. doi:10.4172/2157-7536.1000132.
 55. Çiçek MN, Bala A, Celik C, Akyürek C. The comparison of clinical and hormonal parameters in PCOS patients treated with metformin and GnRH analogue. *Arch Gynecol Obstet*. 2003;268(2):107-112. doi:10.1007/s00404-002-0344-1.
 56. Sterling E. Hormone Levels and PCOS. *Contemp Ob Gyn*. 2015:3-5.
 57. Diamanti-Kandarakis E. PCOS in adolescents. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2010;24(2):173-183. doi:10.1016/j.bpobgyn.2009.09.005.
 58. Petrache Vartej, Ioana Virtej CP. *Ginecologie Endocrinologica*. IV-a. ALL; 2014.
 59. Cho L-W, Sathyapalan T, Kilpatrick ES, et al. Androsterone glucuronide to dehydroepiandrosterone

- sulphate ratio is discriminatory for obese Caucasian women with polycystic ovary syndrome. *BMC Endocr Disord.* 2017;17(1):26. doi:10.1186/s12902-017-0177-3.
60. Diamanti-Kandarakis E, Christakou CD. Insulin resistance in PCOS. In: *Diagnosis and Management of Polycystic Ovary Syndrome.* ; 2009:35-61. doi:10.1007/978-0-387-09718-3_4.
 61. Richards JS. Genetics of ovulation. *Semin Reprod Med.* 2007;25(4):235-242. doi:10.1055/s-2007-980217.
 62. Raff H. Cushing Syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2015;44(1):43-50. doi:10.1016/j.ecl.2014.10.005.
 63. Pluta RM. Cushing Syndrome and Cushing Disease. *JAMA J Am Med Assoc.* 2011;306(24):2742. doi:10.1001/jama.2011.1694.
 64. Guaraldi F, Salvatori R. Cushing syndrome: maybe not so uncommon of an endocrine disease. *J Am Board Fam Med.* 2012;25(2):199-208. doi:10.3122/jabfm.2012.02.110227.
 65. Unuane D, Tournaye H, Velkeniers B, Poppe K. Endocrine disorders & female infertility. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2011;25(6):861-873. doi:10.1016/j.beem.2011.08.001.
 66. Hsu MI. Changes in the PCOS phenotype with age. *Steroids.* 2013;78(8):761-766. doi:10.1016/j.steroids.2013.04.005.
 67. Boomsma CM, Eijkemans MJC, Hughes EG, Visser GHA, Fauser BCJM, Macklon NS. A meta-analysis of pregnancy outcomes in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update.* 2006;12(6):673-683. doi:10.1093/humupd/dml036.
 68. Luchian B, Costoiu L, Neagu C, Neagu M. Acute hepatic cytolysis in pregnancy-case report. *J Perinat Med.* 2015;43.
<http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L72185796%5Cnhttp://dx.doi.org/10.1515/jpm-2015-2003%5Cnhttp://sfx.library.uu.nl/utrecht?sid=EMBASE&issn=03005577&id=doi:10.1515%2Fjpm-2015-2003&atitle=Acute+hepatic+cytolysis+in+pregnancy.>
 69. Homburg R. Pregnancy complications in PCOS. In: *Diagnosis and Management of Polycystic Ovary Syndrome.* ; 2009:135-142. doi:10.1007/978-0-387-09718-3_11.
 70. Fairley DH, Taylor A. Anovulation. *BMJ.* 2003;327(7414):546-549. doi:10.1136/bmj.327.7414.546.
 71. Jose-Miller AB, Boyden JW, Frey KA. Infertility. *Am Fam Physician.* 2007;75(6).
 72. Ben J. Cohlen, Evert J.P. van Santbrink JSEL. *Ovulation Induction Evidence Based Guidelines for Daily Practice.* CRC PRESS; 2016.
 73. Homburg R, Crawford G. The role of AMH in anovulation associated with PCOS: A hypothesis. *Hum Reprod.* 2014;29(6):1117-1121. doi:10.1093/humrep/deu076.
 74. Dewailly D. Diagnostic criteria for PCOS: Is there a need for a rethink? *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2016;37:5-11. doi:10.1016/j.bpobgyn.2016.03.009.
 75. Shahrokh TE, Mehrabi F, Taati R, Kalantar V, Azimineko E, Tarafdari A. Analysis of ovarian

- reserve markers (AMH, FSH, AFC) in different age strata in IVF/ICSI patients. *Int J Reprod Biomed* (Yazd, Iran). 2016;14(8):501-506. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27679824><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC5015663>.
76. La Marca A, Grisendi V, Griesinger G. How much does AMH really vary in normal women? *Int J Endocrinol*. 2013;2013. doi:10.1155/2013/959487.
 77. S.L. B, J. VD, K.A. B, B.C. O, B.W.J. M. Prognostic accuracy of FSH, AFC and AMH in the prediction of IVF outcome for different subgroups. *Mol Hum Reprod*. 2009;24:i143-i144. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed12&NEWS=N&AN=70197351>.
 78. Alvero R, Schlaff WD. *Reproductive Endocrinology and Infertility*.; 2007. doi:10.1016/B978-0-323-04054-9.X5001-1.
 79. Crosignani PG. Good oocytes for successful IVF cycles. *Middle East Fertil Soc J*. 2014;19(3):153-155. doi:10.1016/j.mefs.2014.05.007.
 80. Patiño R, Thomas P, Yoshizaki G. Ovarian follicle maturation and ovulation: An integrated perspective. *Fish Physiol Biochem*. 2003;28(1-4):305-308. doi:10.1023/B:FISH.0000030565.74702.0a.
 81. van Loendersloot LL, van Wely M, Limpens J, Bossuyt PMM, Repping S, van der Veen F. Predictive factors in in vitro fertilization (IVF): A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2010;16(6):577-589. doi:10.1093/humupd/dmq015.
 82. Pasquali R, Patton L, Gambineri A. Obesity and infertility. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2007;14(6):482-487. doi:10.1097/MED.0b013e3282f1d6cb.
 83. Mascitelli L, Pezzetta F, Goldstein MR. Metformin in polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med*. 2008;358(17):1867-1868; author reply 1868.
 84. Legro RS, Barnhart HX, Schlaff WD, et al. Clomiphene, Metformin, or Both for Infertility in the Polycystic Ovary Syndrome. *N Engl J Med*. 2007;356(6):551-566. doi:10.1056/NEJMoa063971.
 85. Melo AS. Treatment of infertility in women with polycystic ovary syndrome. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2010;71(3):225-227. doi:10.1016/j.ando.2010.03.006.
 86. Kafy S, Tulandi T. New advances in ovulation induction. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2007;19(3):248-252. doi:10.1097/GCO.0b013e3280c60c9a.
 87. He D, Jiang F. Meta-analysis of letrozole versus clomiphene citrate in polycystic ovary syndrome. *Reprod Biomed Online*. 2011;23(1):91-96. doi:10.1016/j.rbmo.2011.03.024.
 88. Nafee T, Metwally M. Induction of ovulation. *Obstet Gynaecol Reprod Med*. 2014;24(4):117-121. doi:10.1016/j.ogrm.2014.01.009.
 89. Franik S, Kremer JAM, Nelen WLDM, Farquhar C, Marjoribanks J. Aromatase inhibitors for subfertile women with polycystic ovary syndrome: Summary of a Cochrane review. *Fertil Steril*. 2015;103(2):353-355. doi:10.1016/j.fertnstert.2014.10.016.

90. Holzer H, Casper R, Tulandi T. A new era in ovulation induction. *Fertil Steril*. 2006;85(2):277-284. doi:10.1016/j.fertnstert.2005.05.078.
91. Ghahiri A, Mogharehabet N, Mamourian M. Letrozole as the first-line treatment of infertile women with poly cystic ovarian syndrome (PCOS) compared with clomiphene citrate: A clinical trial. *Adv Biomed Res*. 2016;5:6. doi:10.4103/2277-9175.175237.
92. Birch Petersen K, Pedersen NG, Pedersen AT, Lauritsen MP, la Cour Freiesleben N. Mono-ovulation in women with polycystic ovary syndrome: a clinical review on ovulation induction. *Reprod Biomed Online*. 2016;32(6):563-583. doi:10.1016/j.rbmo.2016.03.006.
93. Legro RS, Brzyski RG, Diamond MP, et al. Letrozole versus Clomiphene for Infertility in the Polycystic Ovary Syndrome. *N Engl J Med*. 2014;371(2):119-129. doi:10.1056/NEJMoa1313517.
94. Kar S. Clomiphene citrate or letrozole as first line ovulation induction drug in infertile PCOS women: A prospective randomised trial. *Fertil Steril*. 2012;1):S86. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.07.313.
95. Amer S. Gonadotropin induction of ovulation. *Obstet Gynaecol Reprod Med*. 2007;17(7):205-210. doi:10.1016/j.ogrm.2007.06.001.
96. Pundir J, Sunkara SK, El-Toukhy T, Khalaf Y. Meta-analysis of GnRH antagonist protocols: Do they reduce the risk of OHSS in PCOS? *Reprod Biomed Online*. 2012;24(1):6-22. doi:10.1016/j.rbmo.2011.09.017.
97. Tannus S, Turki R, Cohen Y, Son WY, Shavit T, Dahan MH. Reproductive outcomes after a single dose of gonadotropin-releasing hormone agonist compared with human chorionic gonadotropin for the induction of final oocyte maturation in hyper-responder women aged 35–40 years. *Fertil Steril*. 2017;107(6):1323-1328.e2. doi:10.1016/j.fertnstert.2017.04.014.
98. Lin H, Li Y, Li L, Wang W, Yang D, Zhang Q. Is a GnRH Antagonist Protocol Better in PCOS Patients? A Meta-Analysis of RCTs. *PLoS One*. 2014;9(3). doi:10.1371/journal.pone.0091796.
99. Tehraninejad ES, Nasiri R, Rashidi B, Haghollahi F, Ataie M. Comparison of GnRH antagonist with long GnRH agonist protocol after OCP pretreatment in PCOs patients. *Arch Gynecol Obstet*. 2010;282(3):319-325. doi:10.1007/s00404-010-1429-x.
100. Vrtacnik-Bokal E, Virant Klun I, Verdenik I. Follicular oestradiol and VEGF after GnRH antagonists or GnRH agonists in women with PCOS. *Reprod Biomed Online*. 2009;18(1):21-28. doi:10.1016/S1472-6483(10)60420-8.
101. Coccia ME, Comparetto C, Bracco GL, Scarselli G. GnRH antagonists. In: *European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology*. Vol 115. ; 2004. doi:10.1016/j.ejogrb.2004.01.033.
102. Nayak PK, Agrawal S, Mitra S, Nayak PK, Agrawal S. Laparoscopic ovarian drilling: An alternative but not the ultimate in the management of polycystic ovary syndrome. *J Nat Sci Biol Med*. 2015;6(1):40-48. doi:10.4103/0976-9668.149076.
103. Fernandez H, Morin-Surruca M, Torre A, Faivre E, Deffieux X, Gervaise A. Ovarian drilling for

- surgical treatment of polycystic ovarian syndrome: A comprehensive review. *Reprod Biomed Online*. 2011;22(6):556-568. doi:10.1016/j.rbmo.2011.03.013.
104. Zakherah MS, Kamal MM, Hamed HO. Laparoscopic ovarian drilling in polycystic ovary syndrome: Efficacy of adjusted thermal dose based on ovarian volume. *Fertil Steril*. 2011;95(3):1115-1118. doi:10.1016/j.fertnstert.2010.10.037.
105. Kriplani A, Manchanda R, Agarwal N, Nayar B. Laparoscopic ovarian drilling in clomiphene citrate-resistant women with polycystic ovary syndrome. *J Am Assoc Gynecol Laparosc*. 2001;8(4):511-518. doi:10.1016/S1074-3804(05)60613-5.
106. Api M. Is ovarian reserve diminished after laparoscopic ovarian drilling? *Gynecol Endocrinol*. 2009;25(3):159-165. doi:10.1080/09513590802585605.
107. Lebbi I, Ben Temime R, Fadhlaoui A, Feki A. Ovarian Drilling in PCOS: Is it Really Useful? *Front Surg*. 2015;2(July):30. doi:10.3389/fsurg.2015.00030.
108. Wang A, Santistevan A, Hunter Cohn K, et al. Freeze-only versus fresh embryo transfer in a multicenter matched cohort study: Contribution of progesterone and maternal age to success rates. *Fertil Steril*. 2016;10005. doi:10.1016/j.fertnstert.2017.05.007.
109. Eftekhar M, Mohammadian F, Yousefnejad F, Molaei B, Aflatoonian A. Comparison of conventional IVF versus ICSI in non-male factor, normoresponder patients. *Iran J Reprod Med*. 2012;10(2):131-136.
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4163275&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
110. Homburg R. The management of infertility associated with polycystic ovary syndrome. *Reprod Biol Endocrinol*. 2003;1:109. doi:10.1186/1477-7827-1-109.
111. Klemetti R, Sevón T, Gissler M, Hemminki E. Complications of IVF and ovulation induction. *Hum Reprod*. 2005;20(12):3293-3300. doi:10.1093/humrep/dei253.
112. Nick S Macklon. *IVF in the Medically Complicated Patient*. 2nd ed. CRC Press; 2014.
113. Davis MA, Bynum JPW, Sirovich BE, et al. HHS Public Access. 2015;175(5):777-783. doi:10.1001/jamainternmed.2014.5466.Association.
114. Perry RJ, Samuel VT, Petersen KF, Shulman GI, Haven N, Haven N. HHS Public Access. 2015;510(7503):84-91.